Akceptuję
W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej Polityce Prywatności

Metody wykorzystywane do oznaczania żelaza w różnych próbkach biologicznych

Żelazo jest jednym z podstawowych składników niezbędnych do regulowania procesów biochemicznych w organizmach ludzi, zwierząt i roślin. Wchodzi w skład wielu hemoprotein, takich jak hemoglobina, mioglobina i cytochromy. Żelazo dostarczane jest w diecie, a jego wchłanianie jako żelaza dwu-wartościowego jest ściśle kontrolowane na poziomie błony śluzowej jelita [5].

Żelazo występuje w kilku postaciach, jako:

a) Żelazo hemoglobiny (stanowiąc ok. 60%-70% całej zawartości w organizmie),

b) Żelazo zapasowe, które zmagazynowane jest w postaci ferrytyny lub hemosyderyny w różnych narządach (20%-25%),

c) Żelazo mioglobiny (4%),

d) Żelazo innych chromoprotein jak: cytochromy, peroksydaza, katalaza (0,2%),

e) Żelazo osocza w formie transportowej (0,1% całości) [1].

Zawartość żelaza w surowicy szacowana jest na 80-130 µg/100 ml, a w pełnej krwi na ok. 50 mg/100 ml. W niedokrwistości, w chorobie trzewnej, po krwotokach, w zaburzeniach wchłaniania, chorobach infekcyjnych i nowotworach obserwuje się zmniejszone stężenie żelaza. Z kolei podwyższone stężenie żelaza obserwowane jest przy zapaleniu wątroby, a czasami także w anemii złośliwej i hemolitycznej. Małe ilości żelaza wydalane są z moczem oraz wskutek złuszczenia komórek nabłonkowych (ok. 1-1,5 mg na dobę). Na wchłanianie żela mają wpływ różne czynniki m.in. kwasowość soku żołądkowego oraz stan zapasów żelaza w ustroju. Przy niedoborze żelaza wchłaniane są o wiele większe jego ilości niż normalnie [5].

Żelazo jest również pospolicie występującym składnikiem skorupy ziemskiej (stanowi ok. 5,08%). Pierwiastek ten spotykany jest w postaci minerałów tlenkowych, siarczkowych, a także jako izomorficzna domieszka krzemianów. Związek ten wykorzystywany jest w przemyśle, gdzie jego najcenniejszymi rudami są magnetyt ($Fe_3 O_3$), hematyt (Fe_2O_3), limonit ($2Fe_2O_3 \cdot 3H_2O$), syderyt ($FeCO_3$) i piryt (FeS_2) [4]. Pierwiastek ten jest bardzo ruchliwy (w warunkach niesprzyjających szybko migruje w głąb profilu glebowego), powodując tym samym obniżenie ilości form łatwo przyswajalnych dla roślin [4]. Żelazo występuje również we wszystkich wodach lądowych i morskich (stopień utlenienia +2 lub +3). Związki Fe^{2+} należą do łatwo rozpuszczalnych w wodzie o pH< 7. W wodach powierzchniowych ulegają szybko utlenieniu i wytrącają się w postaci różnych tlenków. Związki żelaza występujące na III- stopniu utlenienia w fazie rozpuszczonej utrzymują się w postaci połączeń kompleksowych, z kolei tlenki żelaza w stanie koloidalnym odgrywają ważną rolę w procesach sorpcji i koagulacji innych substancji koloidalnych oraz jonów. Koloidalna zawiesina tlenków żelaza w wodzie katalizuje procesy utleniania. Zależność ta wykorzystywana jest

w procesach oczyszczania ścieków [4].

Oznaczanie żelaza w próbkach

Do oznaczania mikrogramowych ilości żelaza wykorzystywane są metody kolorymetryczne, w których wykorzystywane są barwne reakcje jakie dają jony Fe^{2+} oraz jony Fe^{3+} z niektórymi odczynnikami. Zazwyczaj w reakcjach wykorzystywane są związki organiczne, które dają barwne kompleksy z żelazem. Wśród nich najczęściej wymienia się : αα'- dipirydyl, o-fenantrolin, kwas sulfosalicylowy czy tiocyjanian amonu lub potasu czy dwupirydyl [1], [2]. Dwupirydyl odznacza się wysoką czułością i selektywnością, a dodatkowo pozwala na oznaczanie całkowitej zawartości żelaza po redukcji Fe^{3+} do Fe^{2+}. Powstałe w środowisku kwaśnym, obojętnym lub alkalicznym czerwono zabarwione kompleksowe połączenia jonów żelazawych z dwupirydylem podlegają prawu Lamberta-Beera (w szerokich granicach stężeń), a dodatkowo połączenia te są trwałe nawet w ciągu kilku miesięcy [2].

