

INSTITUTO DE ANGIOLOGIA

Determinación colorimétrica de cinc sérico. Comparación con espectroscopia de absorción atómica

Por el Lic.:

DIEGO HERNÁNDEZ VEGA*

Hernández Vega, D. *Determinación colorimétrica de cinc sérico. Comparación con espectroscopia de absorción atómica.* Rev Cub Med 21: 3, 1982.

Innumerables son los métodos colorimétricos que se han empleado hasta el momento en la determinación de cinc sérico. La mayoría de éstos precisa la precipitación de las proteínas séricas, reactivos muy específicos. Estos métodos se caracterizan generalmente por ser bastante largos y conllevan el peligro de contaminación de las muestras, por tanto, resultan poco confiables. Esta situación se vio solucionada en parte, con la aparición de la espectroscopia de absorción atómica y su posterior empleo como método de cuantificación de oligoelementos en fluidos biológicos. Sin embargo, es de señalar que en la actualidad este tipo de equipo no se encuentra al alcance de todos los laboratorios y por tanto, aún resulta útil en estos casos disponer de un método colorimétrico, que permita cuantificar el cinc sérico de forma tan confiable como con el método de absorción atómica. En este trabajo, se compara el método colorimétrico descrito por *Johnson et al.* con el de absorción atómica empleado hasta el momento en nuestro laboratorio. La precisión evaluada para el método colorimétrico resultó ser del 2%, valor aceptado ampliamente en las investigaciones bioclínicas, obteniéndose un coeficiente de correlación de 0,997, al comparar ambos métodos. Estos resultados avalan el empleo del método colorimétrico para la determinación de este metal en el suero, cuando no se disponga para la misma de un espectrofotómetro de absorción atómica.

INTRODUCCION

Las investigaciones sobre la función biológica de los elementos trazas, han sido desarrolladas principalmente mediante el empleo de métodos colorimétricos. Con el surgimiento en la década del 50 de la espectrofotometría de absorción atómica, éste ha llegado a ser el método de elección y en la actualidad el más confiable, debido a sus innumerables ventajas. Por otra parte, no es menos cierto que el equipo para el desarrollo de esta técnica es costoso y no asequible a todos los laboratorios. Por esta razón, aún se emplean y se desarrollan métodos colorimétricos para la determinación de cinc sérico, los cuales utilizan cromógenos poco específicos, o requieren el empleo de agentes tensoactivos para solubilizar el ligando,¹ siendo necesario, hasta en los más recientes como el de *Cárter*, la precipitación previa de las proteínas.

* Licenciado en química. Sección de oligoelementos, laboratorio de bioquímica. Instituto de Angiología.

En este trabajo, nos hemos propuesto comparar el método colorimétrico descrito por *Johnson et al.*,³ el cual no requiere desproteínización y resulta de ejecución bastante fácil, con el método de absorción atómica utilizado en nuestro laboratorio hasta el momento.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 20 donantes voluntarios del sexo masculino provenientes del Banco Provincial de Sangre de la Ciudad de La Habana, con una edad promedio de 28 años.

Las muestras de sangre venosa fueron obtenidas de donantes en ayunas y se centrifugaron a 4 000 rpm durante 10 minutos después de coaguladas.

Dos alícuotas de cada suero fueron congeladas a -20°C en viales de polietileno hasta el momento de la determinación mediante espectrofotometría de absorción atómica, realizándose ésta por dilución del suero 1:5 con agua desionizada. Fueron empleados patrones desde 25 μg hasta 150 μg previa dilución y las lecturas se realizaron en un equipo Pye Unicam, modelo SP 191.

La determinación colorimétrica se realizó a cada muestra por duplicado mediante el método descrito por *Johnson et al.*,² empleándose 3 patrones para la calibración en un espectrofotómetro Pye Unicam SP 500, serie 2.

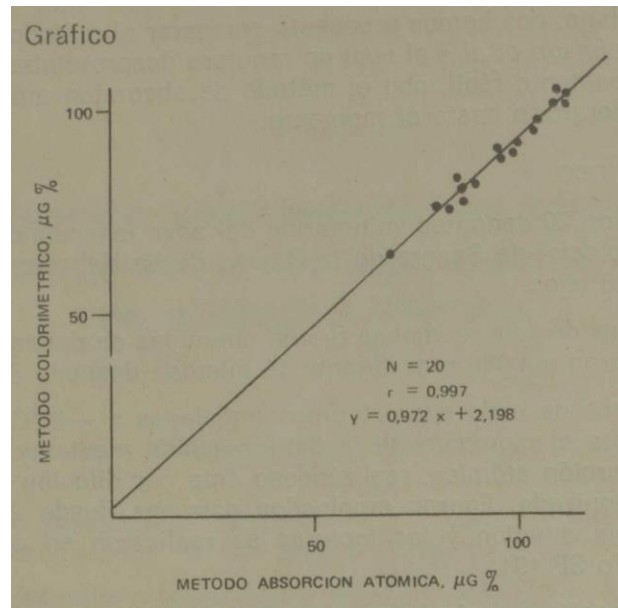
En ambos métodos, el valor de la absorbancia para cada muestra de suero se ha tomado como el promedio aritmético de las dos lecturas correspondientes, siendo evaluada la repetibilidad en ambos casos mediante 10 alícuotas de un *pool* de suero. Los resultados obtenidos por ambos métodos fueron evaluados, al emplear el coeficiente de correlación.

