

Tesis de Posgrado

Determinación ultramicroquímica de bromo en material biológico

Nuñez, Alberto

1958

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas 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:

Nuñez, Alberto. (1958). Determinación ultramicroquímica de bromo en material biológico. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0983_Nunez.pdf

Cita tipo Chicago:

Nuñez, Alberto. "Determinación ultramicroquímica de bromo en material biológico". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1958. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0983_Nunez.pdf

FCFMA

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

DETERMINACION ULTRAMICROQUIMICA
DE BROMO EN MATERIAL BIOLÓGICO

Resumen de tesis para optar al título de Doctor en Química

ALBERTO FÚNEZ

AÑO 1958

Res de Tesis: 983

79
1103

DETERMINACION ULTRAMICROQUIMICA DE BROMO EN MATERIAL BIOLÓGICO

La determinación de bromo en material biológico fué un problema bastante estudiado, cuando Fincussen y Roman, con Zondek y Bier propusieron la teoría de que el bromo sanguíneo está combinado con un compuesto orgánico que actúa de manera análoga a la tioroxina.

Si bien como se comprobó después, esto no es cierto, no disminuye el interés por la determinación de bromo en material biológico, pues aún quedan por aclarar muchos problemas acerca de la función de este halógeno en los seres vivientes.

Es bastante importante por eso mejorar los métodos de determinación existentes, o buscar otros que permitan determinar mínimas cantidades de bromo y que sean de una precisión adecuada a las investigaciones biológicas que se quieran emprender.

Una revisión de la bibliografía en ese tema conduce a la conclusión de que ninguno de los métodos existentes, salvo el colorimétrico, es adecuado para la determinación ultramicroquímica de bromo y que en la mayoría de los casos la destrucción de materia orgánica resulta engorrosa por el volumen de muestra que es necesario tomar.

Teniendo en cuenta que en el hombre la cantidad de bromo en sangre es aproximadamente de 1 mg por cien mililitros, y si para acelerar la destrucción de materia orgánica se fija una cantidad de 0,1 a 0,2 ml de suero, será necesario un método que pueda asegurar la determinación de uno a dos microgramos de bromo con un error no mayor de un 5%.

El autor tenía experiencia en la determinación potenciométrica de cloruros en escala ultramicro, y los óptimos resultados

obtenidos hicieron pensar en la posibilidad de usar esas técnicas para los otros halógenos (bromo y aún iodo).

Pero aún destruída la materia orgánica, no se puede titular potenciométricamente el bromuro en presencia de los cloruros; fué por eso necesario recurrir a una separación. Se eligió el método de separación de Kahane y Kahane, y se lo adaptó a la escala ultramicro. Los resultados obtenidos son satisfactorios.

La técnica de trabajo es la siguiente:

Se destruye la materia orgánica por calcinación en medio alcalino. Se mide 0,1 a 0,3 ml de suero y con solución saturada de carbonato de sodio y se lo lleva a sequedad. Se calcina entonces a 550° C durante treinta minutos y se repite la operación agregando nitrato de potasio para ayudar a la oxidación del carbón que no se quema totalmente en la primera operación. Se tratan estas cenizas con agua y se pasan a un aparato de separación diseñado por el autor, pero semejante en principio al de Kahane y Kahane. Con ácido nítrico concentrado en presencia de ácido nitroso como catalizador, se oxidan los halogenuros a halógeno en frío en un burbujeador, y una corriente de aire los arrastra a través de otros burbujeadores donde sucesivamente quedan fijados, el cloro en ácido nítrico diluído y el bromo en sulfito de sodio 10%. Con una técnica original se trasvasa a una capsulita el bromo así separado y después de eliminar el sulfito de sodio remanente se titula potenciométricamente con nitrato de plata 0,01 N según la técnica de P.L.Kirk.

Los resultados son satisfactorios; para cantidades de bromo comprendidas entre uno y tres microgramos la desviación de la determinación aislada respecto de la media aritmética oscila entre 0,5 y 3%.

Ventajas del método respecto de los descriptos en la

Bibliografía consultada:

1) Se puede hacer cada determinación con 0,1 a 0,3 ml de suero y resulta mucho más fácil la destrucción de materia orgánica.

2) Se hace la determinación directa del bromo sanguíneo sin recurrir a reacciones que, pueden sensibilizarla pero también aumentar los errores y complicar mucho las operaciones (caso de oxidación de bromuro a bromato con hipoclorito).

3) Los otros halógenos no interfieren.

4) Se pueden hacer de ocho a diez determinaciones en ocho horas de trabajo, o más si se dispone de dos aparatos de separación. (Sin contar el tiempo de desecación). Se puede ganar mucho tiempo coordinando las operaciones de separación, estufa y titulación que demoran 30-40 minutos cada una, para que mientras se titula, haya una muestra en el aparato de separación y una cápsula en la estufa.

5) Reactivos de uso corriente.

6) El material microquímico y eléctrico es de fácil construcción y de precio relativamente bajo.

Conclusiones:

Se propone un método potenciométrico en ultramicroescala para separación y determinación de bromo en material biológico; todo no molesta. Se puede separar el bromo del cloro en una relación en peso de 1/3300 para cantidades de bromo de uno a cinco microgramos. Para suero sanguíneo humano se requiere 0,1 a 0,3 ml para cada determinación.

FOURBA

Para una cantidad de bromo de aproximadamente 1 mg por cien mililitros de suero la desviación tipo para cinco determinaciones es de más o menos 0,004 mg %.



-----000-----



AÑO 1958

TESIS 983

ALBERTO MÚÑEZ

Trabajo presentado para optar al título de Doctor en Química

DE BROMO EN MATERIAL BIOLÓGICO

DETERMINACION ULTRAMICROQUÍMICA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

I N D I C E

1	Introducción
8	Determinación de promuros en material biológico
8	Separación de bromo y cloro
12	Parte experimental
	Material y técnicas
	Electrodos
	Material volumétrico
	Aparato de separación
16	Toma de muestra
17	Destrucción de la materia orgánica
18	Separación del bromo
20	Titración potenciométrica
21	Discusión de los resultados
24	Conclusiones
26-29	Tablas I; II; III (bis); III; IV; V; VI; VII; VIII
30-32	Bibliografía
	Gráficos
	No 1; No 2; No 3; No 4
	Figuras
	No 1; No 2; No 3; No 4; No 5;
	Fotografías
	No 1; No 2; No 3; No 4; No 5;

-----000-----

Deseo agradecer al Dr. Rinaldo Amosel sus valio-
sos consejos al Dr. José M. Bach la guía y pedimento, y a
la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias la
boca que me otorgó, que hizo posible la realización de la -
mayor parte de este trabajo de tesis.

DETERMINACION ULTRAMICROQUIMICA DE BROMO EN MATERIAL BIOLÓGICO

INTRODUCCION.

La determinación de bromo en material biológico fue un

problema bastante estudiado con motivo de que Finowson y Roman (1)

apoyados por Zondek y Bier (2) propusieron la teoría de que el bro-

no sanguíneo está combinado con un compuesto orgánico que actúa de

manera análoga a la tiroxina. Se pensó que la pituitaria debería

formar este compuesto, que su pasaje al cerebro estaba asociado con

el estado normal y que el contenido de bromo en sangre disminuiría

en los estados maníacos depresivos. Estos puntos de vista estaban

basados en determinaciones falsas, como se demostró más tarde. (3)

Ucko (4) y Benhart (5) obtuvieron resultados muy

altos de bromo para la pituitaria. Usando métodos revisados se de-

mostro finalmente que no hay más bromo en la pituitaria que en o-

tras glándulas y que no hay ninguna evidencia válida para las teo-

rias propuestas.

De los trabajos de Quastel y Yates (8), Dixon (9) y en

particular de los más recientes y detallados de Leibert y Watzlawek (

10) surge que no hay base sólida para suponer que el bromo sangui-

neo no sea otro que bromo inorgánico.

Por precipitación, dialisis o ultracentrifugación no se

podía demostrar la existencia de una bromoproteína. Mas aún, el

bromo de la sangre es completamente precipitado por el nitrato de

plata, mientras que los compuestos orgánicos del tipo de la tiroxina

no son precipitados por ese reactivo.

La determinación es una de los dos compuestos orgáni-

cos conocidos que se encuentran en la naturaleza, por ejemplo en

b) Agujeros en los que se recurre a una separación por

la del bromo existente.

a) Agujeros en los que se hace la determinación directa

grupos en el conjunto de los métodos de determinación:

Eliminada la materia orgánica se pueden distinguir dos

es (10).

oxígeno de plata (39); con óxido orgánico (40); o mercurio sulfuroso

con ácido nítrico y nítrato de plata (38); con mercurio orgánico y b

trato de plata (36) en sistema abierto por ebullición a refluxo

tema cerrado con mercurio orgánico (35), o ácido nítrico fumante y ní

(21) (22) (23) (24) (25) (29) (33) (34) en medio alcalino, en sis-

tema en la materia orgánica por ebullición en sistema abierto (18) (20)

de tungstato (15) o con hidróxido de sosa (16) (17); otros destru-

Hay autores que prefieren la desprotección con az

eliminar materia orgánica antes de la determinación de bromo.

Los métodos analíticos usados hasta ahora requieren e-

brillos orgánicos.

Alas de los bromuros de alquilo (26) y la acción oxidante de los

grupos como el nitro. Además aún quedaría por aclarar la acción to-

blemente el metabolismo de los cloruros y el funcionamiento de or-

may (14) el estudio de la relación Br/OI puede aclarar considera-

orgánicos, no disminuye el interés por su determinación. Según con-

sin embargo, el que el bromo no se presente como bromo

alguna purpura de hierro.

tema en una purpura (12) (13), que parece ser idéntica a la an-

los corales (11). El otro es el 6,6 dibromonitro, unido a una pro

de acidez (pH 6,35) (33) (34).

de sodio (43), o con hipoclorito de sodio en ajustadas condiciones
stón (36) (37), con hipoclorito en buffer de ácido bórico y cloruro
(41) (42), con hipoclorito de sodio y carbonato de calcio en supeñ
to ya sea con hipoclorito de sodio en buffer de fosfato (22) (23)
En el grupo B se hace una oxidación del bromuro a bromo

(25) (45) (47)

2) por oxidación del bromuro a bromato y yodometría (21) (27) (29)

1) por yodometría (15) (17) (18) (19) (20) (24) (39) (40)

En el grupo B después de la separación

2) colorimetría (33) (34) (30) (26) (45)

1) yodometría con tiosulfato de sodio (22) (36) (37) (41) (42)

La determinación se lleva a cabo en el grupo B por

y acetona (29) (45).

