

Tesis de Posgrado

Técnica fotométrica de determinación del indoxilo en los líquidos orgánicos con la reacción de Jolles

Garzón, Sara

1942

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

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

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

Cita tipo APA:

Garzón, Sara. (1942). Técnica fotométrica de determinación del indoxilo en los líquidos orgánicos con la reacción de Jolles. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0283_Garzon.pdf

Cita tipo Chicago:

Garzón, Sara. "Técnica fotométrica de determinación del indoxilo en los líquidos orgánicos con la reacción de Jolles". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1942. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0283_Garzon.pdf



TESIS

[Handwritten signature]

Tesis: 283

**Sara Garzón
Doctorado en Química
Año 1942.-**

Sara Garzón

Agradezo profundamente al Doctor Alfredo Patah
no, por haber allanado gentilmente todas mis dificul-
tades en el presente trabajo. Asimismo a los Doctores
Andrés López García, Luis E. Cotino, F. Vierheller, y de-
más médicos de la Academia Nacional de Medicina que
en una forma u otra han colaborado conmigo.-

Buenos Aires, Mayo de 1942.-

A los míos

FOFNA

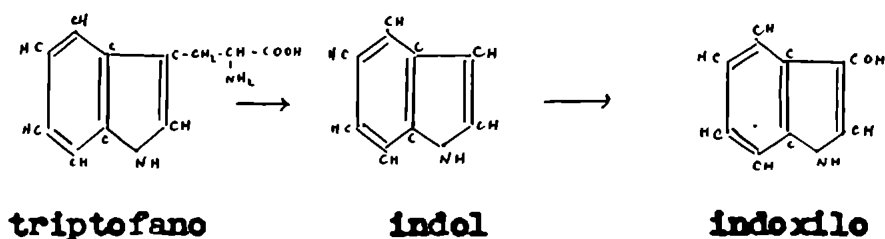
Técnica fotométrica de determinación del indoxilo en los líquidos orgánicos con la reacción de Jolles.-

Hemos estudiado en el presente trabajo, las técnicas de determinación fotométrica del indoxilo, así como algunos de sus caracteres cromáticos de las reacciones con que se lo dosa habitualmente.

El estudio del indoxilo se ha mostrado de gran interés en el mejor conocimiento del metabolismo del triptofano y su determinación sistemática en patología es útil en el diagnóstico y pronóstico de las insuficiencias renales de distinto origen. (1) (2).-

Antes de considerar en detalle la reacción de Jolles, nos ocuparemos someramente del origen del indoxilo en el organismo y de algunas de sus propiedades físicas y químicas.

Como se sabe el indoxilo se origina en el triptofano de las proteínas alimenticias; este aminoácido sufre por acción bacteriana una transformación a indol el que es oxidado en el hígado a indoxilo.



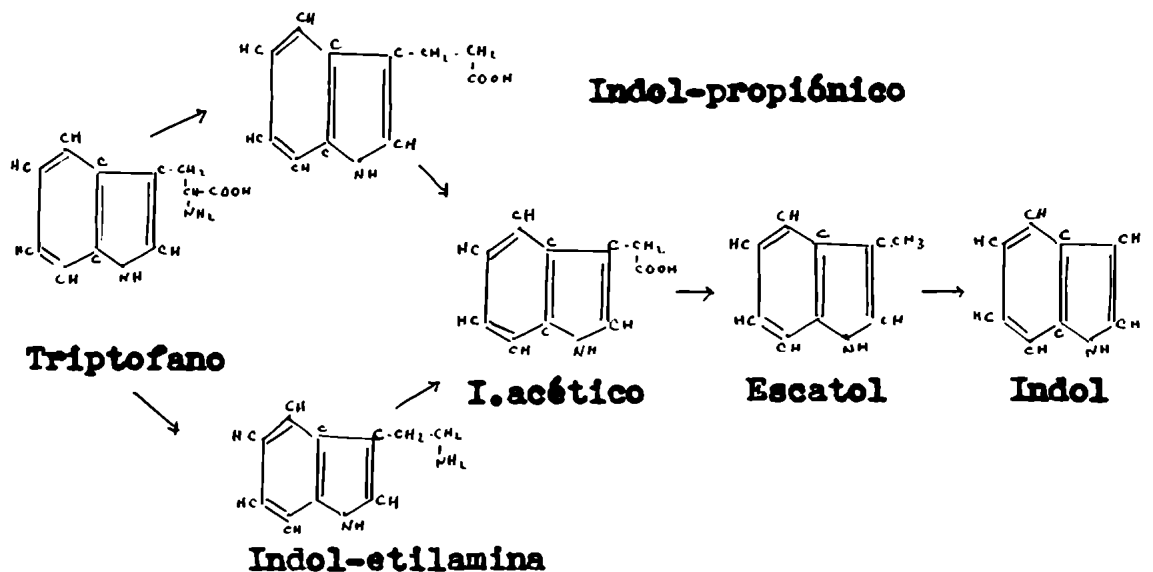
El indoxilo en parte se combina con el

ácido sulfúrico produciendo el éster indoxilsulfúrico cuya sal potásica es el indicán urinario o indoxilsulfato de potasio.

Es posible también que, en ciertas condiciones patológicas el indol se forme por la destrucción de las proteínas del organismo en efecto, se ha demostrado el aumento de indoxiluria en la neumonía, pleuresias purulentas etc. (3).-

Las etapas del metabolismo del triptofano a indoxilo son algo inciertas Morse W (4) admite una desaminación formándose ácido indol-propiónico del cual se separa luego ácido acético e indol, el primero se oxida hasta CO₂ y H₂O, y el indol se conjuga con el ácido sulfúrico y glicurónico eliminándose en esta forma no tóxica, Peter y Van Slyke (5) admiten en cambio una descarboxilación con producción de indol-etilamina.

