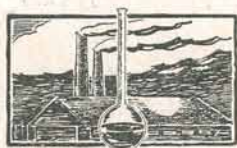


AÑO 8 - NÚMEROS 39-40

CHEMIA

REVISTA * DEL * CENTRO * ESTUDIANTES
DEL * DOCTORADO * EN * QUÍMICA



BUENOS AIRES - AGOSTO 1931

En este número:

— *Comentarios al libro del Prof. Gaviola.*

Deulofeu. — *Química de los ácidos biliares.*

Orozco Díaz. — *Los Rayos X en metalografía. —
III. - Análisis de la estructura cristalina.*

Ugarte. — *Nuevo método de evaluación rápida de
azúcar reductor en jarabes y en líquidos or-
gánicos.*

Ter Meulen. — *Los métodos de hidrogenación en el
análisis orgánico.*

GUIA PROFESIONAL

DOCTORES EN QUIMICA

ABEL SANCHEZ DIAZ

Arenales 1360

ATILIO G. COPPOLA

Tucumán 432

LUIS DELFIN BARRIOS

Bulnes 1546

BIBLIOTECA del Centro Estudiantes del Doctorado en Química

450 volúmenes

35 Revistas de Canje permanente
y Suscripciones

La Revista dará noticia de las
obras de QUIMICA y FISICA remi-
tidas por autores o editores.

COLECCION DE C H E M I A

hasta el N° 38,
excepto: 1, 31, 32 y 33
(agotados)

Precio \$ 6.--

Pedidos a la ADMINISTRACION:
PERU 222 BS. AIRES

Conferencias del Pr. Bertrand

Sobre QUIMICA BIOLOGICA
Dadas en Bs. As. en 1925

Compiladas por CHEMIA
y revisadas por su autor

Un tomo, en francés, 250 pág.

\$ 2.—

A P U N T E S de las Clases de TERMODINAMICA

del Prof.
JULIO CASTIÑEIRAS

100 páginas de mimeógrafo

Precio \$ 4.—

ANALISIS COMPLETO DE PIGMENTOS BLANCOS

por el
Dr. REINALDO VANOSSI

56 páginas

En el N° 29 de "Chemia"

Precio \$ 1.—

GUIA PROFESIONAL

DOCTORES EN QUIMICA

CARLOS A. ABELEDO
Blanco Encalada 5368

MARIO P. ANTOLA
Belgrano 1472

ATILIO BADO
Pueyrredon 1127

TOMAS A. BARÓ
Sarmiento 16 - San Nicolás

VICTOR J. BERNAOLA
Cabildo 598

HECTOR BOLOGNINI
Caseros 2799

JUAN B. DEMICHELIS
Thames 2280

VENANCIO DEULOFEU
Bartolomé Mitre 1371

JOSE S. DEVOTO
Victoria 3700

LUIS A. GONZALEZ
Cabello 3757

J. RAUL HOSTEIN
Esmeralda 827

FELIPE A. JUSTO
Viamonte 920

EUGENIO V. LABIN
Zabala 2450

ENRIQUE A. LETICHE
Bacacay 2585

JORGE MAGNIN
Mocoretá 101

JULIO OROZCO DIAZ
Tucumán 1441

ORSINI F. F. NICOLA
Paraná 702

ALBERTO A. PERAZZO
Ecuador 359

JACINTO T. RAFFO
Lavalle 710

ARNOLDO RUSPINI
La Madrid 1545

ROGELIO A. TRELLES
Charcas 2349

REINALDO VANOSSI
Pueyrredon 2431

RAUL WERNICKE
Pampa 3821

RAUL J. SELVA
Anchoreña 1284

Dr. Reinaldo Vanossi
— Donación —

C H E M I A

Revista del Centro Estudiantes del Doctorado en Química

Director: AGUSTIN BLANCO

LA CONSIDERACION DE HOMBRES DIGNOS

Comentarios al libro del Prof. GAVIOLA

●

Acaba de aparecer una de esas obras que condensan los problemas fundamentales de una cuestión presentándolos en la desnudez anatómica que permite comprenderlos de una ojeada. El problema que trata, interesa a todos los que realmente se interesen por los problemas culturales de nuestro país. Es, en especial, un libro para los universitarios argentinos de hoy que se preocupan, con generosidad, por los de mañana.

Nos referimos al reciente libro de nuestro apreciado profesor de Fisicoquímica Dr. Enrique Gaviola sobre "Reforma de la Universidad Argentina" editado por Rosso.

Su llegada se nos figura sumamente auspiciosa, como consiguiente a otras iniciativas, de menos vuelo pero de cierta resonancia, surgidas de nuestra escuela.

Si primero fué la exteriorización de un deseo colectivo de mejor ambiente de estudio, más auténtico y real; y después, la formulación de nuevos planes que harían posibles esos anhelos, ahora nos hallamos ya frente a un estudio que afronta los puntos más delicados del problema universitario actual; que domina su aparente complejidad y reduce el problema a elementos, que podrán ser o no únicos, pero que facilitan grandemente la visión de las cosas desde un punto de vista singularmente ventajoso para los buenos propósitos: punto de vista humano y humanitario a la vez.

Con este libro por delante fácil nos sería hacer una de esas amenas crónicas bibliográficas hechas a base del mismo material

juzgado. Incita a ello la originalidad y penetración del planteo de algunos pasos así como la audacia y la dignidad con que se ha resuelto otros.

Vamos, sin embargo, a dejar esto para solaz y esparcimiento del lector. Diremos, en cambio, aquí, algo de lo que el libro dirá sólo a quienes lo abran con la buena intención tan necesaria para el buen juicio. Antes que ocioso, parécenos esta tarea necesaria en un terreno litigioso, donde tan frecuentes y desafortunados casos de banderías se cuentan, a fin de atenuar, en lo posible, el perjuicio a que por ello se suelen exponer las cosas del entendimiento, precisamente entre quienes, ante todo, debieran regirse por un alto sentimiento de justicia.

De justicia es, precisamente, reconocer en este libro — que está lleno de certeras críticas honestas — un “leit motiv” humano y humanitario.

Humano, porque cuanto tiene de raciocinio, es para obligar a descender hacia el plano de lo razonablemente humano, los quin-taesenciados líos de principio existentes en circulación confusionista al respecto de la enseñanza, la investigación científica y anexos. Después de esta obrita, que ha demostrado la posibilidad de abarcar lo fundamental del asunto sin abandonar el terreno firme de la realidad asequible a todas inteligencias normales, ya no será posible hablar sobre problemas universitarios sin tener nada que decir.

Humanitario porque habla en él una conciencia con ideas claras que, mediante la persuasión, quiere hacer más grata la vida a un grupo apreciable de seres cuya influencia en la sociedad es muy importante. No se trata de humanitarismo a lo “*Salvation Army*”, sino de humanitarismo laico, expresión de solaridad verdadera.

En este libro palpita el deseo generoso de que cada miembro de la Universidad Argentina, profesor, estudiante o egresado, conquiste una mayor fracción de dicha mediante su comprensión más acabada de la vida y la naturaleza. Postula, en fin, la mayor felicidad — léase equilibrio moral — para los que se ilustran en las ciencias, y por lo tanto arremete, serena y firmemente, contra los factores que se oponen a esta natural consecuencia.

Y es esa la natural consecuencia cuando el libre juego de la personalidad gira en torno a ese sentimiento-eje que es la dig-

nidad. No la vulgar "dignidad" que puede ser ofendida con palabras, sino la dignidad que emana de lo íntimo de la conciencia cuando llega a ésta la sensación espiritual del acrecentarse por un esfuerzo noble y constructivo.

Los que han prescindido de esta dignidad, caro pagan su desvío. Son especie atormentada de dispépticos cuyo espíritu languidece a fuerza de no experimentar emociones creadoras, y a quienes están vedadas las alegrías del vivir. Los sucesos pasan por sus vidas sin cederles el jugo nutricional del entusiasmo.

¿Es que adoctrina así este libro sobre la función reguladora de la dignidad moral? De ninguna manera. Es, por lo contrario, de tono leve, amable, porque da todo esto por entendido. Quien lo abra con buena intención lo leerá entre líneas; y no le chocará cuando aflora en la exposición como un postulado, entre las normas propuestas, el derecho para el profesor y para el estudiante a *ser tratados como hombres dignos*. Lo fundamental de la Reforma de la actual Universidad Argentina serán simples corolarios de este principio. Este libro lo demuestra.

Tarea vana será pretender disimular tras intrascendentes objeciones a su estilo franco y desenvuelto — que es precisamente lo que más pronto conquistará los espíritus juveniles — las verdades fundamentales que contiene.

Como se ve, esto ya no depende de un Reglamento. Es cuestión medular, de cultura y de conciencia.

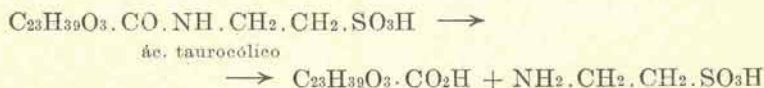
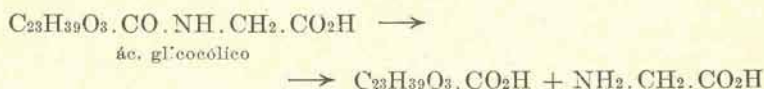
Para quienes creen que todo verdadero progreso exige esfuerzos, será evidente que este es un camino verosímil de solucionar los males de nuestra Universidad.

Ahora, lector, el primer esfuerzo que toca, es abrir este libro. Sabemos que abierto, será leído. Después, hay que empezar a realizar, uno por uno, esta Reforma.

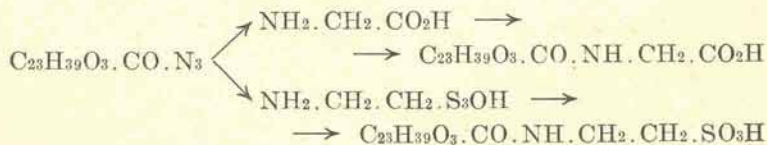
Venancio Deulofeu

QUIMICA DE LOS ACIDOS BILIARES

No debe sorprender que la caracterización y estudio de las substancias que constituyen la bilis haya llamado, desde hace muchos años, la atención de químicos destacados. Si se estudia la bibliografía respectiva se llega hasta el nombre de Berzelius, pero puede muy bien afirmarse que la química de los ácidos biliares comenzó en el año 1848, cuando Strecker ⁽¹⁾ pudo aislar de la bilis de buey dos ácidos determinados, el glicocólico y el taurocólico, que en realidad no son ácidos simples sino conjugados, y que hidrolizados dan ambos un nuevo ácido, el ácido cólico, de constitución compleja, y además, el primero glicocola y el segundo taurina:



Muchos años después, Bondi y Müller ⁽²⁾ realizaban la síntesis de los ácidos conjugados a partir de sus dos componentes efectuando la condensación de la azida del ácido cólico con la glicocola y la taurina en medio alcalino:



(1) *Ann.* 67, 1, 1848. Véase además DEMARCAV *Ann.* 27, 280, 1838.

(2) *Zeit. phys. Chem.* 47, 499, 1903.

Mylius (1) encontró, entre los componentes de la bilis saponificada, un nuevo ácido de constitución $C_{24}H_{40}O_4$, al cual llamó desoxicólico, y que también se encuentra como el ácido cólico al estado de ácido conjugado con la glicocola y la taurina. Ambos ácidos conjugados fueron aislados de la bilis no hidrolizada en el laboratorio de Hammarsten; el primero, por Wahlgren (2) y el segundo, por Gulbring (3), siendo realizada su síntesis años después por Wieland (4), quien utilizó el mismo método que con tanto éxito habían empleado Bondi y Müller en el caso del ácido cólico.

El ácido desoxicólico libre posee una propiedad característica y que es muy importante desde el punto de vista de la función fisiológica de la bilis, como es la de formar con una serie de sustancias compuestos muy difíciles de disociar, y solubles en medios alcalinos, produciéndose, sin embargo, en estas soluciones una pequeña disociación en ciertos casos, según el cuerpo que entra en la combinación.

Wieland y Sorge (5) han hecho un estudio detallado de estas combinaciones y han encontrado así que el ácido desoxicólico da, entre otros, compuestos del siguiente tipo:

con ácido acético	$C_{24}H_{40}O_4$, $C_2H_4O_2$
con ácido butírico	4 $C_{24}H_{40}O_4$, $C_4H_8O_2$
con ácido esteárico	8 $C_{24}H_{40}O_4$, $C_{18}H_{36}O_2$
con naftalina	2 $C_{24}H_{40}O_4$, $C_{10}H_8$

pudiendo incluirse en esta lista los que da con el xilol, el alcanfor, etc. Como excepción, puede señalarse el caso del ácido fórmico con el cual no forma compuesto de adición alguno.

Esta propiedad, que parecen poseer en un grado menor los ácidos conjugados, parecería explicar una de las funciones de

(1) *Ber.* 19, 374, 1886.

(2) *Zeit. phys. Chem.*, 36, 556, 1902.

(3) *Zeit. phys. Chem.*, 45, 448, 1905.

(4) *Zeit. phys. Chem.*, 106, 181, 1919.

(5) *Zeit. phys. Chem.*, 97, 1, 1916.

● Hay seres cuya aprobación nos abruma siempre colocándonos en el trance de dudar hasta de las verdades por las cuales hubiéramos vertido gustoso nuestra sangre.

FRANCISCO MAURIAC.

la bilis, que sería la de solubilizar en el canal digestivo, ciertas sustancias, como por ejemplo las grasas, haciéndolas así más susceptibles de ataque por los diversos fermentos u otras acciones de los jugos intestinales.

Rheinbolt y sus colaboradores (1) han estudiado la formación de estos compuestos de adición aclarando su naturaleza. Han encontrado que pueden considerarse como compuestos de coordinación en los cuales una molécula orgánica actúa como centro, alrededor del cual se disponen simétricamente n moléculas de ácido disoxicólico, o de ácido apocólico, sustancia de origen artificial que también da compuestos de adición.

Los dos ácidos biliares anteriores se han encontrado en la bilis de distintas especies animales (por ejemplo: bilis humana, vacuna, de oso, etc.), en cantidades variables pero siempre apreciables. Su variación no sólo está en el tenor de los mismos dentro de la bilis, sino también en la relación que hay entre ambos. Además de los ya citados, se han encontrado en varias bilis otros ácidos en cantidades variables.

Wieland y Weygand (2), en un estudio que realizaron sobre la bilis de vacuno, encontraron que de 100 kg de bilis se pueden obtener alrededor de 5-6 kg de ácido cólico y de 600 a 800 gramos de ácido desoxicólico que se encuentra por lo tanto presente en una proporción casi diez veces menor que el anterior.

Como ya hemos mencionado existen, además de los dos ácidos indicados, otros representantes de dicho grupo en la bilis. Así el ácido litocólico de fórmula $C_{23}H_{40}O_3$ que H. Fischer (3) encontró y pudo aislar de un cálculo biliar, y que por un tiempo se llegó a considerar como un producto de transformación patológica, resultó ser perfectamente normal, pues Wieland y Weyland (4) lo encontraron en la bilis aunque en una proporción muy pequeña, pudiendo tan sólo aislar de los 100 kilogramos de bilis con que trabajaron, un gramo de dicho ácido.

En la bilis humana, Wieland y Revery (5) confirmaron la

(1) RHEINBOLT, PIEPER y ZERVAS, *Ann.* 451, 256, 1927; RHEINBOLT, KÖNIG y OTTEN, id. 473, 249, 1929.

(2) *Zeit. phys. Chem.*, 110, 123, 1930.

(3) *Zeits. phys. Chem.*, 73, 234, 1911.

(4) *Loc. cit.*

(5) *Zeit. phys. Chem.*, 140, 186, 1924.

presencia de los ácidos cólico y desoxicólico, pero encontraron que su relación en ella es de 1:3 y no de 1:8 como ocurre en la bilis de los vacunos.

En una proporción mucho menor se encuentra también en la bilis de hombre un ácido llamado por esos autores antropodesoxicólico de constitución $C_{24}H_{40}O_4$, es decir: isómero del ácido desoxicólico, pero diferente de él en su constitución. Este ácido fué encontrado en una forma realmente simultánea en la bilis de ganso por Windaus, Bohne y Schwarzkopf ⁽¹⁾ y por esa razón lo llamaron cheno-desoxicólico, encontrándolo hoy en las distintas publicaciones con los dos nombres diferentes que le fueron asignados.

Más adelante pudo ser también aislado de la bilis de vacuno ⁽²⁾.

