

Tesis de Posgrado

Oxalemia

Etchegaray, Emilio A.

1943

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:

Etchegaray, Emilio A. (1943). Oxalemia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0333_Etchegaray.pdf

Cita tipo Chicago:

Etchegaray, Emilio A. "Oxalemia". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1943.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0333_Etchegaray.pdf

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

FOFNA.

O X A L E M I A

Tesis para optar al grado de Doctor en Química

por

EMILIO A. ETCHEGARAY

Tesis: 333

Buenos Aires

1945

PADRINO DE TESIS

Doctor Ventura Morera

Debo expresar mi agradecimiento al

Profesor y amigo Dr. VENTURA MORERA por su eficaz
colaboración

A M I E S P O S A

Alentadora y querida compañera

A M I S P A D R E S

A los que con todo cariño, les dedico
mi carrera

A HIS HERMANOS

FOEN-DA.

A L Dr. J O S E A B E L V E R Z U R A

En prueba de amistad y gratitud

Capítulo I

ÁCIDO OXÁLICO

A mediados del siglo XVII, Angelo Sala, obtuvo el oxalato potásico ácido ó sal de acedera del Rumex acetosa. Recién en 1776, Scheele, obtuvo por primera vez el ácido oxálico libre, por oxidación del azúcar, comprobando después, que este cuerpo, al que se le llamó ácido sacarino, era idéntico al ácido de la sal de acedera.

Conocido el ácido oxálico, fué fácil comprobar que se encontraba muy esparcido en la naturaleza, principalmente en el reino vegetal. Al estado libre, disuelto en el jugo celular, ó al estado de oxalato de potasio ó de calcio, en forma de cristales. Este ácido oxálico y sus sales son productos elaborados por el trabajo fisiológico de las células de muchos vegetales. Los cristales de oxalato de potasio son solubles en agua, en cambio los de calcio, son insolubles en agua y en ácido acético, y muy solubles en ácido clorhídrico.

En el organismo humano, el ácido oxálico se encuentra disuelto en la sangre y es eliminado por la orina disuelto en ella, ó en forma de oxalato de calcio cristalizado; se cree también que es eliminado por la bilis. La presencia del ácido oxálico en la sangre, se debe, a que es ingerido con los alimentos de origen vegetal, que lo contienen en diversas proporciones. Algunos creen que existe ácido oxálico endógeno.

Ácido oxálico exógeno:

La ingestión de alimentos vegetales que contienen este ácido, algunos en cantidad considerable, provoca un aumento de la cantidad existente de ácido oxálico normalmente en la sangre, que según Loeper (1), no es superior a 0,001 g % de substancia seca.

Las cantidades de ácido oxálico en sangre de personas normales según diversos autores, son las siguientes:

Autor	Cantidad (mg)	Unidad
M. Ch. O. Guillaumin (1927) (2)	0 - 2	mg °/oo
G. Laroche y A. Grigaut (1928) (3)	40	" "
K. W. Merz y S. Maugeri (1931) (4)	40	" "
Valenzuela Saenz (1931) (5)	20	" "
S. Izumi (1933) (6)	20 - 50	" "
A. Athanasiou y H. Reinwein (1934) (7)	30 - 40	" "
A. Fortunato (1934) (8)	12	" "
D. Dotti (1934) (9)	30 - 50	" "
H. H. Barber y E. J. Gallimore (1939) (10)	4 - 6	" "

Un aumento del ácido oxálico en sangre produce una mayor eliminación por la orina (oxaluria) sobrepasando la cantidad normal, la que según Fürbringer (11) es de 0,015 g a 0,020 g al estado de ácido libre ó de oxalatos.

Según Minkowski (12) y E. F. Kohman (13) las cantidades de ácido oxálico que contienen algunos alimentos son las siguientes:

	MINSKOWSKI	KOHMAN
Acedera	3.6	...
Acelgas (no descortezadas)	...	1.38
" (hojas)	...	9.16
" (tallos)	...	3.38
Achicoria	0.7	0.27
Ananás	...	0.06
Apio (tallo lavado)	0.02	...
" (sopas de hojas)	...	0.50
" (sopas de tallos)	...	0.72
Banana	...	0.06
Berros	...	0.10
Brócolis	0.02	0.05
Cacao	4.5	...
Café	0.1	...
Cardo suizo	...	6.45
Cebolla verde	...	0.25
Chauchas verdes	0.2	...
Chocolate	0.9	...
Ciruelas	0.12	...
Corteza de pan	0.13	...
Escarola	0.1	0.11
Espáragos	...	0.05
Espinacas	3.2	8.92
Frutillas	0.06	...
Grosellas	0.13	0.19