Las siguientes reacciones indican los productos intermedios formados hasta el indol.

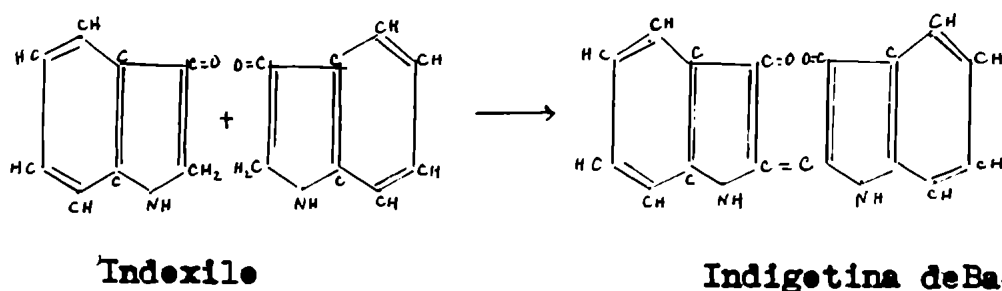


Los estudios de Houssay y colaboradores (6) han con-

tribuido a aclarar el origen, retención y excreción del indoxilo en el organismo.

El indoxilo es una sustancia cristalina de color amarillo claro fusible a 85°. En solución ácida se transforma en una masa resinosa. Posee propiedades fenólicas; se disuelve en los alcalis caústicos. Las soluciones alcalinas se oxidan fácilmente por el oxígeno del aire formando el indigo. En ciertas reacciones actúa con su forma tautómera por ejemplo en presencia de isatina para dar indigo rojo o indirrubina (7).-

Reacción de Jolles. El indoxilo se oxida fácilmente dando una materia colorante azul la indigotina de Baeyer o hemí indigotina de Maillard. A parte de indigotina según las condiciones de oxidación se forman proporciones variables de indirrubina y pardo de índigo; si la oxidación es intensa la indigotina desaparece y se origina isatina incolora. Esta reacción fué descubierta por Jaffé) 8)



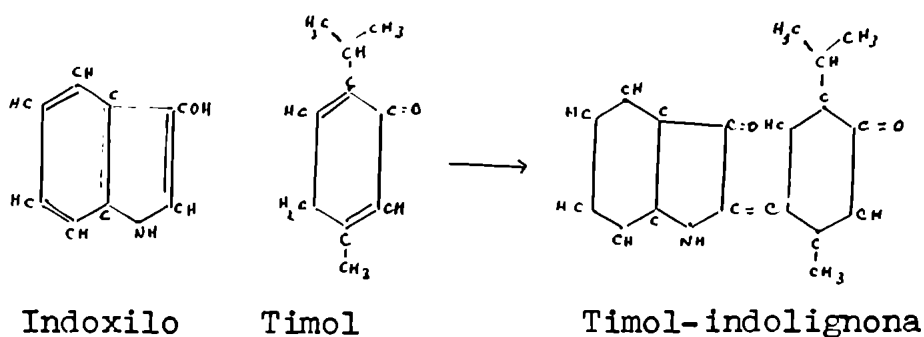
En 1913, Jolles da un método más preciso que resulta de oxidar simultáneamente el indoxilo y el timol con producción de una substancia roja que pasa a violeta por acción de los ácidos concentrados y corresponde a la condensación de una molécula de indoxilo con una de timol

En 1915 (9) publica este mismo método para orina y establece, que la estructura del compuesto violeta es del tipo de una cerulignona, pués por desdoblamiento hidrolítico, da ácido antranílico y p. timolaldehida, en lugar de o. timolaldehida que se formaría si aquélla estructura fue-
 ce del tipo indigotina; propone llamar a ese compuesto 4 el

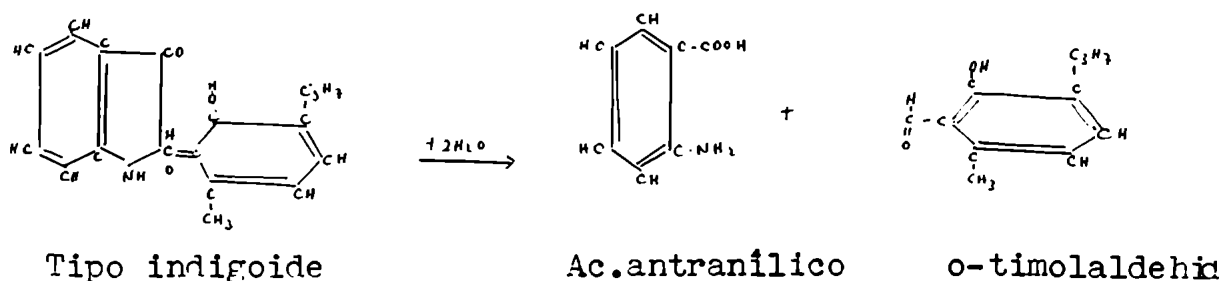
mol-2 indolignona, y por otra parte afirma que el color violeta de los extractos clorofórmicos se debe a la acción del ácido clorhídrico sobre la timol-indolignona.