El estudio de las bilis de otras especies animales ha conducido por otra parte al encuentro de otros ácidos biliares. Los más caracterizados son el ácido hyo-desoxicólico de constitución $C_{24}H_{40}O_4$ y que fué encontrado en la bilis del cerdo y el ácido β -focacólico de fórmula $C_{24}H_{40}O_5$ encontrado por Hammarsten y cuya constitución fuera aclarada por Windaus y van Schoor.

A los ácidos mencionados y cuya constitución, sobre todo en lo que se refiere a la situación recíproca de los grupos hidroxilos, se encuentra aclarada en forma casi definitiva, se pueden agregar una serie de ellos, encontrados en diversos animales, pero que en su mayoría requiere aún un estudio más profundo que el realizado para poder clasificarlos en forma definitiva. Tal ocurre, por ejemplo, con el ácido gallodesoxicólico de Yonemura ⁽³⁾ y con el bufodesoxicólico de otro investigador japonés ⁽⁴⁾ encontraron en la bilis de los sapos.

A la par de los ácidos biliares que, si bien tienen un carácter débilmente ácido, poseen evidentemente un grupo carboxilo, se encuentran en la bilis cuerpos de constitución centesimal bastante semejante a los mismos, pero que se diferencian de éstos en su carácter de ácidos muy débiles, y al parecer esta acidez proviene más de grupos de tipo fenólico que de carboxilos. Tal así, los diferentes compuestos aislados por

(1) *Zeit. phys. Chem.*, **140**, 177, 1924.

(2) WIELAND y JACOBI. *Zeit. phys. Chem.*, **148**, 1, 1925.

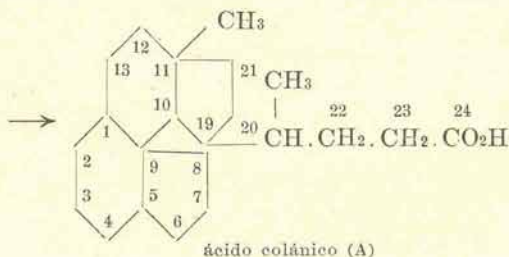
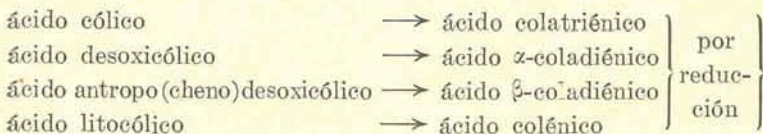
(3) *J. Biochemistry Japan*, **6**, 287, 1926.

(4) OKAMURA, *J. Biochemistry*, **8**, 351, 1928.

Tobel (1), Ribot (2), Werder (3) y Meisser (4) y sobre los cuales no se ha llegado todavía a nada definitivo.

En el estudio químico de los ácidos biliares admitióse como una hipótesis de trabajo que todos ellos poseían el mismo esqueleto fundamental. Wieland encontró que por destilación de los mismos en el vacío, se produce por medio de una reacción algo compleja (5), la pérdida de una molécula de agua por cada grupo alcohólico presente, con formación de una doble ligadura. Los nuevos ácidos no saturados son, en general, fácilmente hidrogenables. Así, el ácido cólico conduce a un ácido colatriénico (6), el ácido desoxicólico a un ácido coladiénico (7), el litocólico al ácido colénico (8) y el ácido antropo (cheno) desoxicólico a un nuevo ácido coladiénico distinto del obtenido por destilación del desoxicólico (9).

Todos estos ácidos conducen por hidrogenación catalítica al ácido colánico saturado de punto de fusión 164°, fácilmente caracterizable, además, por la existencia de un éster etílico que funde a 92-94°, quedando así demostrado que todos los ácidos biliares poseen el mismo sistema estructural.

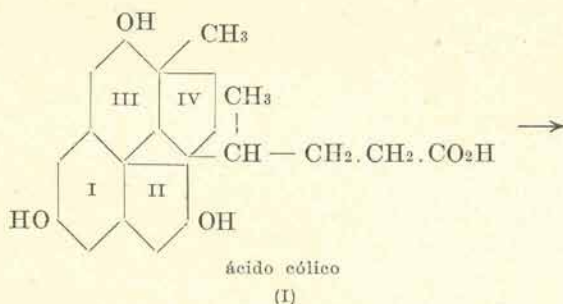


- (1) *Diss.*, Freiburg, 1925.
- (2) *Diss.*, Tech. Hoch. München, 1922.
- (3) *Diss.*, München, 1927.
- (4) *Diss.*, München, 1930.
- (5) WIELAND y BOERSCH, *Zeit. phys. Chem.*, **110**, 143, 1920.
- (6) WIELAND y WEYL, *Zeit. phys. Chem.*, **80**, 286, 1912.
- (7) WIELAND y SORGE, *Zeit. phys. Chem.*, **98**, 59, 1916.
- (8) WIELAND y WEYLAND, *Zeit. phys. Chem.*, **110**, 123, 1920.
- (9) WIELAND y REVERY, *Zeit. phys. Chem.*, **140**, 186, 1926.

Desde hace muchos años está demostrado que los grupos alcohólicos de los ácidos biliares son de naturaleza secundaria. Hammarsten (1) estableció que la oxidación con ácido crómico del ácido cólico conducía a un ácido con seis átomos menos de hidrógeno, y en la misma forma Latschinoff (2) lo confirmó para el caso del ácido desoxicólico que oxidado por el mismo reactivo daba el ácido llamado dehidrodesoxicólico con cuatro átomos menos de hidrógeno. Estos ácidos no presentan ninguna de las reacciones de una aldehida a pesar de que el primero da una trióxima y el segundo una dioxima, lo cual se debe, pues, a la presencia de tres y dos grupos cetónicos respectivamente, lo que se traduce en la existencia de tres y dos grupos alcohólicos secundarios en los ácidos primitivos.

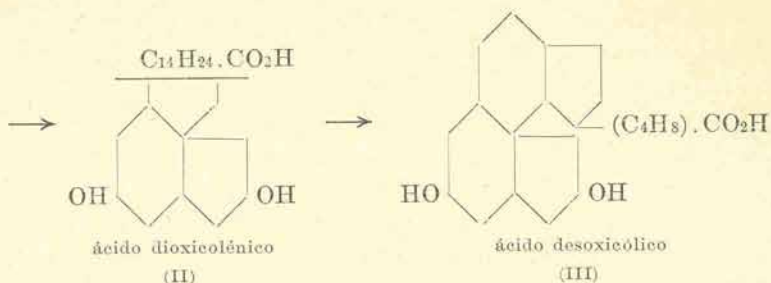
Es interesante señalar aquí, aunque estas experiencias se llevaron a cabo mucho más tarde, la posibilidad de transformar el ácido cólico en ácido desoxicólico, por un camino, y en ácido litocólico, por otro, demostrándose en esa forma que los oxhidrilos ocupan en esos tres ácidos las mismas posiciones.

El camino a seguir se ve más claramente si se procede con el auxilio de la formulación adecuada, asignando a la molécula de ácido cólico la estructura (I), bastante probable aunque se han eliminado deliberadamente dos átomos de carbono cuya posición es por el momento completamente desconocida, y que es una de las pocas incógnitas que todavía presenta la estructura de los ácidos biliares.



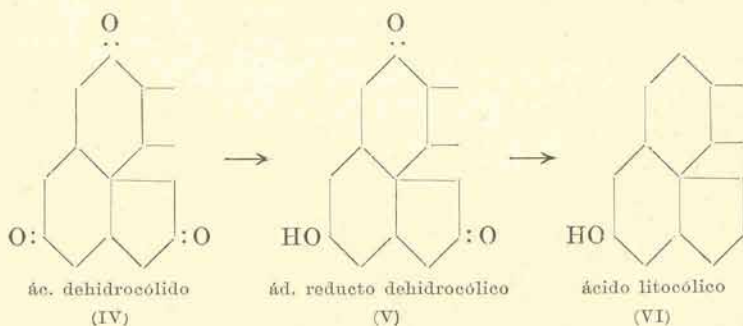
(1) *Ber.* 14, 71, 1881.

(2) *Ber.* 18, 3039, 1885.



Boedecker, en trabajos realizados en parte con Volk ⁽¹⁾, encontró que, por el tratamiento adecuado del ácido cólico con ciertos agentes deshidratantes, se obtiene, por la pérdida de una molécula de agua, dos ácidos isómeros no saturados. Uno de ellos, que llamó apocólico, presenta una posible doble ligadura muy resistente a la hidrogenación catalítica, sin quedar excluída la posibilidad de que se haya formado un nuevo ciclo; pero el segundo (II) se hidrogena fácilmente y se obtiene realizando esta operación ácido desoxicólico idéntico al natural (III), quedando así demostrado la relación existente entre el ácido cólico y el desoxicólico.

El pasaje del ácido cólico al litocólico, que posee dos grupos alcohólicos menos, se hace partiendo del ácido dehidrocólico que ya se ha mencionado (IV). La reducción de este ácido en ciertas condiciones especiales, por ejemplo la reducción electro-lítica, hace que uno de los tres grupos cetónicos, más atacable que los restantes, se reduzca con preferencia. Se obtiene, en esta forma, un ácido dietónico monoalcohólico que ha tomado



(1) *Ber.* 53, 1852, 1920; 53, 5489, 1921; 55, 2302, 1922.

la denominación de ácido reducto dehidrocólico (V) (1) que, condensado con la semicarbazida, nos da una disemicarbazona que puede reducirse por el método de Kishner-Wolff por la acción del etilato de sodio, obteniéndose como producto final un ácido monoalcohólico exactamente igual al litocólico (VI) que se encuentra en la bilis (2).

No surge de ninguna de estas reacciones que la posición de los grupos hidroxilos sea la que se les ha asignado en la molécula (I), demostración que sólo puede hacerse al través de una serie de experiencias, de las cuales las más importantes se han de detallar posteriormente.

Si la reducción del ácido dehidrocólico se hace en una forma más intensa, por ejemplo por el empleo de zinc amalgamado y ácido clorhídrico, se puede llegar a reducirlo en una forma total y obtener ácido colánico idéntico al obtenido partiendo del colatriénico (3).

De los ácidos biliares que se encuentran en la bilis de vacuno, una de las pocas que se pueden obtener en cantidades considerables, tan sólo el ácido cólico y el desoxicólico podían estudiarse con éxito, por ser los que en más abundancia se encontraban en la misma. La circunstancia que el ácido desoxicólico tuviera un punto menos de ataque que el cólico, lo hizo preferible para la investigación, aunque los primeros trabajadores habían preferido el cólico, posiblemente por ser más abundante. La oxidación del ácido desoxicólico había conducido ya en el año 1885 a Latschinoff a un ácido de fórmula $C_{24}H_{36}O_7$ (4) (VII) tribásico y con un grupo cetónico. Este ácido, destilado al vacío, pierde una molécula de CO_2 y otra de agua y da origen a un ácido dicetónico llamado pirodesoxibiliánico (5) (VIII).

(1) SCHENK. *Zeit. phys. Chem.*, **63**, 308, 1909; **69**, 383, 1910.

(2) BORSCHÉ. *HALLWASS, Ber.*, **55**, 3318, 1922.

(3) WIELAND, BOERSCH. *Zeit. phys. Chem.*, **106**, 190, 1919.

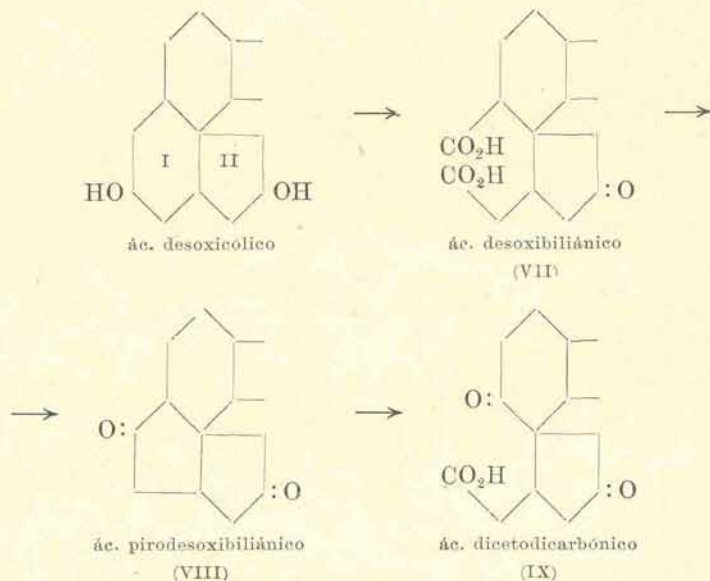
(4) *Ber.*, **18**, 3039, 1885.

(5) WIELAND Y KULENKAMPF, *Zeit. phys. Chem.*, **108**, 295, 1919.

● *Nada envilece tanto a una sociedad como la sumisión a un hombre. Nada ennoblece tanto a los hombres como la sumisión a las ideas.*

RODOLFO LLOPIS.

Según los estudios de Le Blanc, cuando en la destilación de un ácido bibásico se produce una cetona con pérdida de anhídrido carbónico, los grupos carboxilos se encuentran separados por seis o siete átomos de carbono incluidos los de esos mismos grupos, y, por lo tanto, estas reacciones pueden formularse adoptando la posición seis:



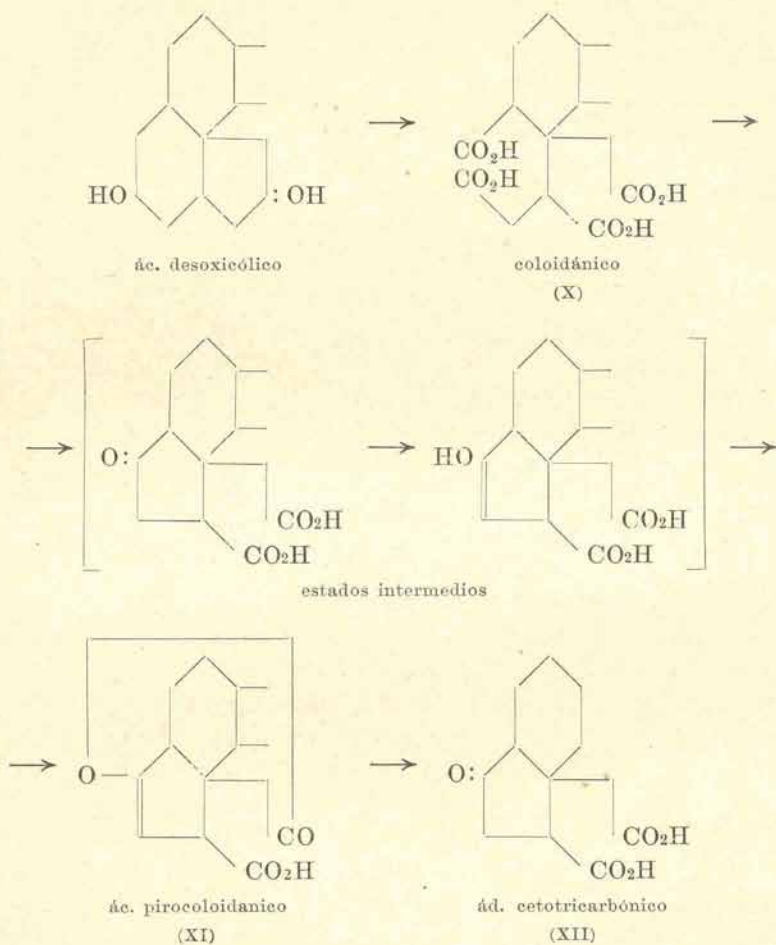
El ácido pirodesoxibiliánico oxidado con permanganato de potasio conduce aun ácido dicetodicarboxílico (IX), es decir: que, al mismo tiempo que se forma un carbonilo, se ha formado un carboxilo, en el transcurso del proceso de oxidación.

Si la oxidación del ácido desoxicólico es enérgica, se llega a la ruptura de otro ciclo y se obtiene un ácido pentabásico denominado coloidánico (X) (1), que, por destilación seca, conduce al pirocoloidánico (XI).

La formación del ácido pirocoloidánico es compleja, y hay indudablemente un estado intermedio que no se aísla. La destilación pirogenada del ácido coloidánico hace que el ciclo I se cierre con pérdida de anhídrido carbónico y de agua dando una cetona, pero este grupo en las condiciones de la reacción

(1) WIELAND, *Zeit. phys. Chem.*, **108**, 306, 1919.

