

Tesis de Posgrado

Dosificación de sulfatos urinarios (métodos volumétricos)

Scalamandr , Alba Argentina

1950

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química
de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Scalamandr , Alba Argentina. (1950). Dosificación de sulfatos urinarios (métodos volumétricos). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0617_Scalamandre.pdf

Cita tipo Chicago:

Scalamandr , Alba Argentina. "Dosificación de sulfatos urinarios (métodos volumétricos)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1950.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0617_Scalamandre.pdf

T

T E S I S

: : : : :

DOSIFICACION DE SULFATOS URINARIOS
(Métodos volumétricos)

Presentada por

Alba Argentina Scalamaré

Para optar al título de Doctora en Química

_____ **1 9 5 0** _____

Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales

Universidad de la Ciudad de Buenos Aires

-----000----- *Cesta - 617*

A M I P A D R E

PALABRAS PREVIAS

Esta tesis cuyo tema fué propuesto por el Dr. Ariel Guerrero, tiene por finalidad, simplificar la tarea de rutina de los laboratorios clínicos.

Quede gratamente reconocida al Dr. Eduardo García por su amable participación al presentar este trabajo ante la mesa examinadora.

Al Dr. Ariel Guerrero, que dirigió en su totalidad esta tesis, orientándome, colaborando con la eficiencia y gentileza que le son características, quede sumamente agradecida.

A las autoridades del Hospital Policial "Bnó. Churraras" que permitieron desarrollar prácticamente mi labor en dicha Institución; Al jefe del Laboratorio Bioquímico Dr. Eduardo Krüner y a los Dres. Oscar Gómez y Ernesto Valentini, que en todo momento trataron de estimular mi tarea, otorgándome toda clase de facilidades, dejo constancia de mi reconocimiento.-

P L A N

- 1) Introducción.
- 2) Origen del azufre urinario.
- 3) Coeficiente de eliminación normal y variaciones.
- 4) Descripción de los métodos empleados para la dosificación de sulfatos.
 - a) método gravimétrico.
 - b) método volumétrico.
- 5) Empleo de métodos volumétricos con indicador externo.
- 6) Acido rodanfénico y tetrahidroxiquinona.
- 7) Parte experimental.
 - 1) Trabajos preliminares de orientación.
 - 2) Comparación de resultados entre métodos gravimétricos y volumétricos.
 - 3) Aplicación del método de Hinman al dosage de sulfatos urinarios y comparación con los anteriores.
 - 4) Influencia del PH en la titulación de sulfatos, empleando indicador externo.
 - 5) Estudio de las variaciones de los sulfatos urinarios con regimenes alimenticios.
 - 6) Variaciones patológicas.
 - 7) Dosificación del azufre de sulfocombinados, empleando indicador externo; sus variaciones.
 - 8) Conclusiones.
 - 9) Nota Bibliográfica.

I N T R O D U C C I O N

Actualmente la determinación de sulfatos orgánicos e inorgánicos en la orina se realiza por dos métodos:

- a) Por precipitación como sulfato de bario.
- b) Por precipitación como sulfato de benecidina.

En un laboratorio donde el número de muestras diarias es grande, interesa conocer el dato rápidamente con exactitud y precisión aceptables; tal ocurre particularmente al estudiar procesos de desintoxicación.

La importancia de la determinación deriva de la propiedad del azufre como desintoxicante de las sustancias que penetran en el organismo ó se originan en el verificándose una combinación como medio de defensa frente a las sustancias tóxicas exógenas o endógenas, las cuales se excretan por el riñón como sulfoésteres.

Todo esto adquiere gran importancia en los trastornos hepáticos, procesos de putrefacción intestinal y casos de afecciones renales.

Las sustancias de la serie aromática formadas pierden su toxicidad al combinarse con el ácido sulfúrico; así en casos de intoxicación con lisol, ácido fénico, etc.; aumentan los ésteres sulfúricos contenidos en la orina hasta el punto de no eliminarse casi, sulfatos como tal; los ésteres sulfúricos se encuentran en forma de ácido cresol sulfúrico, indoxil sulfúrico, etc., y deben su origen a las sustancias de la serie aromática ingeridas, que en el organismo se combinan con el radical sulfato y a los cuerpos aromáticos que se desarrollan por putrefacción intestinal, es decir por un proceso bacteriano de destrucción de las albúminas.

Es generalmente aceptado que la conjugación del fenol con el ácido sulfúrico tiene lugar en el hígado. Esto es aparentemente una función general de los tejidos vivientes excepción hecha del riñón aunque, el lugar de preferencia es el intestino.

El trabajo de Marensi confirma los anteriores de Herter y Vakeman en los que se establece que en especial el epitelio intestinal es muy eficiente para la absorción y conjugación de los fenoles.-

In vitro, se ha demostrado que el intestino es más activo que el hígado para la conjugación de los fenoles con el ácido sulfúrico (Arnoldt y De Meio, 1941). Según los trabajos de Borheim, el que ha experimentado sobre el metabolismo del fenol es provocada por un sistema de enzimas termolábiles.

En circunstancias normales la cantidad de ésteres sulfúricos formados contiene aproximadamente la décima parte de la cantidad total de anhídrido sulfúrico excretado.

En análisis de rutina la proporción de sulfatos no es dato obligatorio; pero su importancia clínica es confirmatoria, como ocurre en casos de nefritis, especialmente en algunas de sus variedades, en que la proporción de sulfatos disminuye debido a la disminución de la permeabilidad renal.

De lo antedicho resulta pues evidente la conveniencia de hallar un método rápido y aceptablemente exacto, aplicable a orinas.

El método del sulfato de bario clásico es gravimétrico y exige los cuidados conocidos para mantener su exactitud; y el método volumétrico del sulfato de benidina incluye la filtración y lavado del precipitado obtenido.

