

Determinarea acidului uric prin voltametrie ciclică

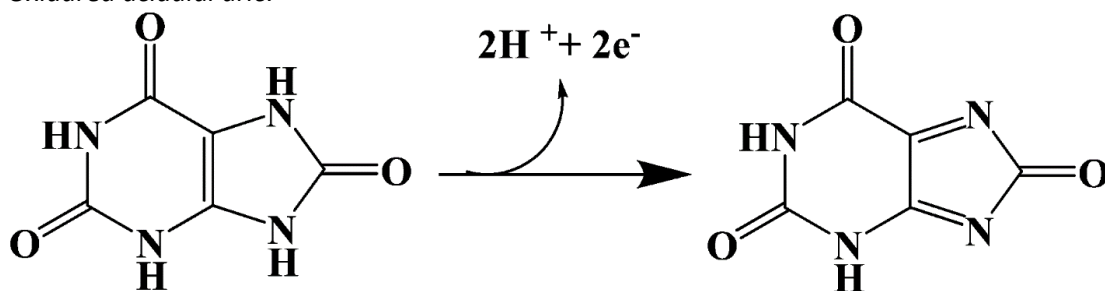
1. Introducere

Acidul uric reprezintă produsul principal al metabolismului purinic, fiind rezultat prin degradarea bazelor purinice, și este eliminat prin urină. Pentru oameni, acidul uric are atât origini endogene, cât și exogene (prin consumul de alimente bogate în baze purinice).

Cantitatea crescută de acid uric în organism poate fi asociată cu diferite boli care sunt caracterizate printr-o rată mare de regenerare celulară, precum leucemia sau limfomul. Atunci când rinichii nu elimină excesul de acid uric, acesta se acumulează sub formă de cristale solide, care se formează de obicei la nivelul articulațiilor și produc durere.

Metodele spectrofotometrice care utilizează acidul fosfotungstic, metodele enzimatică care folosesc uricază, dar și metodele electrochimice, bazate pe oxidarea acidului uric, sunt utilizate pentru determinarea acidului uric.

Oxidarea acidului uric:



Scopul acestui experiment este de a dezvolta o modalitate de determinare a acidului uric în urină. Această metodă este bazată pe oxidarea electrochimică a acidului uric la nivelul electrozilor solizi.

2. Materiale necesare

- Potențiometrul
- Electrozi serigrafiați
- Conector specific
- Pahare Berzelius
- Pipete
- Flacoane marcate volumetric

3. Experimentul propriu-zis

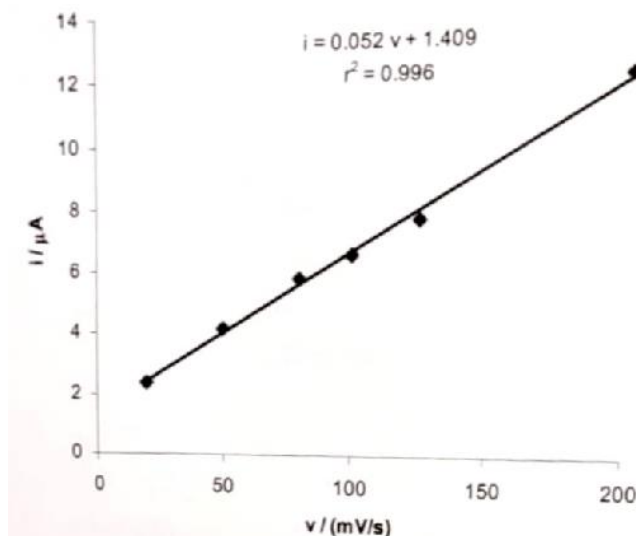
Se utilizează un sistem potențiomtric de trei electrozi specific pentru măsurătorile electrochimice. Cei trei electrozi sunt integrați în electrodul serigrafat, unde electrozii implicați au la bază cerneală de carbon, iar electrodul de pseudoreferință este realizat din argint.

➤ Caracterizarea procesului oxidativ

Metoda de determinare prin voltametrie ciclică face posibilă caracterizarea comportamentului electrochimic al acidului uric.

- a) Identificarea proceselor de oxido-reducere pe electrozii serigrafiați evidențiază reversibilitatea sau ireversibilitatea proceselor care au loc. Se vor realiza următoarele etape de lucru:
 - Se prepară 50 mL de soluție stoc, de concentrație 10^{-3} M de acid uric în 0,1M soluție buffer de fosfat pH 7.
 - Din soluția obținută se prepară 10 mL soluție 10^{-4} M în soluție 0,1 M, pH 5, de AcOH/AcO⁻ (AcOH = acid acetic).
 - Se pipetează 50 microlitri de soluție obținută pe suprafața serigrafată și se înregistrează voltamograma ciclică.
 - Potențial inițial: -0,05 V ; Potențial final: +0,45 V ; Rata de scanare: 50 mV/s.
- b) Se determină dacă procesul chimic e determinat de adsorbție sau de difuzie:

Se înregistrează voltamogramele ciclice pentru 50 microlitri de soluție de acid uric 5×10^{-5} M în soluție tampon cu pH 5, la rate de scanare diferite (20, 50, 80, 100, 125, 200 mV/s). Pentru fiecare măsurătoare se folosește un alt electrod serigrafat.



- c) Se studiază efectul timpului de acumulare.

Se plasează 50 microlitri de soluție de acid uric 5×10^{-5} M în sistem tampon cu pH 5, pe șapte electrozi serigrafiați. Se înregistrează voltamograma ciclică după timpi diferiți de așteptare (0, 5, 10, 20, 30, 45 și 60 minute).

➤ **Teste analitice specifice metodei**

După alegerea ratei de scanare și a timpului de acumulare adecvat, se determină caracteristicile analitice.

- a) **Repetitivitatea:** intra și interrepetitivitatea electrochimică (soluție de acid uric 5×10^{-5} M în buffer pH 5)
 - a.1. – intraelectrochimică: Măsurătorile se desfășoară folosind același electrod, spălându-l cu apă ultrapură, după fiecare măsurătoare.
 - a.2. – interelectrochimică: se folosește un nou electrod pentru fiecare măsurătoare
- b) **Curba de calibrare:** calibrarea se realizează folosind același electrod, care se spală cu apă ultrapură după fiecare determinare. Intervalul concentrațiilor: de la 10^{-6} M la 5×10^{-4} M.

➤ **Determinarea acidului uric în urină**

Determinarea poate fi făcută prin măsurători directe ale probei diluate și extrapolarea la curba de calibrare sau prin metoda aditivelor standard. Fiecare măsurătoare se realizează cu un electrod serigrafat nou.

- **Cuantificarea directă:** Se diluează proba în buffer AcOH/AcO⁻ pH 5, pentru a se obține un semnal analitic, care se încadrează în curba de calibrare obținută (diluții între 1/100 și 1/500). Se repetă măsurătorile de 3 ori (se calculează deviația standard relativă), iar rezultatele obținute se exprimă în mg acid uric/ L urină.
- **Metoda aditivelor standard:** Luând în considerare rezultatele obținute anterior, se prepară diluția probei pentru a se obține un semnal analitic care să se încadreze în curba de calibrare. Apoi se prepară câteva soluții de probe diluate și se crește treptat cantitatea de soluție standard.

4. Bibliografie

Dropsens.com. 2021. [online] Disponibil la:

<http://www.dropsens.com/en/pdfs_productos/new_brochures/pl1_pl2_pl3_pl4_pl5_pl6_pl7.pdf>