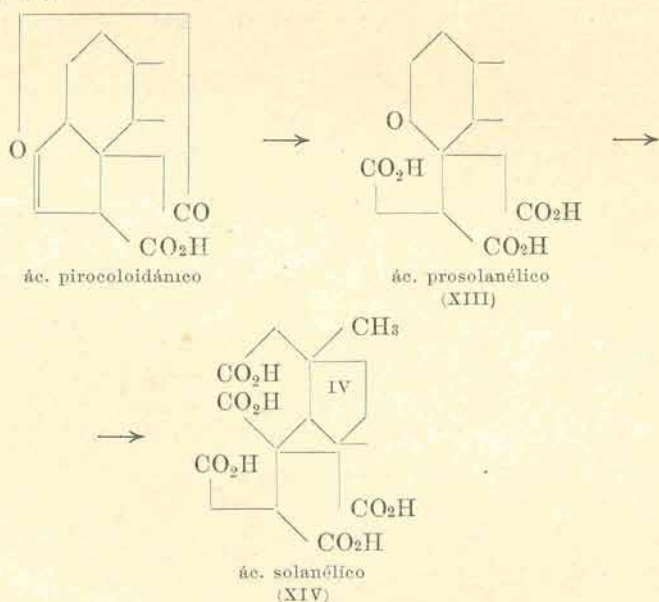
se enoliza y da, con un carboxilo favorable del ciclo II, una lactona. El ácido coloidánico encierra, pues, una función lactona que, hidrolizada, nos da el ácido cetotricarbónico (XII) (1).



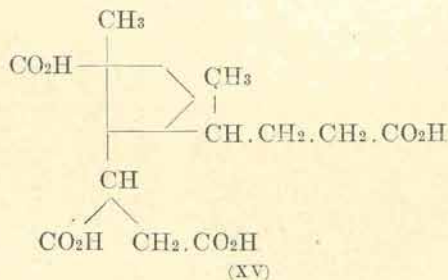
La oxidación ulterior del ácido pirocoloidánico conduce, en una forma semejante a la del ácido pirodesoxibiliánico, a un ácido llamado prosolanélico (XIII) que, a su vez, da el ácido solanélico (XIV) denominado así porque en su molécula sólo

(1) WIELAND, ERTEL, SCHÖNBERGER, *Zeit. phys. Chem.*, 197, 31, 1931.

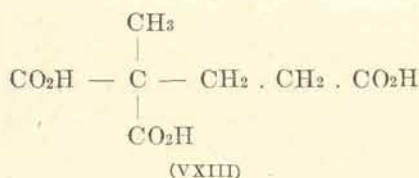
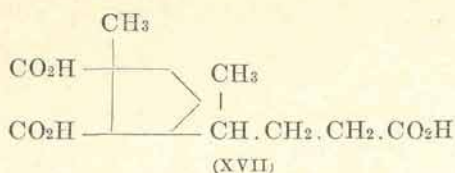
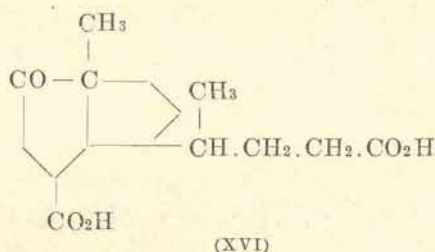
subsiste uno de los primitivos núcleos existentes en los ácidos biliares (1).



Este último ciclo, llamado ciclo IV, es sumamente resistente a los medios oxidantes, cosa lógica, pues no existe en él ningún punto de ataque. Se comprueba esto, no tan sólo en la estabilidad del ácido solanólico, sino también en la circunstancia de que, cuando se oxida el ácido dicetodicarbónico con nítrico, se obtiene, con pérdida de varios átomos de carbono, un ácido C₁₆H₂₄O₈ (2), cuya fórmula más probable es la (XV) (3), pues en efecto, por destilación pirogenada del mis-



(1) WIELAND y SCHLENBURG. *Zeit. phys. Chem.*, **114**, 167, 1921.
 (2) WIELAND y SCHLICHTING. *Zeit. phys. Chem.*, **134**, 276, 1924.
 (3) WIELAND y VOCKE. *Zeit. phys. Chem.*, **191**, 69, 1930.



mo, se llega a un ácido cetodicarbonico $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_5$ (XVI) que, a su vez, puede oxidarse ulteriormente a triácido $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_6$ (XVII). En las aguas madres de la oxidación del ácido dicitodicarbonico al ácido $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_8$, se encontró un ácido de constitución $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_6$ que pudo ser identificado como el α - α -metilcarboxiglutarico (XVIII) (5).

Puesto que el grupo metílico está unido a un átomo de carbono ya terciario, es evidente que no puede ser el mismo que existe en la cadena lateral y que es secundario, y resulta de esto que, en la molécula de los ácidos biliares, debe encontrarse, además del grupo metílico presente en la cadena, otro más. Como carbonos terciarios a los cuales podría estar fijado este nuevo grupo podemos señalar los carbonos 10 u 11, habiéndose preferido la posición 10 por razones largas de aclarar.

(5) WIELAND Y VOCKE, *Zeit. phys. Chem.*, 177, 68, 1928.

(Concluirá).

Dr. Julio Orozco Díaz

LOS RAYOS RÖNTGEN EN METALOGRAFIA

III

ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA CRISTALINA

Ya hemos visto que una red espacial sobre la que cae una radiación monoeromática de longitud de onda λ , difracta en una serie de direcciones discretas dadas por la fórmula [16] de la parte I. Si designamos con $\alpha_0, \beta_0, \gamma_0$, los cosenos directores del rayo incidente y con α, β, γ , los correspondientes de los rayos difractados, dados por la fórmula [13] de la parte I, obtendremos las ecuaciones de los planos medios que corresponden a cada uno de los rayos difractados, con solo tener en cuenta, que todo punto de un plano medio debe equidistar del punto de coordenadas $\alpha_0, \beta_0, \gamma_0$, tomado sobre el rayo incidente y del punto de coordenadas α, β, γ tomado sobre el rayo difractado. La expresión analítica de esta condición es:

$$\begin{aligned}(x - \alpha_0)^2 + (y - \beta_0)^2 + (z - \gamma_0)^2 &= \\ &= (x - \alpha)^2 + (y - \beta)^2 + (z - \gamma)^2\end{aligned}$$

que desarrollada y teniendo en cuenta las relaciones que valen para los cosenos directores del rayo incidente y del rayo difractado nos da:

$$x(\alpha - \alpha_0) + y(\beta - \beta_0) + z(\gamma - \gamma_0) = 0$$

Si sustituimos en esta fórmula a $\alpha - \alpha_0, \beta - \beta_0, \gamma - \gamma_0$ por los valores sacados de la ecuación [13] de la parte I, se obtiene para la ecuación del plano medio buscada:

$$n_1x + n_2y + n_3z = 0 \dots \quad [1]$$

En la ecuación anterior n_1, n_2, n_3 pueden tomar valores enteros positivos y negativos.

Ya establecimos una ecuación que representa a los planos reticulares correspondientes a una cara cristalina de índices h, k, l (fórmula [6] de la parte II); si comparamos esa expresión con la del plano medio, vemos inmediatamente que el plano medio de un rayo difractado coincide siempre con un plano reticular cuyos índices están dados por las siguientes relaciones:

$$n_1 = nh \quad ; \quad n_2 = nk \quad ; \quad n_3 = nl \dots \quad [2]$$

en las cuales, n es el máximo común divisor de n_1, n_2, n_3 .

Esta coincidencia es de suma importancia puesto que permite reducir el complicado fenómeno de la difracción producida por una red espacial a simples reflexiones en sus planos reticulares. Ahora bien, si reemplazamos en la expresión [16] de la parte I, los valores de n_1, n_2, n_3 por los obtenidos a partir de las expresiones [2], tendremos:

$$\text{sen } \theta = \frac{nh}{2a} \sqrt{h^2 + k^2 + l^2} \quad [3]$$

En esta fórmula, θ es el ángulo que forma el rayo incidente con el plano reticular (igual a la mitad del ángulo comprendido entre el rayo incidente y el difractado), recibiendo el nombre de *ángulo de brillo*. Si multiplicamos la expresión anterior por la ecuación [8] de la parte II, se obtiene la llamada fórmula de Bragg:

$$2 d_{hkl} \text{sen } \theta = n\lambda \dots \quad [4]$$

Es fácil comprender ahora que si se miden experimentalmente los ángulos correspondientes a rayos de longitud de onda conocida, pueda calcularse mediante la fórmula [4], la distancia que separa a los planos reticulares que producen la «reflexión». Una vez conocida esta distancia la ecuación [8] de la parte II, nos da la longitud de la arista del cubo elemental.

La fórmula de Bragg puede obtenerse directamente de la siguiente manera: Sean aa y bb dos redes planas separadas por la distancia d (fig. 1); la diferencia de camino producida entre los rayos reflejados en A y en B será igual a $CB + BD$,

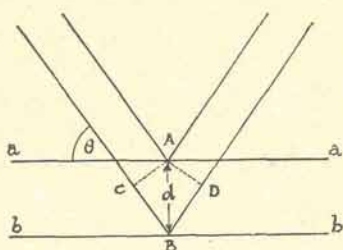


Fig. 1

puesto que C y D son las proyecciones del punto A sobre las direcciones del rayo reflejado por el segundo plano. De la figura se saca inmediatamente que esta diferencia de camino es igual a

$2d \sin \theta$. Ahora bien, cuando sobre la red incide un haz de radiación con un ángulo de brillo determinado, sólo serán «reflejadas» aquellas radiaciones para las cuales, la distancia entre dos planos reticulares sucesivos, sea igual a un múltiplo entero de su longitud de onda.

La fórmula [4], ha sido también utilizada para medir longitudes de onda de rayos Röntgen; para usarla con este objeto, es necesario conocer la longitud de la arista del cubo elemental de un cristal, lo cual según hemos visto es posible en algunos casos (cloruro de sodio).

Una red espacial es capaz de descomponer un haz de radiación blanca en sus componentes monocromáticos; este resultado sólo será posible si se hace llegar la radiación sobre la red bajo todos los valores de θ comprendidos entre 0 y $\pi/2$, lo que se consigue cómodamente haciendo girar la red sobre un eje contenido en la cara reflectora y sobre el cual incide el haz a descomponer. Es fácil demostrar y lo haremos a continuación, que las radiaciones monocromáticas así obtenidas, están como enfocadas sobre una circunferencia que tiene por centro a un punto del eje de rotación y por radio la distancia entre dicho eje y la fuente de iluminación.

Un haz fino de rayos que pasa por una hendidura H, cae sobre una red espacial bajo un ángulo de brillo θ ; representemos con aa al sistema de planos reticulares de dicha red que produce la «reflexión».

● *El tiempo y el secreto no caben en hombres de pequeño corazón.*
BALTASAR GRACIAN.

Con centro en O y con radio igual a OH , tracemos una circunferencia y sea P el punto en el cual el rayo «reflejado» por la red corta a la circunferencia. De acuerdo con la ley de Bragg a cada valor del ángulo de brillo, corresponderá un valor determinado de la longitud de onda «reflejada», para un orden de interferencia dado y por lo tanto estando la red en la

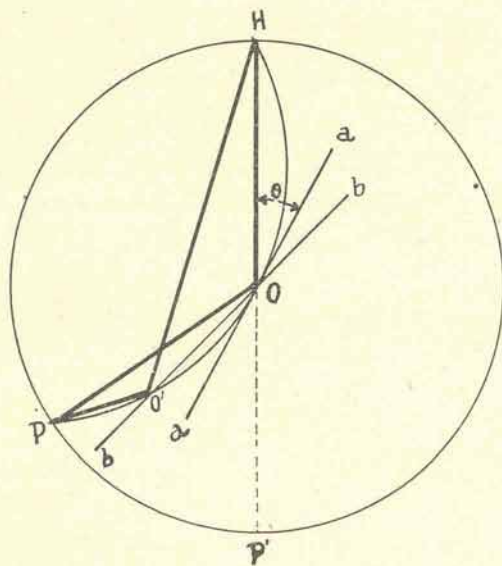


Fig. 2

posición aa solo llega a P proveniente del punto O radiación monocromática. Ahora bien, tracemos una circunferencia que pase por los puntos P , O , H y hagamos girar la red hasta que tome una posición tal como la bb ; en esta posición el rayo HO' del haz incidente caerá sobre la red con un ángulo de brillo igual a θ , por ser el ángulo $HO'O$ sustentado por la cuerda PH y según se demuestra en geometría, igual al ángulo formado por la cuerda y la tangente a la circunferencia en uno de los extremos de la cuerda (ángulo $HOa = \theta$). Es suficiente demostrar ahora que el rayo HO' es reflejado en la dirección de $O'P$ para comprender que cualquiera que sea la posición de la red, cada radiación monocromática estará como enfocada en un punto de la circunferencia $P'PH$. De la figura resulta $HOP = \pi - 2\theta$ y además $HOP = HO'P$ por ser ángu-

los sustentados por la cuerda PH, por lo tanto $HO'P = \pi - 2\theta$ y como por construcción el ángulo $HO'O$ es igual a θ , se tendrá $PO'b = \theta$; el rayo reflejado en O' debe formar con la red un ángulo igual a θ , es evidente entonces que el rayo reflejado pasa por P.

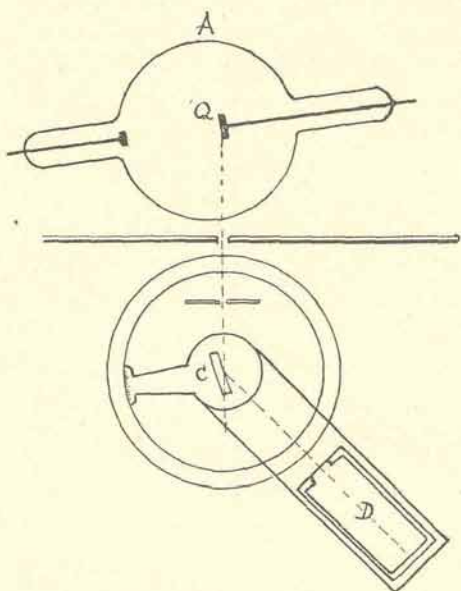


Fig. 3

Aprovechando estas propiedades de las redes, los Bragg, padre e hijo, construyeron su espectrógrafo que describiremos brevemente (fig. 3). A es una ampolla de rayos Röntgen que posee un anticatodo Q, construido de diversos metales (molibdeno, rodio, paladio, cobre, etc.), según el tipo de cristales que se quieran estudiar. La radiación emitida por el anticatodo, que se limita a un fino haz mediante pantallas de plomo, se hace incidir sobre una cara del cristal C que hace de red y que se coloca sobre un goniómetro que permite la medida de los ángulos de « reflexión ». Las direcciones de los rayos difractados se obtienen haciéndolos entrar a una cámara de ionización D, a través de una ventana de chapa delgada de aluminio. La cámara está llena de un gas fácilmente ionizable (SO_2 , CH_3Br) por los rayos Röntgen y su conductividad permite medir además de los

ángulos de difracción las intensidades de la radiación difractada. En aparatos más modernos se sustituye la cámara de ionización por una película fotográfica apoyada sobre un cilindro, con lo que se aumenta considerablemente la precisión de las medidas de longitudes de onda. El cristal se hace girar a mano o mediante un mecanismo de relojería.

Para utilizar el método de Bragg es necesario disponer de un cristal de dimensiones relativamente grandes (de miligramos de peso), con caras bien desarrolladas. Además el cristal debe estar centrado en el espectrógrafo, operación que ofrece a veces dificultades. Estos inconvenientes resultan obviados en el método de los *polvos cristalinos*, debido a Debye y Scherrer, que consiste en ofrecer simultáneamente al haz de rayos todas las posiciones posibles de la red, en vez de hacerlo en instantes sucesivos por rotación del cristal. Con este objeto, se hace llegar un haz fino de rayos al cristal pulverizado, contenido en un saquito de colodio y colocado en el centro de una cámara cilíndrica sobre la cual se apoya una película fotográfica. De acuerdo con las propiedades ya discutidas de las redes, cada longitud de onda será «reflejada» según las generatrices de un cono cuyo vértice está situado en el tubo que contiene al polvo cristalino, resultado de estar los pequeños cristales orientados en todas las posiciones posibles. Las intersecciones de estos conos con la superficie cilíndrica de la película son arcos monocromáticos, perfectamente visibles cuando la luz Röntgen utilizada contiene algunas frecuencias de gran intensidad que resaltan sobre el fondo continuo (fig. 4).