2) Por extracción del bromuro de potasio por solventes que lo di-
suelven selectivamente, con alcohol (14) (20) (24) (44), alcohol

(44).

1) Oxidación del bromuro a bromo elemental y destilación (17) (19)
(40) (47), extracción con tetracloruro de carbono (18), o cloro
romo (21), extracción (15) (27) (28) (39) (43), y destilación (14)

En el grupo B la separación puede hacerse por:

único hallado en la bibliografía. (38)

(42), y determinación subyacente; y un método gravimétrico, el
los cloruros (10) (20) (21) (23) (25) (33) (34) (36) (37) (41)
que se oxida selectivamente el bromuro a bromato en presencia de
En el grupo B figuran sobre todo, los métodos en los

libera el bromo que se extrae con cloroformo, con loduro de potasio (21) (46) para el bromuro a bromato y con peróxido de hidrógeno se iodometría; si la oxidación se lleva a cabo en medio ácido nítrico tratamiento de carbono (18) y con loduro de potasio se llega a una posterior (18) o sulfúrico (15) (46), el bromo es extraído con te- oxida cuidadosamente con permanganato de potasio en medio ácido medio alcalino, por ebullición, el bromuro se toma con agua y se (18) (21) (46), como la destrucción de materia orgánica se hace en de potasio, se titula el todo con tiosulfato. En otros trabajos (40), el bromo se desprende y se recoge en una solución de loduro en ese caso como la materia orgánica se destruye con ácido crómico En el grupo b el bromo puede separarse por destilación;

ción de la materia orgánica.

y por consiguiente se completa y se alarga el proceso de destruc- que se necesitan diez mililitros de sangre para cada determinación ular la composición de la muestra. Tiene el grave inconveniente de cloruro y bromuro precipitados, se pueden formular ecuaciones y así do el sobrante de nitrato de plata y conociendo el peso total del arenaña de peso entre el cloruro y el bromuro de plata, determinan- te doce horas con ácido nítrico y nitrato de plata. Debido a la di- co. La materia orgánica se destruye por ebullición a refluxo duran- do gravimétrico ya estado para determinar bromo en material biológi- Berthman, Britton y Waller (38) han desarrollado el méto-

tria (33) (34)

de rosanilina a tetrabromosulfina, concluyendo en una colorime- con bromuro de potasio se libera bromo, el bromo oxida una solución amonio como catalizador, pasando entonces a una iodometría; o si no de sodio, se libera todo con loduro de sodio y molibdato de sodio o Una vez destruido el exceso de hipoclorito con formiato

Hunter y Goldspink (33) y Hunter (34) han elaborado el método colorimétrico (ya citado) para la determinación de bromo en sangre. La materia orgánica se destruye por calentamiento en medio alcalino. En la solución acuosa de las cenizas y en ajustadas condiciones (a pH 6,35) se oxida el bromuro a bromato con hipoclorito de sodio N, en presencia de los cloruros. En dicho medio herviente se

puede determinar hasta dieciséis microgramos de bromo.

Conway (14) y Cheek (44), hacen una separación previa del bromuro, de un mililitro de sangre con etanol de 95°. Se evapora el alcohol y se seca en la estufa. Se calienta durante un minuto el extracto seco; se toma con agua y se pasa a la cámara de difusión de Conway (14), allí se oxida el bromuro a bromo con masa sulfurosa en frío; el bromo desprendido se fija en una solución de 10 duro de potasio. Se titula con tiosulfato el todo formado. Conway

Los únicos trabajos de la bibliografía consultada que pueden considerarse micro-métodos son los de Conway y Cheek, Hunter; y Goldspink y Hunter, y los más antiguos de Doering.

MICROMÉTODOS.

El bromuro de potasio se puede extraer con solventes más o menos especiales, alcohol de 95° (20) (24), o con alcohol primero y acetona después (29), o con alcohol directamente la tercera biología (14) (44) con lo que se elimina simultáneamente la materia orgánica; la determinación se hace por oxidación a bromato con hipoclorito y iodometría como en el primer grupo (20).
El bromo puede separarse también por alveación (15) y fijarse en una solución de ioduro de potasio. Finalmente puede separarse por difusión (14) (44). Esto es un caso particular que se verá más adelante.

			Determinación	1) Oxidación selectiva del bromuro a bromato en presencia de cloruros. (10) (20) (21) (22) (23) (24) (25) (26) (27) (28) (29) (30) (31) (32) (33) (34) (35) (36) (37)	1) Oxidación selectiva del bromuro a bromato en presencia de cloruros. (10) (20) (21) (22) (23) (24) (25) (26) (27) (28) (29) (30) (31) (32) (33) (34) (35) (36) (37)
			2) Extracción por solventes (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24) (25) (26) (27) (28) (29) (30) (31) (32) (33) (34) (35) (36) (37)	2) Extracción por solventes (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24) (25) (26) (27) (28) (29) (30) (31) (32) (33) (34) (35) (36) (37)	
Determinación Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Determinación Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)
Determinación Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Determinación Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)
Determinación Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Determinación Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)	Extracción (18) Destilación (17) Destilación (19) (40) (47)

determinación

El cuadro siguiente resume el conjunto de métodos de

Según H. Doering (36) (37) se pueden determinar con su método hasta diez microgramos de bromo.

rededor de 1 ml de sangre o suero.
 de bromo. Analizan las condiciones con sumo cuidado. Repetieren al-
 te a 570 milímetros. Pueden determinar entre 0 y 5 microgramos
 nina a tetrabromo rosanilina. Esta se determina colorimétricamen-
 no catalizador, se desprende bromo que oxida una solución de rosa-
 ácido sulfúrico y con bromuro de potasio y molibdato de amonio co-
 destruye el exceso de hipoclorito con formiato de sodio. En medio

siguiente:

El procedimiento que se ha seguido es a grandes rasgos el

siguiente: Se hizo necesaria una separación de los bromos, pre-

via a la titulación potenciométrica con nitrato de plata. Se hizo necesaria una separación de los bromos, pre-

via a la titulación potenciométrica. Se hizo necesaria una separación de los bromos, pre-
via a la titulación potenciométrica con nitrato de plata, pero esto es imposible cuando hay un gran exceso de uno de ellos (mas del 95%), en mezclas de halogenuros con nitrato de plata, pero esto es imposible. Es sabido que se pueden determinar potenciométricamente

exactitud podría tomar muestras pequeñas (0,1-0,2 ml).

particular la destrucción de materia orgánica puesto que sin perder materiales biológicos. Se aliento sobre la posibilidad de sim-

a la determinación de bromo en sangre con posibilidades en otros ca del ultramicroanalisis se animaron a aplicar los mismos métodos

cloruros (x) y los óptimos resultados obtenidos aplicando la técnica de titulación potenciométrica en la titulación potenciométrica de

Cuando comencé a estudiar la determinación de bromo en

bre en particular (un miligramo por cien mililitros de sangre).

de bromo existente en los seres vivos en general y en el hombre presencia de grandes cantidades de cloruro y la pequeña cantidad

bromo son: la materia orgánica, que hay que destruir o separar. La presencia de bromo en la determinación de

orgánica, y además por la cantidad de muestra necesaria.

pequeñas cantidades principalmente si es necesario destruir materia orgánica, y además por la posibilidad de llevar a cabo el análisis con muy

de Th. Leibert (31). Desde el punto de vista clínico es de considerable interés la posibilidad de llevar a cabo el análisis con muy

Existe una recopilación bibliográfica acerca del tema

El método de separación que elegí es el de Kahane y Ka-
hane (53) (54), es sencillo regular reactivos comunes, y un apar-
to que por su simplicidad puede construir uno mismo sin dificultad-
des. (ver figura n.º 1 y foto n.º 1). El aparato que aquí se descri-
be es algo distinto del que se utilizó para el trabajo mencionado

DE LA SEPARACION DE BROMO Y CLORO

Como a primera vista la destrucción de materia organi-
ca por calcinación no presentaba ninguna dificultad insalvable, se
comenzó por estudiar la separación previa, por ser además etapa in-
dispensable antes de la titulación potenciométrica.

La búsqueda bibliográfica me decidió por la destrucción
de materia orgánica por calcinación en medio alcalino y separación
de bromo de las cenizas.

Br/Cl de 1/500.
Efectuar la titulación potenciométrica en la relación desfavorable
las orgánicas se hizo necesaria la separación del bromo, para poder
las II, gráficos n.º 2 y n.º 3. Además de la destrucción de la mate-
ria orgánica se hizo necesario hacer un salto de potencial. En
mezcla de cloruro y bromuro, y los resultados fueron análogos; aún
adquirir experiencia en este tipo de titulación hizo ensayos con
titular potenciométricamente menos de 5% de bromuro en cloruro. Para
Clark (48) ya había demostrado la imposibilidad de ti-

DE LA DETERMINACION DE BROMUROS EN MATERIAL BIOLÓGICO

- a) Destrucción de la materia orgánica (33) (34)
- b) Separación del bromo del cloro (53) (54)
- c) Titulación potenciométrica con nitrato de plata (48) (50)

de bromo de potasio, demostrándose que el bromo puede recuperarse.

Estos resultados fueron obtenidos con soluciones puras

semejante a la que se describe después. (Tabla III).

Luego se determinó hasta 22 microgramos de bromo con una técnica

con el primer aparato construido; más rudimentario, se

volúmen y velocidad del aire que entra.

El volumen y concentración de las soluciones, forma del aparato,

de es bueno deben ajustarse rigurosamente las condiciones de separación

Las primeras separaciones mostraron que aunque el método

la figura adjunta.

El aparato quedó finalmente tal cual está indicado en

lado el bromo, a la espuela de titulación.

técnicas especiales para transferir la solución en la que ha quedado el

eliminar espacios muertos. Además se requiere, como se verá, una

de los burbujeadores para disminuir el volumen de las soluciones y

del orden de uno a tres microgramos se debió modificar completamente

Como las cantidades de bromo que se deben separar son

halógenos, fue eliminado el burbujeador separador de todo.

para separar también todo, pero como aquí no interesa separar este

el eloro y el bromo. El método que estos autores indican fue ideado

diluido (6,6 N) y saltillo de sodio, permiten separar sucesivamente

burbujeador y pasan por otros en los que soluciones de ácido nítrico

halógenos así formados son arrastrados con corriente de aire de un

ácido nítrico como catalizador oxida los halógenos a halógenos. Los

base en que el ácido nítrico concentrado en frío y en presencia de

El método de separación propuesto por Kahane y Kahane se

de numerosas modificaciones en el curso del trabajo.