	MINKOWSKI	KOEHMAN
Harinas	0.17	...
Higos secos	1..	...
Lechuga	...	0.07
Maranjas, porción comestible	...	0.24
Pan	0.04	...
Fapas	0.04	0.05
Pimienta	3.2	...
Porotos	0.3
Ruibarbo	2.40	5 ..
Remolacha	0.4	...
Té negro	3.7	...
Tomates	0.05	0.07
Uvas	...	0.25
Verdolaga (hoja)	...	9.10
" (tallo)	...	5.18
Zanahoria	0.03	0.33

Además del ácido oxálico que ingiere el organismo como oxalatos contenidos en los alimentos que dejamos consignados, existen sustancias formadoras de ácido oxálico, como la gelatina Lömmel (14), Stradomsky (15), Mohr y Salomón (16). También han demostrado Klemperer y Tritschler (17) que la glicocola, la creatina y la creatinina pueden ser transformadas en ácido oxálico.

Es muy dudoso que los hidratos de carbono y las grasas, puedan originar ácido oxálico en el organismo, como ocurre en vitro, pues las investigaciones de Wesley Mills (18), Lüthje (19), Salkowski (20) y otros, prueban que los hidratos de carbono y las grasas, limitarían la formación del ácido oxálico en el metabolismo, ó por lo menos no la aumentarían. En cambio Piccinini y Lombardo (21), han observado oxaluria, motivada por la ingestión de hidrato de carbono contenido en cereales, patatas y leguminosas, debido a que ciertas bacterias intestinales, como por ejemplo, la llamada bacterium oxalatigenum y una raza del bacilo coli, atacando estas sustancias, producen cantidades considerables de ácido oxálico. Se ha observado también oxalaturia en enfermos con cavernas tuberculosas, en las cuales viven hifomicetos productores de ácido oxálico, que se encuentran en los esputos.

Para que pueda ser absorbido por el organismo el ácido oxáli-

o contenido en los alimentos, es indispensable la concurrencia de dos condiciones:

1) la cantidad de sales cálcicas que contengan los alimentos y 2) el contenido en ácido clorhídrico del jugo gástrico. Cuanto menos sales cálcicas tengan los alimentos, mayor será la absorción de ácido oxálico, porque la mayor parte de estas sales, en el trayecto gastro-intestinal, se transforman en oxalatos de calcio insolubles, absorbiéndose solo una pequeña parte. El resto es oxidado por la acción de las bacterias en el intestino y es transformado en ácido carbónico y agua.

La presencia de ácido clorhídrico en el jugo gástrico es indispensable para que este ácido, disolviendo los oxalatos de calcio, permita su absorción. La insolubilidad de los oxalatos, impide el paso del ácido oxálico al medio orgánico interno, como lo prueba el hecho de que neutralizando el jugo gástrico con carbonato de calcio, se impide totalmente la absorción de ácido oxálico exógeno.

La absorción del ácido oxálico en solución, solo es posible por el estómago y la porción ácida del duodeno, pues en el medio alcalino del intestino se hace insoluble al transformarse en oxalato de calcio. El ácido oxálico absorbido no es desdoblado en productos más simples por acción del metabolismo y solo es transformado en oxalato de calcio, el cual, según algunos autores, es eliminado por la orina y por la bilis; Klemperer y Tritschler (17) han demostrado que ingiriendo oxalato de calcio por vía subcutánea, no sufre cambios en el metabolismo intermedio y es eliminado como tal, cuantitativamente.

Ácido oxálico endógeno:

Hemos visto las fuentes exógenas del ácido oxálico y las condiciones fisiológicas que son indispensables para que el organismo pueda absorber esta substancia.

La opinión de Minkowski (12) de que todo el ácido oxálico que

se encuentra en el organismo, ó que es eliminado, proviene de los alimentos vegetales, es negado por Fürbringer (11), Lüthje (19), Lommel (14), Mohr y Salomón (16), y Klemperer y Tritschler (17), ya que todos en sus experiencias, llegan a la conclusión de que en el metabolismo intermedia del hombre, se produce ácido oxálico endógeno.

Fürbringer (11), ha observado que personas sometidas a una alimentación carente de ácido oxálico, continúan eliminando este cuerpo en cantidades que llegan a 0,020 g por día. Otros autores han comprobado, que en idénticas condiciones se eliminan 0,017 y 0,015 g .