Todas estas consideraciones nos hicieron buscar en la volumetría de sulfato de bario, empleando el rodionato de sodio y la tetrahidroquinona como indicadores, un método fácilmente aplicable a orinas, aplicación sobre la cual no encontramos antecedente en la bibliografía consultada.

Nota:

Todos los datos de esta tesis están expresados en grs. de SO₃ por mil, salvo indicación en contra.-

P A R T E T E O R I C A

AZUFRE URINARIO:

Su origen y proporción:

Los sulfatos urinarios tienen origen en las sustancias proteínicas que se ingieren en la alimentación; y en menor proporción se encuentra la porción correspondiente a la continua desintegración de los tejidos.

El estudio de los sulfatos urinarios proporciona datos importantes sobre el proceso metabólico de las proteínas, pues está íntimamente ligado a los distintos procesos fisiológicos que tienen lugar en los organismos vivos, es indispensable para la realización de los mismos y está vinculado a la asimilación, metabolismo y catabolismo.

Los sulfatos en la orina corresponde a la fracción de sustancias inorgánicas, las que constituyen 23 por mil en orinas normales, siendo la cantidad total de SO_3 eliminando diariamente de : 1,50 a 3,00 grs. por litro; neutralizado por los iones sodio, potasio, calcio y magnesio.

Sustancias inorgánicas ó minerales de la orina

Datos medios por litro:

Cloro.....	6,00	grs.
Fósforo.....	3,50	"
Azufre(SO_3).....	2,50	"
Potasio(K_2O).....	2,50	"
Sodio(Na_2O).....	4,00	"
Magnesio(MgO).....	1,80	"
Calcio(CaO).....	2,00	"
Amonio(NH_4).....	0,70	"

23,00 "

FRACCIONES EN QUE PUEDE REPARTIRSE EL AZUFRE URINARIO:

En la orina el azufre existe en tres formas:

- a) Sulfatos inorgánicos.
- b) Sulfoésteres.
- c) Azufre neutro.

Las dos primeras formas se denominan también azufre oxidado o sulfatos totales. El conjunto de las tres formas se llama azufre total; siendo la cantidad eliminada diariamente de 2,5 grs. aproximadamente calculando como anhídrido sulfúrico.

a) Sulfatos inorgánicos: El ácido sulfúrico es eliminado por la orina neutralizado por los iones sodio, potasio, calcio y magnesio. Constituye la fracción más importante del azufre de la orina. Se eliminan en esta forma, unos 2 grs. aproximadamente calculados como anhídrido sulfúrico.

Una pequeñísima fracción de los sulfatos inorgánicos en la orina, proviene de los preexistentes en los alimentos, pues la mayor parte se origina en la oxidación completa de los aminoácidos azufrados; cistina y metionina. Su concentración varía, por esta razón, con la cantidad de proteínas destruidas por el organismo.

b) Sulfoésteres: Las sustancias tóxicas, como el fenol, el indican, el paracresol, la hidroxiquinona, etc. se eliminan por la orina en forma de complejos o productos de conjugación con el ácido sulfúrico.-

Su presencia en la orina está en relación con los procesos de putrefacción intestinal.

La cantidad de sulfoconjugados eliminados diariamente, es alrededor de 0,3 grs., aproximadamente calculada como anhídrido sulfúrico.

En la formación de sulfoconjugados se utilizan, al parecer el azufre que proviene de la oxidación de los aminoácidos que los contienen y que en alguna de las etapas intermedias se combinaría con los fenoles.

La presencia de azufre conjugado en la orina se puede reconocer de la manera siguiente: Se separan primero los sulfatos inorgánicos como se ha señalado; la

ozina sin sulfatos, así obtenida, se hace hervir con ácido clorhídrico y se agrega después cloruro de bario; el nuevo precipitado que se forma corresponde al ácido sulfúrico de los sulfoésteres.

c) Azufre neutro: Existe en la orina en forma de cistina, cisteína, glutatión, sulfocianuro, mercaptán, et., La cantidad total eliminada en 24 horas es de unos 0,2 grs. calculada como anhídrido sulfúrico. Sus variaciones son independientes de las variaciones de los sulfatos inorgánicos y por lo tanto son también independientes de la cantidad de proteína metabolizada. Se considera a esta forma de azufre, lo mismo que la creatinina como un índice de metabolismo endógeno.

Se reconoce el azufre neutro de la orina, porque, a diferencia de los sulfatos inorgánicos y etéreos, no precipita directamente o después de la hidrólisis, con cloruro de bario

-----oOo-----

VARIACIONES FISIOLÓGICAS DE LAS DISTINTAS VARIEDADES
DE SULFATOS

Influencia de la edad:

Durante el primer año la cantidad de sulfatos eliminada aumenta con la ración alimenticia ingerida hecho que demuestra que los procesos de putrefacción intestinal deben ser poco activos en los lactantes; la proporción de sulfatos eliminado por niños alimentados con leche de vaca es más elevada que la de los alimentados con leche materna.

En niños de cuatro a siete años sometidos a regímenes alimenticios mixtos, la dosificación de azufre total y de sulfatoésteres arrojó un término medio de 0,0064 grs. por día; como máximo 0,120 y como mínimo 0,030; las proporciones de sulfatos etéreos referidas a 100 partes de azufre total es:

Edad:	
4 años.....	8,70 %
5 "	12,30 "
6 "	10,20 "

Estas proporciones varían con la naturaleza de la alimentación aumentando con regímenes ricos en carnes y disminuyendo con alimentación rica en hidratos de carbono ó con dieta láctea.