(x). (Pag. 7). Fue diseñado por el que escribe y es el resultado

Para demostrar que también ocurre en presencia de cloruros se preparó una solución al 12% de cloruro de sodio y se hicieron mezclas con solución 0,01 N de bromuro de potasio; la separación llevada a cabo permitió comprobar que en las condiciones dadas se puede separar hasta 0,08 microequivalentes de bromuro de mas de 600 microequivalentes de cloruro. (Tabla IV). Vale decir en una relación 1/3300 en peso o en relación de equivalentes 1/7500.

Sin embargo se puede comprobar también que el resultado obtenido no satisface las condiciones necesarias; el bromo no se recupera totalmente, hay pérdidas graves (10-20%). Además hay menor porcentaje de pérdida en el arrastre (separación) cuando menor es la cantidad de bromo que se debe separar.

Varias series de determinaciones aumentando el tiempo de circulación del aire, mostraron que es necesario medir el volumen de aire que circula por el aparato y ajustar su velocidad; fueron 1 ml por hora y 500 ml como volumen total en veinte minutos, fueron suficientes.

Quando establecida entonces una técnica de trabajo que describiré más adelante, y para verificar el resultado de la misma lleve a cabo varias series de determinaciones.

Hasta este momento las soluciones de cloruro y bromuro se colocaban directamente en el aparato, de esta manera se puede estar seguro de los errores imputables al método de separación. Como no sabía que efecto podrían tener todas las sales que quedan de la circulación del suero en el método de separación; se preparó una mezcla artificial de sales, de composición análoga en aniones y cationes al suero sanguíneo humano, solución a la que he llamado "tipo suero".

ro humano. La sangre obtenida por punción venosa fue centrifugada
 Hechen entonces comence a trabajar con muestras de su

programa de bromo.

de bromuro con un contenido de bromo que oscilaba entre 1,5 y 4 mg
 diciones para la separación y titulación de muestras artificiales
 Los trabajos anteriores permitieron establecer las con

dad de ácido nítrico diluido necesaria.

burbujeadores, haciendo los más pequeños disminuyendo así la canti-
 A esta altura del trabajo se modificó la forma de los

aparato se ven en la tabla A.

en iguales condiciones pero poniendo la muestra directamente en el
 Determinaciones comparativas con otras llevadas a cabo

una técnica descripta más adelante.

po y bromuro) en el vaso cóncavo y se lo travesó al aparato usando
 teria orgánica del suero. Para eso, se colocó la muestra (suero y
 tratamiento de las cenizas resultantes de la destrucción de la ma-
 al aparato de separación, técnica que sería la misma que para el

ca de travesado de la muestra colocada en un tubo o vaso cóncavo
 El problema siguiente a resolver fue ajustar la técni-

evitar la pérdida de bromuro en las operaciones de separación.

ajustarse muy bien las condiciones y aun modificar el aparato para
 aditionado con cantidades conocidas de bromuro (Tabla A). Hubo de
 Las series de determinaciones se realizaron usando este suero tipo

Sulfato de magnesio	150 mg por ml.
Carbonato de calcio	210 mg "
Cloruro de potasio	380 mg "
Fosfato monopotásico	140 mg "
Cloruro de sodio	4500 mg "

nucha agua destilada.

Inmersión hasta desprendimiento abundante de burbujas. Se lava con forma de bolita en un extremo, se limpia con ácido nítrico 1:2 por

es un alambre de un milímetro de diámetro al que se lo funde en Electrodo: El electrodo de plata fue preparado según Indica Kirk;

y funcionamiento en la bibliografía original (49).

compensar de aproximación. Conviene ver detalles de construcción de un microtermómetro de 50 micrometros de alcance y 0,5 mV

men de reactivo) conduce al mismo punto final. El instrumento usó cambio, la curva de titulación obtenida (corriente de placa-vol-

medir potenciales; como la resistencia del circuito de placa no en régimen, se mide la variación de corriente de placa en lugar de

Durante el transcurso de la titulación con el aparato

calomas respectivamente se conectan a cada una de las grillas.

Los dos electrodos, de plata pura electrolítica y de

ción de placa. (Fig. N.º 2).

se usa un regulador de voltaje (adjunto) para suministrar la tensión para una gran estabilidad en el instrumento de lectura. Además

la válvula 6C8-6T se hace con un acumulador de 6 voltios. Esto

grillas flotantes (ver circuito). La calefacción del filamento de

fue elegido porque es sencillo y sensible, debido al sistema de

ción potenciométrica, es el que describen Vanoss y Bengtson (49).

Voltímetro & válvula: El voltímetro & válvula usado en la titula-

MATERIAL Y TÉCNICA

PARTICULARIDADES

después de la coagulación para separar el suero.

de potasio.

Debe mantenerse siempre en posición vertical, no debe agitarse y cuando no se usa debe quedar en la solución de nitrato

responsable en el mercurio de la celda superior.

La conexión se establece introduciendo el extremo del conductor co- /
jerito lateral con una cinta adhesiva para evitar evaporación. La
nitrato de potasio. En pocos días se estabiliza. Se cierra el agua
el extremo del capilar p.s., sumergido en una solución saturada de
ta el mercurio de la celda superior, y se deja verticalmente con
solución se depositan cristales de cloruro de potasio. Se completa
esto hasta sobrepasar el extremo del capilar p.s. Al entrar la
tero una solución saturada y caliente de cloruro de potasio
Por allí mismo se introduce cloruro sólido pulverizado y con el
ro de la celda, suficiente mercurio para cubrir el alambre de platino.
ción definitiva) y por el agujero lateral se introduce con goteo
Khotinsky. Se coloca el aparato verticalmente (esta será su posición
se introduce el electrodo de platino y se pega en él con cemento De
Una vez fría y solidificada la solución de agar-nitrato

mejarse en absoluto.

debe pasar del extremo superior del capilar p.s. El tubo no debe
por sucesión, rápidamente; antes que se entrie la solución. Esta no
ce en la solución agar-nitrato de potasio y se llena el capilar p.s.
entibia el aparato sobre la llama y mientras está tibio se introduce
lución de agar-nitrato de potasio, en un baño de agua hirviendo, se
to de potasio y de agar al 5%. Para esto se mantiene fundida la so-
puente salino (p.s.) se llena con una solución saturada de nitrato-
seca todo cuidadosamente. El capilar que hace las funciones de
plante común, de acuerdo con los esquemas (Fig. N° 3). Se lava y
dica Kirk (50) con modificaciones más. Se construye de vidrio
El electrodo de cloruro saturado es análogo al que in-

MATERIAL NECESSARIO

Para la toma de muestras use pipetas capilares de 1 a 300 microlitros de autoenjuague (ver Kirk (50) pag. 17-18) (foto n.º 2).

Micropipeta: es la que describe Benedetti-Pichler (51), (ver tambien (52), en esta ocasion fue necesario usar una de diez microlitros y de 1/30 de microlitro de aproximacion. Se calibro cuidadosamente pasando el agua emitida; las pesadas se llevaron a cabo con aproximacion de 1/100 de miligramo, teniendo en cuenta la evaporacion del agua durante la emision. Por lo demas la construccion y calibracion se describen muy bien en el manual de Benedetti-Pichler.

La micropipeta esta provista de un tubo de goma (ver esquema fig. n.º 4) lo que permite llenarla como una pipeta, por succion. La altura h depende del diametro del capilar, de manera que cuando se sumerge la punta en la capsula de titulacion, el liquido fluye hacia abajo por gravitacion y se detiene el flujo cuando se saca. (52)

Capsulas de titulacion: No siempre es facil disponer de capsulas de titulacion de porcelana como las que describe Kirk, ni aun de capsulas comunes de diez milímetros de diametro. Es sin embargo bastante facil hasta para un principiante la construccion de capsulas de titulacion de vidrio.

Se sopla en un tubo de vidrio (de pared mas bien gruesa) de diez milímetros de diametro, un globo de unos 15 a 20 mm de diametro.

Se calienta con llama rasante y girando continuamente hasta conseguir una superficie plana, perpendicular al eje del tubo (fig. n.º 5). Mientras esta caliente se accionan rapidamente para

El aire se hace circular en el aparato por acción de un trazo de Martote graduado, de un litro de capacidad. La velocidad del aire se regula con una pisa de Mohr. Una circulación de 500 ml en 20-25 minutos es suficiente para una buena separación. El burbujeador N.º 1 tiene un embudo que facilita el agregado de muestra y reactivo; tiene cuatro bulbos rompe burbujas (ver figura N.º 1 y foto N.º 1). Los cuatro burbujeadores siguientes (2, 3, 4, y 5) (por razones de construcción están unidos de a dos, pero podrían hacerse en una sola pieza) contienen 0,5 ml de solución de ácido nítrico 6,6 N cada uno. Pujan totalmente el cloro desprendido, pero no el bromo. El burbujeador fijador de bromo es el N.º 6; tiene forma y dimensiones que deben respetarse para evitar pérdidas de bromo o de solución durante la circulación del aire. El tubo capilar tiene 0,3 a 0,5 mm de diámetro, el bulbo b 0,15 ml, el tubo alargado t.º, aumenta el recorrido de las burbujas, los bulbos f.º son rompe burbujas y la curva c.º impide pérdidas por

en el último, solución de sulfato de sodio 10%.
en los burbujeadores 2, 3, 4, y 5 solución de ácido nítrico 6,6 N y re 1, con solución de nitrato de sodio y ácido nítrico concentrado; morate 1, 2, 3, 4, 5, y 6 (fig. N.º 1). Se colocan la muestra en el matraz vidrio blanco común con uniones esmerilladas, burbujeadores que un aparato de separación: consta de seis burbujeadores contruidos de

nido del operador.

L. Kirk (50) y su construcción queda librada a la habilidad e ingeniería de vidrio y otros detalles, están descritos en el manual de F. Otros materiales: la mesa de titulación, agitador magnético de 1-

y pule y aplana con tela esmeril.

quien. Se recuce con llama luminosa, se corta según está indicado conseguir la concavidad deseada, cuidando que las paredes no se tº

100, 0-300, 0 microlitros. (50 pag 17-28)

Tome de muestra: Se usan las pipetas capilares de autoconstrucción de

TECNICA

to de vidrio Pyrex.