RESULTADOS

El intervalo de valores obtenidos por el método colorimétrico para los 20 donantes fue 73,6-107,5 μg , con valor medio y desviación estándar de $86,77 \pm 8,39$ μg . Para el método de espectrofotometría de absorción atómica, los valores fueron los siguientes: intervalo desde 73,0 hasta 108,0 μg , media $86,95 \pm 8,61$ (DS) μg . Los valores hallados para los coeficientes de variación fueron: 1,5% para el método de absorción atómica y 2,0% para el método de Johnson. El coeficiente de correlación resultó ser de 0,9973 al comparar los resultados obtenidos para cada muestra por ambos métodos, tomando el de absorción atómica como de referencia.

La ecuación de regresión que relaciona los datos para las 20 muestras viene dada por $y = 0,972 x + 2,198$, donde y representa los valores obtenidos mediante el método colorimétrico y x , los obtenidos por el método de absorción atómica.

En el gráfico se observa el diagrama de dispersión obtenido, así como los valores correspondientes al coeficiente de correlación y a la recta de regresión.



DISCUSION

En los últimos años, los métodos basados en la espectroscopia de absorción atómica han sido los empleados, en la inmensa mayoría, en los trabajos en los cuales se ha deseado cuantificar el cinc sérico. Esto es debido sin duda, a la precisión y rapidez de estos métodos, además de las mínimas posibilidades de contaminación de las muestras.

Aunque en nuestros trabajos hemos empleado hasta el momento la espectroscopia de absorción atómica en la cuantificación del cinc sérico, en éste hemos evaluado el método colorimétrico descrito por *Johnson et al.*, principalmente por lo asequible a cualquier laboratorio del equipo empleado y por su relativa rapidez y sencillez. El método resulta preciso, como lo demuestra el valor del coeficiente de variación obtenido para el mismo, 2%, obviándose además, la precipitación de proteínas, paso casi obligatorio en los restantes métodos colorimétricos descritos hasta el momento.

Se observa una alta correlación ($r = 0,977$) entre este método y el de absorción atómica empleado en nuestro laboratorio.

Estos resultados avalan el empleo del método colorimétrico en los laboratorios, donde sea necesario determinar la concentración de cinc sérico rutinariamente y no se disponga de espectrofotómetro de absorción atómica.

CONCLUSIONES

En los laboratorios donde no se disponga de equipo de absorción atómica, puede utilizarse en la determinación de cinc sérico, el método colorimétrico descrito por *Johnson et al.*, por resultar tan confiable como el otro.

SUMMARY

Hernández Vega, D. *Colorimetric determination of serum zinc. Comparison with atomic absorption spectroscopy.* Rev Cub Med 21: 3, 1982.

Colorimetric methods that has been used until now for serum zinc determination are countless. Most of them precise serum protein precipitations very specific reactives. These methods are usually characterized for being rather extensive and because samples carry contamination hazard, therefore, they result to be unreliable. In some way this situation was solved by the onset of atomic absorption spectroscopy and its further use as quantification method for oligoelements in biological fluids. However, it is to be pointed out that up to now this type of equipment is not available for all of the laboratories and, therefore, in these cases disposing of colorimetric method that allows serum zinc quantification in such reliable way as atomic absorption method, is still useful. In this paper, colorimetric method described by Johnson et al., is compared with the atomic absorption method used until now in our laboratory. Accuracy evaluation for colorimetric method resulted to be 2%, widely accepted value for bioclinical investigations, getting a 0,997 correlation coefficient when comparing both methods. These results enhanced the use of colorimetric method for serum zinc determination, when atomic absorption spectrophotometer is not available.

RÉSUMÉ

Hernández Vega, D. *Dosage colorimétrique du zinc sérique. Comparaison avec la spectroscopie d'absorption atomique.* Rev Cub Med 21: 3, 1982.

Il est innombrable les diverses méthodes colorimétriques qui ont été employées jusqu'à présent pour le dosage du zinc sérique. La plupart d'entre elles précisent la précipitation des protéines sériques, réactifs très spécifiques. Ces méthodes se caractérisent en général pour leur extension, ce qui entraîne le danger de contamination des échantillons, donc elles sont peu fiables. Cette situation a été solutionnée, en partie, par l'apparition de la spectroscopie d'absorption atomique, et par son emploi ultérieur en tant que méthode de quantification des oligoéléments dans les substances biologiques. Cependant, il est à signaler qu'actuellement ce type d'appareil n'est pas à la portée de tous les laboratoires, donc il est encore utile dans ces cas de compter sur une méthode colorimétrique permettant de quantifier le zinc sérique d'une façon aussi fiable que celle de la méthode d'absorption atomique. Dans ce travail, il est comparé la méthode colorimétrique décrite par Johnson et al. avec la méthode d'absorption atomique employée jusqu'à présent dans notre laboratoire. La précision évaluée pour la méthode colorimétrique a été de 2%, valeur largement acceptée dans les recherches biocliniques, et il a été obtenu un coefficient de corrélation de 0,997 lors de comparer les deux méthodes. Ces résultats plaident pour l'emploi de la méthode colorimétrique pour le dosage de ce métal dans le sérum, lorsque l'on ne compte pas sur un spectrophotomètre d'absorption atomique.