Influencia del régimen alimenticio:

Se alcanza un máximo de sulfatos totales con una alimentación rica en proteínas, llegándose a un mínimo con regímenes vegetarianos; la eliminación de los sulfatos es máxima después del mediodía y por las noches; durante la inanición disminuyen notablemente los sulfatos.

Influencia varias:

1) 1)

Trabajo:

Con el trabajo muscular aumenta la proporción de sulfatos, en cambio y de acuerdo con las investigaciones de Thorion el trabajo intelectual actúa en sentido inverso.

Medicamentos:

2)

La cistina, taurina, flor de azufre, etc. aumentan el tenor de sulfatos propiamente dichos, mientras que los fenoles, antipirina acetanilida, fenacetina, tirosina, glúcidos e hidratos de carbono producen un aumento considerable de la fracción de sulfoconjugados; el cloral aumenta ambas fracciones, la quina disminuye la proporción de sulfatos.

Variaciones patológicas:

3)

Al estado patológico las variaciones de los sulfatos son generalmente paralelas a aquellas de nitrógeno, ya que estos elementos tienen el mismo origen albuminoide, en las enfermedades febriles se constata que la cantidad de sulfatos eliminada en veinticuatro horas es menor durante el período febril; en todas las enfermedades crónicas el sulfato total disminuye; en las enfermedades febriles agudas como pneumonia, reumatismo, etc., los sulfatos aumentan paralelamente al nitrógeno urinario.

Pneumonia	Período febril	Dieta	Reg.abundante
-----------	----------------	-------	---------------

2,86 grs.SO3 por mil	1,19	1,83
----------------------	------	------

En las diabetes con albuminuria la eliminación de sulfatos aumenta paralelamente a aquella de nitrógeno, se ha observado igualmente un aumento notable de sulfatos urinarios en las atrofas musculares progresivas, en las leucemias, parecería que en este caso el aumento de los sulfatos se debiera al aumento de azufre medular; en las convalecencias de ciertas enfermedades febriles y en las ictericias catarrales se observa una disminucion.

La proporción de ésteres sulfúricos aumenta en casos de fermentaciones pútridas y post digestivas, tifus tuberculosis intestinales, afecciones estomacales y en general en todos los casos en que la absorción de los productos de la digestión de las albúminas sea impedido; en los casos de ictericia se explicaria un aumento aceptando la hipótesis de que la bilis actúa como antiséptico intestinal.

Se produce una disminucion de sulfoésteres en casos de enfermedades microbianas como la escarlatina, variola, pneumonia, eripisela, difteria, meningitis, sífilis y cólera; este último caso especialmente ha sido estudiado por Hoppe Seyler., siempre que se acentuen los procesos destructivos de las proteínas copíceas como en las caquezias y tumores malignos desciende el cociente; $\frac{\text{Azufre ácido}}{\text{Azufre neutro}}$, ya sea por disminucion del valor del numerador ó por aumento del denominador.

Descripción de los métodos empleados en la dosificación de sulfatos urinarios:

Método gravimétrico

13)

a) Fundamento:

Precipitación de los sulfatos con solución de cloruro de bario; como sulfatos de bario:

1) En medio acético los sulfatos inorgánicos.

11) Después de ebullición en medio clorhídrico, los sulfatos orgánicos.

b) Reactivos:

Solución de cloruro de bario N/10.

Acido clorhídrico D.1,19.

Acido acético.

c) Técnica:

1)

Tomar 100 ml de orina, agregar unos 5 ml de ácido acético, dejar reposar 30 m., filtrar; entibiar el líquido transparente a unos 50° aproximadamente y agregar 5 ml de solución de cloruro de bario, dejar reposar 1 hora; aunque algunos autores prefieren 24 horas, de reposo, al líquido sobrenadante se agregan algunas gotas de cloruro de bario, si aún se observa precipitación se agregan de 2 a 3 ml y se deja nuevamente en reposo.

Se filtra empleando papel cuyo contenido de cenizas se conoce se lava el precipitado con agua destilada caliente, se deseca en estufa, en crisol de porcelana previamente calcinada y tarado.

Se seca y carboniza el papel a baja temperatura, se calcina durante 10 m. al rojo moderado y se pesa hasta constancia; el resultado se expresa en grs. de anhídrido sulfúrico por litro de orina.-

Al agregar el cloruro de bario debe tenerse en cuenta que si se agrega rápidamente, aumenta la adsorción de cloruro de bario y si se agrega despacio aumenta la adsorción de sulfatos alcalinos dando un error por defecto.

-----oO-----

Método volumétrico:

(1)

a)Fundamento:

Consiste en la precipitación de los sulfatos como sulfato de bencidina en medio ácido, su filtración y valoración del sulfúrico con solución N/10 de hidróxido de sodio, empleando fenolftaleina como indicador.

b)Reactivos:

Acido clorhídrico 1%.

Solución diluida de bencidina.

Solución alcohólica de fenolftaleina.

Solución N/10 de hidróxido de sodio.

c)Técnica:

A 20 ml de orina previamente filtrada y neutralizada, se agregan 2 ml de ácido clorhídrico al 1% y 350 ml. de solución diluida de bencidina; se agita y deja durante 15 m. se filtra y lava el precipitado con agua destilada; el filtro conteniendo el precipitado se vierte en una cápsula de porcelana, se agrega agua destilada, y unas gotas de fenolftaleina.