Todos los reactivos son para analisis. El agua se destila en aparatos

0,0100 M y 0,0010 M	Solucion y	0,0100 M y 0,0010 M	Solucion y	0,0100 M y 0,0010 M	Solucion y	0,0100 M y 0,0010 M	Solucion y
5 M	Solucion	5 M	Solucion	5 M	Solucion	5 M	Solucion
6,6 M	Concentrado y	6,6 M	Concentrado y	6,6 M	Concentrado y	6,6 M	Concentrado y
10%	Solucion	10%	Solucion	10%	Solucion	10%	Solucion
30%	Solucion	30%	Solucion	30%	Solucion	30%	Solucion
10%	Solucion	10%	Solucion	10%	Solucion	10%	Solucion
Solucion saturada	Solucion saturada	Solucion saturada	Solucion saturada	Solucion saturada	Solucion saturada	Solucion saturada	Solucion saturada

Reactivos y soluciones:

Materiales volumetricos comunes.

gantes; de 1/4 por 40 mm (ver figura N. 1)

Tubos conicos de Pyrex para calibracion de materia or

tro. Aproximacion de lectura: 10°C

Malla electrica o de gas hasta 600-700°C con pirone-

Metra de aire, electrica hasta 200°C

pecial, se requiere:

Materiales del material descripto, que podria llamarse es-

ml de sulfato de sodio 10%.

metros del cierre empujado con el burbujeador N. 5. Contiene 0,3

burbujeador. El extremo del capilar debe sobrepasar unos milí

salpicaduras y aire de cierre hidráulico al hacer los lavados del

Se colocan los conos verticalmente en un soporte (ver Foto N° 2) cubiertos con un cristalizador o vaso de precipitados para evitar condensaciones y se dejan durante toda la noche en una estufa de aire a 90-95°C. Esta desecación lenta es necesaria, porque si es rápida puede haber importantes pérdidas por proyección. Una vez seca la muestra, se eleva la temperatura gradualmente a 150°C y se pasa a la nutila; en ella se sigue aumentando la temperatura gradualmente hasta 550°C en treinta minutos y se mantiene a esa temperatura durante otros treinta minutos. Se deja enfriar. Como el carbón no se quemó en general totalmente, se agregan 60-100 mililitros de solución de nitrato de sodio al 10% y se repite todo el proceso anterior. Debido a la pequeña cantidad de agua que contiene ahora la ceniza el proceso puede acortarse considerablemente, no es necesario desecar en estufa sino unos quince minutos. Si aun queda carbón sin quemar se repite nuevamente el

Destrucción de la materia orgánica.

La pipeta se llena por sección con la boca por medio de un tubo de goma. (ver Foto N° 2). El ensayo, muy exacto se realiza por espililidad, y se termina por secar minuciosamente el extremo con una tira de papel de filtro. Se expulsa el líquido (suro) de la pipeta soplando y pasando al tubo conico de Pyrex, se lava la pipeta dos veces, reuniendo todo en el tubo; (véase de Kirk) (pag 121-122). Se agregan 60-100 mililitros de solución saturada de carbonato de sodio y se mezcla agitando por rotación con una varilla de vidrio curvada en un extremo. Esta varilla se retira y se lava con tres gotas de agua. No debe mojarse la boca del tubo conico para evitar el ascenso de la solución durante la desecación ulterior. Se prepara una serie de diez determinaciones o mas con cantidades diversas de suro y blancos con cantidades conocidas de bromuro para comprobar pérdidas.

Se arma el aparato según está indicado en el esquema; se disuelve en el tubo cónico la ceniza proveniente de la calcingión con 0,3 ml de agua, entubando y agitando con la varilla curvada. Se hace circular el aire por el aparato a la velocidad establecida de 500 ml en 20-25 minutos y mientras circula se transvasan al burbujeador N.º 1 por el embudo, 0,15 ml de la solución de nitrato de sodio al 30% y la solución ya preparada de las cenizas. Se lava el tubo cónico dos veces más con 0,3 ml de agua y se pasa

al burbujeador N.º 1 y fotos N.º 3 y 4). Seccionando sucesivamente, produciendo el extremo e.º, en la gota que está sobre la placa y de parafina, de esta placa se pasa la solución al burbujeador inmediatamente preparada, depositándola previamente en una placa 121-122. Se miden 0,3 ml de la solución de sulfato de sodio 10% des con saliva. Es muy conveniente la técnica de Kirk (50) pag. se usa una botella con litro de algodón para evitar contaminación El burbujeador N.º 6 se llena por succión con la boca;

Preparación del aparato de separación: Se limpia con mezcla sulfocrómica caliente y se enjuaga con abundante agua. Es práctico usar una trampa de agua para hacer circular los líquidos. Solo el burbujeador N.º 1 se seca en estufa; los números 2, 3, 4 y 5 se enjuagan con ácido nítrico 6,6 N (por succión con la trampa de agua) y se pone en cada uno 0,5 ml de la misma solución por el mismo procedimiento. Para las subsecuentes determinaciones, se enjuagan solamente con dicha solución.

Separación del bromo.

Se toma en la determinación. del aldrilo de los conos por el carbonato de sodio pero eso no nos da fin de obtener cenizas perfectamente blancas. Hay cierto ataque proceso. Para 0,1 ml de suero solo se requieren dos calcingiones

el burbujeo. Al llegar el líquido a la estrangulación 5 del burbu-
gen con el agua todas las salpicaduras producidas en el aparato por
hacia arriba; golpeando suavemente con la yema de los dedos se reco-

este se inclina hasta quedar horizontal, con el tubo capilar 5.
paralina, y de la misma, por succión se hace entrar al burbujeador;
ca de Kirk para el lavado de pipetas: se pone agua en una placa de
dor tres veces con 0,3-0,5 ml de agua cada vez; adoptando la tecní-
Kirk) (sin olvidar la botuilla con filtro). Se enjuga el burbujeador
contenido del mismo a una capsula de titulación de vidrio (tipo)
Se toma el burbujeador N° 6 y se expulsa soplando, el

Titulación del bromo fijado en la solución de sulfato de sodio.

Finalmente el burbujeador del trazo de Harlotte.
el burbujeador N° 6 del aparato sin detener la corriente de aire y
Una vez que han circulado los 500 ml de aire se separa

do al exterior del aparato por la corriente de aire.
el ácido nítrico diluido ni por el sulfato de sodio, y es arrastra-
ne, este hidrógeno, se desprende con los otros pero no es fijado por
cloro). El todo no molécula en esta separación; según Kahane y Kahane-
dos por la corriente de aire. (Ver pag 8. Separación de bromo y
nitrosos, en frío, estos y los hidrógenos desprendidos son arrastra-
Al agregar el ácido se desprenden de inmediato vapores

contracción final del ácido no sea inferior a 10 ml.
aire, se pasa al aparato. El volumen total debe ser tal que la con-
con la varilla para arrastrar con este los últimos restos de la ce-
nen en el tubo cónico 2 ml de ácido nítrico concentrado y rotando
veniente de carbonato agregado a la muestra. Inmediatamente se po-
para favorecer el desprendimiento suave del anhídrido carbónico pro-
tas de ácido nítrico diluido) podrá usarse por ejemplo el 6,6 N)
todo al burbujeador. En el segundo lavado se agregan dos o tres go-

Se baja la mesita de titulación, se ajustan los electrodos y el agitador a la misma altura a que va a quedar el extremo de la bureta, sobre la mesita se coloca la capulita y se sube la mesita hasta sumergir los electrodos y agitador en la solución a titular. Foto N.º 5. Se pone en marcha el agitador magnético, cuidando que no produzca salpicaduras. Se ajusta el voltímetro a una vez establecido el potencial, en unos minutos, se da comienzo a

de litro.

en el líquido y se llena por succión, secando el extremo con papel unos veinte mililitros, se introducen el extremo de la microbureta nitrato de plata; para esto la solución se pone en un frasquito de Se prepara la microbureta llenándola con la solución de

~~la titulación potenciométrica.~~

ta con nitrato de plata 0,0100 N.

Una vez fría la capulita, se titula potenciométricamente

titulación por inestabilidad del electrodo de plata.

(56) si el sulfato no es eliminado totalmente, interfiere en la titulación por inestabilidad del electrodo de plata. (55) no proceder así, pues a pesar de lo que indican otros autores (55) el sulfato de sodio remanente, sin afectar el bromuro. Es necesario con algunas gotas de agua. Con este procedimiento se destruye los cubiertas con un cristallizador y cuidando de mantener el voltímetro en altura de aire a 110° - 120° durante treinta a cuarenta minutos en la capulita tres gotas de ácido sulfúrico 5 N y se deja reposar en la operación anterior. Se repite el lavado dos veces más. Se expulsa el contenido a la capulita, se expulsa el contenido a la capulita, se hace bajar el electrodo en posición vertical y golpeando suavemente se hace bajar el electrodo, se produce por capilaridad un cierre hidráulico que permite hacer todo el trabajo sin temor a pérdidas. Se pone el burbujeador en posición vertical y golpeando suavemente se hace bajar el

a) La desecación de la muestra debe ser lenta a una temperatura de 90-95° para que se produzca evaporación sin ebullición. Nunca se han encontrado errores muy graves por defecto en las muestras de suero porque la coagulación del mismo impide la ebullición brusca. Se ha observado que series de determinación dan resultados bajos y erráticos cuando se las deseca en tiempos cortos, a temperaturas mayores de 120°C.

Se puede observar, que:
resultados.

Diversos factores influyen de manera marcada en los re-

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

El punto final se determina prácticamente poniendo en orden las $\frac{\Delta V}{\Delta t}$ y en abscisas A. Se consigue una aproximación de 1/30 de microlitro. (Tabla I y gráfico N.º 1).

La titulación se conduce como es habitual en las titulaciones potenciométricas; se hacen adiciones de volúmenes iguales de la solución de nitrato de plata (0,15 microlitros) esperando 10 a 20 segundos hasta que se estabilice el potencial antes de la adición siguiente. Para que la solución fluya de la microbureta solo es necesario hacerla girar alrededor del tornillo J (Fig. 4) hasta que el piec puede sumergirse unos milímetros bajo el nivel del líquido de la capsula de titulación.

za ensayada.

Si el electodo de plata es nuevo, en general no se estabiliza inmediatamente; con la primera adición de solución de nitrato de plata se produce un salto de potencial (48) y se estabiliza

la titulación.

- b) El tiempo de calcinación no debe alargarse innecesariamente. Ayudando a la destrucción del carbón con nitrato de sodio se puede acortar a treinta minutos el tiempo de calcinación. A temperaturas mayores de 50°C ya hay volatilización de los halógenos aleatorios (2 a 5%). Calcinaciones de tres o cuatro horas a mas de 600-650°C producen pérdidas hasta del 20%.
- c) En la separación de los halógenos, se ha encontrado importante el volumen de aire que circula y su velocidad. Series de determinaciones mostraron que mayores o menores volúmenes de aire de arrastre producen errores por defecto. Si la velocidad de circulación es excesiva puede haber pérdidas mecánicas por salpicaduras y contaminación de la solución de sulfato con la de ácido nítrico del burbujeador precedente.
- d) La solución de sulfato fijadora de bromo debe ser reciente-mente preparada, no conviene usar soluciones de mas de dos días, porque invariablemente conducen a errores por defecto de fijación de bromo, debido a la oxidación del sulfato a sulfato por el oxígeno del aire.
- e) Las cantidades de reactivos usados deben respetarse. Un exceso de solución de nitrato de sodio, si bien favorece el desprendimiento de los halógenos, conduce a resultados bajos. Hay oxidación de la solución de sulfato y no se fija el bromo desprendido.
- f) Las capsulas de titulación que se ponen en la estufa deben vigilarse para evitar una excesiva concentración, que conduzca a errores por defecto. Esto puede atribuirse a la acción del ácido sulfúrico sobre el bromuro.