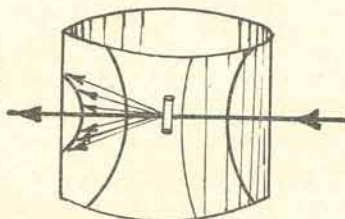


Fig. 4

Hemos estudiado las propiedades de las redes espaciales y hemos visto cómo pueden utilizarse en espectroscopía de rayos Röntgen; veamos ahora cómo se resuelve el problema inverso, que consiste en deducir, mediante estas propiedades, la estructura de las redes cristalinas. Limitaremos las consideraciones siguientes a casos sencillos. Si colocamos en un espectrógrafo de Bragg un cristal de cloruro de potasio y lo iluminamos con rayos provenientes de un anticatodo de paladio se observa lo

siguiente: en todas las posiciones de la cámara de ionización hay radiación difractada, pero en ciertas posiciones bien determinadas aparecen máximos de intensidad. Este comportamiento se debe, a que todo anticatodo emite un espectro continuo de rayos Röntgen, y un espectro discontinuo característico del metal de que está construido, mucho más intenso que el anterior y que es el utilizado en la determinación de la estructura cristalina. En nuestro caso, el espectro discontinuo está formado por dos líneas K_α y K_β del paladio. Si se exponen varias caras sucesivamente a la acción de los rayos y se representa gráfica-

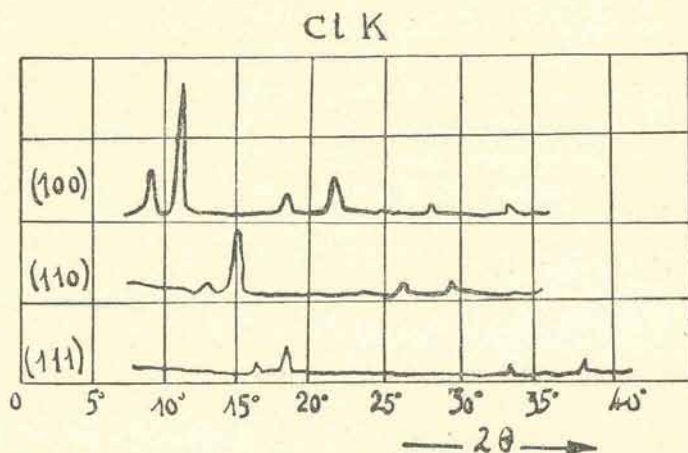


Fig. 5

mente la intensidad de la radiación reflejada en función del ángulo que forma la cámara de ionización con la dirección del haz incidente (igual a 2θ), se obtienen gráficos como los de la fig. 5.

Se ve inmediatamente que para una cara determinada se obtienen máximos de intensidad decreciente que corresponden a difracciones de orden 1, 2 y 3 (dos máximos para cada orden, pues el tubo emite las líneas K_α y K_β). Ahora bien, mediante estas medidas podemos encontrar la relación que existe entre las distancias d que separan a los planos reticulares del cloruro de potasio; para interferencias de primer orden ($n = 1$) se tiene:

cará	θ	sen θ
(100)	5°23'	0,0938
(110)	7°37'	0,1326
(111)	9°23'	0,1630

es decir que:

$$\frac{1}{d_{(100)}} : \frac{1}{d_{(110)}} : \frac{1}{d_{(111)}} :: 1 : \sqrt{2} : \sqrt{3}$$

A este mismo resultado se llega dando a h, k, l , en la fórmula [8] de la parte II, los valores correspondiente para cada cara, y esta concordancia demuestra la exactitud de la relación de Bragg.

Se presenta ahora una dificultad, el cloruro de potasio está formado por átomos de cloro y por átomos de potasio; por otra parte existe un gran número de razones para admitir la existencia de la molécula de cloruro de potasio (en estado gaseoso),

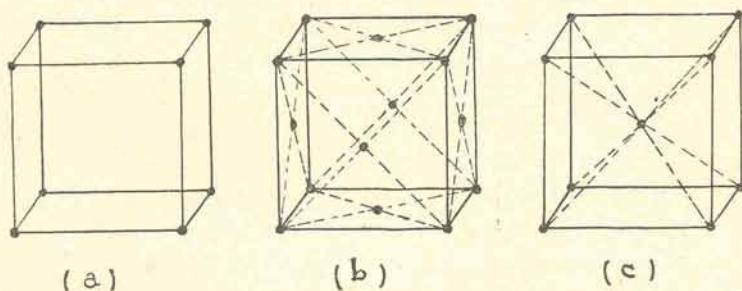


Fig. 6

debemos decidir por lo tanto si la red posee moléculas de cloruro de potasio en sus nudos, o si éstos están ocupados por átomos de cloro y de potasio, y en este último caso en qué forma están distribuídos. Veremos después de qué manera se resuelve esta dificultad, antes es necesario hacer algunas consideraciones geométricas sobre los distintos tipos de redes cúbicas posibles.

Con los elementos de simetría del sistema cúbico, se pueden construir tres tipos de redes: red cúbica (a), red cúbica centrada en las caras (b), red cúbica centrada en el espacio (c) (figura 6).

Es fácil demostrar que en estos tres tipos de red las distancias que separan a los planos reticulares de índices (100), (110),

(111), guardan entre sí distintas relaciones; para la red cúbica sencilla (*a*) ya hemos encontrado la relación:

$$\frac{1}{d_{(100)}} : \frac{1}{d_{(110)}} : \frac{1}{d_{(111)}} :: 1 : \sqrt{2} : \sqrt{3}$$

Para una red cúbica centrada en las caras (*b*), las distancias $d_{(100)}$ y $d_{(110)}$ se reducen a la mitad y por lo tanto la relación anterior para este tipo de red toma la forma:

$$\frac{1}{d_{(100)}} : \frac{1}{d_{(110)}} : \frac{1}{d_{(111)}} :: 1 : \sqrt{2} : \frac{\sqrt{3}}{2}$$

en cambio si la red está centrada en el espacio, las distancias que separan a los planos (100) y a los (111) se reducen a la mitad, valiendo en este caso la relación:

$$\frac{1}{d_{(100)}} : \frac{1}{d_{(110)}} : \frac{1}{d_{(111)}} :: 1 : \frac{\sqrt{2}}{2} : \sqrt{3}$$

Si los cristales estuvieran formados por átomos de una sola clase, la determinación experimental de estas relaciones, en la forma mencionada para el cloruro de potasio, indicaría el tipo de red a que pertenecen. Esto sucede por ejemplo con los cristales de los metales; en ese caso el problema se puede considerar completamente resuelto una vez determinadas las dimensiones del paralelepípedo elemental, para lo cual es necesario conocer la longitud de onda de los rayos Röntgen utilizados.

Veamos ahora un nuevo hecho experimental, que con las consideraciones anteriores, nos permitirán establecer la estructura de cristales formados por átomos distintos. Si hacemos el estudio de cristales de cloruro de sodio por el método de Bragg, se obtiene el diagrama de la figura 7; en él se observa que las « reflexiones » producidas en las caras (100) y (110) son del mismo tipo que las producidas por caras análogas del cloruro de potasio; la intensidad de los rayos difracta-

● Ser delicado es la manera más elegante de ser desdeñoso.

dos, disminuye al aumentar el orden de la difracción, como debe esperarse de acuerdo con las leyes conocidas de la difracción. Ahora bien, la experiencia dice que esto no se cumple para la cara (111) del cloruro de sodio, para la cual la inten-

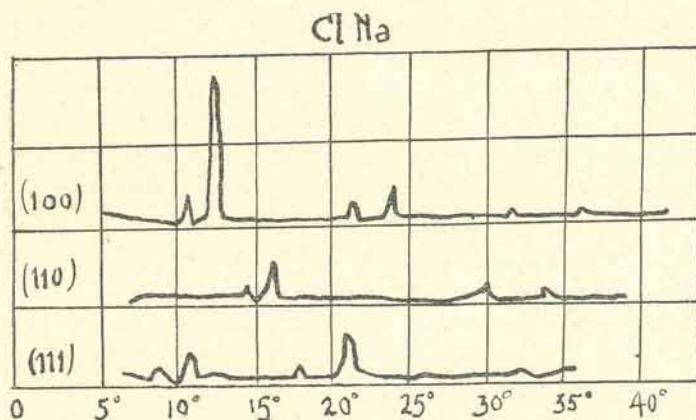


Fig. 7

sidad de la difracción de segundo orden es mayor que la del primero; la explicación de esta anomalía nos conducirá a importantes resultados. La acción de un átomo como centro de difracción de rayos Röntgen, depende del número de electrones que posee, que a su vez es aproximadamente proporcional a su peso atómico; luego se debe esperar, que átomos de distinto peso atómico, difracten con distinta intensidad. Supongamos que las redes de cloruro de potasio y de cloruro de sodio tengan átomos en sus nudos, en el primer caso el cloro y el potasio por tener pesos atómicos casi iguales ($\text{Cl} = 35,5$; $\text{K} = 39$) se comportarán como centros de difracción análogos y su red producirá el mismo efecto que una red cúbica simple formada por átomos iguales. Para que los átomos de cloro y de potasio estén uniformemente repartidos en el cristal, podemos suponer construída la red del mismo, a partir de dos redes de caras centradas, una de átomos de cloro y la otra de átomos de potasio, de manera tal, que los vértices de una ocupen los centros de los cubos elementales de la otra. De esta manera se obtiene una red cúbica sencilla como la indicada en la figura 8, en la cual

cada átomo de una clase tiene como vecinos más próximos átomos de otra clase.

Supongamos ahora que el cloruro de sodio posee una estructura análoga, las caras (100) y (110) estarán formadas por átomos de cloro y de sodio, en cambio las caras (111) corresponderán a planos reticulares formados exclusivamente por átomos de sodio o de cloro, es decir, que estos planos reticulares

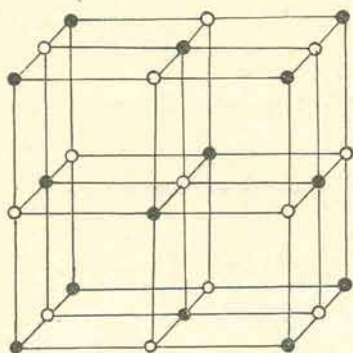


Fig. 8

deben reflejar con distinta intensidad a los rayos Röntgen, puesto que están formados por átomos de diferente peso atómico ($\text{Na} = 23$, $\text{Cl} = 35,5$). Para comprender el efecto que esta estructura puede producir en la difracción correspondiente a esta cara, veamos lo que sucede si entre las rayas de una red de las usadas ordinariamente en óptica, marcamos nuevas rayas equidistantes de las anteriores. Si las rayas son de igual

ancho que las ya existentes, la red se comporta como si tuviera el doble de rayas por centímetro, en cambio si son más finas y por consiguiente difractan menos luz, aparecen debilitados los máximos de luz difractada de orden impar y reforzados los de orden par. Lo mismo se produce en las caras (111) del cloruro de sodio, las reflexiones en los planos formados por átomos de cloro son más intensas que las producidas en planos constituidos por átomos de sodio; las primeras se reforzarán entre sí por interferencia, pero como a mitad de distancia entre plano y plano de cloro se encuentra un plano formado por átomos de sodio, la radiación reflejada en estos últimos estará en oposición de fase con la reflejada en los primeros, resultando en consecuencia un debilitamiento de la difracción de primer orden y un aumento en la del segundo.

De esta manera queda explicada la aparente anomalía señalada en la figura 7, que confirma la estructura admitida para el cristal de cloruro de sodio. En general, se puede dejar establecido, que cuando los planos reticulares correspondientes a

una cara son idénticos, la intensidad de las difracciones disminuye regularmente a medida que aumenta el orden de interferencia. En cambio, cuando no existe esta disminución gradual, los planos reticulares poseen distinta constitución y están desigualmente espaciados.

La discusión de estos casos sencillos ha permitido ver, cómo es posible utilizar los datos del examen rontgenográfico, para establecer la estructura de los cristales. En resumen, cualquiera que sea la simetría del cristal, se puede siempre determinar las dimensiones del paralelepípedo elemental de la red, estudiando la difracción de rayos Röntgen de longitud de onda conocida. Mediante la densidad del cristal, se puede calcular el número de moléculas asociadas a uno de estos paralelepípedos y determinado así el número de átomos de cada clase que contiene, es posible distribuirlos de manera tal, que expliquen las posiciones e intensidades de los máximos de difracción observados experimentalmente.

Dr. Trifón Ugarte

NUEVO METODO DE EVALUACION RAPIDA DE AZUCAR REDUCTOR EN JARABES, SANGRE, LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO, LECHE Y ORINA

Los procedimientos que en la actualidad se conocen para la evaluación de azúcar reductor, son de dos categorías, según se apliquen a micro o a macroanálisis.

Entre los primeros, podrían citarse el de Hagedorn y Jensen ⁽¹⁾, que determina el azúcar reductor en 0,1 cm³ de sangre; el de Folin del año 1928 ⁽²⁾, que también ejecuta dicho análisis en 0,1 cm³ de sangre; el de Bang ⁽³⁾, que asimismo, realiza esta dosificación en 80 a 120 mgr de sangre, es decir, alrededor de 0,1 cm³; el de Folin y Wu ⁽⁴⁾, etc.

Comprenderíamos entre los segundos: los manganométricos de Schwarz, Möhr y Bertrand; los estañométricos de Pellet y de Weil; los de formación de cianuro complejo de Möhr y de Perrot; los de acidimetría y colorimetría de Sidersky; los iodo-métricos de Politis, etc., y hasta 19 métodos de evaluación de azúcar reductor, señalados como variantes de la aplicación del clásico licor de Fehling, por M. E. Cattelain, en su trabajo: *Histoire d'un Reactif; la Liquer de Fehling* ⁽⁵⁾.

Los métodos para microanálisis son muy exactos y hoy por hoy, son los preferidos, sobre todo cuando es necesario efectuar numerosas evaluaciones de azúcar reductor. Tienen, sin embargo, el inconveniente de requerir muchos reactivos, exclusivamente preparados para tal fin, precisar aparatos o material apropiado, bastante tiempo y una cierta habilidad, para llevarlos a la práctica con buen resultado; todo lo cual, se traduce en que no se los puede ejecutar siempre en cualquier momento y en cualquier laboratorio de química, sino que es casi indispensable ocurrir a laboratorios especializados.

Los destinados para macroanálisis, si bien son accesibles a todos los laboratorios, presentan en cambio, la desventaja, si son precisos, de ser muy laboriosos, o bien de exigir mayores concentraciones de azúcar reductor, sin acusar, por ello, a veces, resultados exactos; precisamente, por la gran concentración de los cuerpos reaccionantes, que entran en juego en las operaciones.

El método polarimétrico, reconocido desde el año 1842 como excelente para la determinación rápida y precisa de azúcares, presenta también sus dificultades, cuando se pretende aplicarlo a soluciones que contienen alrededor de 1 por mil de dichas substancias.

El procedimiento de evaluación de azúcar reductor que presento, exige un solo reactivo, de preparación fácil y que puede usarse concentrado o diluído, según los casos. El material que requiere, se encuentra en todos los laboratorios de química, su ejecución es sencilla, precisa poco tiempo, raras veces puede pasar de 10 minutos, siendo lo normal aproximadamente 5 minutos y los resultados que suministra son bastante exactos, como puede observarse en los cuadros de análisis comparativos que se insertan más adelante.

La base fundamental del método, consiste en la reducción que el azúcar produce, sobre las sales de cobre en solución alcalina, es decir, de manera análoga al caso del licor de Fehling.

Precisamente, en el laboratorio correspondiente a las Salas III y IV del Hospital «Dr. Carlos Durand», de la Capital, a cargo del eminente maestro, el doctor José María Escalier, donde inicié este trabajo, empleaba como reactivo, en un principio, una solución diluída de licor de Fehling pero, como los resultados que se obtenían con esta solución no eran exactos, tuve que reemplazarla por el nuevo reactivo preparado para este fin.

REACTIVO EMPLEADO

El reactivo empleado, tiene el mismo fundamento científico que el preparado por Löwe (6) y publicado en 1870. Está constituido, en ambos casos, por la disolución mediante la gli-

cerina, del hidróxido cúprico, formado por la acción de una solución de hidróxido de sodio sobre otra de sulfato de cobre. Bishop Tingle (7) también disolvió el hidróxido cúprico alcalino en glicerina, pero al incorporarle luego, gran cantidad de amoníaco, hace que el reactivo sea diferente, aun cuando su base científica resulte ser la misma que la del reactivo de Löwe.

No obstante la identidad cualitativa, del reactivo empleado con el de Löwe, difiere, sin embargo, por los detalles de preparación, las condiciones de exactitud precisadas, tanto en lo que se refiere a su estabilidad con relación a la temperatura y a la dilución, como en lo concerniente a la concentración adecuada para conservar su sensibilidad; y además, porque el reactivo preparado por Löwe, dada su concentración, ha sido destinado más bien al macroanálisis, forma en la cual no se ha utilizado en este trabajo, ya que en tales circunstancias, no aventajaría en sensibilidad al licor de Fehling.