Se atribuye el origen de este ácido oxálico endógeno a las sustancias colágenas (glicocola), existentes en el organismo; a la metilglicocola y a la creatinina de los músculos. Según Klemperer y Tritschler (17), éste podría provenir también del ácido glicoláico de la bilis. Lüthje (19) y Mohr y Salomón (16) no aceptan que el ácido oxálico pueda provenir del anillo purínico.

Klemperer y Tritschler (17), Lommel (14), Mohr y Salomón (16), Lichtwitz y Thörner (22) creen que la producción de ácido oxálico endógeno proviene de la desintegración del tejido conjuntivo. En cambio los dos primeros citados, afirman que proviene de la glicocola del tejido conjuntivo. Lichtwitz y Thörner (22) declaran que no han conseguido hacer eliminar ácido oxálico con una alimentación rica en glicocola y en cambio lo consiguieron suministrando sustancias colágenas. Kühne (23), Klemperer y Tritschler (17) no han podido comprobar que la creatina y la creatinina, originen ácido oxálico. Tampoco han podido comprobar en sus recientes investigaciones — que la creatina y los órganos ricos en la misma (carne de aves) aumenten la eliminación.

Se ha observado en las ictericias, un aumento de la eliminación de ácido oxálico (Mohr y Salomón (16), Lichtwitz y Thörner (22)). Pero según Tannhauser, no se puede admitir que ese aumento sea debido a la desintegración intermediaria de los componentes de la bilis y sostiene que es debi-

do a que eliminándose por la bilis una cierta cantidad de ácido oxálico, al abstruirse las vías biliares, pasa a la sangre y es eliminado por la orina.

No se acepta tampoco que en los trastornos endógenos del metabolismo producidos por la gota y la diabetes haya formación de ácido oxálico

De todas estas teorías, hoy solo se acepta, aunque no en forma categórica, que el ácido oxálico endógeno proceda del colágeno y del tejido conjuntivo.

Del estudio de estas citas, se llega a la conclusión de que — aún no se ha podido establecer en forma definitiva la existencia y origen del ácido oxálico endógeno. Las afirmaciones de unos son negadas por los otros. En lo único que todos los investigadores están de acuerdo, es en que ^mel metabolismo intermedio, no interviene el ácido oxálico ni es originado por él.

Llama la atención, de que ninguno de los investigadores mencionen al intestino como causa del origen del ácido oxálico en los organismos privados de alimentos que lo contengan, puesto que Piccinini y Lombardo (21) han probado que ciertas bacterias actuando sobre los hidratos de carbono ingeridos, producen ácido oxálico. Si el origen del ácido oxálico que llaman endógeno, fuera debido a este proceso, ^sprebaría que en el organismo interno no se forma este cuerpo y por consiguiente, todo el ácido oxálico del organismo sería de origen exógeno.

El ácido oxálico en el organismo, no produce ningún trastorno ni se deposita en los tejidos, por lo que no son aceptables las opiniones de algunos autores que afirman que es el causante de ciertas neuralgias. En las vías urinarias el ácido oxálico puede dar lugar a la diatesis oxalúrica por su precipitación. El ácido oxálico se elimina por la orina al estado de oxalato soluble ó de oxalato de calcio cristalizado, por la bilis y por el intestino, en el cual, mucha cantidad se descompone por la acción de las bacterias.