Se muestran aquí cuatro determinaciones hechas con diez

diversos.

serie con excepción de tres que no fueron concluidas por accidentes
de determinaciones. Figuran en ella todos los resultados de la
La tabla de valores VIII muestra el resultado de una sé

oculta entre 0,5 y 3%.

des comprendidas entre uno y tres microgramos la desviación
microgramos la desviación alcanza al 5%. En cambio para cantidades
límites es mayor de 3%. Para cantidades superiores a seis mil
des mayores de tres microgramos, la desviación de la media a-
pende de la cantidad de bromo que se determina. Para cantidades
1) El gráfico N.º 4 muestra que hay un error por defecto que de-

lito o compuestos nitrosos.

de la solución de la capula de titulación contiene un sul-
Debe reemplazarse enseguida. Esto sucede particularmente cuando
h) A veces el electrodo de plata se inactiva o se inestabiliza.

Kolt y Farnham (57).

dispone de un buen alambre de plata, se puede preparar según Kolt
la casa Berens de Genua y no hubo ningún inconveniente. Si no se
teralmente se consiguió un alambre de plata de origen alemán de
valores malos debido a pequeñas cantidades de oro que tenían. Por
a ese fin. Algunos alambres de plata usados por el autor daban re-
es importante disponer de alambre de plata electrolítica destinada
En cuanto al electrodo indicador de alambre de plata,

malgamada (48)(50).

tenión y es muy estable, lo que no sucede con el de plata
ro usar un microelectrodo de calomel. No regulare ninguna a-
g) En la titulación potenciométrica se encontró mucho más seg-

Se propone un método potenciométrico en ultravioleta para la separación y determinación de bromo en material biológico;

CONCLUSIONES

ción y de precio relativamente bajo.

5) El material microquímico y eléctrico es de fácil construcción

4) Los reactivos son de uso corriente.

en la etapa.

3) Se pueden hacer entre ocho y diez determinaciones en ocho horas de trabajo o más si se dispone de dos aparatos de separación. (Sin tener en cuenta el tiempo de desecación). Se puede ganar mucho tiempo coordinando las operaciones de separación, etapa y titulación, para que demoren 30 a 40 minutos cada una, para que mientras se titula, haya una muestra en el aparato de separación y una capsula

2) Se hace la determinación directa del bromo sanguíneo sin recurrir a reacciones que pueden hacer más sensible la determinación pero aumentar los errores y complicar mucho las operaciones. (Caso de la oxidación del bromuro a bromato con hipoclorito).

1) Se puede hacer cada determinación con 0,1 a 0,3 ml de suero y se hace mucho más fácil la destrucción de la materia orgánica.

Bibliografía consultada:

Ventajas del método respecto de los descritos en la

tres microgramos.

satisfactorios para cantidades de bromo comprendidas entre uno y con agregado de cantidades conocidas de bromo. Los resultados son suero humano; y finalmente siete determinaciones en el mismo suero des conocidas de bromo. A continuación cinco determinaciones en los preparados con la solución "tipo suero" adicionada con cantidad

[Handwritten signatures]

Se puede separar el bromo del cloro en una relación 1/3300 en peso para cantidades de bromo que oscilan entre 1 y tres microgramos. Para suero sanguíneo humano se requiere 0,1 a 0,3 ml para cada determinación.

Tomando esa cantidad de muestra y para sueros con un contenido de bromo de 1 mg % aproximadamente, la desviación tipo calculada según $\sigma = \sqrt{\frac{1-N}{2x}}$ para cinco determinaciones es de más o menos 0,004 mg % (ver tabla VIII).

todo no molesta.

TARMA I

Titulacion de 2,62 milirelitros de solucion 0,0100 N de bromuro de potasio con nitrato de plata 0,0096 N (Gratoo N° 1)

lectura bureta	milirelitros	microamperes	incrementos
15	0,00	0,00	0,00
16	0,00	0,00	0,00
17	0,00	0,00	0,00
18	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,00
21	0,00	0,00	0,00
22	0,00	0,00	0,00
23	0,00	0,00	0,00
24	0,00	0,00	0,00
25	0,00	0,00	0,00
26	0,00	0,00	0,00
27	0,00	0,00	0,00
28	0,00	0,00	0,00
29	0,00	0,00	0,00
30	0,00	0,00	0,00
31	0,00	0,00	0,00
32	0,00	0,00	0,00
33	0,00	0,00	0,00
34	0,00	0,00	0,00
35	0,00	0,00	0,00
36	0,00	0,00	0,00
37	0,00	0,00	0,00

TARMA II

Titulacion de 8,05 milirelitros de cloruro de sodio 0,01 N mas 8,05 milirelitros de bromuro de potasio 0,01 N con nitrato de plata 0,0099 N (Gratoo N° 2)

lectura bureta	milirelitros	microamperes
40	0,00	1,6
39	1,05	1,75
38	2,10	2,25
37	3,16	2,25
36	4,22	2,25
35	5,28	2,25
34	6,34	2,25
33	7,40	2,25
32	8,46	2,25
31	9,52	2,25
30	10,58	2,25
29	11,64	2,25
28	12,70	2,25
27	13,76	2,25
26	14,82	2,25
25	15,88	2,25
24	16,94	2,25
23	18,00	2,25
22	19,06	2,25
21	20,12	2,25
20	21,18	2,25
19	22,24	2,25
18	23,30	2,25
17	24,36	2,25
16	25,42	2,25
15	26,48	2,25
14	27,54	2,25
13	28,60	2,25
12	29,66	2,25
11	30,72	2,25
10	31,78	2,25
9	32,84	2,25
8	33,90	2,25
7	34,96	2,25
6	36,02	2,25
5	37,08	2,25
4	38,14	2,25
3	39,20	2,25
2	40,26	2,25
1	41,32	2,25

TABLA VII

Bromo agregado microgramos	Solución tipo suero ml	Bromo hallado microgramos
2,21	0,252	2,20

Suero humano
ml

0,252	0,252	2,33
0,252	0,252	2,26
0,252	0,252	2,20

Desviación
tipo: \pm 0,07
\$ 3

TABLA VIII

Solución tipo suero ml	Bromo agregado microgramos	Bromo hallado microgramos	Desv. de la media %
1 0,1277	2,21	2,23	+ 0,9
2 0,252	4,26	4,13	- 3
3 0,1277	2,21	2,26	+ 2,6
4 0,252	4,26	4,05	- 5

Suero humano ml	Bromo hallado microgramos	mg por 100 ml	Desv. de la media %
5 0,252	2,46	0,976	+ 0,4
6 0,252	2,42	0,960	- 1,2
7 0,252	2,49	0,988	+ 1,3
8 0,1277	1,25	0,978	+ 0,8
9 0,1277	1,26	0,987	+ 1,6

Desviación tipo: \pm 0,004 mg

Suero humano ml
Bromo agregado microgramos
Bromo del suero Total Hallado Desv. \$

10 0,1277	0,64	1,25	1,85	1,84 - 0,5
11 0,1277	0,64	1,25	1,85	2,00 + 7,5
12 0,1277	1,25	1,25	2,50	2,37 - 5,2
13 0,252	2,21	2,45	4,66	4,39 - 5,7
14 0,252	2,21	2,45	4,66	4,47 - 4
15 0,252	4,26	2,45	6,71	6,18 - 7
16 0,252	4,26	2,45	6,71	5,82 - 13

(1) Pincussen J Roman. Biochem. Z. 216, 336 (1929) (Segin Conway
 way R.J.)(14)

(2) Zonder J Bier, Biochem Z, 241, 491 (1930) (Segin Conway
 E.J.)(14)

(3) Fleischhaker J Scheidter, Klin. Wochenschr. 11, 1550
 (1932) (Segin Conway E.J.)(14)

(4) Uckp, Compt, rend. soc. Biol. 116, 48 (1934) (Segin Conway
 E.J.)(14)

(5) Ucko, Biochem, J., 30, 992 (1917) (Segin Conway E.J.)(14)

(6) Bernhart J Ucko, Biochem, Z, 155, 174 (1925) (Segin Conway
 E.J.)(14)

(7) Bernhart J Ucko, Biochem, Z. 170, 459 (1926) (Segin Conway
 E.J.)(14)

(8) Quastel J Yates, Biochem.J. 28, 1530 (1934) (Segin Conway
 E.J.)(14)

(9) Dixon, Biochem.J. 29, 86 (1935) (Segin Conway E.J.)(14)

(10) Leiper T. J Matzlanek O. Zeitschr. f. physiol. chemie
 (Hoppe Seyler) 226, 108 (1934) (Segin Conway E.J.)(14)

(11) Morner, Z. f. physiol. chemie 88, 158 (1913) (Segin Conway
 E.J.)(14)

(12) Friedlander, M.H. chemie 28, 991 (1907) (Segin Conway E.J.)
 (14)

(13) Friedlander, Ber. Chem. Ges. 55, 1655 (1922) (Segin Conway
 E.J.)(14)

(14) Conway E.J. Microdiffusion analysis and volumetric error
 Crosby Lockwood, London 1947.