El reactivo usado tiene color azul y su intensidad varía con la concentración de la solución cúprica. En efecto; el reactivo que denominó concentrado y es el que más se usa en este trabajo, contiene 20 cm³ solamente de la solución cúprica, para cada 100 cm³ del líquido, y sin embargo, posee un hermoso color azul, tan intenso como el licor de Fehling. Sin tener el reflejo azul-verdoso de éste, ofrece más bien un tinte de azul de cobalto.

Si se llega a incorporar igual cantidad de solución cúprica que la que contiene aquel licor, se obtiene un líquido azul mucho más intenso que el reactivo de Fehling; y con el doble de la concentración de la solución cúprica, se llega a una solución tan oscura, que por reflexión no se percibe el color azul, sino solamente por refracción.

Este reactivo se ha preparado también exento de sulfatos, haciendo actuar, en frío, la solución de hidróxido de sodio sobre la solución cúprica, filtrando luego el hidrato cúprico formado sobre algodón y lavándolo repetidas veces con agua destilada, hasta la eliminación de los sulfatos.

● *Nadie podrá hacer lo que se figura que no podrá hacer.*

Procediendo después a la disolución del hidrato cúprico, sobre el mismo filtro, mediante continuadas adiciones de la mezcla de las soluciones de glicerina y de hidróxido de sodio, se consigue un líquido, que por su color, estabilidad y sensibilidad, no presenta diferencia apreciable con el mismo reactivo obtenido en presencia de sulfatos.

He preparado también este reactivo, en grandes concentraciones, limitándome en este caso, a obtener soluciones que apreciaban 3,7 y hasta 7 mgr de glucosa por cm^3 .

El empleo de estas soluciones concentradas, parecería conveniente para el análisis cuali o cuantitativo de soluciones ricas en azúcares; sin embargo, no resulta así experimentalmente, puesto que las evaluaciones resultan, casi siempre, menos exactas que cuando se las realiza con soluciones más diluídas de dichos reactivos. La causa de este hecho reside, como es lógico, en la abundancia del óxido cuproso producido durante la operación, que inhibe la percepción de la coloración del reactivo cuando aún no ha llegado a reducirse totalmente; o bien, en el exceso del líquido azucarado que se le incorpora para fijar netamente el límite de la reacción. Ambas circunstancias alejan los resultados de la exactitud, proporcionalmente a la cantidad y concentración ya sea del reactivo omitido o del líquido azucarado añadido de más.

Por esta razón, en este trabajo no se ha hecho uso de soluciones concentradas del reactivo, empleándose, más bien, soluciones diluídas, las cuales dieron resultados rápidos y bastante exactos.

Dichas soluciones son: la que aprecia 1 mgr de glucosa por cm^3 , que la denomino *reactivo concentrado* y la que aprecia 0,1 mgr de glucosa por cm^3 , a la cual la califico por *reactivo diluído*.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Concentrado. — Para preparar este reactivo se precisa lo siguiente:

- 1º Solución de hidróxido de sodio al 10 %.
- 2º Glicerina concentrada.
- 3º Solución de sulfato de cobre cristalizado al 35 por mil, exactamente preparada.

La solución al 10 % de hidróxido de sodio, se la prepara en la forma usual.

La glicerina a utilizarse, debe ser concentrada y exenta de materias reductoras. La glicerina empleada para este trabajo, tenía 98 % de concentración y no acusaba más que vestigios de sustancias reductoras, al reactivo de Nessler y a la solución de nitrato de plata amoniacal.

Para preparar la solución cúprica, se pesa 35 gr de sulfato de cobre cristalizado y puro en una balanza de precisión, luego se disuelve, en una cápsula o recipiente de vidrio, con medio litro de agua destilada, en caliente y previa adición de 5 cm³ de ácido sulfúrico para análisis, de densidad 1,84. Una vez enfriada la solución, se la pasa a un matraz aforado de un litro de capacidad, donde se completa con agua destilada hasta el volumen exacto de un litro.

Esta solución cúprica no se altera con el tiempo y como se la usa al 20 % para el reactivo concentrado y solamente al 2 % para el diluido, puede servir en consecuencia, para efectuar 5.000 determinaciones de azúcar reductor con el primer reactivo y 50.000 evaluaciones con el segundo.

Disponiéndose de un litro de solución de hidróxido de sodio al 10 %, de un litro de glicerina y de igual volumen de la solución cúprica, se tiene elementos para preparar muchos litros de reactivos que se usan por centímetros cúbicos. Como estos tres reactivos se conservan sin alterarse, no es necesario preparar por vez, volúmenes mayores de 100 cm³, tanto del reactivo concentrado como del diluido, pero si se desee mayor cantidad de cualquiera de los dos reactivos no habrá más que incorporar, en el volumen a prepararse, las soluciones cúprica y de hidróxido de sodio y la glicerina, guardando la proporcionalidad respectiva de cada una de ellas, indicada más adelante para la obtención de 100 cm³ de ambos reactivos.

Para preparar el reactivo concentrado, se recogen en un matraz aforado de 100 cm³ de capacidad, 20 cm³ de la solución cúprica, medidos mediante una bureta o una pipeta contraloreada, luego se agrega 4 cm³ de glicerina y después de una agitación moderada del líquido, se incorporan 20 cm³ de la solución de hidróxido de sodio al 10 %, completándose, finalmente, el volumen de la solución hasta 100 cm³. Después de

varias agitaciones para homogeneizar el líquido, se tiene preparado el reactivo, de color azul intenso, el cual, siempre que no haya mediado alguna causa de error al prepararlo, aprecia por cada cm^3 , 1 mgr de glucosa anhidra.

Diluido. — Este reactivo se prepara depositándose en un matraz aforado de 100 cm^3 de capacidad, 10 cm^3 de agua destilada, 2 cm^3 de la solución cúprica, medidos con bureta o una pipeta contraloreada e incorporándose luego, 4 cm^3 de glicerina. Después de mezclados ambos líquidos, se les añade 4 cm^3 de la solución al 10 % de hidróxido de sodio y se completa con agua destilada hasta 100 cm^3 . Se agita moderadamente para homogeneizar el líquido y así se tiene preparado el reactivo diluido, de color azul claro, que aprecia por cada cm^3 0,1 mgr de glucosa anhidra.

La incorporación de mayor cantidad de álcali o de glicerina, que la indicada anteriormente, disminuye la sensibilidad de los reactivos; en cambio, la adición de menor cantidad de dichos cuerpos, los hace inestables, ya sea para la dilución o elevación de temperatura.

Sin embargo, no debe extremarse la prolijidad, en lo que se refiere al empleo del álcali y la glicerina por que pueden admitir perfectamente una tolerancia, en más o en menos de un 10 %, sin que se afecte la bondad de los reactivos. No sucede lo mismo con la solución cúprica, para cuya preparación y medición debe procederse con el máximo cuidado posible, por que ella viene a ser la parte fundamental del reactivo y su concentración indicará el título del mismo.

MATERIAL NECESARIO Y TÉCNICA DE MÉTODO

El material que hace falta para la ejecución de este método es el siguiente:

- 1) tubos de ensayo de 16 cm de largo por 1,5 de diámetro, para efectuar las reacciones;
- 2) tubos de ensayo de 2 cm de diámetro, una probeta graduada de 25 cm^3 de capacidad, provista de tapa de vidrio, y dos matraces aforados de 100 cm^3 de capacidad, también con tapa esmerilada, que sirven para llevar a cabo las diluciones necesarias.

3) una bureta de 25 ó 50 cm³ de capacidad, un par de pipetas de 1 cm³ de capacidad graduadas al décimo y una pipeta de 10 cm³ de capacidad, graduadas también al décimo de cm³.

Las pipetas se contralorean, cargando de agua destilada la bureta, hasta la graduación 1 ó 10 y completando luego, el volumen que falta en la bureta, con la carga de agua destilada correspondiente a la pipeta de 1 o de 10 cm³ de capacidad; un par de estos ensayos indican rápidamente, si la pipeta empleada es o no bastante exacta.

Es ventajoso tener estas pipetas, cuando no están en actividad, sumergidas en una solución al 5 % de bicromato de potasio o de sodio en ácido sulfúrico; se logra con esta precaución, evitar la formación de burbujas de aire, que a veces interrumpen la continuidad del líquido, en el momento de usarlas.

La técnica del método es muy sencilla. Se dispone en el interior de los tubos de ensayo de reacciones, 1 cm³ del reactivo concentrado o diluido, medido con una de las pipetas de 1 cm³; pero, si las determinaciones a efectuarse van a ser numerosas, conviene más cargar la bureta con el reactivo y recoger en cada tubo 1 cm³ del mismo, escurrido gota a gota.

Se mide 1 cm³ de la solución en la cual se va a dosificar el azúcar reductor y acto continuo, se lleva a ebullición el reactivo, manteniendo el tubo de ensayo con agitaciones suaves pero continuadas, sobre la parte superior algo luminosa de una pequeña llama de gas, de 4 a 5 cm de longitud.

Hervido el reactivo y comprobado de que no se enturbia, ni cambia de coloración, es decir, que no ofrece señal alguna de alteración, se procede a hacer caer, en el fondo del tubo que contiene el reactivo, el líquido azucarado de la pipeta, gota a gota, de tal manera, que a cada incorporación de una gota del líquido reductor debe preceder invariablemente, una nueva ebullición del reactivo.

A medida que aumenta la cantidad de la solución azucarada que se incorpora, la coloración del reactivo se debilita, por la consiguiente reducción que se produce durante la reacción y para precisar netamente el límite de la operación conviene apoyar el tubo de ensayo sobre un pedazo de papel de filtro y observarlo por reflexión y refracción bajo diferentes ángu-

los. Luego se continúa añadiendo las gotas del líquido reductor de acuerdo con la intensidad de la coloración aún percibida, hasta que el líquido contenido en el tubo sea incoloro o que no presente tonalidad violácea alguna, ni aún observándolo por refracción a cierta distancia del papel de filtro, que en este caso ya no vendría a servir como superficie circundante, sino como punto de mira a través del líquido del tubo.

Cuando se hace uso del reactivo concentrado, el final de la reacción está indicado, como se acaba de exponer, por la decoloración total del líquido, porque la pequeña cantidad de óxido cuproso que se forma, como consecuencia de la reducción, no afecta la percepción de la coloración aún dentro de la ligera tonalidad violácea que ocasiona, en la última parte de la operación, la coexistencia del óxido cuproso, de color rojizo y de una escasa cantidad del reactivo, de color azul.

Otro tanto se puede decir, en el caso de aplicarse el reactivo diluido, excepción hecha del suero sanguíneo, cuya consideración se hará en el capítulo correspondiente.

CONTRALOR DE LOS REACTIVOS

Si los reactivos, concentrado y diluido, se los ha preparado en la forma detallada precedentemente, la cantidad de glucosa anhidra que apreciarán por cm^3 , será de 1 mgr el primero y de 0,1 mgr el segundo.

No obstante, para mayor seguridad, conviene siempre titularlos con una solución de glucosa de título conocido. Con este objeto y a fin de disponer en cualquier momento de una solución de glucosa de concentración conocida, se pesa un gramo de glucosa anhidra, para análisis, se coloca en un matraz aforado de 100 cm^3 de capacidad, donde se disuelve con una solución de ácido benzóico al 2,5 por mil y con la misma solución se completa el volumen hasta 100 cm^3 . Esta solución es la que servirá para preparar las soluciones ocasionales que hagan falta. En efecto, si se desea disponer de soluciones al 1 por mil y al 1 por diez mil, no habrá más que cargar una bureta con la solución madre de glucosa, que viene a ser la de 1 %, y recoger en dos matraces de 100 cm^3 de capacidad cada uno de ellos, 10 cm^3 y 1 cm^3 respectivamente, de

dicha solución y completar luego con agua destilada, el volumen del líquido en ambos matraces, hasta 100 cm³. Con la solución al 1 por mil, que contiene el primer matraz, se titulará el reactivo concentrado y con el contenido del segundo matraz, que es la solución al 1 por diez mil, se titulará el reactivo diluído. Un par de determinaciones para cada reactivo, siempre que sean concordantes, es suficiente para establecer el título de cada uno de ellos en forma definitiva, que generalmente viene a ser, como se ha dicho, de 1 mgr y 0,1 mgr por cada cm³ de ambos reactivos, respectivamente.

EVALUACIÓN DE AZÚCARES EN JARABES Y EN SOLUCIONES
MÁS DILUÍDAS

La evaluación de azúcares en medios simples como son los jarabes y soluciones más diluídas, puede abarcar por separado la determinación de azúcar reductor o de sacarosa solamente, o bien la de ambos, hallándose mezclados.

Azúcar reductor. — Cuando se pretende evaluar el azúcar reductor únicamente, esté o no en presencia de sacarosa, conviene efectuar, previamente, un análisis preliminar a fin de preparar la solución más apropiada por su concentración, para la sensibilidad del reactivo y que es alrededor de 1 por mil y recién entonces ejecutar la titulación precisa.

Para ésto se carga con la solución, en la cual se va a dosificar el azúcar reductor, una pipeta de 1 cm³ y se hace caer una sola gota sobre el reactivo llevado a ebullición en un tubo de ensayo y se observa si hay o no reducción y en caso de haber, si ella es total o parcial.

Supuesto el caso de que fuera total, quiere decir, que en cada gota del líquido a analizarse hay por lo menos 1 mgr de azúcar reductor, lo que indica que es una concentración igual o superior a 20 por mil de azúcar reductor.

En estas condiciones, se procede a diluir 1 cm³ de la muestra con 19 cm³ de agua destilada, es decir 1/20 y se vuelve a ti-

tular el líquido de esta primera dilución. Si se ha gastado $0,9 \text{ cm}^3$ o más del líquido diluido para reducir 1 cm^3 del reactivo, la operación habría terminado, haciéndose los cálculos respectivos sobre la base de que cada cm^3 del reactivo, aprecia 1 mgr de azúcar reductor en glucosa anhidra.

Pero si se ha empleado menos de $0,9 \text{ cm}^3$ del líquido, para reducir 1 cm^3 del reactivo, debe diluirse nuevamente, por ser todavía muy concentrada la primera dilución. Supóngase que la concentración del azúcar es tal, que se hubiera gastado $0,4 \text{ cm}^3$ solamente; la segunda dilución se hará en esta forma: se divide la unidad por $0,4$, el cociente que resulta, menos uno, será la cantidad de agua destilada a añadirse para cada cm^3 del líquido de la primera dilución. En efecto: $1/0,4 = 2,5$. Es decir, que a cada cm^3 de la primera dilución se le incorporará $1,5 \text{ cm}^3$ de agua destilada y la segunda dilución será por tanto de $1/2,5$. Como en esta segunda dilución, al tomar 1 cm^3 de la primera, en realidad se viene a medir $0,05 \text{ cm}^3$ de la muestra, para facilitar el cálculo ulterior, es conveniente, tomar 2 cm^3 de la primera dilución y agregarle 3 cm^3 de agua destilada; de esta manera, la segunda dilución no habrá variado, puesto que continuará siendo al $1/2,5$, en cambio, si al titular el líquido de la segunda dilución, se gastara 1 cm^3 , hecha la proporción para 5 cm^3 , que es el total de la segunda dilución, el resultado obtenido sería para $0,1 \text{ cm}^3$ de la muestra y no habría más que correr la coma 3 ó 4 lugares, según se quiera dar los datos analíticos, ya sea por cien o por mil cm^3 de substancia.

Admitiendo la posibilidad de que aun en este caso, no se hubiera empleado más que $0,8 \text{ cm}^3$ del líquido, para reducir 1 cm^3 de reactivo, correspondería verificarse la tercera dilución, procediéndose en forma análoga como para la segunda dilución. Dividiendo la unidad por $0,8$, resulta $1,25$, lo que indica que para cada cm^3 del líquido de la segunda dilución, tendrá que añadirse $0,25 \text{ cm}^3$ de agua destilada, siendo por consiguiente la dilución de $1/1,25$.

La titulación del líquido de esta tercera dilución suele ser muy precisa aún para soluciones concentradas de azúcar reductor como son los jarabes, por tanto es difícil llegar a una cuarta o quinta dilución, pero si fuese necesario su ejecución

se haría en la forma expuesta para la segunda y tercera dilución.

