

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FISIOLÓGICA DA FACULDADE DE MEDICINA
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Diretor: Prof. JAYME CAVALCANTI

DOSAGEM DO MAGNÉSIO NO SÔRO SANGUÍNEO PELA 8-OXIQUINOLEINA. IMPORTÂNCIA DO AFASTAMENTO CONVENIENTE DO ION CÁLCIO.

ENNIO BARBATO

WALTER A. HADLER

Numerosos são os métodos para dosagem do magnésio no sangue e soluções diluídas. Basearam-se os primeiros (TSCHOPP, FISKE (1), KRAMER e TISDALL (2); BRIGGS (3), DENIS (4) etc.) na precipitação desse metal sob forma de fosfato amoníaco magnésiano e na dosagem colorimétrica do fósforo libertado desse composto pelo ferro.

Apesar das críticas de HOFFMANN (5) e NEUBAIER (6), que põem em evidência a dificuldade de se obter a precipitação total de pequenas quantidades de magnésio pelo fosfato de amônio, a composição instável do precipitado obtido e a pequena sensibilidade dos métodos colorimétricos de determinação do fósforo e ferro, ainda são muito usados, merecendo mesmo de KURILOVA e BOGOMAZ (7) e de RAICES (8), ultimamente, novas contribuições.

Os métodos restantes são de três ordens: a) os que se utilizam da 8-oxiquinoleína (HAHN (9), da 1,2,5,8-tetraoxiantraquinona (HAHN (10) e da tropeolina 00 (LANG (11) para a precipitação do magnésio; b) os que obedecem ao princípio de Kolthoff, pelo qual a transformação do amarelo em vermelho de uma solução de titânio quando em presença de magnésio é proporcional à quantidade deste metal (HIESCHFELDER e SERLES (12) e HAURY (13) etc.); c) os métodos de natureza espectrográficas, THOMSON e LEE (14).

Os métodos que se utilizam da 8-oxiquinoleína são em número elevado. Alguns são *colorimétricos* (HAHN, HAAN e VIEWEG (15), YOSHMATSU (16), HOFFMANN (5), WOLFF (17), EICHHOLTZ e BERG (18) etc.), outros *titimétricos* (BERG (19), HOUGH e FICKLEN (20), DELAVILE e OLIVE (21), BOMSKOV (22), GREENBERG e MAKEY (23) GLOMAUD (24), JAVILLIER e LAVOLLAY (25) VELLUZ (26) etc.), e outros *gravimétricos* (HOUGH e FICKLEN). Os resultados mais precisos, de acordo com a literatura, obtêm-se com os métodos titimétricos e entre estes dos que fazem uso da iodometria.

Encarregados pelo Departamento de Química Fisiológica da Faculdade de Medicina de São Paulo de estudar a eficiência e precisão dos métodos iodométricos pelo 8-oxiquinoleína fizemos estudos comparativos sobre três deles, o método de BOMSKOV (22), o de GREENBERG e MAKEY (23) e o de GLOMAUD (24). A diferença fundamental entre eles está no modo de afastar o cálcio, elemento que como se verá adiante perturba estreitamente a dosagem do magnésio, qualquer que seja o método empregado.

Nenhum dos três deu resultados convincentes pelo que resolvemos analisar as diversas fases da dosagem e a influência dos outros ions existentes no sôro sanguíneo, principalmente do cálcio. O resultado dessa análise nos levou a adotar o método de GREENBERG e MAKEY, com as modificações decorrentes do estudo feito.

— A 8-oxiquinoleína —

Foi a 8-oxiquinoleína descoberta por WEIDEL e COBENZL em 1880, como assinala CATTELLAIN (27). Dois anos mais tarde SHRAUF (28) descobre um método simples para sua preparação (preparação sintética a partir da anilina e glicerina) e estuda não só o corpo em si como também o derivado organo-metálico de cobre. Porém, só em 1910 são estudados, por FOX (29), os outros compostos organo-metálicos (Mg, Ca, Ba, Zn, Cd, Pb, Mn, Ag, Co etc.).