Se lleva a ebullición y se mantiene, se deja caer gota a gota una solución N/10 de hidróxido de sodio hasta coloración roja persistente.

d)Cálculo:

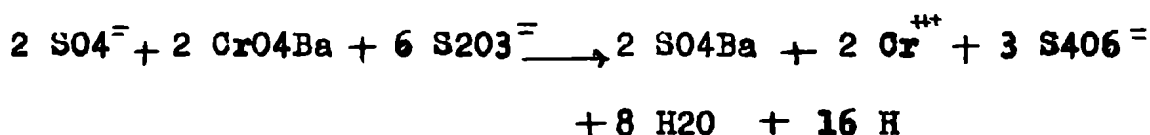
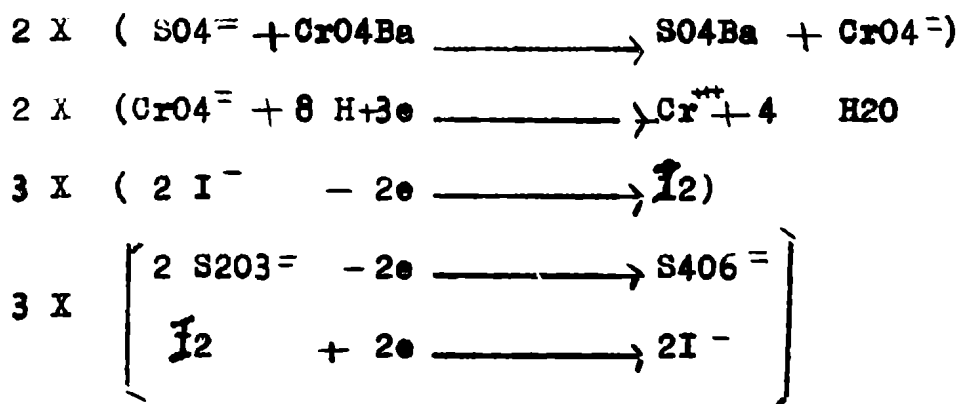
1 ml de solución de hidróxido de sodio equivale a 0,0049 de ácido sulfúrico ó 0,0040 de anhídrido sulfúrico.-

Método volumétrico de Hinman:

(25)

a) Fundamento:

Consiste en la precipitación de los sulfatos con cromato de bario y titulación del equivalente cromato liberado con yoduro y tiosulfato:



b)

Reactivos:

Cromato de bario.

Preparación: se precipitan cantidades equivalentes de cromato de potasio y cloruro de bario, éste en ligero exceso a la temperatura de ebullición; se filtra el precipitado se lava con solución de ácido acético al 1 %, luego con agua y se filtra; 4 grs de este cromato se disuelven con solución de ácido clorhídrico normal, llevando luego a 1 litro.

Amoníaco.

Acido clorhídrico concentrado.

Yoduro de potasio al 10 %.

Solución N/10 de tiosulfato de sodio.

e) Técnica:

La solución con no más de 2 % de sulfatos se neutraliza si es ácida con hidróxido de amonio, hasta neutralidad exacta, si se produce un precipitado en frío ó en caliente se filtra, se lleva a ebullición y se agrega un exceso de cromato de bario, se continua la ebullición más de un minuto y se neutraliza la solución caliente con amoníaco; se filtra, el líquido filtrado contiene el cromato de sodio liberado por los sulfatos, por doble descomposición: se acidifica con 5 % de ácido clorhídrico concentrado y se agregan unos 5 mls. de ioduro de potasio al 10 % calculando un exceso, se libera 1 equivalente al ácido crómico. Se procede a titular el 1 con solución N/10 de tiosulfato de sodio.

d) Cálculos:

1 ml. de tiosulfato de sodio equivale a 0,003269 grs. de ácido sulfúrico.-

Método volumétrico directo:

Indicadores: Tetrahidroxiquinona y rodizonato de sodio.

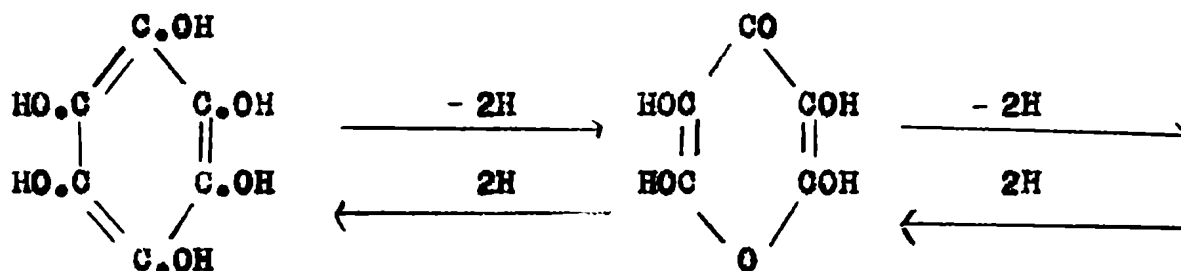
Tetrahidroxiquinona

Es un conjunto cristalino soluble en alcohol y en agua caliente, la estabilidad de cualquiera de estas soluciones es limitada siendo más estable la solución alcohólica; ambas se oxidan fácilmente.

Esta interesante serie reversible da una idea sobre estos compuestos polifenólicos y su estructura; el hexahidroxibenceno es inestable en solución neutra acuosa y no es muy soluble en alcohol.

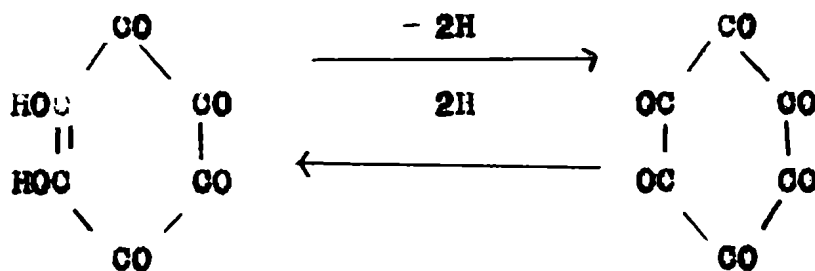
Hexahidroxibenceno

Tetrahidroxiquinona



Acido rodizónico

Triquinonil



Acido Rodizónico:

El ácido rodizónico libre no es estable y unicamente es aprovechable su sal de sodio o de potasio, las soluciones acuosas de los rodizonatos de sodio y de potasio son algo más estables.