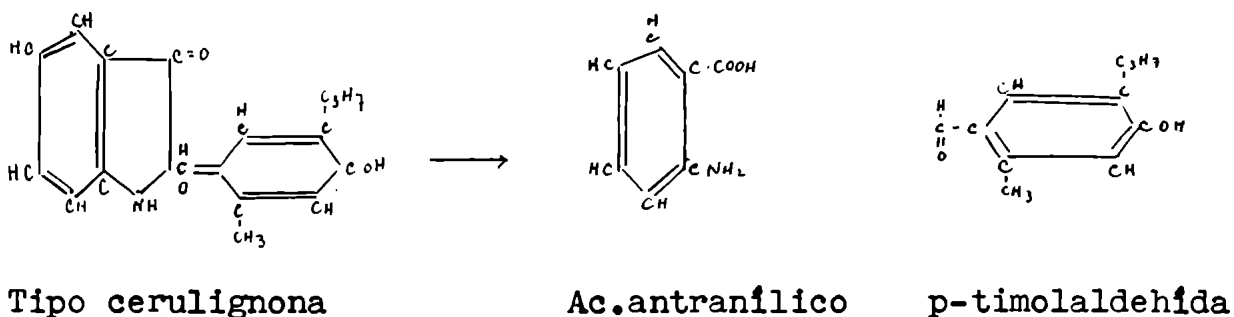
Los esquemas siguientes expresan la reacción de Jolles y la estructura de la molécula 4-cimol-2 indolignona

Reacción de Jolles



Estructura de la timol-indolignona





En esta reacción se basan una serie de técnicas para el dosaje de indoxilo entre ellas la de Monias y Shapiro modificada por el Dr. Mazzocco.

Técnica de Monias y Shapiro (10).

Estos autores aconsejan usar como anticoagulante de la sangre el oxalato de litio, pues el de potasio parece interferir en el color de la reacción. En un frasco de Erlenmeyer se colocan 5 cc. de plasma oxalatado, se agrega igual volumen de agua destilada y se precipita con 10 cc. de ácido tricloroacético. Después de 5 minutos el contenido es filtrado en un tubo graduado y se le agrega 10 gotas de solución alcoholica de timol al 5 % más el oxidante (percloruro de hierro en solución clorhídrica), se agita bien la mezcla y se deja reposar 2 horas al cabo de las cuales se le agregan 5 cc. de cloroformo que disuelve el compuesto violeta formado que se separa en el fondo del tubo.

La técnica modificada por el Dr. Mazzoco (11) es la siguiente : A un tubo graduado que contiene 5 cc. de agua destilada se le agrega 5 cc. del plasma oxalatado, se precipita con 10 cc. de ácido tricloracético al 20 % y se filtra sobre papel Schleicher y Schüll n° 575 o bien se centrifuga. Se pueden recoger alrededor de 15 cc. El filtrado medido cuidadosamente se coloca en un tubo de decantación, se agrega 1 cc. de la solución de timol al 5 % se agita, y luego se añaden 10 cc de la solución clorhídrica de percloruro de hierro, se mezcla y se deja reposar 2 a 3 horas; es preferible dejar más tiempo (10 a 15 horas). Simultáneamente se preparan dos testigos que contengan 0.05 cc. y 0.02 cc. de la solución de indicano en 10 cc. de a. tricloracético al 10 % operando en la misma forma que con los filtrados. Transcurrido el tiempo necesario se extrae con 2 cc. de cloroformo, se agita suavemente y se los deja decantar efectuando finalmente una segunda extracción con 1 cc. de cloroformo.

Generalmente bastan dos extracciones. La solución clorofórmica a veces es ligeramente turbia por la presencia de agua esto dificulta y altera las lecturas; es conveniente filtrar sobre un pequeño embudo usando papel Schleicher y Schüll n° 598 o Whatman n° humedecido previamente con 6 o 7 gotas de cloroformo.

Una vez filtrada la solución clorofórmica colorada se lava el papel de filtro con 0.05 cc. de cloroforme y se completa a un volumen dado según la intensidad de color, se valora luego el indicane por colorimetría estableciendo relación al testigo llevado a igual volumen.

Otras técnicas.-(12).-Las técnicas de Obermayer y Pepper, Rosenberg, Klepsteck y Kowarski, Böhm y Gröner, Rappaport y Engelberg también emplean la reacción de Jelles.-

Obermayer y Pepper, usan como precipitante del suero alcohol de 95°, luego evapora el alcohol a baño-maria, recuperando el volumen con agua destilada. Para eliminar las sustancias perturbadoras defecan con subacetato de plomo al 10% no observándose precipitado, agregan solución fosfotúngstica de sodio al 10%, filtran, y llevan a volumen de 10cc. luego agregan igual cantidad de reactivo de Obermayer (percloruro de hierro en solución clorhídrica que actúa como oxidante), por último se hace extracción con cloroforme en caliente.

Rosenberg basa su técnica en el límite de la sensibilidad de la reacción de Jelles. El suero se defeca con ácido tricloroacético y se colocan en una serie de tubos cantidades crecientes del filtrado, a cada uno se agrega 1 cc. de solución alcohólica de timol al 5 % e igual volumen de reactivo de Obermayer. Después de veinte minutos se extrae con cloroforme y a las cuatro horas se hacen las lecturas.

Klepsteck y Kowarski emplean tambien como precipitante el ácido tricloracético al 20 %. A 2.5 cc del filtrado se le agregan 1 cc.de una solución de timel al 5 % y 10 cc.del reactivo de Obermayer .Al cabo de 20 minutos se extrae con 2 cc.de cloroforme y se lee el resultado después de treinta minutos.

Böhm y Grüner (13), desalbuminan con tricloracético tratan por timel y reactivo de Obermayer, la coloración violeta obtenida se compara fotométricamente.

Sharlit en 1932 (14) describe una técnica que emplea cantidades pequeñas de sangre: A 2 cc.de plasma diluidos con 3 cc.de agua se le agregan 5 cc.de tricloracético al 25 %, se centrifuga 10 minutos, se filtra, a 6 cc.de este filtrado se le agregan 5 gotas de persulfato de potasio al 1%, solución de ácido tricloracético en ácido clorhídrico concentrado, se mezcla, centrifuga, y se separa el líquido sobrenadante al que se le agrega 2 cc.de ácido acético glacial posteriormente se efectúan las lecturas.