E' a 8-oxiquinoleína, ou quinofenol, um derivado da quinoleína. Corpo sólido, cristaliza-se em pequenas agulhas prismáticas. Funde-se a 73-76°, emitindo vapores à temperatura ordinária. Sua solubilidade na água é pequena, aumentando ligeiramente com a elevação da temperatura. Dos dissolventes orgânicos, o álcool, a acetona e o benzeno dissolvem-na bem, o que não acontece com o éter.

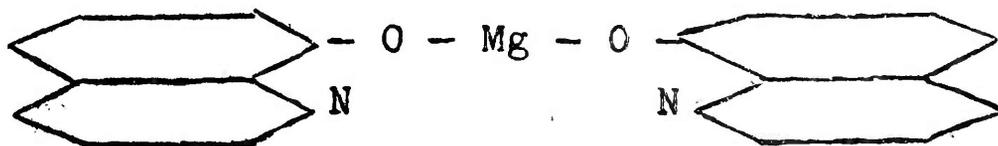
Físico-quimicamente, a 8-oxiquinoleína funciona como anfótero, devido ao N terciário de um lado e o radical fenólico de outro. Por essa propriedade o reativo modifica o pH do meio, o que é de importância na precipitação do magnésio.

Seus derivados metálicos são quase todos amarelos ou amarelo-esverdeados, com exceção dos de ferro que são vermelhos.

São pouco solúveis na água e, a maior parte, solúveis nos solventes orgânicos. Entre os que não se dissolvem no álcool, acetona e benzeno estão os compostos de magnésio e cálcio, razão pela qual são empregados êsses solventes na lavagem do precipitado de magnésio. O clorofórmio dissolve principalmente o 8-oxiquinoleinato de ferro.

Todos êles pela calcinação (a não ser quando em presença do ácido oxálico que impede a volatilização) em parte decompõem-se e em parte volatilizam-se. São, também, decompostos pelos ácidos fortes, mesmo diluídos.

O 8-oxiquinoleinato de magnésio é um corpo sólido, amarelo-esverdeado, de fórmula:



A sua obtenção exige meio alcalino, prestando-se bem à alcalinização o NH^3 e a OHNa . Segundo CATTELAIN, nos meios contendo acetato de sódio a precipitação não é boa. Essa opinião não é aceita por FLECK e WARD (30).

— *Estudo comparativo dos métodos de BOMSKOV, de GREENBERG e MAKEY e de GLOMAUD:* —

O método de BOMSKOV obedece ao seguinte princípio: o magnésio é precipitado por meio de uma solução alcoólica de 8-oxiquinoleina. O precipitado é dissolvido pelo HCl , reprecipitado e lavado. Redissolve-se pelo HCl e faz-se a bromação. O excesso de Br é determinado iodométricamente. Pela reprecipitação afasta-se o cálcio arrastado.

Procede-se da seguinte maneira: 2 cc. de soro são colocados em um tubo de centrifugação, contendo 2 cc. de água e 2 cc. de ácido tricloro-acético. Mistura-se bem e após 10 ou 15 minutos entrefuga-se o precipitado. 3 cc. do líquido sobrenadante são aspirados e colocados num tubo de centrifugação. Junta-se amoníaco concentrado até o início de uma reação francamente alcalina (mais ou menos X gotas) e cloreto de amônio cristalizado. Leva-se a banho-maria 80° a 90° . Rapidamente junta-se solução alcoólica de 8-oxiquinoleina. Deve-se evitar o excesso da mesma; para isso ela é colocada até que a solução se apresente amarelada. Agita-se com um bastão de vidro. O 8-oxiquino-

Ação tópica prolongada!



Máximo poder germicida
Eficiência absoluta
Sem irritabilidade

O "AMINO-CRON" É APRESENTADO
EM 6 FORMAS DIFERENTES.

leinato de Magnésio precipita-se em flocos verde escuro. Para se obter uma precipitação mais rápida é necessário acidular a solução com HCl e em seguida juntar amoníaco em ligeiro excesso. A precipitação é em geral bôa. Centrifuga-se fortemente a quente e aspira-se o líquido sobrenadante com um tubo capilar ligado a uma trompa hidráulica. Deve-se evitar a agitação do precipitado.

Dissolve-se o precipitado com HCl diluído e reprecipita-se, isto é, junta-se novamente cloreto de amônio, amoníaco a 1 a 2 gotas de 8-oxiquinoleína. Essa reprecipitação é necessário para eliminar o cálcio arrastado.