Efectuada la tercera dilución, debe titulársela para determinar la cantidad que reduce a 1 cm³ del reactivo. En caso de que fuera 1 cm³, el cálculo a realizarse para completar el análisis, es el siguiente:

Las tres diluciones de la muestra fueron hechas sucesivamente al 1/20; 1/2,5, y 1/1,25; multiplicando los quebrados correspondientes a todas las diluciones verificadas, se tiene como producto total un nuevo quebrado cuyo denominador suministra el volumen total de la dilución realizada. Por tanto se aplica la proporción correspondiente, ya que se sabe que 1 cm³ de la dilución reduce a 1 cm³ del reactivo, que a su vez aprecia 1 mgr de azúcar reductor. La cifra obtenida dará la cantidad de azúcar reductor en glucosa anhidra para 1 cm³ de la muestra, puesto que fué ésta, la cantidad de substancia empleada para efectuar las diluciones, relacionándola finalmente, por cien o por mil de la misma.

Si con una gota de la muestra, en el análisis preliminar, no se obtiene más que una reducción parcial del reactivo, habrá que precisar la cantidad de líquido que ocasiona la reducción total del mismo. De ser 0,9 cm³ o más, aquella cantidad, se verificarán los cálculos respectivos, para indicar la concentración hallada, del azúcar reductor. En caso contrario, es decir, siendo la cantidad empleada, inferior a 0,9 cm³, habrá que proceder a la dilución de la muestra, en forma análoga a la expuesta anteriormente.

Produciéndose la reducción total de 1 cm³ del reactivo con 1 cm³ de la muestra, asignaría a ésta, una concentración de 1 por mil de azúcar reductor en glucosa; 0,5 gr por mil si se hubiera gastado 2 cm³ y solamente 0,2 gr por mil, de azúcar reductor, en caso de haberse llegado a emplear 5 cm³ de la muestra.

Para concentraciones de azúcar reductor menores de 0,2 gr por mil, conviene utilizar el reactivo diluído al décimo, en las condiciones señaladas en los párrafos precedentes y que aprecia 0,1 mgr de azúcar reductor, por cada cm³.

Se emplea 2 cm³ de este reactivo diluído, para muestras cuya concentración en azúcar reductor está comprendida en-

tre 0,1 y 0,2 gr por mil y 1 cm³ para las concentraciones de 0,1 gr por mil o menores que ésta.

En los casos en que 3 cm³ de la muestra, no reducen ni con parcial producción de óxido cuproso, 1 cm³ del reactivo concentrado, puede considerarse que prácticamente no contiene azúcar reductor, lo que se confirmará en forma indubitable si 1 cm³ del reactivo diluido, no es reducido, por 1 cm³ de la muestra, ni aún de una manera parcial.

Sacarosa. — Para dosificar la sacarosa, se la invierte previamente, por ebullición, en medio ácido y después de alcalinizarla, se la determina como azúcar reductor. Tratándose de jarabes o de soluciones concentradas de sacarosa, conviene medir 1 cm³ o bien pesarlo y diluirlo a 100 cm³ con agua destilada, en un matraz aforado de dicha capacidad. Cuando los líquidos a analizarse sean más fluidos, pueden efectuarse las diluciones doble, triple o más concentradas que la indicada para los líquidos de consistencia espesa y si las muestras fueran muy fluidas, en este caso, no habría necesidad de diluirlas.

Hecha la dilución correspondiente, se mide 1 cm³ de esta solución o directamente de la muestra si no hubo dilución, se deposita en un tubo de ensayo, se le adiciona 1 cm³ de agua destilada y después de agregarle 0,1 cm³ o sea II gotas de una solución al 50 % de HCl en volumen, partiendo de un HCl concentrado de 1,19 de densidad; se lleva a una franca ebullición, luego de enfriado el líquido, se le incorpora 1 cm³ de solución al 10 % de hidróxido de sodio y se lo trasvasa cuantitativamente a una probeta graduada, donde finalmente, se lleva el volumen total del líquido a 10 cm³.

Como en esta solución, se tiene la sacarosa, totalmente invertida al estado de azúcar reductor, se procede a su titulación en la forma descripta precedentemente.

Calculada la cantidad de azúcar reductor hallada para 100 cm³ o gramos de la muestra, se la expresa en sacarosa, mediante la proporción tan usual que sigue: 100/95 como a/x , donde a representa la cantidad de azúcar reductor dosificada y x expresa el porcentaje de la sacarosa hallada, o todavía más fácilmente, multiplicando la cifra obtenida de azúcar reductor por 0,95 y el resultado dará el porcentaje de sacarosa encontrada.

Azúcar reductor y sacarosa presentes. — En este caso, de encontrarse mezclados el azúcar reductor y la sacarosa, se aplica exactamente la técnica detallada anteriormente para la evaluación de ambos azúcares.

Se determina en primer término, el azúcar reductor libre y después de la inversión de la sacarosa, se evaluará el azúcar reductor total. Conocidos los dos resultados para 100 cm³ o gramos de la muestra, la diferencia de ellos, corresponderá al azúcar reductor proveniente del disacárido, la que multiplicada por 0,95, suministrará el valor de la sacarosa hallada.

Ejemplo práctico. — Como un ejemplo práctico, de lo que se ha expuesto, consigno con detalles la preparación ad-hoc, de un jarabe con glucosa y sacarosa y su consiguiente análisis.

En una balanza de precisión, se pesó, en un vaso de precipitación, de 200 cm³ de capacidad y previamente tarado, 40 gr de sacarosa (azúcar en pancitos del comercio) y 24 gr de glucosa pura y anhidra (Merck); luego se completó con agua destilada, aproximadamente hasta 100 gr. Después de la disolución de los azúcares a la temperatura de 30-35°C y enfriamiento de la solución a la temperatura ordinaria, se llevó el contenido del vaso a 100 gr exactos, reintegrando el agua evaporada durante la disolución.

Dosificación de glucosa. — Haciendo caer una gota del jarabe preparado, sobre 1 cm³ del reactivo, calentado a ebullición, produjo una reducción total del mismo.

Se efectuó la primera dilución 1/20, agregando a 1 cm³ del jarabe 19 cm³ de agua destilada.

Esta primera dilución resultó aún muy concentrada, porque 0,1 cm³ o sea dos gotas solamente de este líquido, redujeron también totalmente a 1 cm³ del reactivo.

La relación 1/0,1 da igual a 10, es decir, que la segunda dilución se hizo al 1/10, añadiendo a 1 cm³ del líquido de la primera dilución, 9 cm³ de agua destilada.

En la titulación de esta segunda dilución, se gastó 0,7 cm³ del líquido para reducir completamente a un cm³ del reactivo.

Como la relación de 1/0,7 es igual a 1,42, la tercera dilución

se verificó a 1/1,42, para lo cual, a cada cm^3 del líquido de la segunda dilución, se le incorporó 0,42 cm^3 de agua destilada. En este caso, a 5 cm^3 del líquido de la segunda dilución se agregaron 2,1 cm^3 de agua destilada; como es lógico, la concentración de la dilución no ha variado, únicamente ha aumentado el volumen, para aprovechar la medición exacta de las decimales.

La titulación del líquido de la tercera dilución requirió el uso de 1 cm^3 para reducir totalmente a un cm^3 del reactivo concentrado, que es el que se ha empleado siempre.

Como las diluciones fueron 1/20, 1/10 y 1/1,42, multiplicando los quebrados, se tiene el producto total que es igual a 1/284, cuyo denominador expresa el volumen total de la dilución hecha del cm^3 de jarabe empleado.

Conocido el título de 1 cm^3 del reactivo reducido, que es de 1 mgr, se aplica la proporción correspondiente. Puesto que 1 cm^3 del líquido de la dilución contiene 1 mgr de azúcar reductor, se tiene: $1/0,001 :: 284/x$, de donde x viene a ser igual a gr 0,284. Es decir, que 1 cm^3 de jarabe contiene gr 0,284 de azúcar reductor o sea 28,4 gr por cien cm^3 .

El peso de 1 cm^3 del jarabe fué de gr 1,2045; por lo tanto, el cálculo para 100 gr del jarabe da la cantidad de gr 23,578 de glucosa, en vez de gr 24,00, que se había empleado.

Dosificación de la sacarosa. — Se pesó 1 cm^3 de jarabe, que fué de gr 1,2045 y se diluyó con agua destilada hasta 100 cm^3 , en un matraz aforado adecuado.

A 1 cm^3 de esta dilución, puesto en un tubo de ensayo y adicionado de 1 cm^3 de agua destilada, se agregó II gotas de solución clorhídrica al 50 % en volumen y se llevó a una franca ebullición. Al líquido enfriado e incorporado de 1 cm^3 de solución al 10 % de hidróxido de sodio, se trasvasó a una probeta graduada y contraloreada los volúmenes de las divisiones que indica, mediante una bureta. El tubo de ensayo fué lavado tres veces con 2 cm^3 de agua destilada por vez y el líquido proveniente de estos lavajes, se incorporó al contenido de la probeta, donde, finalmente, se completó la solución a 10 cm^3 , con agua destilada.

De esta segunda dilución al 1/10, se empleó 1,25 cm^3 para

reducir totalmente 1 cm³ del reactivo concentrado. Como las diluciones fueron dos al 1/100 y al 1/10, multiplicando ambos quebrados, se tiene en consecuencia el producto total que es 1/1000, cuyo denominador indica el volumen total de la dilución hecha.

Estableciendo la proporción respectiva, resulta: 1,25/0,001 miligramos, ∴ 1000/*x*; de donde *x* es igual a gr 0,80. Es decir, que 1 cm³ de jarabe, que pesa gr 1,2045, contiene gr. 0,80 de azúcar reductor y por cien gramos contendrá, la cantidad de gr 66,417.

Deduciendo de este valor, el del azúcar reductor libre hallado, que fué de gr 23,578, se obtiene la cifra 42,839, que representa la cantidad en gramos de azúcar reductor proveniente de la inversión de la sacarosa. Multiplicando esta cantidad por el factor 0,95, se tiene expresado por su equivalente en sacarosa que es la cantidad de gr 40,697 y que en definitiva viene a ser el azúcar hallado, en vez de los 40,00 gr que se había incorporado, para 100 gr de jarabe.

RESUMEN DE LAS OPERACIONES Y LOS RESULTADOS

Jarabe preparado con sacarosa y glucosa

	Por cien gramos de jarabe			Por cien gramos de azúcar
	Incorporada gr	Hallada gr	Diferencia gr	Diferencia gr
Sacarosa . . .	40,000	40,698	+ 0,697	+ 1,740
Glucosa . . .	24,000	23,578	— 0,422	— 1,750

Además de este ejemplo práctico, se podría ofrecer numerosas comprobaciones e investigaciones efectuadas por este método, de la concentración de soluciones de sacarosa y de glucosa, cuyos títulos en dichos azúcares, variaron desde 1 por mil hasta la de los jarabes. En todos los casos, los errores no excedieron de 5 % con relación al peso del azúcar, obteniéndose en la mayoría de ellos y sobre todo, en soluciones diluídas, resultados exactos o con diferencias despreciables.

EVALUACIÓN DE AZÚCAR REDUCTOR EN ORINA

La evaluación de azúcar reductor en una muestra de orina, se efectúa, exactamente, como en el caso de la dosificación de glucosa en soluciones acuosas.

Previamente, habrá que hacer el análisis preliminar, para fijar, por diluciones adecuadas de 1 cm³ de orina, la concentración de la dilución final apropiada para la sensibilidad del reactivo concentrado y proceder luego a la titulación precisa, siempre que la orina en consideración, contenga más de 2 gr de glucosa por mil, lo cual se establece, por la cantidad de orina sin diluir que se emplea para reducir totalmente a un cm³ del reactivo.

Para concentraciones inferiores de 2 gr por mil de azúcar reductor, es decir, cuando se ha gastado alrededor de 0,5 cm³ o más de orina sin diluir, en la reducción total de 1 cm³ del reactivo, debe defecarse la orina a fin de eliminar el ácido úrico, sus sales y otros cuerpos que normalmente se encuentran en ella y que tienen acción reductora sobre el reactivo y recién entonces se procederá a dosificar el azúcar reductor, que hubiere en el líquido obtenido.

La defecación de la orina, se efectúa, en la forma corriente que se acostumbra realizar, añadiendo 10 % de solución de acetato básico de plomo, un poco de carbón animal, mezclando por agitación y filtrándola.

La solución de acetato básico de plomo, se preparó de acuerdo con las indicaciones dadas al respecto por la Farmacopea Nacional Argentina, 1921.

En el presente trabajo, la defecación de la orina se ejecutó regularmente como sigue:

A 4,5 cm³ de orina dispuestos en un tubo de ensayo seco, se añade 0,5 cm³ de solución de acetato básico de plomo, se le incorpora una pequeña cantidad de carbón animal y después de una enérgica agitación, se filtra, sobre papel de filtro de poros finos, que se usa en cuantitativa y cuyo diámetro no era mayor de 5 cm.

Como en la orina se encuentran normalmente el ácido úrico y la creatinina, y siendo estos cuerpos susceptibles de actuar

sobre el reactivo que se utiliza para la evaluación del azúcar reductor, se requería precisar con toda claridad, acerca de la importancia de su acción reductora. Con este objeto, se prepararon soluciones de 1 por mil de cada uno de dichos cuerpos separadamente. La creatinina en agua destilada se disuelve sin inconveniente y el ácido úrico, también se disuelve pero previa adición de carbonato de litio. Los cuerpos empleados, eran para análisis, de Merck.

La solución de creatinina no tiene acción apreciable sobre el reactivo, puesto que haciendo actuar hasta 5 cm³ de la solución al 1 por mil, no produjo modificación alguna a 1 cm³ del reactivo concentrado, en las condiciones habituales de su uso.

La solución de ácido úrico, redujo totalmente a 1 cm³ del reactivo, y de una manera análoga a la glucosa, pero gastándose 2,7 cm³ de la solución al 1 por mil; por tanto, si la orina normal redujera al reactivo nada más que por la acción del ácido úrico, sería necesario emplear más de 5,4 cm³ de líquido, cantidad que jamás se utiliza para la titulación de azúcar reductor por este método.

Para que en las evaluaciones de azúcar reductor, en orinas con menor concentración de 2 gr por mil de glucosa, la acción del ácido úrico y de otros reductores diferentes a la glucosa, no afecten el valor real del resultado, se ha indicado la precaución de defecar previamente la orina e inhibir así, la influencia de dichos cuerpos.

En las orinas de concentraciones mayores a 2 por mil de glucosa, no tiene importancia el valor del ácido úrico y de los otros reductores, porque ya se los diluye y su acción, prácticamente, vendría a ser nula.

Se inserta algunas evaluaciones de glucosa en orina, hechas comparativamente con este método y mediante el polarímetro:

	Azúcar reductor en glucosa por mil cm ³ de orina		Diferencia	
	Por polarímetro gr	Método Ugarte gr	Por mil grs. de orina gr	Por cien grs. de glucosa gr
Orina N ^o . I	3,30	3,15	— 0,15	— 4,54
> > II	7,70	7,47	— 0,23	— 2,98
> > III	13,54	13,33	— 0,21	— 1,55
> > IV	33,99	33,40	— 0,59	— 1,76

EVALUACIÓN DE AZÚCAR REDUCTOR EN SANGRE

La evaluación de azúcar reductor se puede efectuar en sangre total o en el suero obtenido por centrifugación o espontánea coagulación de la sangre; en ambos casos es necesario diluir al décimo, con solución fisiológica cuando se trata de sangre y con agua destilada solamente, en caso de trabajarse con suero.

Para diluir la sangre, conviene depositar, en un tubo seco de centrífuga el volumen de las 9/10 de la solución fisiológica, luego medir recién el volumen que se desea de sangre y que corresponde a la décima parte del volumen total de la dilución a prepararse; se incorpora la sangre en el tubo de centrífuga y se lava la pipeta, con el líquido de dilución, llevándolo por absorción un par de veces, hasta la altura que ocupó la sangre, en el interior de la pipeta. Se centrifuga, generalmente tres minutos y el líquido claro que se obtiene, está en condiciones de ser titulado.

Es condición indispensable que el líquido resultante de la centrifugación sea límpido e incoloro o cuando más ligeramente amarillento, porque si está turbio y algo rojizo debe centrifugarse más tiempo. No consiguiéndose líquido incoloro sino más bien, con tinte rojizo por hemólisis de la sangre, es conveniente proceder a una nueva dilución de la sangre, porque los resultados en estas condiciones serían superiores a los obtenidos con líquido no coloreado.

Midiendo la sangre con pipeta seca y procediendo en la forma que se ha detallado, sólo por excepción ocurriría la hemólisis, siendo lo general, que por centrifugación se obtenga un líquido claro.

Disponiéndose de suero, es también indispensable que sea límpido y que no presente coloración rojiza; si no reúne estas condiciones habrá que centrifugarlo previamente, para diluirlo al décimo con agua destilada.