Feigl y Suter indican las coloraciones que producen ciertos cationes en presencia del rodizonato de sodio.

CATION	SOLUCION NEUTRA	SOLUCION ACIDA
Ag	Negro	Negro
Hg	Marrón rojizo	Marrón rojizo
Tl	Marrón oscuro	Marrón oscuro
Pb	Azul violado	Escarlata
Cu	Anaranjado	
Cd	Marrón rojizo	Marrón rojizo
Bi	Marrón rojizo	
Zn	Marrón violado	
UO ₂	Marrón	
Ba	Rojo marrón	Rojo marrón
Sr	Rojo marrón	

(5)

Uso de la tetrahidroquinona y el rodionato de sodio en la determinación de sulfatos por métodos volumétricos:

En diversos trabajos se ha descrito el método volumétrico de determinación de sulfatos con cloruro de bario empleando como indicadores la tetrahidroquinona ó su sal de sodio y el rodionato de sodio; sales de bario solubles no muy diluidas dan con rodionato de sodio un precipitado fino flocooso, rojo carmín quedando un líquido rojo en medio clorhídrico, no así en presencia de exceso de ión sulfato. (7),(11).-

El empleo de estos indicadores se funda en el hecho de que al agregar cloruro de bario a una solución que contiene sulfatos estos precipitan en forma de sulfato de bario, y llegado el momento de la precipitación total, la presencia de iones bario libres es indicada por el color rojo debido a la sal de bario del indicador; la sensibilidad llega a más o menos 0,2 mg de sulfatos. (11),(7); la exactitud de la valoración depende del analista y de su habilidad, pues el punto final es inestable y de difícil apreciación.-

En soluciones neutras de sulfatos es reconocible el exceso de bario por virar la coloración del amarillo al rojo, en forma poco nítida y en un amplio intervalo, con ácido sulfúrico diluido ó sulfatos solubles es muy difícil la titulación, pues al agregar al indicador se produce ácido rodiónico libre que se destruye de inmediato, de manera que no puede llegarse a la formación del rodionato de bario; el ácido rodiónico es sensible a sales de bario: 1/210.000, una solución conteniendo 10 a 15 mg de indicador en 15 ml de agua es solamente estable una hora más o menos.-

Influencia del pH:

A pH 2 cada uno de los indicadores en la forma fenólica existe al estado libre y no puede formar sales, el hexahidroxibenzeno libre y el ácido resorcinico en solución acuosa tienen coloración blanca, la tetrahidroquinona en solución ácida muy diluida es amarilla, en presencia de iones bario a un pH 2 puede haber muy poco cambio de coloración, pues hay solamente una débil asociación de los iones.

A pH 7 los grupos fenólicos libres no están completamente neutralizados en solución diluida, sin embargo parece haber muy pequeñas diferencias de solubilidad entre las sales de bario del indicador a pH 7 y las mismas sales a valores más altos; a pH 4 puede hacerse la titulación cuando hay un contenido apreciable de fenatos en la solución, es importante considerar que la dilución con alcohol provoca un aumento del pH en una unidad la experiencia indica que si una solución a valorar se ajusta a pH 6, la dilución posterior con alcohol le permite ser valorada con mayor precisión.

INDICADOR	CATION	NEUTRA	ACIDA
		pH 7,4	pH 3,08
Tetrahidroquinona	Ag	Azul oscuro	Azul oscuro
	Pb	Violeta	Violeta
	Cu	Amarillo	Amarillo Anar
	Ba	Violeta	Violeta
	Fe	Anaranjado	Azul
	Br	Anaranjado	—
Acido Resorcinico	Ag	Negro	Azul oscuro
	Pb	Amarillo	
	Cu	Anaranjado	Amarillo Anar
	Ba	"	
	Fe	"	Azul
	Br	"	Anaranjado

Procedimiento:

Indicador interno:

La muestra conteniendo sulfatos en una proporción de 2 a 20 mg en 25 ml se neutraliza, ajustando el PH entre 6,4 y 7,5. Ese punto se logra agregando ácido clorhídrico 0,003 N hasta reacción ácida a la fenolftaleína, se agrega un volumen igual de alcohol y unas gotas de solución del indicador, se agrega gota a gota solución de cloruro de bario 0,025 N, hasta la aparición de color rojo que indica el punto final, debe agitarse convenientemente la muestra durante la titulación.

Indicador externo:

Frecuentemente se han empleado estos indicadores como externos para lo cual se practican en un papel de filtro pequeñas manchas con la solución alcohólica del indicador, en presencia de aire estas manchas son estables aproximadamente una hora; puede prolongarse su estabilidad conservando el papel manchado en desecador con cloruro de calcio.-

TECNICA PROPUESTA:

Aplicación del método volumétrico empleando como indicadores la tetrahiaroxiquinona y el rodizonato de sodio al dosaje de los sulfatos urinarios:

a) Reactivos:

Solución N/10 de cloruro de bario.
Solución conc. de ácido acético.
Indicador.

Preparación de los papeles indicadores:

Sobre una hoja de papel de filtro se practicaron pequeñas manchas con soluciones de rodizonato de sodio (1 en mil, solución acuosa) y solución alcohólica en tetrahidroxiquinona (1 en mil), para ello se utilizó una varilla estirada con un pequeño acodamiento en el extremo, obteniéndose manchas de 2 a 3 mm. aproximadamente de diametro.

b) Técnica

A la muestra de orina a ensayar, se le determina el Ph con papeles indicadores, se vierten 25 ml de orina en un vaso orlenmeyer y si el valor de PH es superior a 4, se acidifica con solución de ácido acético al medio.-

Como se verá más adelante, la experiencia muestra que los fosfatos interfieren a un PH superior a 4, las orinas los contienen en una proporción de 2,5 a 3,5 expresados en P205 por mil.