W trakcie oznaczania stężenia żelaza należy pamiętać, że wykorzystywana w badaniach surowica nie powinna wykazywać nawet śladu hemolizy, a w trakcie ozbaczenia należy szczególnie przestrzegać czystości odczynników, wody oraz szkła. Przygotowywane szkło powinno byc umyte w mieszaninie chromowej (lum mieszaninie kwasu siarkowego z kwasem azotowym). Woda wykorzystywana w oznaczeniu musi być podwójnie destylowana) [1].

Oznaczanie Fe(III) metodą rodankową z wykorzystaniem spektrofotometrii

Jony rodankowe (tiocyjanianowe) w w lekko kwaśnym środowisku mogą reagować z Fe(III), w wyniku czego powstają czerwono zabarwione kompleksy żelazowo-rodankowe. Maksimum absorpcji tych kompleksów przypada przy λ=480 nm. W wyniku stopniowej reakcji tzw. kompleksowania w roztworze mogą powstać kompleksy $Fe(SCN)^{2+}$, $Fe(SCN)2^{+}$ itd., aż do powstania $Fe(SCN)6^{3-}$. To, które kompleksy przeważają w roztworze zależne jest w dużej mierze od stężenia reagentów oraz pH środowiska [3].

Za pomocą metody rodankowej można oznaczać zarówno zawartość jonów Fe(III) w roztworze, jak i całkowitą zawartość żelaza. Możliwe jest to po wcześniejszym utlenieniu Fe(II). W trakcie oznaczenia pojawiają się związki przeszkadzające (aniony tworzące z Fe(III) trwałe kompleksy) takie jak: fluorki, fosforany, cytryniany, szczawiany, a także jony metali tworzących w warunkach reakcji barwne kompleksy (Co, Mo, Bi, Ti)[3].

Przygotowanie roztworów wzorcowych do oznaczenia:

a) roboczy roztwór wzorcowy soli Fe^{3+}: roztwór o stężeniu 10 µg Fe^{3+} /mL sporządzony przez 100-krotne rozcieńczenie roztworu podstawowego żelaza(III) o stężeniu 1mg Fe^{3+} /mL 0,1%-wym roztworem HCl.

b) roztwór roboczy: należy przygotować w kolbie o pojemności 100 mL po wcześniejszym jej przepłukaniu 0,1% roztworem kwasu solnego (HCl).

c) przygotowanie serii roztworów wzorcowych (do przygotowania krzywej kalibracyjnej): 6 kolbek miarowych o pojemności 50 mL należy przepłukać za pomocą 0,1M roztworu HCl. Następnie do każdej z nich należy odpipetować odpowiednie objętości roboczego roztworu wzorcowego o stężeniu 10 µ g/mL: 0 (ślepa próba), 2,00; 4,00; 6,00; 8,00 i 10,00 mL. Do kolbek dodać 5 mL 20% roztworu tiocyjanianu potasu, po czym uzupełnić do kreski 0,1 M roztworem HCl. Roztwory dokładnie wymieszać, a dalej kolejno przelać do kuwety i zmierzyć ich absorbancję przy długości fali równej

λ=480 nm (stosując jako odnośnik roztwór ślepej próby). Na podstawie otrzymanych wyników wykreślić wykres krzywej kalibracyjnej [3].

Wykonanie oznaczenia:

Badany roztwór należy przenieść ilościowo do skalibrowanej kolby miarowej o pojemności 100 ml. Próbkę dopełnić wodą destylowaną do kreski, całość dokładnie wymieszać, po czym z otrzymanego roztworu pobrać trzy 25-ml porcje (do kolbek miarowych o poj. 50 ml). Następnie do każdej kolbki dodać 5 ml 20% roztworu tiocyjanianu potasu, a całość uzupełnić do kreski za pomocą 0,1 M roztworu kwasu solnego (HCl).