Determinación de indexile en orina.- Se defeca la orina con 1/10 de su volumen con reactivo de Courtenne; se agita y se filtra. Se toman 2 a 4 cc.de filtrado que se colocan en el mismo tubo de decantación que se usa para plasma (se utilizé los tubos de Grigaut para Colesterol), se completa a 15 cc.con tricloracético al 10% se agrega 1 cc.de la solu

ción alcohólica de timel al 5 % y se lleva a 30 cc. con el reactivo oxidante.

Se esperan 6 a 8 horas o más sin inconvenientes y se extrae la timel-indelignona con cloroforme, se hace tres extracciones sucesivas hasta completar un volumen de 6 cc. en un tubo de hemólisis graduado. Filtrar para eliminar la turbidez en papel doble humedecido con cloroforme. Luego se lee para colorimétricamente con una solución testigo.

Nuestra técnica.-En las determinaciones de indoxilo empleamos la técnica modificada de Menias y Shapiro, y para efectuar las lecturas reemplazamos el celerímetro por el fotómetro.

El fotómetro de Pulfrich permitió fácilmente el ensaje de indoxilo evitando el uso de soluciones testigos en cada determinación celerimétrica lo que es una ventaja, pues esta substancia es cara y de imposible obtención en la época actual, además sus soluciones no pueden utilizarse después de diez días de preparadas debido a que varían su título.

Curvas de absorción. Elección del filtro.-El uso de filtros espectrales en los fotómetros permite efectuar lecturas en las zonas de máxima absorción de la substancia, eliminando los colores parásitos que pudieran sobreagregarse cuando las determinaciones se efectúan en líquidos orgánicos.

Las lecturas fotométricas suelen expresarse como extinciones (E), como logaritmo de las extinciones o como porcentajes de transparencia (15)

Hemos construido la curva típica de absorción de una solución pura de indolignona (Fig. n° 1) producto de oxidación del indoxilo en la reacción de Jolles, que nos ha permitido conocer el filtro útil para muestras determinaciones, en ella dibujamos los logaritmos de las extinciones en función de las longitudes de onda del filtro y como se observa en la misma el máximo de absorción está en el S:55. Para

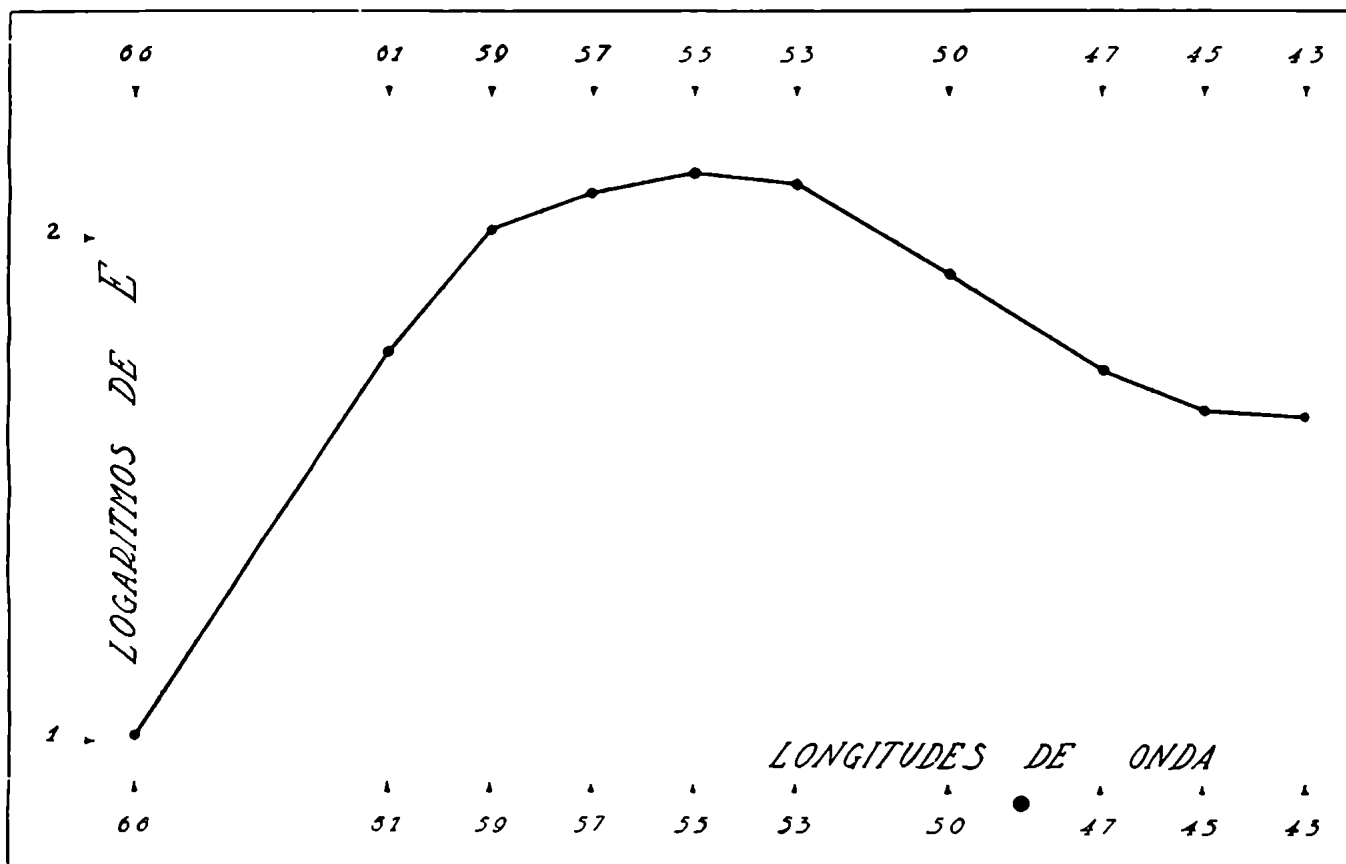


Fig. 1.- Curva típica de absorción de la timol-indolignona de extracción clorofórmica. El máximo de absorción corresponde al filtro S:55 del fotómetro de Pulfrich.-

algunos filtrados de plasma el filtro óptimo es el S: 53. Este hecho proviene, sin duda, a otras substancias mas o menos bien determinadas presentes en dichos filtrados; el urobilinógeno por ejemplo en cantidades superiores a 1 mgr % en plasma y oxidado por el reactivo de Obermayer, modifica la curva de la indolignona aumentando la absorción en las pequeñas longitudes de onda (el máximo de absorción del urobilinógeno puro tratado de la misma manera que el indoxilo se encuentra en S:50 (fig. nº 2) (16).