Aspira-se novamente o líquido sobrenadante e lava-se o precipitado com amoníaco diluído, agitando-se com um bastão de vidro. O tubo é mantido por alguns minutos em água a 80°. Centrifuga-se a quente e aspira-se com uma trompa hidráulica; repete-se tantas vezes a lavagem até a solução tornar-se incolor. Geralmente bastam uma a duas.

Dissolve-se o precipitado a quente pelo HCl e junta-se brometo de potássio cristalizado (uma pitada); por uma microbureta junta-se uma solução de bromato de potássio n/100 (o Bromo libertado irá bromar a 8-oxiquinoleína). Junta-se solução de bromato até que se verifique excesso nítido de bromo, o que se observa pela cor amarela da solução e pelo cheiro. Em seguida junta-se iodeto de potássio sólido, que liberta uma quantidade de iodo equivalente ao bromo. Junta-se goma de amido e titula-se, com uma microbureta, pelo tiosulfato de sódio n/100.

O número de cc. do tiosulfato de sódio será subtraído do número de cc. do bromato de sódio adicionado. Um cc. da solução n/100 de bromato de sódio corresponde a 0,03 mgr. de Magnésio.

Resultados obtidos —

TABELA I

Sol. contendo Ca = 10,mg02% Mg = 1,mg23%	Sol. contendo Ca = 10,02% Mg = 2,mg47%	Sêro de porco
1,16	2,515	3,05
1,30	2,525	3,01
1,20	2,419	3,02
1,21	2,40	3,98
1,22	2,46	2,98
1,30	2,415	3,03
média	média	média
1,232	2,459	3,02

Método de GREENBERG e MAKEY — Neste método o cálcio é previamente removido pelo oxalato de amônio, podendo assim ser dosado. O magnésio do líquido sobrenadante é precipitado pela 8-oxiquinoleína.

O processo é o seguinte: quando não se requer prévia determinação do cálcio, o filtrado é preparado com 3 cc. de sôro, 5 cc. de água destilada, 3 cc. de tungstato de sódio a 10% e 3 cc. de H^2SO^4 a 0,67N, os quais são colocados num tubo de centrifugação. Após 5 minutos acrescenta-se 1 cc. de oxalato de amônio a 4%. Após duas horas, o tubo é centrifugado, retirando-se 10 cc. do líquido sobrenadante (correspondente a 2 cc. de sôro).

(Quando o cálcio deve ser determinado o sôro é desproteinizado da seguinte maneira: 3 cc. de sôro para 6 cc. de água e 6 cc. de ácido tricloroacético a 10%. Centrifuga-se e retira-se 10 cc. do filtrado. Junta-se 1 cc. de amônia (suficiente para neutralizar o ácido tricloroacético) e 1 cc. de solução saturada de oxalato de amônio. Após 2 horas ou mais, o oxalato de cálcio é separado por filtração, usando-se o microfiltro de Kirk-Schimdt (31). O filtrado é utilizado para dosagem do magnésio, usando-se 10 cc. que corresponderá a $1 \frac{2}{3}$ do sôro).

10 cc. do filtrado são colocados num tubo de 15 cc. com 1 cc. de cloreto de amônio a 1%, 6 gotas de amoníaco concentrado e 1 cc. de solução alcoólica de 8-oxiquinoleína a 1%. Quando se usa ácido tricloroacético na desproteinização, 6 gotas de amoníaco são suficientes, adicionam-se outras, até obtenção de uma tonalidade amarela. Mistura-se e coloca-se, por 20 a 30 minutos, em banho-maria a 70-80°. Filtra-se com um filtro de Kirk e Schimdt. O precipitado é lavado primeiramente com 8 cc. de amoníaco a 2% aquecido, 8 cc. de álcool 95° e finalmente com outra porção de 8 cc. de amoníaco a 2%, aquecido. O filtrado é transferido para um "frasco-filtro", e com 8 cc. de HCl concentrado dissolve-se o precipitado de magnésio e com água lava-se as paredes do frasco-filtro.