B I B L I O G R A F Í A

- (1) LOEPER - Progrés med. S. 485 (1912)
- (2) GUILLAUMIN M. Ch. O. - Bull. soc. chim. biol. 2, 247-61 (1927)
- (3) LAROCHE y GRIGAUT - Comt. rend. soc. biol. 98, 1104-5 (1928)
- (4) MERZ y MAUGERI - Z. Physiol. chem. 201, 31-7 (1931)
- (5) VALENZUELA SAENZ - Anales de Química y Farmacia de Chile 1-85-9 (1931)
- (6) IZUMI SHOICHI - Japan J. Med. Sci. II Biochem. 2, 196-204 (1933)
- (7) ATHANASIOU y REINWEIN - Deut. Arch. Klin. Med. 176, 475-9 (1934)
- (8) FORTUNATO A. - Minerva med. II, 41-6 (1935)
- (9) DOTTI D. - Ber. ges. physiol. exptl. pharmakol 84, 132 (1934)
- (10) BARBER y GALLIMORE - Biochem. J. 34, 144 (1939)
- (11) FÜRBRINGER - Deutsches Arch. f. klin. Med. p. 143 (1976)
- (12) MINKOWSKI - Handb. d. Ernährungstherapie de Leyden
- (13) KOHMAN E. F. - J. Nutrition 18, 233-46 (1939)
- (14) LÖNNEL - Deutsches Arch. f. klin. Med. p. 599 (1899)
- (15) STRADOWSKY - Virchows Archiv. p. 304 (1901)
- (16) MOHR y SALOMÓN - Deutsches Archiv. t. 70, p. 486 (1901)
- (17) KLEMPERER y TRITSCHLER - Zeitschr. f. klin. Med. t. 44, p. 337
- (18) WESLEY MILLS - Virchows Archiv. f. t. 99, p. 305
- (19) LÜTHJE - Zeitschr. f. klin. Med. p. 271 (1898)
- (20) SALKOWSKI - Berl. klin. Wochenschr. N° 20 (1900)
- (21) PICCININI y LOMBARDO - Klin. Woch. N° 7 (1926)
- (22) LICHTWITZ y THÖRNER - Berl. klin. Wochschr. 869 (1913)
- (23) KÜHNE - Lehrbuch der physiologischen Chemie, pág. 511 Beipzig (1868)

Capítulo II

Realizaremos a continuación una descripción y estudio crítico de los más importantes métodos existentes, propuestos por diversos autores, clasificándolos de acuerdo a las diferentes formas de valoración, y ordenados cronológicamente.

Permanganimétricos

Guillaumin (1927) (1)

Leulier, Velluz y Griffon (1928) (2)

Merz y Mangeri (1931) (3)

Isumi (1933) (4)

Thomsen (1935) (5)

Kamiya, Hoya y Sato (1937) (6)

Flaschenträger y Müller (1938) (7)

Leulier y Derche (1939) (8)

Gasométricos

Khoury (1927) (9)

Van Slyke y Sendroy (1929) (10)

ESTUDIO CRÍTICO DE LOS MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO OXÁLICO

Métodos Permanganimétricos

Método de Guillaumin (1927) (1)

Este autor en una publicación titulada "Hechos experimentales relacionados con la caracterización y determinación de oxalemia y oxalraquia".

Propone un método que consiste en la determinación diferencial pues agrega una cantidad conocida de ácido oxálico a la muestra a analizar.

Técnica:

Previamente efectúa una desalbuminación del suero sanguíneo,

con ácido tricloroacético al 20%; después de agregar una gota de alcohol etílico, deja reposar durante tres minutos y filtra hasta obtener un líquido perfectamente límpido. Coloca, en un tubo de forma cilindro-cónica, 20 ml del filtrado desalbuminado y en otro tubo, 10 ml de la solución de ácido tricloroacético al 20%, y 10 ml de una solución salina compleja, que representa aproximadamente la concentración en iones básicos de suero sanguíneo.

Posteriormente, a cada tubo le agrega 2 ml de una solución de ácido oxálico de 0,05 a 0,1 por ciento.

Precipita el ácido oxálico con Cl_2Ca utilizando como indicador algunas gotas de rojo de metilo; agrega NH_3 hasta coloración rojo (pH 5 aproximadamente) y deja reposar doce horas con preferencia en una heladera.

Centrifuga los tubos durante 3 a 5 minutos a velocidad moderada y lava con agua destilada.

A cada tubo le agrega 3 ml de ácido sulfúrico aproximadamente normal y los lleva a un baño maría durante 1 ó 2 minutos, titulando posteriormente con permanganato de potasio N/100.

Agota el precipitado con 3 ml de ácido tricloroacético al 10% y luego centrifuga.

En este caso el testigo es de 10 ml de solución salina, 13 ml de ácido tricloroacético y 3 ml de agua destilada.

Estudio crítico del método:

a) Guillaumin tiene la precaución de no prolongar por mucho tiempo el contacto del ácido tricloroacético sobre el suero sanguíneo para la desalbuminación, pues está bien demostrado por Axel Thomsen (5) la acción destructora que tiene dicho ácido sobre el ácido oxálico, Se se deja actuar diferentes períodos de tiempo el ácido tricloroacético sobre un suero con una cantidad conocida de ácido oxálico, se obtienen los si-