Hemos estudiado también espectrográficamente la curva de absorción de la indolignona. Su solución clorofórmica de extracción presenta cuatro puntos máximos en 4.400, 5.000, 5.500 y 6.150 U.A. (17). (Fig. nº 3). Esta curva difiere de la efectuada con el fotómetro de Pulfrich en el máximo observado en los 5.000 U.A. al examen espectrográfico. Se ha encontrado en efecto, que el centro de gravedad de S:50 del Pulfrich, está desplazado hacia la longitud de onda de 4.900.

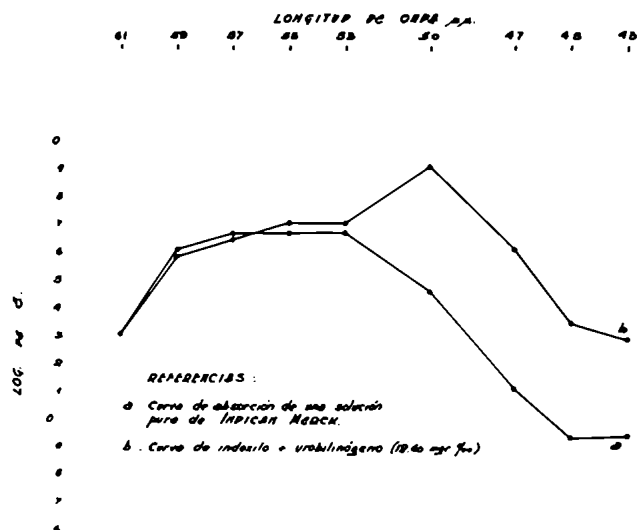
Cálculos.—Las determinaciones fotométricas están basadas en la ley de Lambert-Beer que establece lo siguiente: (18).

$$\log T = kC.$$

o expresado en palabras: El logaritmo de las extinciones es proporcional a la concentración de la solución.

T: es la relación que existe entre la luz incidente y la luz transmitida o sea coeficiente de extinción cuando se trabaja con 1 cm de espesor.

k: es un factor de proporcionalidad que depende de la lon-



**Fig.2.-Curva (a) de una solución pura de indican Merck.
 b) Curva de indoxilo más urobilinógeno oxidado con el reactivo de Obermayer.**

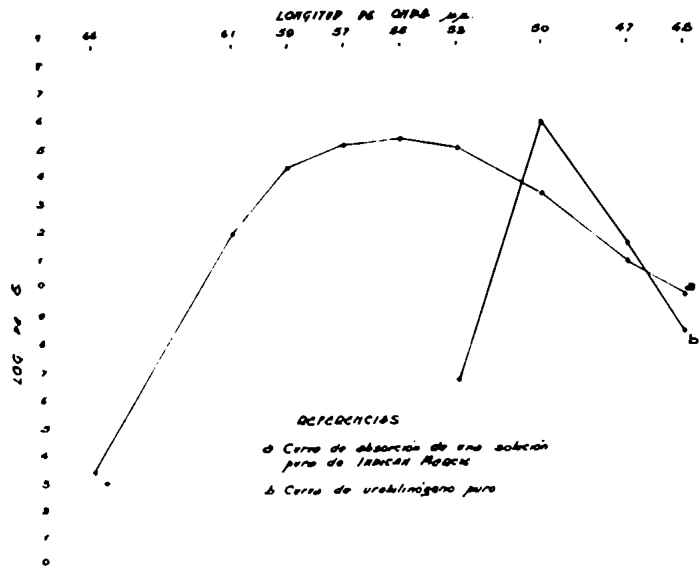


Fig.2'.-Curva típica de absorción de una solución pura de Indican Merck (timol-indolignona).
 b).Curva de urobilinógeno puro.