Una vez la muestra en condiciones, y por otra parte los papeles preparados con el indicador se comienza la valoración con solución N/10 de cloruro de bario, se prueba con toques sobre las manchas del indicador, hasta viraje del color amarillo de las mismas; este ensayo sirve de orientación, luego se repite con una nueva muestra arinando el punto final.

En presencia de iones bario en exceso, la mancha del rodizonato de sodio se torna rojo ladrillo y la de tetrahidroxiquinona, violeta.

Fración correspondiente a los sulfatos:

Como primer paso se desan los sulfatos propiamente dichos de acuerdo a la técnica anterior; se filtra y sobre el líquido proveniente del filtrado se agrega alrededor de 15 ml de solución diluida de ácido clorhídrico, la muestra así ácida se hierve y luego se deja enfriar.

En medio clorhídrico los sulfatos estéreos quedan en libertad y en condiciones de precipitar con la solución de cloruro de bario. Se procede a la titulación igual que en el caso anterior.

-----oOo-----

Se ensayó el método evitando el filtrado del líquido proveniente de la precipitación de sulfatos propiamente dichos y se llegó a resultados satisfactorios concordante con los anteriores.-

-----oOo-----

Ensayo de la tetrahidroquinona y el rodizonato de sodio como indicadores internos, para el ensayo de sulfatos urinarios:

Sobre 25 ml de orina acidificada con ácido acético a un pH alrededor de 4, se agregaron unas gotas de solución del indicador, se valoró con solución N/10 de cloruro de bario.

Se llegó a la conclusión que con ambos indicadores pasa inadvertido el punto final.-

-----oOo-----

Muestras de orina que contienen indicoán y escatol.

En base a los estudios anteriores se experimentó sobre orinas conteniendo proporciones apreciables de indicoán y escatol; y se llegó a resultados que demuestran un sensible aumento de los ésteres sulfúricos urinarios.

Para la comprobación de la presencia de indicoán y escatol se siguieron técnicas de Maillard y Obermayer.

Técnica de Maillard:

Se defecaron 10 ml de orina con 1 ml de acetato de plomo, se agitó y se filtró, 10 ml de este filtrado se colocaron en tubo de ensayo y se agregaron 10 ml de HCl conc. y 2 ó 3 ml de cloroformo.

Se agitó fuertemente luego se dejó reposar, y se agregaron unas gotas de agua oxigenada (1/10); el cloroformo se coloreó de azul violeta; indicando la presencia de indicoán.

Técnica de Obermayer:

Siguiendo esta técnica se empleó como agente oxidante el reactivo de Obermayer compuesto por: cloruro férrico en solución clorhídrica al 5 %.

Luego se siguió como en el caso anterior.

-----oOo-----

La investigación se basa en la liberación previa del indoxilo por el agregado de un ácido y su posterior oxidación a indigo azul sea por el aire ó por el agregado de algún oxidante.

La oxidación del indoxilo, una vez puesto en libertad, da lugar a la formación de un compuesto, hemí indigo que se transforma en medio alcalino, por polimerización en indigotina y en medio ácido en un isómero de posición, de color rojo, la indirrubina.

Por eso el cloroformo que se agrega en la reacción puede tomar un color violáceo o un color más o menos rojizo, según que predomine la indigotina o la indirrubina.

Muestras que contienen fosfatos

Sobre la muestra N° 1 se procedió a la precipitación de los fosfatos y sobre el líquido transparente del filtrado se dosaron los sulfatos, obteniéndose un resultado concordante con la determinación anterior, aún llevando el PH a valores hasta 7.

Comprobaciones posteriores empleando grandes cantidades de fosfatos demostraron que aún en medio ácido conveniente, proporciones de 30 gra. por mil de P₂O₅ impiden la determinación de sulfatos por los métodos volumétricos empleados.

Por debajo de esa cifra pueden dosarse los sulfatos acidificando adecuadamente el medio, con ácido acético.-

PARTE EXPERIMENTAL

- 1) Coloraciones de cationes con soluciones de tetrahidroxiquinona y rodizonato de sodio.
- 2) Estabilidad de las soluciones de tetrahidroxiquinona y rodizonato de sodio.
- 3) Ensayos preliminares de orientación con soluciones de ácido sulfúrico puro.
 - a) Preparación de soluciones de ácido sulfúrico de las siguientes concentraciones: 4,9;2,45:1,22 grs por mil .
 - b) Valoración gravimétrica de esas soluciones, empleando el método descrito en la pag.9.
 - c) Aplicación del método volumétrico empleando la tetrahidroxiquinona y el rodizonato de sodio como indicadores internos.
 - d) Aplicación del método volumétrico empleando la tetrahidroxiquinona y el rodizonato de sodio como indicadores externos.
 - e) Valoración volumétrica de soluciones de concentración conocida de ácido sulfúrico empleando el método de Hinman descrito en pag. 12.
 - f) Comparación de los resultados obtenidos con los métodos mencionados.
- 4) Empleo del método volumétrico empleando indicador externo para grandes concentraciones de sulfatos.
- 5) Aplicación de los métodos ensayados a la orina y comparación de resultados.
 - b) Interferencia de fosfatos.
 - c) Variaciones de las cantidades de sulfatos debidas a diferentes causas.

Estudio práctico de las coloraciones de algunas sales en presencia de la tetrahidroxiquinona y el hidrogenato de sodio.