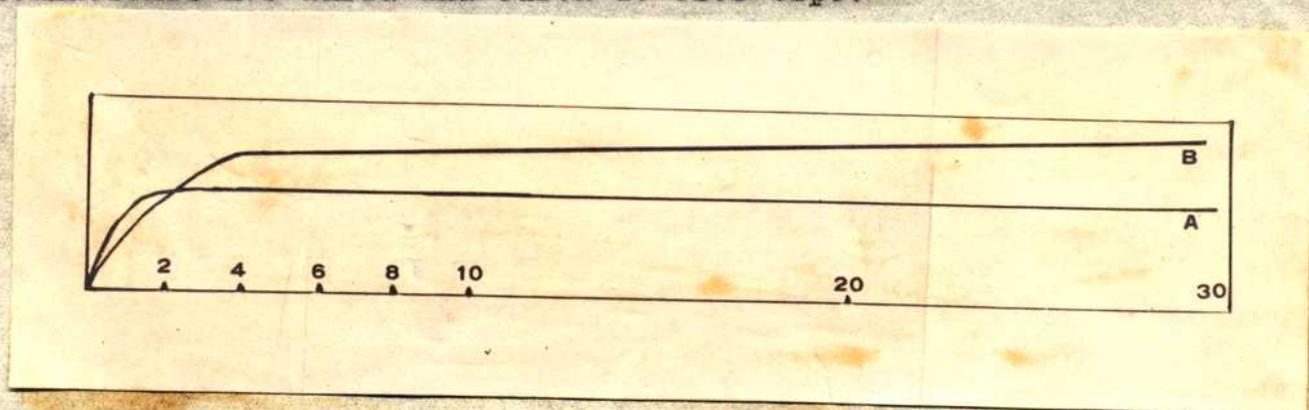
güentes resultados:

Filtración y precipitación cálcica después de:

0 horas	4,9 mg %
3 "	3,8 " "
24 "	2,8 " "

Cuanto más tiempo actúa el ácido tricloroacético sobre el suero tanto menos ácido oxálico hay en la determinación.

c) En cambio no efectúa una extracción del ácido oxálico del filtrado desalbuminizado, sino que lo determina disolviendo el único precipitado; pero también está bien demostrado por Axel Thomsen (5) que si el precipitado obtenido como lo hizo Guillaumin, se titula con permanganato, reacciona de otra manera que el ácido oxálico puro, el cual se oxida muy rápidamente en las condiciones mencionadas, terminando ya la oxidación a los dos minutos (A). Mientras que la titulación del precipitado sigue reduciendo por espacio de 30 minutos (B). Representando las dos titulaciones nos daría una curva de este tipo:



Esta diferencia de las curvas es debido probablemente a la presencia de otras sustancias también reductoras, quienes hacen variar la última parte ascendente de la curva (B).

c) Guillaumin precipita el ácido oxálico con Cl_2Ca , el cual al estar en presencia de otros ácidos, libera ácido clorhídrico libre impidiendo la precipitación del oxalato de calcio; también el ácido oxálico en presencia de cloruros alcalinos reacciona dando bioxalatos alcalinos

linos, siempre que el ácido mineral se encuentre en libertad.

El cuadro siguiente demuestra la solubilidad del oxalato de calcio en presencia de cantidades crecientes de Cl_2Ca

Ácido oxálico en mg	Gotas de Ca Cl_2 al 10%			
	1	2	10	40
0,69	-	96	91	84
0,3015	92	95	68	31
0,1103	84	86	66	0

Estos valores están dados en por cientos y son el promedio de determinaciones efectuadas por duplicado.

d) Guillaumin precipita el oxalato de calcio a un $\text{pH} \sim 5$, cuando para una buena precipitación es necesario un pH 6 a 6,4.

e) Otra falla del método descripto, es el consejo de una centrifugación a velocidad moderada, pues un pequeño precipitado como el que se obtiene debe ser centrifugado a 4.000 revoluciones durante 3 a 5 minutos como mínimo. Los inconvenientes ó fallas detalladas que presenta el método de Guillaumin hacen que no pueda considerarse un método adecuado para los fines propuestos.