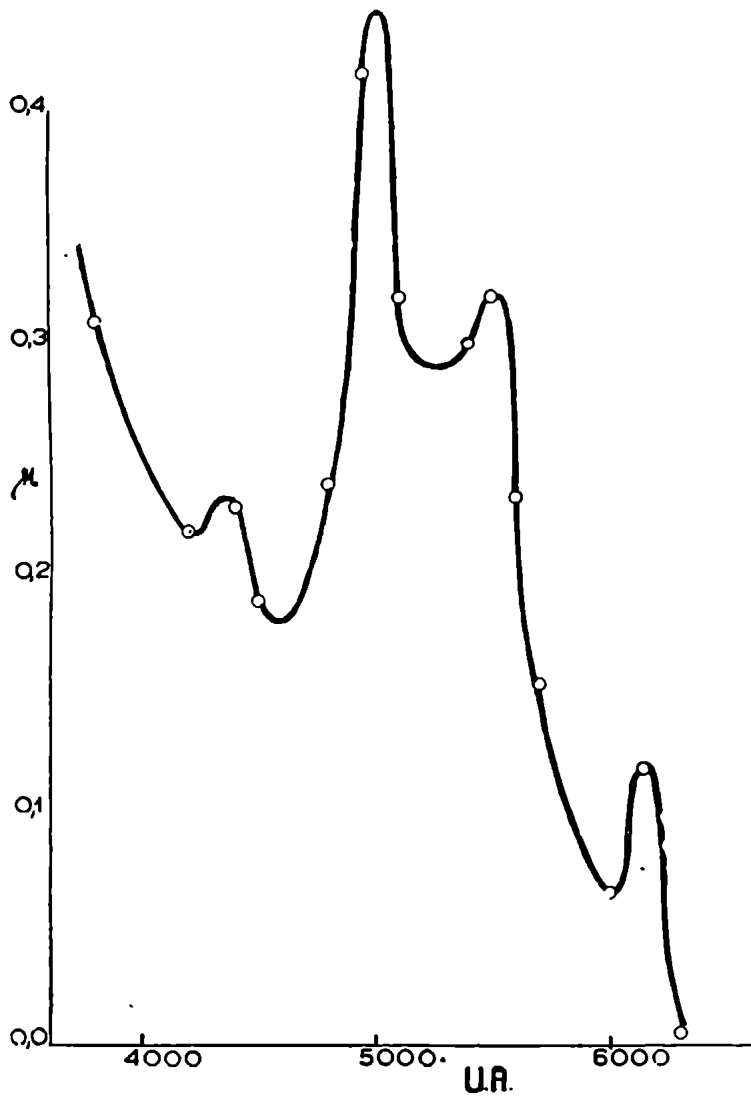


Fig.3.-Curva de absorción de la timol-indolignona obtenida con el espectrógrafo de Zeiss modelo III.-

gitud de onda.

c: concentración de la solución.

Se comprobó la validez de esta ley calculando el coeficiente de absorción de Vierordt, observando que todos los valores que se obtienen son prácticamente constantes

$$A = \frac{C}{E}$$

A: coeficiente de Vierordt

C: concentración de la solución

E: coeficiente de extinción para 1 cm. de espesor.

Tomamos las siguientes soluciones testigos

10 testigos de 0.66 mgrs % T.M.de E 0.260

10 testigos de 1.37 mgrs % T.M.de E 0.538

luego de (1)

$$A = \frac{0.66}{0.260} = 2.54$$

$$A = \frac{1.37}{0.538} = 2.47$$

Considerando el término medio de esos valores resulta igual a 2.5 para cubas de 5 mm. y 12.5 para cubas de 1 cm.

Multiplicando A por el coeficiente de extinción

de la solución desconocida se tiene su concentración.

La fig.nº 4 representa gráficamente la ley de Lambert y Beer, como se observa es una recta que pasa por el origen de coordenadas; en la abscisa se tiene la concentración, y en la ordenada los coeficientes de extinción.

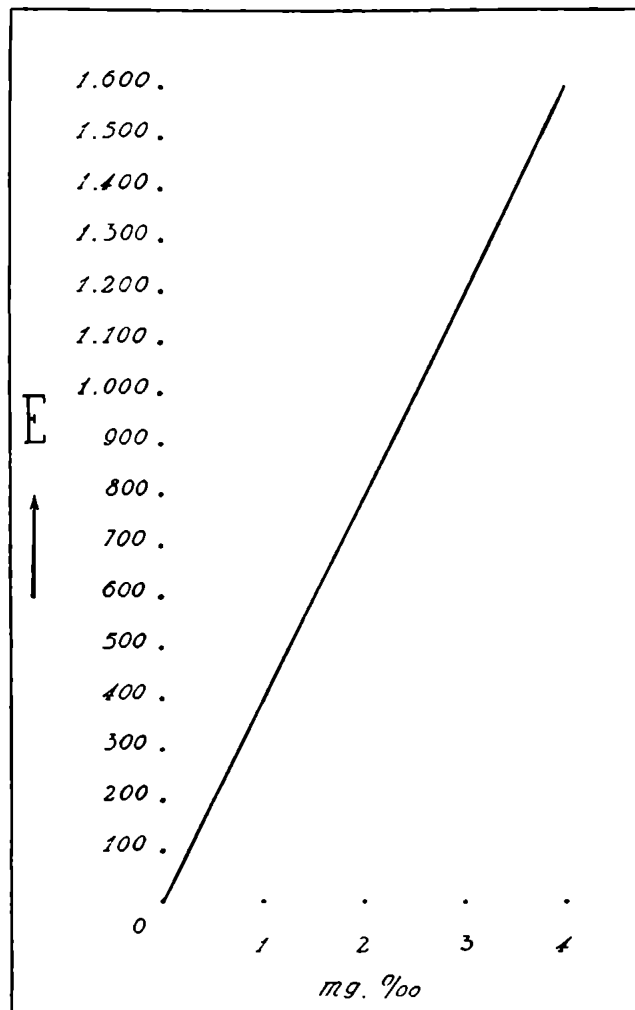


Fig.4.-Representación gráfica de
la Ley de Lambert-Beer.-

Pruebas de recuperación en suero sanguíneo.-

El agregado de indoxilo en solución pura a una misma cantidad de suero no se recupera totalmente por el contrario hay pérdidas variables según se desprende del cuadro nº 1. Tales pérdidas podrían atribuirse a la acción de las proteínas del suero, que al ser precipitadas con el ácido tricloracético arrastrarían el indoxilo agregado.

La experiencia se efectuó con suero de caballo al cual se le agregó cantidades crecientes del tinte, dosando luego el indoxilo, según la forma expuesta en la pág.