(15) Yates R.D. Biochem.J. 27: part II, 1763 (1933)

(16) Greenberg L. J. Lab. clin. med. 28, 779-86 (1943) C.A. 38:

5859g

(17) Cameron A, T. Gutherie J.S. Can J. Research 23 B, 41-9 (1945)

BIBLIOGRAPHIA

- (18) DAVIS BOYD L. Palmer J.W. Olerke H.T. J. Biol. Chem. 88,131-5 (1930)
- (19) Edwards F.W. Hanft H.R. y Ferriss E.B. Analyst, 61, 743-9(1936)
- (20) Dixon T.P. Biochem.J. 28,48-51 (1934)
- (21) Fineman L. Rosen W. Biochem. Z. 208,416-25 (1929)
- (22) Kolthoff I.M. Yutzy H. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 9,75-6(1937)
- (23) Brodie B.B, Fiedeman M.M. J. Biol.Chem 124,511-18 (1938)
- (24) Winkler P.S. y Smith A.H. J. Biol. Chem. 119,93-101 (1937)
- (25) Shoshin A.F. J. Physiol. USSR 28,697-9 (1940) C.A.36:48405
- (26) Hardwick P.J. Analyst, 67,223-5 (1942)
- (27) Nagai R.J. Soc. Chem. Ind. Japan 46,858-9 (1943) C.A.42:6996f
- (28) Barber A. y Watson E.M. Can J. Clin. Med. Tech, 8,41-4(1946)
- (29) Bellucci I. Gazz.chim.ital. 72,501-7,507-9 (1942)
- (30) Margulies E. Diagnostic tool lab. (Napoli) 9, 393-401 (1938) C.A. 33: 2558g
- (31) Leiper Th. Mikroskop. Acta 3,146-80 (1938) C.A.35:53295
- Resumen de 150 publicaciones acerca de determinaciones de quinonas y hidroquinonas de puros en las distancias treinta años.
- (32) Murphy T.J. Stanley Clabough W. y Olenkiet R.J. Research Natl. Bur Standards 53,13-18 (1954)
- (33) Hunter G. y Goldstein A.A. Analyst 79, 467-75 (1954)
- (34) Hunter G. Biochem J. 60,261-69 (1955)
- (35) Meyer C.A. y Schlichter W. Klin.Wochenschr, 15,1832-3 (1936) C.A. 31, 35545
- (36) Doering H. Biochem. Z. 291.81-8 (1937)
- (37) Doering H.Z. anal. Chem, 108,255-68 (1937)
- (38) Bertram S. Brinton D. y Waller H.G.L., Biochem J, 35,967-73 (1941)

- (39) Van Peltzer Y.A.C. Pharm. Weekblad 88,489-98 (1953) C.A. 12119 (1953)
- (40) Hofman R. Pharm. Zentralblatt 71,18-21 (1950) C.A. 26829 (1950)
- (41) D'Ans J. P. Heter Z. Angew. Chem. 47,73-4 (1934)
- (42) Neuman J.H. van der, Chem. Weekblad 28,82,238 (1931) f 31, 558 (1934)
- (43) Gray M.O. J. Moore M.J. Lab. Clin. Med. 27,680 (1942)
- (44) Choeck D.H. J. Appl. Physiol. 5,639-45 (1953) C.A. 64811 (1953)
- (45) Baccorini A. Bussico L. Capponi B. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 24,741 (1948) C.A. 45,6684 n
- (46) Toloni Balto Set-1-Int. Med. J. 55 No 10,2093-105 (English Abstract 2-3 (1936) C.A. 31: 1448
- (47) Guillemin O.O. Bull. Biol. Pharm. 85,92 (1937) C.A. 31:5827
- (48) Clark W.J. Chem. Soc. London p.746 (1929)
- (49) Vancosi B. J. Biologie Analise Soc. Cient. Argentina 129,49 (1940)
- (50) Kirk P.L. Quantitative Ultraviolet Analysis, J. Wiley & Sons Inc. Nueva York 1950
- (51) Benedicti-Piebler A.V. Introduction to the Microtechnique of Inorganic Analysis. Wiley Nueva York (1942)
- (52) Shaw J.J. Exper. Biol. 32,321-329 (1955)
- (53) Kahane R. J. Kahane M. Bull. Soc. Chim. France, 396,400 (1954)
- (54) Kahane R. J. Kahane M. Comp. Rend. 237, 1244-46 (1953)
- (55) Tomček O. J. Janak V. Collection Czechoslov. Chem. Comm. 1,582-4 (1929)
- (56) Kleberle F. J. Krbacher B. Biochem. Z. 201,305 (1928)
- (57) Kleberle F. J. Krbacher B. Biochem. Z. 201,305 (1928)
- Potenciometria. titrations Wiley Nueva York (1952)

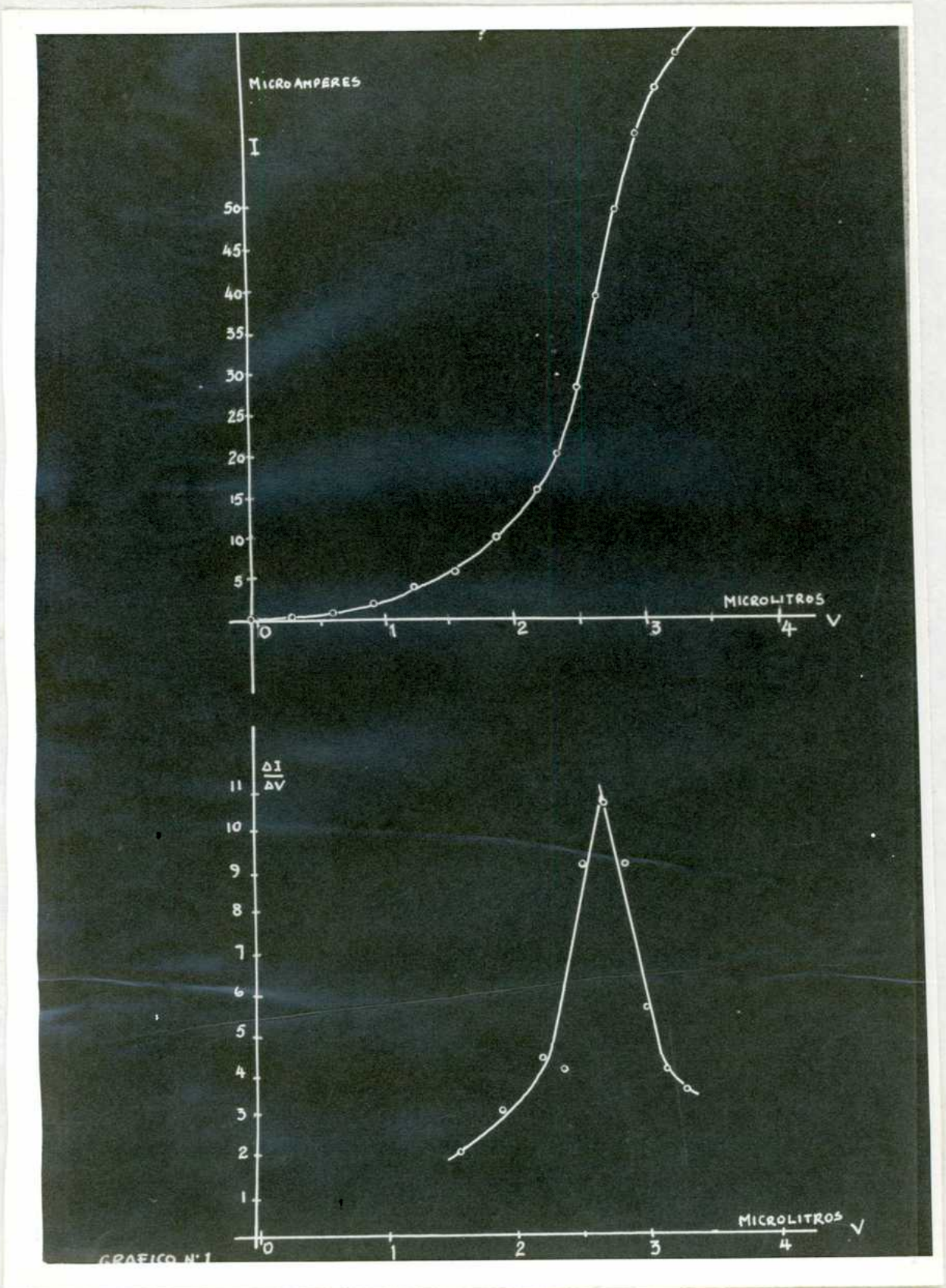
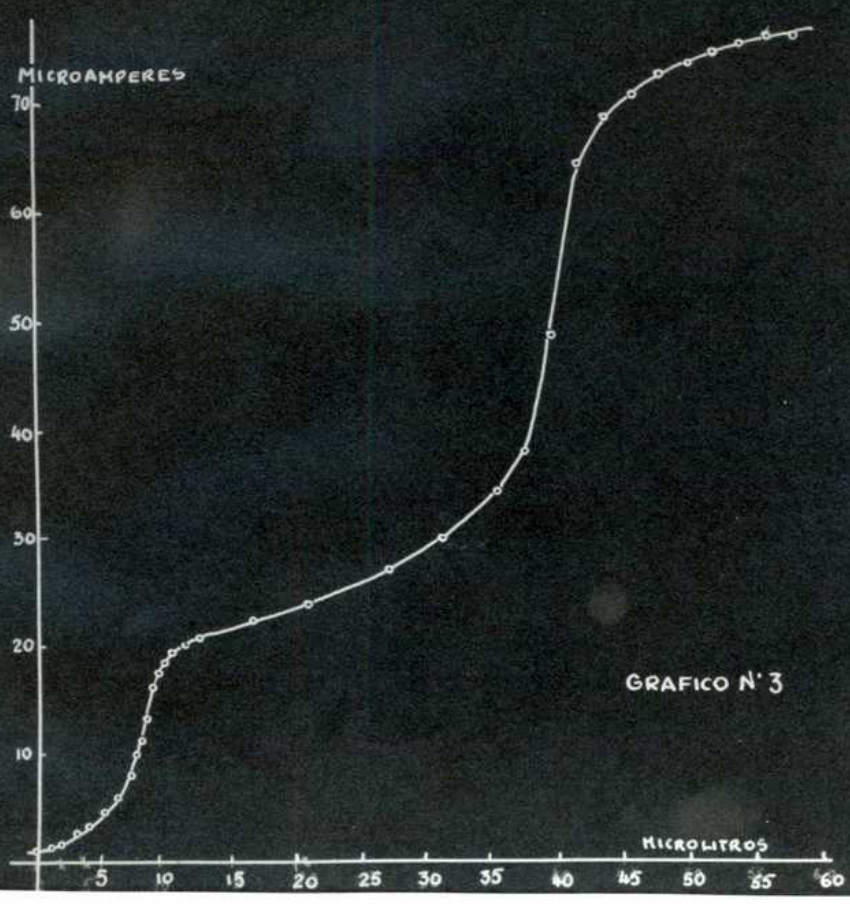
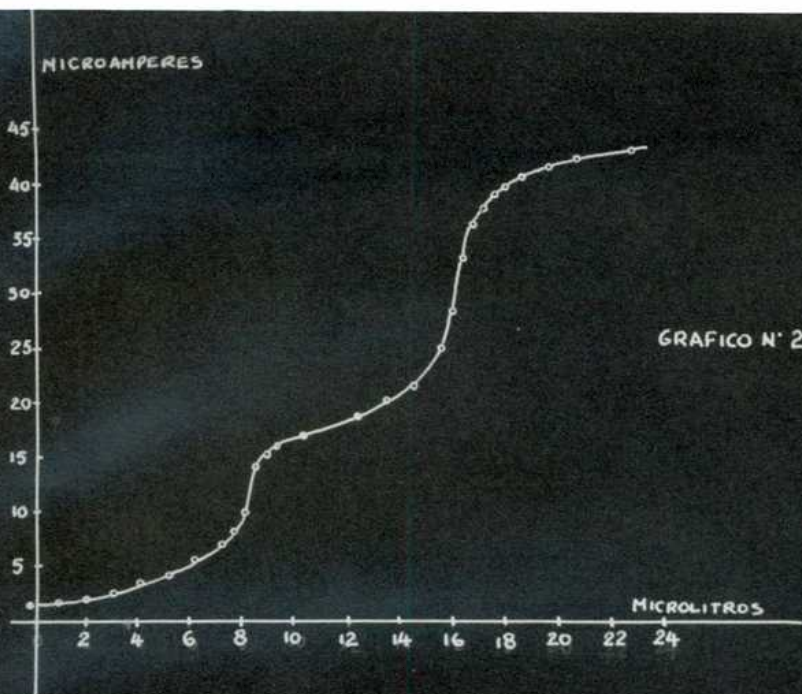