CATION sol. acuosa	MOD. DE SODIO	TETRAHIDROXI- QUINONA
Hg.	Violeta oscuro	Rojo oscuro
Ag.	Azul violeta	Negro
UO ₂	Rosado	Marrón
Zn	Rojo naranja	Rojo naranja

— 00 —

Estudio de la estabilidad de las soluciones de tetrahidroxiquinona.

Concentraciones en sol. alcohólica	Tiempo	Resultado
0.210 grs. en 10 ml	20 días	No alteró
0.020 " " "	" "	" "
0.030 " " "	" "	" "
0.040 " " "	" "	" "
0.050 " " "	" "	" "
0.060 " " "	" "	" "

Se prepararon manchas en papel de filtro con las concentraciones anteriores y se guardaron en desecador con cierre de calcio; se comprobó a los 30 días que no se habían alterado y estaban en condiciones de ser usados.-

Hidrogenato de sodio:

Las soluciones acuosas en cualquier concentración no son estables por más de una hora.

Las manchas guardadas en desecador duran 15 días sin alterarse.-

Ensayos con soluciones de ácido sulfúrico puro:

Gras. SO3 por mil	4,00				2,00			0,99	
Mét. Grav	4,00				2,00			0,99	
Mét. vol. Ac. R	4,02	4,01	4,01	4,01	2,01	2,01	2,02	1,00	1,01
Mét. Vol. T.	4,03	4,02	4,01	4,01	2,01	2,01	2,01	1,00	1,00

Concentraciones:

4 grs de SO3 per mil
 2 " " " " "
 0,99 " " " " "

Soluciones de ácido sulfúrico puro

SO ₃ por mil	Mét. Vol. Ac.H.	Mét. Vol. T	Mét. Vol. Ninuan
0,12	0,12	0,12	0,11
0,24	0,24	0,24	0,23
0,36	0,36	0,36	0,36
0,60	0,61	0,60	0,59
1,20	1,21	1,20	1,19
2,40	2,40	2,40	2,39

Concentraciones:

0,12 gra. de SO₃ por mil
 0,24 " " " " "
 0,36 " " " " "
 0,60 " " " " "
 1,20 " " " " "
 2,40 " " " " "

Aplicación del método volumétrico empleando indicador externo a grandes cantidades de sulfatos:

Soluciones de ácido sulfúrico puro:

SO ₃ %	SO ₃ %	Ac. Rod.	Tetrah.
4	40	4,04 %	4,05 %
8	80	8,00 %	8,00 %
10	100	10 %	10 %
15	150	15 %	15 %

Concentraciones:

4 grs. de SO₃ %
 8 " " " "
 10 " " " "
 15 " " " "

Reactivos:

Se empleó solución normal de cloruro de bario para estas valoraciones.

Interferencia de fosfatos:

Los fosfatos se dosaron por precipitación con acetato de uranilo empleando cochinilla como indicador.

El Ph se tomó con papeles indicadores.

O R I N A S

P205 per mil	PH	Mét.vel Ac.R.	Mét.vel T.
3,60	6,4	No ppta	No ppta
2,50	6,0	" "	" "
2,30	7,0	" "	" "
2,00	5,5	" "	" "
2,80	6,7	" "	" "

En cada una de estas muestras se ajustó el PH con solución de ácido acético llevándola a 4; y se llegó a los siguientes resultados:

Muestra N°1.....2,50 de SO3 per mil
" N°2.....1,00 " " " "
" N°3.....3,60 " " " "
" N°4.....2,70 " " " "
" N°5.....1,54 " " " "

APLICACION A LA ORINA

Comparación de métodos

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Vol. Ac.R.	1,25	1,75	1,18	0,99	3,43	3,20	3,01	1,50	1,94	1,88	2,01	2,51	2,79
Vol. Tot.	1,25	1,74	1,19	0,98	3,42	3,21	3,01	1,49	1,94	1,87	2,02	2,52	2,72
Vol Hirman	1,24	1,72	1,17	0,97	3,42	3,19	3,00	1,50	1,93	1,85	2,01	2,52	2,79
Grav.	1,24	1,73	1,18	0,98	3,42	3,18	3,00	1,49	1,92	1,87	2,02	2,52	2,78

**Estudio de las variaciones de sulfatos
con los regimenes alimenticios:**

Regimen	Inanición	Inanición	Mixto	Mixto	Animal	Animal	Vegetal	Vegetal
Vol.								
Ac.K.	1,00	1,00	2,85	2,79	3,70	3,62	1,50	1,70
Vol.								
T.	1,00	1,10	2,86	2,79	3,70	3,61	1,50	1,69

Mientras que durante el ayuno el valor de los sulfatos eliminados llega a un valor mínimo, en casos de alimentación de origen puramente animal alcanza a un máximo; disminuye en los regimenes vegetarians y permanece en valores medios en regimenes mixtos.

Dosificación del azul de los sulfoconjugados:
Sus variaciones.

Muestra	Mét.vol.Ac.R.		Mét.vol. T		Sin filtrar
	S04	Sulfoést	S04	Sulfoést	Sulfoést
1	2,70	0,25	2,70	0,24	0,24
2	2,50	0,23	2,50	0,23	0,23
3	3,00	0,32	3,01	0,32	0,32
4	1,56	0,90	1,56	0,90	0,91

Variaciones de los sulfatos en
condiciones patológicas.