Método de Leulier, Velluz y Griffon (1928) (2) "sobre el microdesaje del ácido oxálico bajo forma de oxalato de calcio en las soluciones puras y complejas"

Técnica:

Para eliminar todo lo posible las substancias orgánicas y sales minerales en los medios biológicos los autores aconsejan:

- 1) Transformar el ácido oxálico en oxalato de calcio con solución de agua de cal y hacer un primer agotamiento del medio complejo por solvente orgánico neutro, que extraiga el máximo de materia orgánica

- susceptible de ser disuelta. Los autores utilizan como disolventes la acetona, éter, alcohol, mezcla de éter y alcohol.
- 2) Agitar con una porción del mismo disolvente, acidificado con ácido clorhídrico a fin de tratar de disolver el oxalato de calcio y su extracción por el disolvente.
 - 3) La solución de disolvente acidificado se lleva a sequedad y el residuo se trata con agua destilada.
 - 4) La solución acuosa conteniendo el ácido oxálico, se coloca en un tubo de centrífuga y se le agrega 2 ml de agua de cal saturada, dejando 6 a 12 horas en la heladera.
 - 5) Se agrega 0,5 ml de solución de fosfato de amonio y se agita, con precaución, dejando luego 5 minutos en reposo.
 - 6) Se centrifuga durante 2 a 3 minutos.
 - 7) Se lava (2 veces) con 1 ml de agua helada, por centrifugación y decantación.
 - 8) Se titula con permanganato de potasio por retorno.

Estudio crítico del método.

Si bien los autores agregan una solución de fosfato de amonio para formar un precipitado que englobe al oxalato de calcio y lo arrastre hacia el fondo del tubo de centrífuga, no realizan una buena extracción del ácido oxálico, del filtrado libre de proteínas, indispensable para obtener un buen resultado, fundándonos para afirmar, esto, en que los autores no especifican el tiempo y forma de realización, ni tampoco hablan de la calidad de los disolventes, punto esencial, como le demostraremos más adelante; por lo tanto es de suponer que no lo han tenido en cuenta.

Por estas circunstancias los resultados obtenidos con este método por los autores, no se pueden tener en cuenta, pues para la titulación final utilizan un permanganato, que según dicen ellos mismos, disminuye de título por el calentamiento a baño maría; por lo tanto no ha

sido preparado con las técnicas modernas. Y para terminar, transcribimos unas de las conclusiones a que han llegado los citados autores:

" En los medios biológicos, el micro-dosaje de ácido oxálico bajo
" forma de oxalato de calcio por permanganimetría resulta actual-
" mente si no imposible, may difícil. La razón no es solamente en
" las pequeñas proporciones del ácido que se puede encontrar nor-
" malmente, si no también en las dificultades experimentales con
" que se tropieza para su aislación".

Método de Merz y Maugeri (1931) (3)

"Existencia y determinación del ácido oxálico en sangre".

Técnica:

Este método consiste en tratar 5 ml de suero con 5 ml de ácido tricloroacético. Tomar 5 ml del filtrado libre de proteínas, colocarlos en un tubo de centrifuga y agregarle 2 ml de agua de sal saturada. Después de haber agregado rojo de metilo, como indicador, se agrega NaOH al 30% en gotas, hasta que el color rojo desaparezca. Se deja 12 horas en la heladera, se agregan 0,5 ml de una solución de SO_4Mg al 1% y 2 gotas de NaOH al 20%. Luego se centrifuga y se lava dos veces con 1 ml de agua destilada. Al precipitado se agregan ahora 0,5 ml de ácido sulfúrico al 20% 2 gotas de SO_4Mn al 1% y exactamente 2 ml de una solución N/100 de permanganato de potasio. Después de 3 minutos, se agregan 3 gotas de una solución de IK al 10% y Yodo libre; se titula con tiosulfato de sodio N/100.

Estudio crítico del método:

Si examinamos microscópicamente el precipitado obtenido de cada suero, no observaremos cristales típicos de oxalato de calcio en forma octaédrica y en cambio se verán cristales de carbonatos y masas amorfas; esta sugerencia se debe a Axel Thomsen (5) que fué el primero que lo observó. Además en este método se puede volver a repetir lo dicho al hablar del método de Guillaumin, que si tratamos el precipitado con permanganato se

continúa por espacio de 30 minutos reduciendo, lo que no ocurre con soluciones puras; Thomsen (5) atribuye esta anomalía a sustancias reductoras.

También los mismos autores declaran, que además de ácido oxálico y cítrico hay otras sustancias que son precipitadas por el calcio iónico.

Método de Izumi (1933) (4)

Publicación titulada " Microdeterminación de ácido oxálico en la sangre "

Técnica:

Desproteíniza la sangre con ácido tricloroacético al 20%, al filtrado lo trata con claruro de cerio y lleva a un pH 2,3, luego disuelve el precipitado y titula con permanganato de potasio.