GRAFICO N°1

GRAFICO N°1



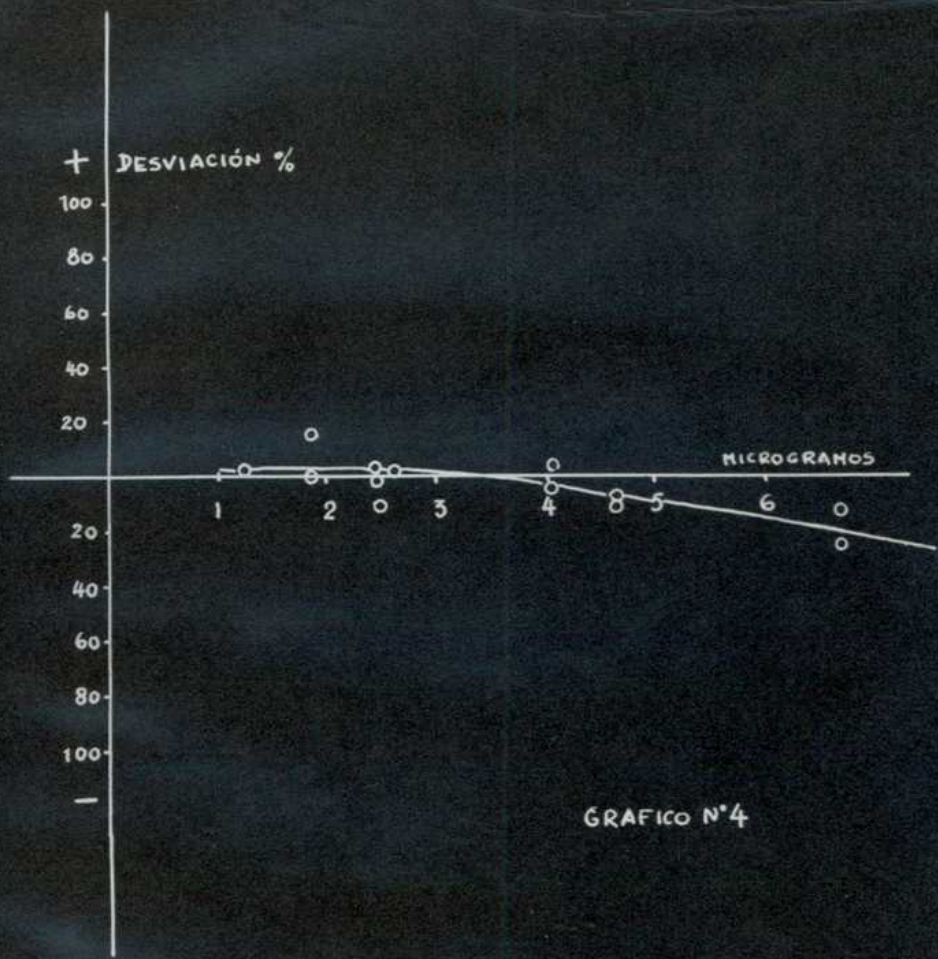


GRAFICO N°4

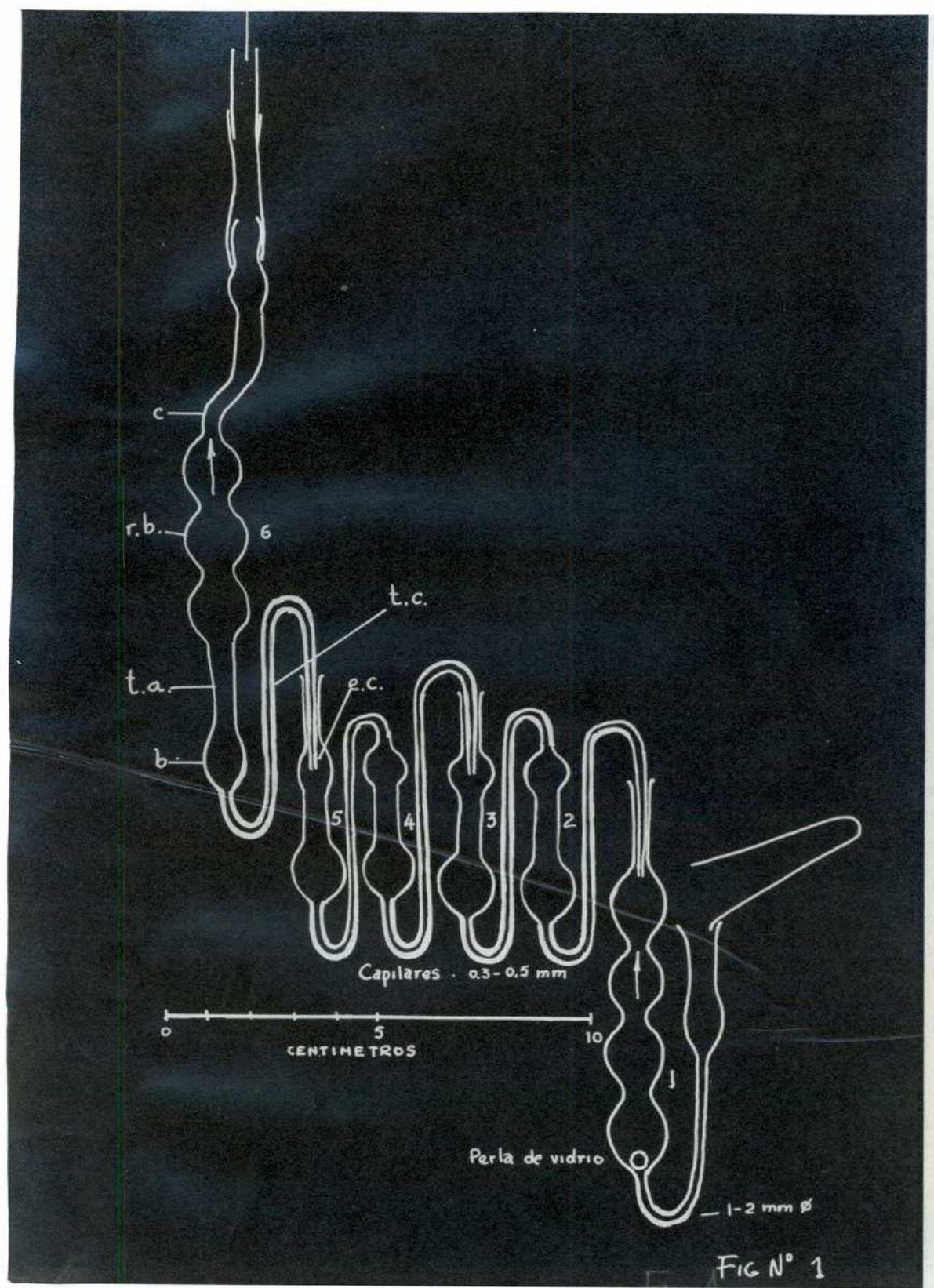
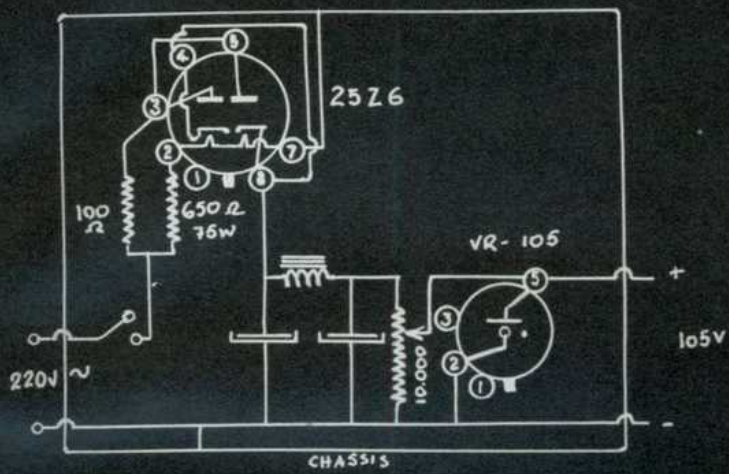
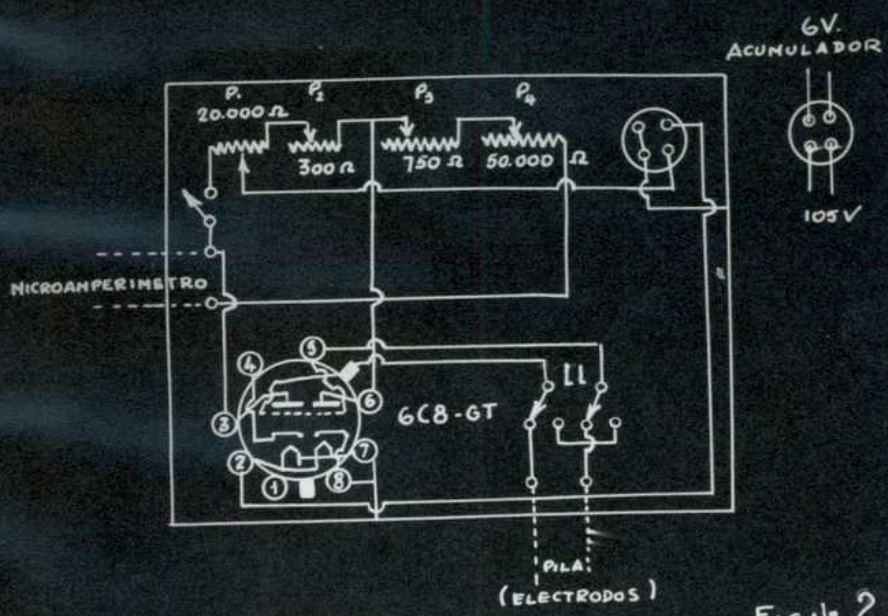