La evaluación de azúcar reductor se puede ejecutar en cualquier cantidad de sangre y de suero a partir de 0,1 cm³, diluidos siempre al décimo. La sangre humana puede obtenerse, como es de costumbre, de la vena o mejor todavía por simple

punción digital y absorber con la pipeta al décimo, un poco por encima del volumen que se pretende medir y enrasar exactamente a la división buscada, mediante toques del extremo de la pipeta cargada, con un trozo de papel de filtro.

En todos los casos en que se disponga de mayor cantidad que 0,1 cm³ de sangre o de suero, se emplea para la dosificación del azúcar reductor 1 cm³ del reactivo diluido. Únicamente se ejecuta la operación con 0,5 cm³ de este reactivo cuando el volumen de la sangre o del suero es de 0,1 cm³ o algo menos, por ejemplo 0,09 cm³ y aún 0,08 cm³.

En este análisis la técnica de la evaluación es la misma que en todos los casos en que se usa este procedimiento, en cuanto se refiere a incorporar gota a gota el líquido reductor, sobre 1 cm³ ó 0,5 cm³ del reactivo, con previas ebulliciones de éste, antes de una nueva adición del líquido a titularse.

En lo que difiere este análisis de los otros, mencionados hasta ahora, es en la coloración del biuret que se produce, cuando se añade una gota del suero sanguíneo sobre el reactivo y esta coloración que en un principio es de azul de cobalto intenso, a medida que avanza la operación, va pasando al violeta, después al rojizo y finalmente al pardo-amarillento, cuando ha terminado la reacción. En estas condiciones, la coloración del biuret viene a ser un indicador del proceso de la experiencia y como su fidelidad ha respondido en todos los ensayos hechos con los dos reactivos, su desaparición se ha tomado como el límite de la dosificación del azúcar reductor en el suero.

Con el reactivo concentrado, empleado hasta ahora, y haciendo uso de suero sin diluir, en algunos casos se obtienen buenos resultados, sobre todo en suero humano, pero, en otros, de esta misma procedencia y más aún en sueros de equino, vacuno, conejo, etc., las cifras halladas para el azúcar reductor resultaban demasiado altas con relación a los datos obtenidos para los mismos, con los procedimientos de Folin y Wu, y de Hagedorn y Jensen.

● *El que no aspira lo imposible, apenas hará nada hacedero que valga la pena. Las más de nuestras miserias vienen de nuestra avaricia espiritual.*

UNAMUNO.

En cambio con el reactivo diluido, que aprecia, como se ha dicho ya, 0,1 mgr de glucosa por cada cm^3 , las dosificaciones de azúcar reductor hechas en suero de cualquier procedencia diluido al décimo, acusa muy buenos resultados; por este motivo, se ha preferido su empleo en estas determinaciones.

Como el suero se diluye al décimo, las proteínas de esta dilución darán, lógicamente, una coloración del biuret menos intensa que la que acusaba con una mayor concentración, pero su percepción es perfectamente nítida, presentándose al comienzo de la reacción, azul y violácea, luego amatista pronunciada, después muy débil, siendo reemplazada al final de la operación, por un tinte de habano claro inconfundible, tornándose amarillo si se ha excedido en la incorporación del líquido reductor, al cual no debe llegarse para elegir como el límite de la reacción sino al tinte de habano claro.

De los numerosos análisis comparativos hechos, entre este método y el de Hagedorn y Jensen, se presentan en este trabajo nada más que dos de ellos, efectuados en lotes de 9 conejos. El primero se efectuó con suero proveniente de sangre obtenida por punción cardíaca; habiéndose diluido al décimo, con agua destilada y verificada la dosificación del azúcar reductor, empleándose 1 cm^3 del reactivo. El segundo cuadro, expresa el análisis efectuado con 0,1 cm^3 de sangre, conseguida mediante punción auricular, luego diluida en 0,9 cm^3 de la solución fisiológica, centrifugada durante tres minutos y hecha la titulación del azúcar reductor, utilizándose, solamente 0,5 cm^3 de reactivo diluido.

Debo hacer presente, con mi mayor reconocimiento, que el análisis por el método de Hagedorn y Jensen, fué ejecutado por mi distinguido amigo, el bacteriólogo doctor Alberto Torino, del Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene, quien, con la gentileza que le es habitual, no solamente se prestó a estos trabajos, sino, a varias otras series de titulaciones, las cuales las llevó a cabo con la precisión y maestría características de sus trabajos de laboratorio.

CUADRO N.º 1 - Azúcar reductor en glucosa

Conejos normales (*)	Por mil cm ³ de sangre	Por mil cm ³ de suero
	Procedimiento de Hagedorn y Jensen	Método Ugarte
	gr	gr
Conejo N.º 1	1,00	0,95
> > 2	1,36	1,43
> > 3	1,09	1,00
> > 4	1,04	1,11
> > 5	1,02	1,11
> > 6	0,98	1,00
> > 7	1,07	1,11
> > 8	1,09	1,05
> > 9	1,07	1,11

CUADRO N.º 2 - Azúcar reductor en glucosa

Conejos normales (*)	Por mil cm ³ de sangre	
	Procedimiento de Hagedorn y Jensen	Método Ugarte
	gr	gr
Conejo N.º 1	1,12	1,11
> > 2	0,77	0,77
> > 3	0,88	0,94
> > 4	0,80	0,77
> > 5	0,95	1,00
> > 6	0,95	1,00
> > 7	0,95	0,91
> > 8	0,95	0,93
> > 9	0,93	0,91

EVALUACIÓN DE AZÚCAR REDUCTOR EN LÍQUIDO CÉFALORRAQUÍDEO

Para la determinación del azúcar reductor, en el líquido céfalo raquídeo, se procede a titular la muestra, empleando 0,5 cm³ del reactivo concentrado, si se dispone de poco líquido

(*) Los conejos fueron sometidos previamente a una dieta de 24 horas.

o bien de 1 cm³ de dicho reactivo, en caso de poder destinarse más de 2 cm³, para esta dosificación. La operación en sí no ofrece dificultad alguna, en virtud de que la muestra, generalmente, es siempre límpida e incolora o ligeramente amarillenta.

EVALUACIÓN DE AZÚCAR REDUCTOR EN LECHE

Preparando una solución de lactosa pura al 1 por mil, se ha comprobado que es necesario emplear 1,4 cm³, de esta solución, para reducir totalmente 1 cm³ del reactivo, lo que indica que cada cm³ de este reactivo aprecia 1,4 mgr de lactosa anhidra; como por otra parte, el título de este reactivo en glucosa es de 1 mgr por cm³, resulta, entonces, que 1 mgr de glucosa y 1,4 mgr de lactosa son equivalentes para reducir totalmente a 1 cm³ del reactivo concentrado.

Varias soluciones hechas de lactosa, de concentraciones variadas y conocidas, fueron dosificadas por este método, empleando el título de 1,4 mgr de lactosa para cada cm³ del reactivo y los resultados obtenidos fueron exactos o con una diferencia insignificante.

Tratándose de evaluar lactosa en leche, conviene diluir 0,1 cm³ de leche si es de vaca con 2,5 cm³ de agua destilada y con 4,5 cm³ del mismo líquido, operándose con leche de mujer y proceder luego, a la titulación de estas diluciones, como si fueran simples soluciones acuosas de lactosa. La opalescencia del líquido, en lugar de ser un obstáculo, viene a constituir más bien, un fondo muy favorable para la percepción nítida del final de la reacción.

Las diluciones a efectuarse con las leches referidas, se las indica, considerando la concentración normal de lactosa en ellas, pero si variara aquélla, esta primer dilución podría servir de preliminar, para luego prepararse la apropiada.

BIBLIOGRAFIA

- (1) JEANNE, LEVY, *Essais et dosages biologiques des substances médicamenteuses*, (1930, 93).
- (2) FOLIN, OTTO, *A new blood sugar method.*, « J. Biol. Chem. », 1928, 77, 421.
- (3) y (4) MAZZOCCO, P. y RIETTI, C. T., *Guía de Trabaj. Práct. de Quím. Biol.*, 1928.

- (5) CATTELAINE, M. E., *Histoire d'un Réactif*, « Journ. Pharm. et Ch. », 1929, X, 405 y 449.
- (6) LÖWE, J., *Ueber die Anwendung des Glycerin-Kupferoxyd-natrons zur Nachweisung und Bestimmung des Traubenzuckers*, « Zeits. f. Anal. Ch. », 1870, 91, 20.
- (7) BISCHOP TINGLE, *Enciclopedia di Chimica*, V, 652, I. GUARESCHI.
- (8) Farmacopea Nacional Argentina, *Acetato básico de plomo (solución)*, 1921, 31.
- J. LEWKOWITSCH, *Technologie et Analyse Chimiques des Huiles, Graisses et Cires; Glycerine*, 1906, I, 180.
- H. MOISSAN, *Traité de Chimie Minerale; Cuivre*, 1906, V, 48.

Instituto de Química
del Departamento Nacional de Higiene



H. Ter Meulen (de la Technische Hogeschool de Delft, Holanda)

LOS METODOS DE HIDROGENACION EN EL ANALISIS QUIMICO ORGANICO ⁽¹⁾

La inclusión del presente trabajo en nuestras páginas se justifica ampliamente.

● Expone en conjunto una serie de aplicaciones de un método general.

● Se refiere a la química orgánica, rama que, por menos descuidada entre nosotros, nos crea deberes como informantes.

● Incita a poner en práctica una técnica que, además de las ventajas señaladas como método analítico, familiarizará a quien no lo esté con los catalizadores de las reacciones gaseosas, práctica, muy provechosa por lo sugerente y enriquecedora de los recursos operativos del químico.

Me propongo hablar de nuevos métodos de análisis elemental orgánico. No es que falten métodos; por lo contrario, los poseemos excelentes. Pero es frecuente que exijan mucho tiempo y muchos cuidados, como por ejemplo, para no citar sino algunos: el método de Carius para el dosaje del azufre y de los halógenos, exige, por lo menos, un día y, a menudo, más; el dosaje del arsénico y del mercurio, necesita una destrucción previa de la materia orgánica por los ácidos nítrico y sulfúrico, operación desagradable y desalentadora. Si me permito llamar la atención sobre algunos métodos nuevos, es porque son más simples y más rápidos sin que la exactitud de los resultados merme.

Los métodos ordinariamente empleados, se basan en una destrucción por oxidación. Se ataca la sustancia, calentándola con oxidantes como el óxido de cobre o el ácido nítrico con-

(1) Conferencia pronunciada en la Sorbona y publicada en el *Bull. de la Soc. Ch. de France*, Agosto 1931.

centrado. En los nuevos métodos se realiza la destrucción por hidrogenación. Se calienta la sustancia problema en una corriente de hidrógeno — a veces, pero no siempre, en presencia de un catalizador — y se obtienen los elementos que se quiere evaluar en una combinación fácilmente dosable: el azufre y los halógenos, transformados en hidrácidos, el nitrógeno en amoníaco, el oxígeno — que puede ser así dosado directamente — en agua, mientras que el Hg, el As y el Cd son obtenidos al estado metálico.

El carbono no puede ser dosado de esta manera, ni, como se comprende, tampoco el hidrógeno; para la valuación de estos dos elementos existe un método muy simple, del que hablaré al final de esta conferencia.

No existe un método general de hidrogenación que sea aplicable a todas las evaluaciones que he mencionado; cada elemento exige una manera especial. No los describiré en detalle; me limitaré a describir sucintamente aparatos y técnica.



La primera aplicación del método de hidrogenación ha sido el dosaje del **azufre**. Un compuesto orgánico que contenga azufre, da siempre hidrógeno sulfurado cuando se lo calienta; se trata de obtener todo el azufre bajo esta forma. Y se lo consigue calentando la sustancia sulfurada en una corriente de hidrógeno y haciendo pasar la mezcla de sus gases y del hidrógeno en exceso sobre un cuerpo sólido llevado al rojo; a esta temperatura todas las combinaciones del azufre, aún los óxidos, se reducen y el total de azufre se obtiene como H_2S .

El aparato consiste en un tubo de cuarzo transparente de 50-60 cm de longitud, tubo que puede ser de vidrio; pero que a la larga, malgrado su elevado precio, resulta más barato. En él se introduce una navecilla de porcelana con la sustancia. A la mitad del tubo se halla una pequeña columna de amianto puro calentado al rojo mediante un horno Fletcher; se hace pasar hidrógeno puro por el tubo y se gaseifica lentamente la sustancia problema por medio de un pequeño mechero; los gases de la sustancia, mezclados con un exceso de hidrógeno pasan sobre el amianto incandescente y todo el azufre se trans-

forma en H_2S que es recogido en un tubo de absorción con un poco de solución de soda cáustica.

Al principio empleaba amianto platinado; pero no es necesario; se puede suprimir el catalizador, el amianto al rojo basta.

Cuando se ha terminado el calentamiento se añade el contenido del tubo de absorción a un exceso de solución de yodo al vigésimo acidulada con HCl y se titula por retorno el exceso de yodo con tiosulfato. Se calcula el azufre según la ecuación: $H_2S + 2I = 2HI + S$. Esto es todo.

Para una muestra de 30 mgr la hidrogenación exige una media hora, la titulación se hace en unos minutos.

Si se trata de una sustancia que se carboniza fuertemente por el calentamiento, lo que ocurre con ciertos ácidos sulfónicos, se precisa tomar una precaución especial para evitar que el carbón retenga algo de azufre. Consiste en mezclar previamente la sustancia con un poco de negro de platino; éste sirve de catalizador y la transformación $S \rightarrow H_2S$ ocurre integralmente. Después del análisis se recupera el negro de platino por calcinación.

Las cifras obtenidas difieren poco de las teóricas.

Para dosar cantidades de azufre muy pequeñas, p. ej. en aceites minerales, se emplea un método colorimétrico que se basa en la ligera coloración negruzca producida en una solución de plumbito sódico por una solución muy diluida de sulfuro de sodio. Se compara con una solución tipo. Puede evaluarse fácilmente un centésimo de miligramo (10 γ) de azufre de manera que el análisis puede hacerse sobre una gota de petróleo.



Sería de esperar que pudiera dosarse los **halógenos** de la misma manera; colocando en la navecilla una sustancia orgánica conteniendo Cl en vez de S y operando igual que para el dosaje del S sería probable hallar todo el cloro como ácido clorhídrico en el tubo de absorción. Pero no ocurre así; la transformación en HCl es muy incompleta. He ensayado varios catalizadores: negro de platino, plata, paladio, pero sin éxito: sólo una parte de Cl pasa a HCl . Felizmente existe un

catalizador gaseoso que hace que la transformación sea completa: el gas amoníaco. Si se calienta la sustancia problema en corriente de hidrógeno cargado de amoníaco todo el cloro se deposita en el tubo como cloruro amónico y no se precisa catalizador sólido.

El aparato es muy simple. Consiste principalmente en un tubo de cuarzo vacío. La parte media del tubo se calienta al rojo mediante un horno Fletcher; entonces se le dirige una corriente de hidrógeno que se hace burbujear en un frasco lavador que contiene una solución concentrada de amoníaco y se gaseifica lentamente la sustancia puesta en la navecilla. El halogenuro de amonio se deposita inmediatamente después de la zona caliente sobre las paredes frías del tubo.

Es de aclarar que lo mismo pasa con los derivados yodados. Sería de temer que el yoduro de amonio se disociara en la zona de más temperatura y el ácido yodhídrico a su vez en hidrógeno y yodo libre; pero esto no ocurre; en presencia de amoníaco no se obtiene yodo libre y el sublimado de yoduro de amonio es perfectamente blanco.

Se enjuaga el tubo con agua y se procede a la evaluación del halógeno por cualquier método. Pero se precisa, antes, hervir la solución durante unos minutos previa acidificación acética, pues el sublimado blanco contiene siempre algo de cianuro de amonio que daría lugar a errores y que en esta forma es totalmente eliminado.

Este método me ha dado muy buenos resultados pero mis alumnos hallaban, a veces, cifras demasiado bajas. Las pérdidas correspondían a trazas del halogenuro de amonio que, en vez de depositarse sobre las paredes, escapaba como una ligera niebla que no era posible retener ni aún mediante un tapón de amianto al final del tubo. Estas nieblas se forman cuando se calienta demasiado rápidamente; se las evita con paciencia; pero vale más impedir que puedan escaparse si se forman. El aparato modificado contiene al final del tubo por donde salen los gases una navecilla de porcelana conteniendo carbonato de bario que se calienta al rojo por medio de un mechero. El clo-

ruro de amonio, pasando sobre la barita incandescente, se disocia y el ácido clorhídrico es absorbido por la barita.

La hidrogenación se favorece introduciendo una delgada lámina de níquel arrollada en espiral en la parte media del tubo. Este níquel actúa como catalizador si se lo calienta con un mechero con lo cual puede suprimirse el horno Fletcher.