Estudio crítico del método;

Varias son las deficiencias que presenta este método:

- 1) Haciendo un examen detenido de la precipitación del oxalato de cerio, se observa que es extraordinariamente soluble, como lo confirma Axel Thomsen (5) con el cuadro que transcribimos:

5 com de solución áo.oxál.		cantidad equivalente de CeCl ₃			precipitación al agregar										
					CeCl ₃ 0,1%	Claruro de cerio 1%									
mg %	mg	gotas de			gotas	gotas									
		mg	0,1%	1%		5	1	2	3	5	10	20	40		
1,2	0,06	0,11	3		50										
2,2	0,11	0,20	5		36	82	73	68	55						
3,4	0,17	0,31	7		30	70	70		50	50	30				
6,0	0,30	0,55	11	2	23	43	80		57	83	70	47			
11,6	0,58	1,06	22	3	12	20	43		93	91	90	83			

De esto se ve claramente que se necesita para la precipitación, aproximadamente el doble, hasta el triple de la cantidad equivalente de cloruro de cerio; tomando menos, la

precipitación es incompleta, pero trabajando con exceso se disuelve en seguida una parte del precipitado.

- 2) La dificultad de conseguir cloruro de cerio en plaza.
- 3) Es necesario poseer mucha práctica para poder obtener reacción resultados seguros, como lo afirma Saburo Suzuki (11) al defender este método de las críticas de Axel Thomsen.

Método de Axel Thomsen (1935) (5)

"El contenido del ácido oxálico en la sangre".

Técnica:

Precipita las proteínas del suero con ácido tricloroacético al 20% trata el filtrado con agua de cal saturada y después de agregar rojo de metilo, añade, en gotas NaOH al 50%, hasta que el color rojo desaparece; después de estar doce horas en la heladera, agrega solución de SO_4Hg al 1% y dos gotas de NaOH al 20%; luego centrifuga y lava dos veces con agua destilada.

Al precipitado le agrega ácido sulfúrico al 20% y a la solución que contiene el ácido oxálico libre, lo trata en el aparato de M. P. Widmark (12) por espacio de 48 horas, con 3 a 4 inclinaciones por minuto y lo precipita con Cl_2Ca . Una vez transcurrido dicho plazo, desocupa el vaso receptor y lo trata con ácido clorhídrico N/10 para disolver el oxalato de calcio que hubiera quedado; lleva luego la solución a un pH 5 aproximadamente, precipita con Cl_2Ca al 10% dejándole seis horas en la heladera; decanta y lava dos veces con una sal saturada de oxalato de calcio.

Finalmente, disuelve el precipitado con SO_4Hg N/2 y determina la cantidad de ácido oxálico por retorno, con tiosulfato.

Estudio crítico del método:

Si bien Thomsen realiza la primera precipitación del oxalato de calcio con agua de cal para evitar la solubilización de una parte del precipitado, no hace lo mismo en la segunda precipitación pudiendo en ese

caso perder cierta cantidad del precipitado.

Además utiliza el aparato de agitación-extracción de Widmark (12) del cual exponemos a continuación los inconvenientes que a nuestro juicio presenta.

Aparato de extracción de Eric. M. P. Widmark (1926) (12)