Wszystkie przygotowane w powyższy sposób roztwory należy dokładnie wymieszać, a dalej przelać kolejno do kuwety spektrofotometrycznej. Zmierzyć absorbancję próbek przy długości fali równej λ= 480 nm stosując jako odnośnik roztwór ślepej próby. Na podstawie otrzymanych wyników odczytać stężenie żelaza (III) w barwnym roztworze z krzywej kalibracyjnej i obliczyć oznaczaną ilość żelaza (wartość w mg) korzystając z poniższego wzoru:

$$X = c \cdot v / 1000 \ [mg]$$

gdzie:

c – stężenie żelaza odczytane z krzywej kalibracyjnej (µg/ml),

v – objętość badanego roztworu żelaza (w powyższym przykładzie = 50 ml) [3].

Oznaczanie żelaza w materiale roślinnym (wg Krauze A., Domska D., 1969)

1) Należy odważyć około 1-2 g suchej, zmielonej próbki roślinnej i po zwęgleniu na łaźni piaskowej spala się przez 3-4 godz w piecu w temperaturze ok. 450-500°C. W celu przyspieszenia spalania do ostudzonego popiołu zwilżonego wodą destylowaną dodaje się 0,5-1 ml wody utlenionej (ok. 33%) i po odparowaniu na łaźni wodnej spala się jeszcze przez 1 godzinę.

2) W przypadku uzyskania ciemnej barwy popiołu do próbki należy dodać 0,5-1 ml kwasu nadchlorowego, po czym próbkę spalać na łaźni piaskowej do odparowania kwasu i uzyskania szarobiałej (słoma) lub białej (ziarno) barwy popiołu.

3) Otrzymany, ostudzony popiół zwilżyć 2 ml wody destylowanej i dodać 5 ml kwasu solnego wcześniej rozcieńczonego wodą w stosunku 1 : 1. Próbkę przykryć szkiełkiem zegarkowym, a dalej podgrzać do wrzenia i rozpuszczenia. Po ostudzeniu do próbki dodać 5 ml 25% kwasu siarkowego, a dalej odparować do momentu usunięcia z próbki kwasu solnego.

4) Otrzymany roztwór należy rozcieńczyć za pomocą gorącej wody destylowanej, po czym roztwór przesączy przez średnie sączki do kolb miarowych o objętości 50 ml (sączek należy kilkakrotnie przemywać gorącą wodą destylowaną).

5) Po ostudzeniu i uzupełnieniu wodą destylowaną do kreski oraz po dokładnym wymieszaniu z przygotowanej próbki należy pobrać 5 ml (co odpowiada 0,1-0,2 g substancji roślinnej i stężeniu

0,5 ml 25-procentowego kwasu siarkowego) do probówek kalibrowanych na 25 ml. Następnie dodać 1ml p-hydroksyfenyloglicyny(tj.: 0,1 g rozpuszczony w 100 ml 0,4 M kwasu siarkowego), 1 ml dwupirydylu (tj.: 0,5 g w 100 ml 10% kwasu octowego) oraz 4 ml wodorotlenku sodu w celu doprowadzenia do pH 4,0.

6) Uzupełniony do kreski wodą destylowaną i wymieszany barwny roztwór kolorymetruje się przy długości fali równej λ= 490 nm w kuwetach o grubości warstwy równej 1 cm [2].

« | **1** | 2 | 3 | 4 | »
https://laboratoria.net/artykul/23299.html
Informacje dnia: Nowa metoda stereo EEG daje szansę pacjentom z lekooporną padaczką Wrocław/ Muzeum Medycyny Sądowej Wirus Nipah nie stanowi obecnie dla nas zagrożenia epidemicznego Tłuszcz beżowy wpływa na ciśnienie krwi Obiecująca metoda leczenia raka trzustki Przeszczepy kałowe mogą zwiększyć skuteczność leczenia raka nerki
Nowa metoda stereo EEG daje szansę pacjentom z lekooporną padaczką Wrocław/ Muzeum Medycyny Sądowej Wirus Nipah nie stanowi obecnie dla nas zagrożenia epidemicznego Tłuszcz beżowy wpływa na ciśnienie krwi Obiecująca metoda leczenia raka trzustki Przeszczepy kałowe mogą zwiększyć skuteczność leczenia raka nerki Nowa metoda stereo EEG daje szansę pacjentom z lekooporną padaczką Wrocław/ Muzeum Medycyny Sądowej Wirus Nipah nie stanowi obecnie dla nas zagrożenia epidemicznego Tłuszcz beżowy wpływa na ciśnienie krwi Obiecująca metoda leczenia raka trzustki Przeszczepy kałowe mogą zwiększyć skuteczność leczenia raka nerki

Partnerzy