Estos hechos están confirmados por los resultados obtenidos en los ultrafiltrados de plasma o suero en los cuales hemos observado una pérdida considerable en relación con los ultrafiltrados tricloracéticos.-

CUADRO N° 1

Tube	s.de cab.	Test. (x)	E (10 mm).	Mgrs.index.%(teórico)	Mgrs.index.%(recuperado)	% recuper.
1	5 cc.	0	0.070	0.87		
2	" "	1 cc.	0.102	1.9	1.2	63
3	" "	2 "	0.157	2.9	1.9	65
4	" "	3 "	0.190	3.4	2.3	70
5	" "	4 "	0.247	5.8	3.1	51
6	" "	5 "	0.300	6.2	3.7	50

(x).Solución testigo de indican Merck al 10 mgrs % diluida al 1/10

Pruebas de recuperación en orina.-

Repetimos para orina la experiencia realizada con suero sanguíneo, y a diferencia de éste se observa que el indoxilo agregado se recupera casi el 100% según se ve en el cuadro adjunto en el que se consignan los resultados de varias determinaciones realizadas con distintas orinas y a las cuales se les ha agregado la misma cantidad de la solución testigo al 10 mgrs S.-

CUADRO N° 2

Tubo	Cantidad de indoxilo en mgrs %			Porcentaje recuperado
	erina	erina testigo	testigo	
1	18.25	24.89	8.7	96 %
2	19.20	26.50	8.7	91 %
3	25.20	31.60	8.7	93 %
4	20.60	27.20	8.7	90 %

Acción del ácido tricloroacético en la reacción de Jelles.-

Cristol y Pertes (1) han estudiado la acción de los distintos defecantes sobre la reacción del indoxilo de todos ellos el mas conveniente es el tricloroacético.

Según Derrieu y Mlle. Giraud (19) el ácido tricloroacético aumentaría la solubilidad de la indigotina en el cloroformo por lo cual este defecante intensificaría el color de la reacción.-

El cuadro n° 3 demuestra que los agregados variables de dicho ácido a una misma cantidad de una solución pura de indoxilo produce una intensificación de color que es proporcional a ese agregado; y a partir de una concentración igual a 0.8 grs % de aquél esa intensificación permanece prácticamente constante.

Los porcentajes de recuperación correspondientes a los tubos testigos nos indican que sin el agregado del ácido, hay pérdidas en el color casi del 80 % lo que induce a error en la apreciación real del contenido de indoxilo y equivale a suponer incompleta la reacción.-

(1).-Citado por el Dr. Biasotti en su trabajo "Indoxilemia"

CUADRO N° 4

Tube	Sol.indic.al 1/5 (1)	Ac.triclor.en grs.	E(10 mm)	Indox.en mgs	% recu perac.
Test.	1 cc.	-	0.060	0.003	14
"	" "	-	0.060	0.003	14
1	" "	0.1	0.100	0.005	24
2	" "	0.2	0.120	0.006	28
3	" "	0.3	0.200	0.011	50
4	" "	0.4	0.220	0.014	53
5	" "	0.5	0.300	0.016	55
6	" "	0.6	0.350	0.019	76
7	" "	0.7	0.340	0.018	72
8	" "	0.8	0.400	0.021	100
9	" "	0.9	0.400	0.021	100
10	" "	10	0.400	0.021	100

(1).-Solución pura de indoxilo (10 mgrs %) diluida al 1/5.-

Acción del anticoagulante.-

La técnica de Menias y Shapiro (8) usada por nosotros, aconseja usar como anticoagulante el oxalato de litio, pués el de potasio parece interferir en el color de la reacción.

Experimentalmente no se ha podido comprobar la ventaja anotada por aquéllos autores, pués las condiciones en que se efectúa la reacción de Jolles son las mismas para ambos anticoagulantes, por otra parte, no se ha observado influencia notable en la intensificación de color según se desprende prácticamente de la constancia en los valores de los coeficientes de extinción (E).

En el cuadro nº 5 se especifica una serie de anticoagulantes usados agregados a distintos plasmas y se indican los valores de E obtenidos, sin calcular la concentración de indoxilo teniendo en cuenta que ésta es proporcional a los coeficientes de extinción según la ley de Lambert.

CUADRO N° 5

Plasma n°	Coeficiente de extinción (E) para				
	(COO)2 K2	(COO)2 Na2	(COO)2(NH4)2	(COO)2 Li2	Citrat.Na
1	1.170	1.150	1.160	1.180	1.170
2	0.890	0.870	0.890	0.860	0.890
3	0.535	0.520	0.540	0.580	0.550

Coeficiente de extinción (E) para
suero seco

1.190
0.900
0.550

Acción de la hemoglobina.-

Heits Boyer M. y Grigaut A. afirman que la hemoglobina se opone a la reacción de Jolles. Prácticamente se comprobó que el agregado a soluciones acuosas de indoxilo, atenúa notablemente la reacción (después de haber precipitado con ácido tricloroacético). Esta reacción atribuida a la hematina del pigmento sanguíneo es de naturaleza cuantitativa aunque no modifica la forma de la curva de la indolignona, al agregar cantidades crecientes de hemoglobina se atenúa el color producido por la reacción llegando a anularlo.

En el cuadro nº 6 se observa que en el plasma normal la presencia de hemoglobina libre a la dosis de 0.14 grs % atenúa la reacción en un 8 % para cantidades mayores de hemoglobina agregada, ese porcentaje se eleva considerablemente alcanzando a un 72 % y puede decirse que no aparece el color violeta de la reacción.-

Al observar las curvas del gráfico nº 5 se ve que el paralelismo entre las dos no es absoluto; en efecto, existe un máximo de absorción en S:53 de la curva con hemoglobina, máximo que presentan todos los filtrados de plasma y que no se observa cuando la reacción de Jolles se efectúa con soluciones acuosas puras de indoxilo, dicho máximo se encuentra entonces en S: 55.-

CUADRO N° 6

Cantidad de plasma	Hb. agregada (1)	E (10 mm)	% (2)
5 cc.	-	0.530	
5 cc.	5 cc. (0.14 gs %)	0.480	8
5 cc.	5 cc. (0.28 gs %)	0.445	17
5 cc.	5 cc. (0.56 gs %)	0.410	23
5 cc.	5 cc. (1.4 gs %)	0.150	72

(1).-Se prepararon soluciones de hemoglobina que contenían en grs. las cantidades anotadas en el cuadro.