PESEMÉ

SpHamic Bera, 5. KoJiopaMeTpaHQCKoe onpej; o^oHHe EpaHica

ch- BopoTo^moro. CpaBHSHHQ co cneKTpocKoimeft aTOMHOÛ adcopdrpm.
Rev Cub Med 211 3, 1982.

MHO^o^HCJieHHH KOJIOpOMOTpOHOCKO0 MOTO.HH,
KOTOpO© óum npnM0H0. HH jto HacTo^moro BpoMoHH **jiyá**

onpesejiemiH cuBopoTo^moro nornca
BoJJimHHCTBO 03 3TOX MOTOHOB yTO^IHfleT BHna£0H0e CHBOPOTO^HHX-
ÓOJEKOB, OH0HB Cnerm(l)H^OCKHX p0aKTHBO3. Bce 3TO MOTOJ2JJ B OC - HOBHOM
XapaKT0pH3yTOTCH TOM, *ITD OKU HBJiflOTCfT .EOBOJIBHO npOfIOJ
XOTeJIBHHMH 0 np0BO,HHT K OnaCHOCTH 3apaS0HHH 00pa3ÍÍ0B 0 B p0- 3yjiBTaT0
9Toro HBJwroTCH He - o'ieHB HaflexHHMH. 3to noJiosceHae dn jio HacTH^iHo
pa3pemeHo c npaMeRenaem cneKTpocKoihh aTOMHOK **a5** copó muí 0 ero
nocjiejyraiiero npnMeHeHHH b KanecTBe MeTo,naKo.rc0- necTBeHHoro'onpene^eHM
ojmrosjieMeHTOB b ónoJioraHecKiix hoto- Kax. ÓjmaKO, neodxoiuiMo otm6thb, hto b
Hacronmee Bpews stot tm npHópa Bcé eme He Mo«eT óhtb npKoópeTéH Bcei.ra jiadopaTo-
panMH o b pe3yjiBTaT0 3Toro Bce eme HBJweTCH nejiecoodpa3HHM b 3TOX CJJjrqaIX
HT.teTB KOJIOp0,ieTp0ieCKOÍÍ MeTOfl, KOTOpHÛ ÓH n03B0 jnui KOFFid'ieCTBeHHO
onpejiejniTB chbopoto'ihhií uhk c TaKofT «e Ha fléxHocTBio KaK a MeTOfl aTowHofl
adcopduM. B KacTOflmeif padoTe- npoBojiOTCH cpaBHeHieKOJioP0ivieTP0^ecKoro
MeTo3a, kotophii óhji - onOcafl Johnaón et al. c M6T030M aTOMHOÍÍ adcopdlJ00, KOTOpUM
- npOM6HfiJicH £0 HacTOtfmero **BD0M6H0** b Hatnefi jiadopaTojm. Ton - ioctb,
onpeniejiéHHan jyw KOJioP0i.ieTp0-qecKoro MfiToaa, dujia paB- Ha 2%, 3HaqeH0e capono
npnHHToe 3 cByKraimiqeciaix OCCJie,iioBa - HOHX, nojnyqafI np0 btom Kost^aufienT
cooTHomeKüH 0.997, npn npo BeneHoo cpaBH6HOH odeox MeTonoB. 3tf pe3y^BTara
penoMenuioT— np0MeH6H0e KOJioP0MeTp0qecKoro MeToaa jnyfl onpesejieHM
3Toro - **MeTajma** b cyBopoTke, b alyqaHX, Kor^a jyfl
npobeaeHM He oMo- OTClI CnOKTpO\$OTOMOTpa
aTOMHOÍÍ aócopdlí00.

BIBLIOGRAFIA

1. *Platte, J. A.; V. M. Marcy.* Photometric determination of zinc with zincon. Anal Chem 31: 1226, 1959.
2. *Cárter, P.* Spectrophotometric submicrogram serum zinc assay: an application for the routine Service laboratory. Clin Chim Acta 52: 277, 1974.
3. *Johnson, J. D. et al.* Improved colorimetric determination of serum zinc. Clin Chem 23: 1321, 1977.

Recibido: 4 de abril de 1981.
Aprobado: 5 de mayo de 1981.

Lic. *Diego Hernández Vega*
Flores No. 458, Zona postal 5, Ciudad de La Habana.