Page 7

Diagnóstico	Vol. No. R.	Vol. T.
Nefritis	3,45	3,45
" "	3,60	3,60
" "	3,87	3,87
Pneumonia	3,20	3,20
Post. febril	1,87	1,87
Leucocia	3,90	3,90
" "	3,85	3,85

Diagnostico	Mét.vol. Ac.R.		Mét.vol. T.	
	S04	Sulfoést	S04	Sulfoés
Observación	2,60	0,20	2,60	0,20
"	2,00	0,30	2,00	0,31
Ictericia	1,70	0,95	1,70	0,94
Neuritis	3,89	0,53	3,88	0,53
Gangrena pierna	0,50	1,56	0,51	1,56
Leucemia	3,76	0,46	3,75	0,46
Cardíaco	2,00	0,70	2,00	0,70
Pneumonia	3,61	0,50	3,60	0,50
Nea de pulmon	1,00	1,34	1,00	1,33
Alcoholizado	0,45	1,67	0,45	1,67
Sifilis	3,00	0,15	3,00	0,14
Difteria	2,87	0,20	2,87	0,20

Presencia de indioán y esotel

Muestra	Mét.vol. Ac.R.		Mét.vol. T.	
	SO4	Sulfoést	SO4	Sulfoést
1	2,00	1,00	2,00	1,00
2	1,90	1,00	1,90	1,00
3	2,10	0,85	2,10	0,84
4	1,50	0,70	1,45	0,70

Diagnóstico	Mét.vol. Ac.R.		Mét.vol. T.	
	SO4	Sulfoést	SO4	Sulfoést
Ictericia	1,60	0,90	1,60	0,90
" "	1,30	0,95	1,30	0,95
" "	1,20	1,40	1,20	1,41

CONCLUSIONES

1)

Se ha estudiado un método de dosaje volumétrico de sulfatos urinarios utilizando tetrahidroxiquinona y rodisonato de sodio como indicadores externos; se propone técnica para ambos tipos de sulfatos.

2)

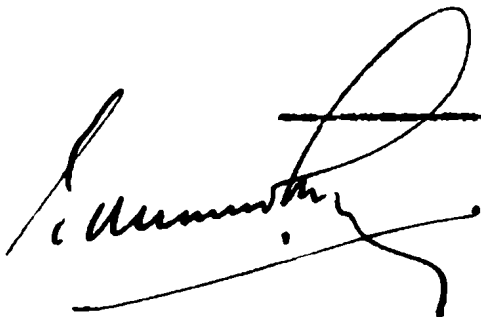
Para el trabajo en serie se obtienen resultados exactos y rápidos; los reactivos y material son los comunes de laboratorio; y, el indicador se usa en cantidades pequeñas mas por lo que resulta económico su empleo.

3)

La tetrahidroxiquinona es superior en duración al ácido rodizónico y a igualdad de otras condiciones es más recomendable.

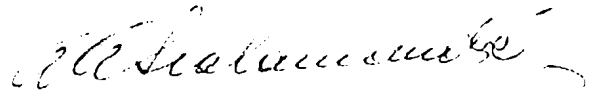
4)

La experiencia personal ha permitido comprobar que los papeles reactivos preparados con rodisonato de sodio y tetrahidroxiquinona conservados en desecador, se mantienen eficaces por un período de 20 y 30 días respectivamente.



Handwritten signature, likely of the author or researcher.

— 00 —



Handwritten signature, likely of the reviewer or official.

NOTA BIBLIOGRAFICA:

- 1) Anido y Fraguio; Laboratorio Clínico.-
- 2) Arthus M.; Precis de Chimie Physiologique.-
- 3) B.D.H.of Organic Reagents.-
- 4) Alicino J.F.; Analytical Chemistry, 20, 85, 6,(1948).-
- 5) Brunjes H .L.; Manning M.J. *ibid*, 12, 708, 20, (1940).-
- 6) Delefeu y Marenzi, Química Biológica.-
- 7) Feigl F.; *Microchem.* (1924) 2, 188.-
- 8) Friedrichan Kapepert, *Microchemie* 14, 4, (1933.-
- 9) Godbert A.L. and R.Bolcher; *Analyst* 64, 346, (1939).-
- 10) Giblin J.C.; *Analyst* (1933), 58, 752.-
- 11) Hoffman and Bess Osgood *Am. J. Path*; 15, 293, 6,(1945).-
- 12) Hallet L.T.Knipers J.W.*ibid* 12, 360, 3, (1940).-
- 13) Ivon et Mitchel; *Manuel, d'analysé des urines*.-
- 14) Jordi A.and F.Lauthard; *Med. Acta* 6, 652, 7, (1939).-
- 15) Koltoff y Sandell; *Textbook of quantitative inorganic analisis*.-
- 16) Koltoff L.*Pharm. Weekblad*; 62, 1017, 20, (1925).-
- 17) Lee S.W.Wallace J.H.H.and W. C. Hannay N.B. *ibid* 14, 839, 40, (1942).-
- 18) Maruschkin J.F.Mitchel J.H. *ibid* 14, 97, 8, (1942).-

- 19) Mahoney J.F. Mitchell J.R. *ibid* 14, 97, 8, (1942).-
- 20) Meyer Lenharts; *Análisis Clínicos*.-
- 21) Ogg. U.L. Willits C.C. Cooper; 20, 83, 5, (1948).-
- 22) Peters John, Van Slyke, *Quantitative Clinical Chemistry*.-
- 23) Peabody E.A. Fischer R.S. *ibid*; 10, 651, (1948).-
- 24) Preisler Paul W. Louis Berger and E. Hill; *J. Am. Chem. Soc.* 69, 326, (1947).-
- 25) Sheen and Kahler *ibid* 8, 127, 30, (1936).-
- 26) Scott; *Standard Methods of Chemical Analysis*.-
- 27) Trella Regelia; *Análisis físico, químico, y microb- de la orina humana*.-
- 28) Williams T.T. *Detection Mechanisms*. (1948).-
- 29) Wilson G.R. Kemper W.A. *ibid*; 10, 418, 9, (1938).-

Al. Scalamandre