(2).-Se refiere a los porcentajes en que se atenúa la reacción de Jelles.

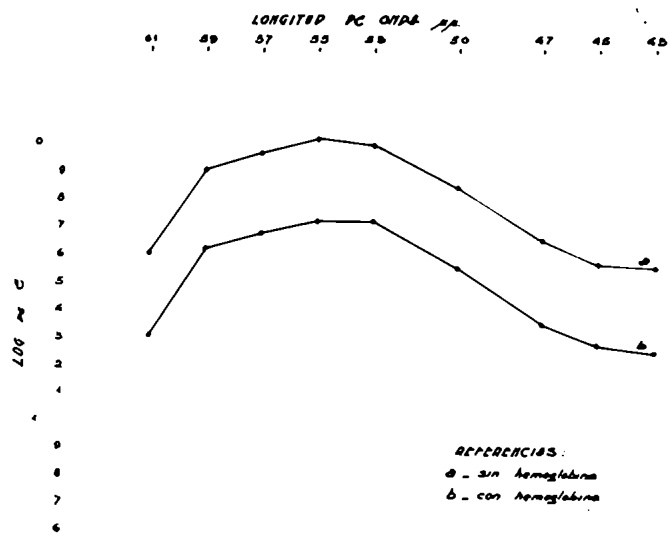


Fig.5.-Curva típica de absorción de la timol-indolignona a) sin hemoglobina b) con hemoglobina.-

Conclusión.-De las presentes experiencias puede deducirse:

1º.-Cuando la reacción de Jelles se efectúa en plasma u orina, siempre hay pérdidas de indexile es decir éste no alcanza a desarse cuantitativamente.

2º.-Es necesario una cantidad óptima de ácido tricloroacético para obtener el celer máximo de la reacción.

3º.-No es muy notable la influencia del anticoagulante aconsejado por la técnica.

4º.-La presencia de hemoglobina atenúa considerablemente el celer de la reacción.-

Bibliografía

- (1).-Biasotti.A.-Medicina.Buenos Aires.1941.1.-
- (2).-Vivona F.-Estudio Clínico del indoxilo sanguíneo.Tesis.(en prensa).Buenos Aires.1940.-
- (3).-Heitz Boyer M.-Grigaut A.-Journ.Med.Fran.1933.22.-
- (4).-Morse W.-Applied Bioch.1927.Phyladelphia (citado por Ré P.M.en Acidos-Aminados.Fisiología-Patología.Terapéutica.
- (5).-Peters J.P.-Van Slyke D.D.-Quantit.Clin.Chem.1932,1,510.(citado en 1 por Biasotti).-
- (6).-Houssay B.A.-Mazzocco P.-Potiek D.-Rev.Soc.Arg.Biol.1934,10,307
316.-
Houssay B.A.-Deulofeu V.-Mazzocco P.-Rev.Soc.Arg.Biol.1935,11,7
18.-
- (7).-Tchitchibabine A.E.-Traité de Chimie Organique.1933.
- (8).-Citado por Heitz Boyer M. en (3).-
- (9).-Jolles A.-Zeitschr.Physiol.Chem.1915,24,79.-
- (10)- Monias B.L.and Shapiro P.F.-Arch.Int.Med.1930,45,575.-
- (11).-Guía de Trabajos Prácticos de Química Biológica.Instituto de Fisiología de B.Aires.Editor El Ateneo.Buenos Aires 1934.-
- (12).-Obermayer F.,Popper H.-Zeitschr.f.Kl.Mediz.,1911,72,332,371,
(cit.por Biasotti en 1).-
Rosemberg M.-Arch.Exp.Pathol.u.Pharmak,1916,79,265;1920,86,15,
Deutsch.Arch.Kli.Med.1917,123,472.Munch.Med.Woch.,1916,117,928;

Deutsch.Med.1919,38,1045.Die Klin.der Nierenkrenkheiten,1927.
Berlin.(cit.por Biasotti en 1).

Rappaport F.Engelgery H.-Mikrochemie,N.I.1933,14,75;Klin.Woch.
1933,12,71 (citado por Biasotti en 1).-

(13).-Eßhm F.,und Grüner G.,Klin.Wochr.,1936,15,45C.-

(14).-Sharlit H.-Journ.Biol.Chem.1934,104,115.

(15).-Marenzi A.D.-Fotometría.Editor El Ateneo.Buenos Aires.1940.

(16).-Patalano A.,Vivone F.R.y Garzón S.-Anal.de la Academ.Nac.de
Medicina.Año 1941,3,295.-

(17).-Patalano A.-Vierheller F.,y Garzón S.-Anal.de la Academ.Nac.
de Medicina.Año 1941,3,305.-

(18).-Hawk P.B. and Bergain O.-Pract.Phys.Chem.1937.-

(19).-Derrieu y Gissud.-Journ.Med.Franc.Año 1933.-

FOFNA

INDICE

	Pág.
Generalidades sobre indoxilo	1
Reacción de Jolles	4
Técnica de Monias y Shapiro.....	6
Técnica modificada por el Dr. Mazzocco.....	7
Otras técnicas.....	8
Determinación de indoxilo en orina.....	9
Nuestra técnica.....	11
Curvas de absorción.....	11
Cálculos fotométricos.....	12
Pruebas de recuperación en suero sanguíneo.....	15
Pruebas de recuperación en orina.....	17
Acción del ácido tricloroacético en la r. de Jolles..	19
Acción del anticoagulante.....	21
Acción de la hemoglobina.....	23
Conclusiones.....	25