A titulação é feita no mesmo frasco-filtro, juntando-se 1 cc. de KBr a 50% e, em seguida, 5 cc. de solução $KBrO_3$ a 0,01M standard. Agita-se por um minuto e adiciona-se 1 cc. de KI a 20%. Lavam-se as paredes do frasco até volume de 50 cc. O excesso de iodo é dosado com tiosulfato 0,02N, colocando-se 10 cc. com pipeta e o restante com microbureta. 20 gotas de amido permitem uma boa viragem.

Com as mesmas quantidades e nas mesmas condições faz-se um blank: — 8 cc. de HCL concentrado, 8 cc. de água, 1 cc. de KBr a 50% etc.

Cálculo: Como cada cc. de bromato 0,01M é equivalente a 0,1824 mg de Magnésio, temos para 2 cc. de sôro:

$$\frac{\text{cc Na}^2\text{S}^2\text{O}^3 \text{ (determinação)}}{\text{cc Na}^2\text{S}^2\text{O}^3 \text{ (blank)}} \cdot \frac{0,1824}{2} \times 100$$

o fator $\frac{0,1824}{2} \cdot 100 = 9,12$. Quando se usa 1 $\frac{2}{3}$ cc de sôro será 10,95.

Resultados obtidos: —

TABELA II

Sol. contendo Ca = 10,mgs02% Mg = 1,mgs23%	Sol. contendo Ca = 10,02% Mg = 2,mgs47%	Sôro de porco
1,43	2,64	3,18
1,41	2,68	3,20
1,38	2,65	3,16
1,38	2,62	1,16
1,40	2,59	3,17
média	média	média
1,40	2,636	3,174

Método de GLOMAUD — Este método consiste na precipitação do magnésio sem retirar o cálcio, que é bloqueado pelo oxalato.

Num Erlemeyer colocam-se 3 cc. de sôro, 6 de água destilada, 6 cc. de ácido tricloroacético. Deixa-se 10 minutos e centrifuga-se. 10 cc. de centrifugado são transferidos a um tubo de centrifugação; junta-se 1 cc. de solução de oxalato de amônio saturado, deixa-se 30 segundos em banho-maria próximo à ebulição, junta-se 0,25 cc. de 8-oxiquinoleína a 1% e grande quantidade de amoníaco concentrado. Após 5 minutos, centrifuga-se e lava-se 3 vêzes com amoníaco a 10%.

O precipitado é dissolvido em HCl a 10%. Juntam-se 5 a 10 ccc. de brometo de potássio a 40% e quantidade fixa de solução de bromato-brometo a 0,01N. Agita-se por 30 segundos e dosa-se iodometricamente.

Resultados obtidos:

TABELA III

Sol. contendo Ca = 10,mgs23% Mg = 1,mgs23%	Sol. contendo Ca = 10,02% Mg = 2 mgs. 47	Sôro de porco
1,33	2,50	2,96
1,23	2,47	2,96
1,15	2,58	3,10
1,10	2,48	3,09
1,30	2,39	3,05
média	média	média
1,225	2,485	3,03

A análise da tabela I demonstra que pelo método de BOMSKOV se obtém médias bastante próximas do valor real e limites de variação razoáveis. Porém, não figuram na tabela alguns valores bastante discrepantes, que se obteve com esse método; assim, empregando a solução contendo 1, mgs de 23 de magnésio obteve-se 3mgs 35, 2,mgs 70 etc., o mesmo acontecendo com o emprego da solução contendo 2, mg 47. A falha está no fato de que, não se retirando o cálcio totalmente, é necessário que a precipitação se dê num pH ótimo, no qual esse metal não é precipitado pela 8-oxiquinoleína.

Esse pH é obtido empiricamente, de modo que pequenas variações na quantidade do amoníaco e cloreto de amônio utilizados alteram fortemente o resultado.

Resultados igualmente discrepantes obtêm-se às vezes com o método de GLOMAUD. Com este método os resultados não são tão regulares como os que se obtêm com o precedente. (Tab. II).

Resultados praticamente constantes e sem discrepâncias são obtidos com o método de GREENBERG e MAKEY, no qual o cálcio é retirado previamente. (Tab. III). No método original do autor há um ligeiro erro sistemático para mais, o que se nota, por um lado, comparando os valores obtidos e os valores reais das soluções empregadas e, de outro lado, comparando os valores obtidos no sôro de porco com este método e com os dois métodos precedentes.