Se finaliza la hidrogenación de una muestra de 50 mgr en $\frac{3}{4}$ de hora. Los resultados son muy satisfactorios.



Para la evaluación del **nitrógeno** es indispensable un catalizador. Después de algunos ensayos infructuosos, he adoptado el níquel finamente dividido que tan bellas síntesis orgánicas ha permitido realizar a Sabatier y Senderens. He aquí el principio: un compuesto orgánico bien pulverizado y mezclado con níquel obtenido por reducción del óxido, cede todo su nitrógeno bajo la forma de amoníaco cuando se lo calienta en corriente de hidrógeno. Para asegurarse una transformación integral se hace pasar la mezcla de los gases sobre amianto niquelado. El amoníaco es dosado por titulación con un ácido a medida que se desprende.

El análisis se hace en un tubo de cuarzo que contiene en su parte media una columna de amianto mezclado con níquel reducido, columna que queda retenida en su lugar mediante dos tapones de amianto. Esta parte del tubo se coloca en una caja de cartón de amianto que sirve de horno; en el fondo de la caja se hallan dos agujeros por donde penetran dos mecheros; los gases de combustión circulan en la caja y salen por agujeros practicados en una cubierta móvil; un termómetro colocado en uno de ellos, debe indicar constantemente una temperatura próxima a los 300°. Por el lado que entra el hidrógeno, se introduce una navicilla de porcelana con la muestra adicionada de níquel; el otro extremo se une a un tubo de absorción cuya forma permite penetrar gota a gota el ácido titulado que se halla en una bureta colocada encima.

Se calienta la caja a 250-300° haciendo pasar una corriente de hidrógeno; luego se introduce una navicilla y se hace la lectura de la bureta; en seguida se hace caer una gota de

ácido en el tubo de absorción donde se halla ya una gota de solución de naranja de metilo y se comienza a calentar prudentemente la navecilla. Es preciso no calentar jamás demasiado rápido cuando se hacen análisis por el método de la hidrogenación porque un desprendimiento demasiado rápido de los gases de la sustancia pirogenada podría hacer que fuese insuficiente el hidrógeno presente para realizar su reducción. Se precisa siempre hidrógeno en exceso.

Desde que comienza la formación de amoníaco, se observa un viraje en el tubo de absorción; el líquido de rojo se torna amarillo; se agrega ácido gota a gota para matner el color rojo evitando un gran exceso de ácido. Es fácil así, seguir la marcha del análisis; cuando cesa el viraje la hidrogenación ha terminado. Se hace la lectura en la bureta y se titula por retorno el exceso de ácido en el pequeño tubo con una solución de carbonato sódico al centésimo. El proceso dura una hora para una muestra de 50 mgr.

Si se hace análisis de sustancias que contengan halógenos se precisa retener los hidrácidos formados durante la hidrogenación. Se acorta en algunos centímetros la columna de amianto níquelado y se dispone del lado de la bureta una pequeña cantidad de cal sodada: el amoníaco pasa, el ácido queda retenido.

Las cifras halladas son muy próximas a las teóricas. Aún sustancias explosivas como el trinitrotolueno — que, como es natural, debe ser calentado muy prudentemente — desprenden en forma muy regular todo su nitrógeno en forma de amoníaco.

Debo declarar, sin embargo, que hay algunos compuestos orgánicos que no se prestan al dosaje de su nitrógeno de esta manera porque se descomponen rápidamente dando nitrógeno gaseoso. Es el caso, entre otros, de la nitroguanina y del pentametilentetrazol; los compuestos que contienen el grupo NO_2 , — p. ej. el algodón pólvora — dan también cifras un poco bajas. Pero son excepciones; la gran mayoría de los compuestos nitrogenados da cifras exactas.

Se comprende que si el níquel actúa como catalizador es preciso que haya un contacto muy íntimo entre él y la sustancia. Se realiza éste de varias maneras. Se puede, como he

dicho, pulverizar muy finamente la sustancia y mezclarla muy bien con el níquel. También se puede disolver la sustancia en un solvente apropiado y agregar níquel hasta que haya absorbido el líquido. Al calentar la navecilla en el tubo de cuarzo la sustancia se hallará bien repartida sobre la superficie del níquel después de la evaporación del solvente. A veces se podrá emplear el agua; para los cuerpos básicos (p. ej. los alcaloides) se tomará algunas gotas de ácido fórmico que se diluye con agua; para los de carácter ácido y para las proteínas se utiliza una solución diluida de potasa cáustica.

Tratándose de sustancias insolubles y que no es posible pulverizarlas, lo que ocurre con muchas sustancias de origen animal o vegetal, se opera de otra manera; se mezcla la sustancia en la navecilla con formiato de níquel y un poco de agua; al calentar la navecilla en el aparato el formiato se disuelve y penetra en la sustancia; después de la evaporación del líquido se calienta más fuertemente para reducir el formiato y el níquel se halla muy bien repartido en la muestra. El desprendimiento de amoníaco no tropieza con ninguna dificultad.

Comparando los resultados del método por hidrogenación con el de Kjeldalh, mundialmente empleado para análisis técnicos, se hallará que a menudo da éste cifras más bajas. Esto no es sorprendente; Fleury y Levaltier demostraron hace años que en dicho método hay a veces pérdidas de nitrógeno que escapa como N_2 gaseoso.

En clara de huevo y en gluten de trigo se halla idénticas cifras con ambos métodos; en la leche, la manteca, la sangre y, sobre todo, la levadura, se halla cifras más elevadas por el método de la hidrogenación. El método descrito permite dosar cantidades de nitrógeno muy pequeñas por tener un volumen muy reducido el líquido del tubo de absorción; uno o dos centésimos de cm^3 de ácido al centésimo producen ya el viraje y esto corresponde a 0,002 mgr (2 γ) de nitrógeno; una sola gota de leche, de saliva, una lágrima, pesando 30 mgr, bastan para efectuar un dosaje exacto del nitrógeno contenido.

Dos sustancias han ofrecido dificultades para el dosaje del nitrógeno por hidrogenación: la hulla y el coke. Aún tomando las precauciones descritas se halla cifras demasiado bajas.

Ello proviene de que el nitrógeno está sólidamente ligado al

carbono por lo que es preciso hacerlo desaparecer, lo que es posible calentando la muestra con carbonato de sodio en presencia de vapor de agua. El carbono se transforma en monóxido: $C + Na_2CO_3 + H_2O = 2 NaOH + 2 CO$.

El nitrógeno que estaba combinado al carbono forma cianuro de sodio que, según una reacción bien conocida da amoníaco por calentamiento con vapor de agua.

Se mezcla, pues, la muestra de hulla o de coke con un exceso de carbonato de sodio y se efectúa la hidrogenación con hidrógeno que pasa por un pequeño balón con agua hirviente.

El dosaje del **oxígeno** se basa en el hecho de que el O de una combinación orgánica se transforma en agua por una hidrogenación suficiente; se recoge y pesa esta agua en un tubo con cloruro cálcico.

El hidrógeno debe ser puro y, en especial, exento de oxígeno y de vapor de agua. Se lava primero en permanganato, después se hace pasar por un tubo con amianto platinado, calentado al rojo. Las trazas de oxígeno se transforman en agua que se absorbe por cloruro de calcio. Así purificado, el hidrógeno penetra al aparato de dosaje, el cual se compone de un tubo de cuarzo de 90 cm donde se hallan sucesivamente, comenzando por donde el hidrógeno penetra: una navecilla con la muestra, una columna de 15 cm de amianto puro calentado al rojo (horno Fletcher) y una navecilla de níquel con níquel en polvo que se calienta a 350° por medio de una caja de amianto como la ya descrita para el dosaje del nitrógeno. El otro extremo del tubo se une a dos tubos en U con cloruro de calcio y un tubo en U con cal sodada.

Consideremos primero el caso en que la sustancia no contenga más que C, H y O. Se gaseifica la muestra por calentamiento; la mezcla de sus gases y del hidrógeno en exceso pasa por el amianto incandescente donde se forma agua, ácido carbónico, anhídrido carbónico e hidrocarburos simples. El agua contiene ya el oxígeno bajo la forma deseada pero el CO₂ y el CO deben ser reducidos; y esto ocurre haciendo uso de la síntesis del metano hallada por Sabatier y Senderens. Bajo la

influencia del níquel como catalizador, los dos óxidos de carbono se reducen por el hidrógeno:



Y todo el oxígeno se transforma en agua.

El níquel se halla como polvo fino en la larga navecilla; se evita aquí el empleo del amianto porque retiene a menudo algo de agua.

A veces, trazas de CO_2 escapan a la reducción; para no perderlas, un tubo de cal sodada se une a los tubos de Cl_2Ca . El aumento de peso de estos tres tubos nos muestra los pesos del agua y del CO_2 y que permiten calcular el oxígeno contenido en la muestra.

Si la sustancia contiene S halógenos o N, se precisan precauciones especiales. Tomemos el último caso, que haya N: los gases producidos en el tubo contendrán NH_3 , que, absorbido por el Cl_2Ca húmedo, dará una cifra demasiado alta de oxígeno. Se empleará, entonces, en lugar del tubo en U un tubo de forma especial que contiene un poco de H_2SO_4 diluido de título conocido y, en una parte separada, Cl_2Ca . Los gases al pasar por este tubo, ceden el NH_3 al ácido y el agua al Cl_2Ca . El aumento de peso es, pues, igual a $\text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3$. Se deduce el peso de amoníaco, titulando por retorno el ácido, y se tiene el peso del agua.

La presencia de S exige también una modificación de la manera de analizar porque los gases que salen del tubo contendrán H_2S que sería absorbido por la cal sodada. El níquel finamente dividido retiene enteramente el H_2S previsto que la temperatura no sea excesiva. A este efecto se instala tras la caja de cartón de amianto una segunda caja, más pequeña, que se calienta sólo a 150° . En este lugar el tubo de cuarzo contiene igualmente una navecilla de níquel con níquel que retiene todo el azufre que existe en los gases.

También los halógenos son retenidos más o menos completamente por el níquel de la segunda caja. Para evitar los errores causados por las trazas que pasan se emplea el mismo tubo en U que sirvió para retener el amoníaco pero en vez de

H_2SO_4 se introduce una pequeña cantidad de solución titulada de $AgNO_3$ lo que permite conocer el peso del hidrácido para deducir del total el peso buscado del agua.

Los resultados son muy exactos; aún con el cloranilo que contiene 57,4 % de Cl, se halla buenas cifras para el contenido en O.



El dosaje del **arsénico** se efectúa en un tubo de cuarzo que tiene un pequeño tubo ajustado sobre el primero. La sustancia se coloca en una navecilla de porcelana; los gases producidos son arrastrados por la corriente de hidrógeno y pasan por una columna de amianto calentado al rojo colocada hacia el medio del tubo. Las combinaciones de arsénico son reducidas y el As libre se deposita sobre las paredes frías del tubo, de donde con ayuda de una pequeña llama se pasa al tubo acoplado, previamente tarado. Para evitar la pérdida de ligeras trazas de As arrastradas por la corriente de hidrógeno se pone una pequeña espiral de platino al final del segundo tubo y se calienta al rojo mediante un mechero; el platino incandescente, retiene fácilmente las trazas de As.

El aumento de peso del pequeño tubo indica el del As contenido en la muestra.

Procediendo así se evita la destrucción de materia orgánica por HNO_3 y H_2SO_4 necesaria para el dosaje ordinario. Los resultados obtenidos son muy buenos así como los que se obtienen para el *mercurio* y el *cadmio*. Estos se realizan poco más o menos lo mismo que el del As. Solamente que hay que dar forma de U al tubo acoplado cuando se trata de Hg.



Como ya dije, el nuevo método de evaluación de **carbono** e **hidrógeno** no pertenece a esta serie. Estos dos elementos oxidados se pesan como CO_2 y H_2O pero de una manera muy simple elaborada por M. Heslinga.

El análisis se funda en que un compuesto orgánico, puesto en contacto con bióxido de manganeso calentado a unos $400^\circ C$ en presencia de un exceso de aire, se oxida completamente. El

O_2Mn actúa, en parte, como agente oxidante, pero desempeña también el papel de catalizador; la cantidad de oxígeno que pierde es menor que la necesaria para la oxidación. El resto lo proporciona el aire.

La combustión se efectúa en un tubo de cuarzo transparente que contiene hacia el centro una columna de O_2Mn de 12 cm que se calienta a $400^\circ C$ por medio de un horno de cartón de amianto, análogo al empleado para el dosaje del N; un solo mechero basta para lograr dicha temperatura.

La muestra, unos 50 mgr de sustancia, se coloca en una pequeña navicilla; se hace pasar por el tubo corriente de aire puro y seco y se calienta dulcemente la muestra como para ejecutar la combustión en una media hora. Los gases provenientes de la sustancia, pasando por el catalizador se transforman en agua y ácido carbónico que se recogen en tubos de $CaCl_2$ y cal sodada conectados al tubo de combustión.

El bióxido de manganeso puede ser preparado sea precipitando una solución de sulfato de manganeso con $KMnO_4$ en presencia de HNO_3 sea, como lo propone Alsberg, de la Universidad de Stanford, reduciendo una solución de permanganato amónico por el alcohol metílico. El O_2Mn debe estar bien seco. Se retiene en su lugar dentro del tubo mediante dos tapones de hilo de plata muy delgado preferible a los tapones de amianto que podrían contener agua.

Si la sustancia contiene Cl, Br o I se agrega un poco de O_2Pb al O_2Mn lo que hace que los halógenos sean completamente retenidos. Para analizar las sustancias que contienen S se hace quedar una parte del catalizador fuera del horno y se recubre dicha parte con un pequeño cilindro de cobre. Su temperatura, más baja que la del horno, no disocia el $MnSO_4$ formado por combinación del O_2Mn y los óxidos del S.

Las sustancias con N exigen igualmente una ligera modificación. Se hace salir fuera del tubo una pequeña cantidad de O_2Pb que se recubre también con un cilindro de cobre; el O_2Pb absorbe los vapores nitrosos formando $Pb(NO_3)_2$ estable a esta temperatura.

El análisis exige poco tiempo y no se necesita más que el empleo de dos mecheros; las cifras obtenidas con sustancias puras concuerdan bien con la teórica.

RESULTADOS DE ANÁLISIS POR HIDROGENACIÓN

Azufre

	Hall. %	Teór. %		Hall. %	Teór. %
Sulfonal	28,0	28,0	Tiohidantoína .	27,6	27,6
Ac. Sulfanílico	16,7	16,75	Ac. naftiónico .	14,3	14,35
Sulfobencida .	14,9	14,7			

Halógenos

	Hallado %	Teórico %
Dicloroanilina	43,6	43,8 % de Cl
Hexacloretano	89,5	89,9
Diclorobenceno	48,2	48,3
Dibromoantraceno	47,7	47,6 de Br
Dibromonitrilina	54,1	54,0
Yodoformo	96,5	96,7 de I

Nitrógeno

	Hall. %	Teór. %		Hall. %	Teór. %
Acetanilida . .	10,30	10,35	Cinconina . . .	9,51	9,52
<i>m</i> -Dinitrobenc.	16,70	16,66	Estrienina . . .	8,30	8,37
Difenilamina .	8,21	8,28	<i>p</i> -Bromoanilida	8,12	8,15
<i>o</i> -Nitrofenol . .	10,10	10,07	Trinitrotolueno	18,41	18,50
	Hidrogenac. %	Kjeldahl %		Hidrogenac. %	Kjeldahl %
Carne de buey	3,72	3,64	Levadura . . .	2,53	2,29
Clara de huevo			Levadura . . .	2,43	2,07
seca	12,3	12,3	Manteca	0,122	0,104
Gluten de trigo	10,5	10,5	Leche	0,55	0,52
Sangre de cab.	2,06	1,81			

Oxígeno

	Hall. %	Teór. %		Hall. %	Teór. %
Ac. succínico .	54,1	54,2	Acido benzoico	26,8	26,2
Sacarosa	51,5	51,4	Sulfonal	28,3	28,0
Antraquinona .	15,2	15,4	Ac. clorobenz.	20,3	20,5

Arsénico

	Hallado %	Teórico %
Acido cacodílico	54,5	54,4
Stovarsol	27,2	27,3
Atoxil	24,0	23,9

Mercurio

	Hallado %	Teórico %
(C ₆ H ₅) ₂ Hg	56,4	56,3 56,5 56,8 56,6
(C ₂ H ₅ S) ₂ Hg		62,0 62,0 62,1
(CH ₃) ₂ CH—S—Hg—Cl . .		64,5 64,7
(CH ₃) ₂ CH—CH ₂ —S—Hg—Cl		61,7 61,7