FIG N° 1



REGULADOR DE VOLTAJE



VOLTIMETRO A VÁLVULA

FIG. 2

MICROELECTRODO DE CALOMEL

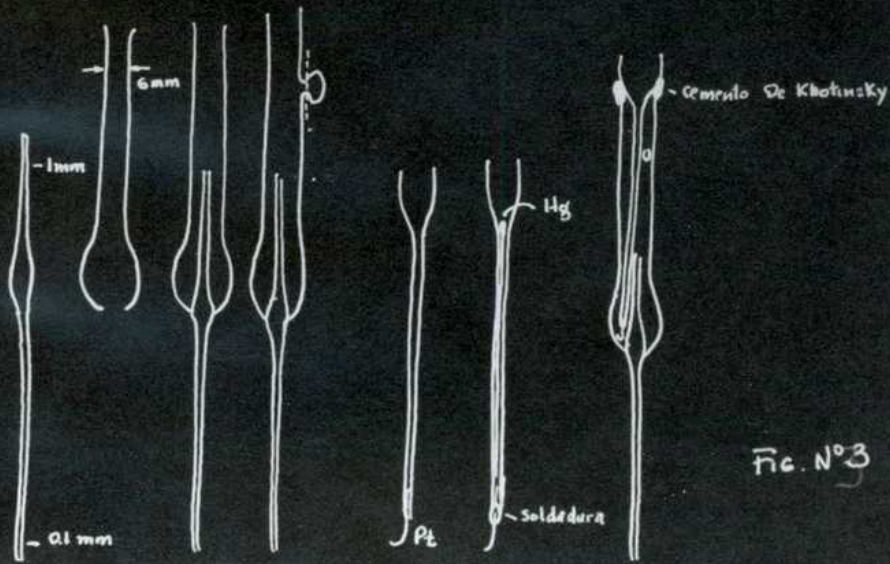
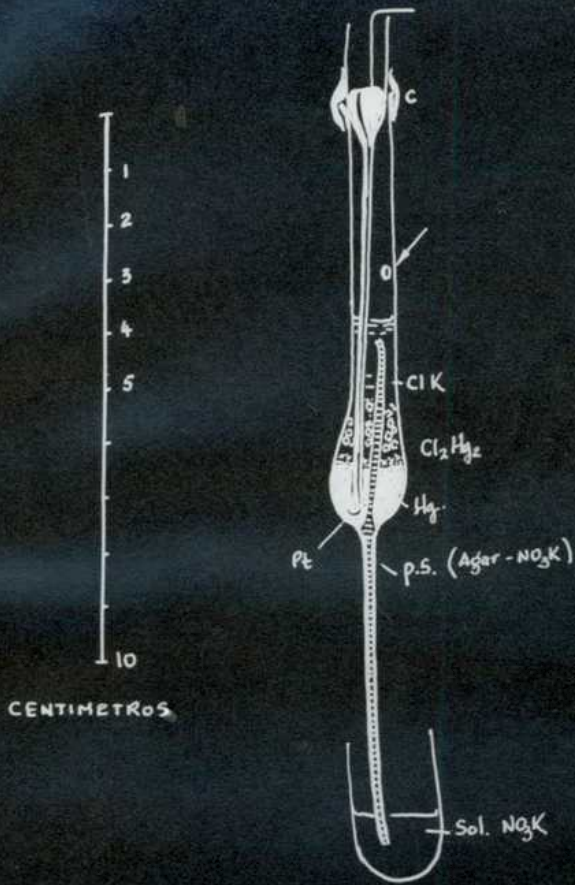
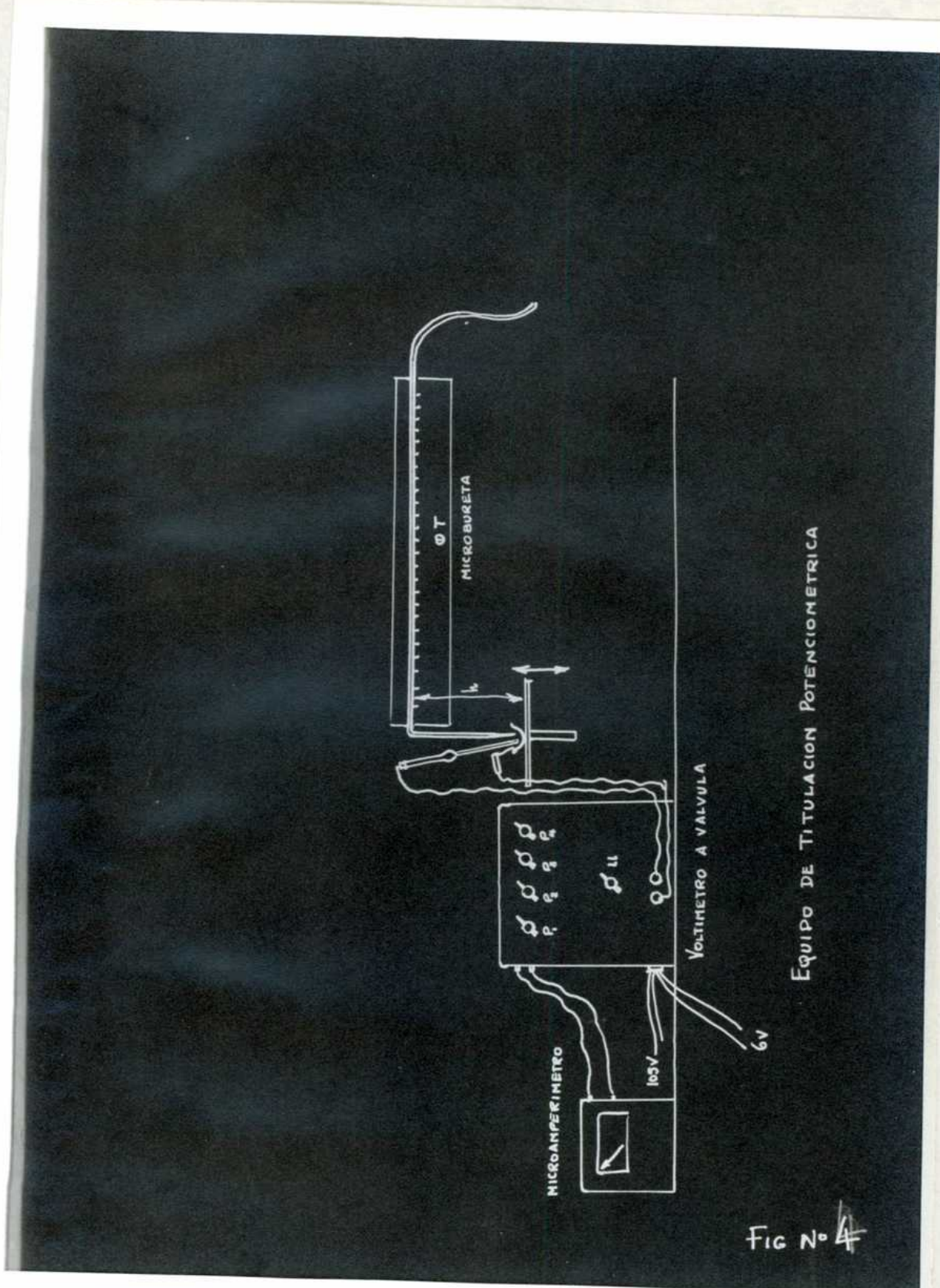


Fig. N°3



EQUIPO DE TITULACION POTENCIOMETRICA

FIG N° 4

CAPSULA DE TITULACION

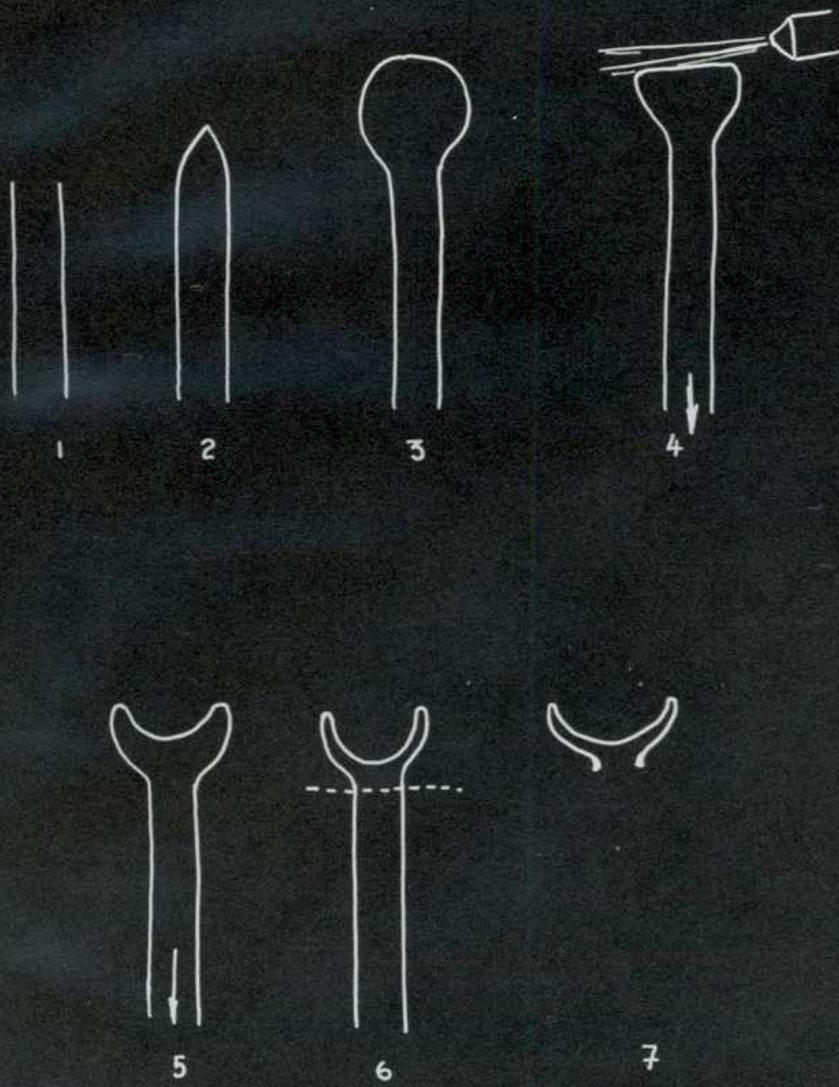


FIG N° 55