utilizado en el método de Axel Thomsen

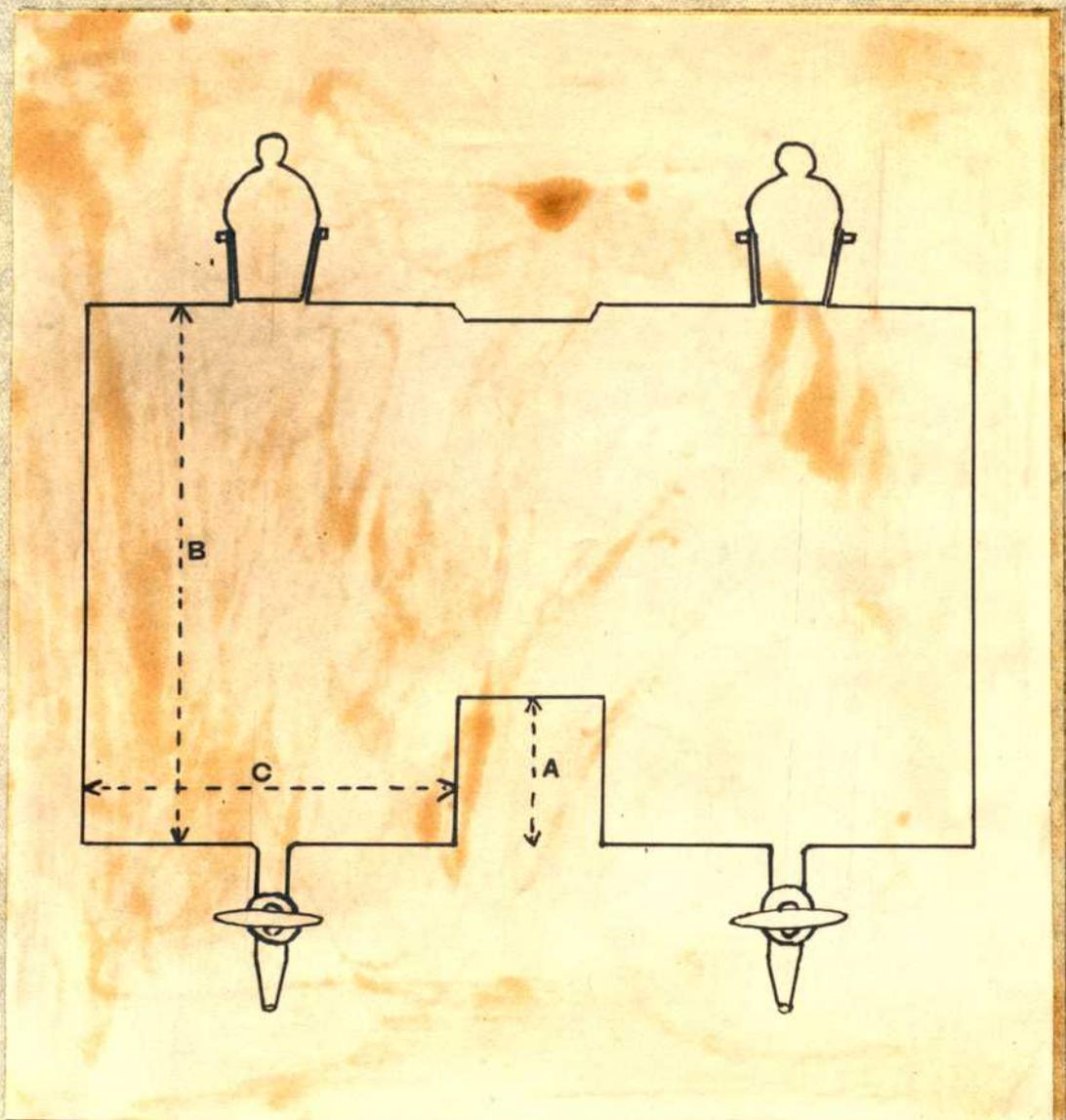
Principio del aparato:

Está basado en una fluctuación continua del solvente extractor entre la solución a ser extraída y la solución dentro de la cual es transformada la sustancia en una forma insoluble en el solvente (ej: para extraer ácido oxálico de una solución se utiliza Cl_2Ca como solución receptora).

Descripción del aparato:

Se utiliza un envase de vidrio del tipo de la figura de la página siguiente, consistente en dos embudos separados de base plana, y comunicados por un ancho tubo. El líquido a ser extraído es colocado en uno de estos embudos separadores; en el otro, la solución que está destinada a recibir la sustancia extraída. El solvente extractor que debe ser más liviano que las soluciones, se vierte sobre éstas, formando una capa de tal espesor, que sobrepasa el tubo de comunicación. El aparato así preparado se coloca en un soporte, que realiza un movimiento de vaivén impulsado por un motor.

En esta forma el solvente extractor fluctuará entre ambas soluciones, que estarán ellas también, animadas de un movimiento continuo en sus envases respectivos. La sustancia es absorbida de la solución de entrega y recibida por la solución receptora.



APARATO DE ERIC M.P. WIDMARK

- A - Amplitud del canal separador inferior
- B - Altura interior de las cámaras de extracción
- C - Ancho de las cámaras.

La simple observación de la figura muestra la dificultad de construcción de un aparato con cámaras de paredes y fondo plano y de las dimensiones indicadas.

Dimensiones de los envases de extracción:

El tamaño de los envases de extracción debe en cierto modo corresponder a la cantidad de líquido a extraer, en tal forma, que la proporción entre este líquido y el solvente extractor sea práctica.

Ejemplos: para la extracción de un volumen hasta 4 ml

$$A = 1 \text{ cm}$$

$$B = 5,5 \text{ "}$$

$$C = 4 \text{ "}$$

para la extracción de un volumen mayor de 4 y menor de 50ml

$$A = 3 \text{ cm}$$

$$B = 8 \text{ "}$$

$$C = 9 \text{ "}$$

Movimientos de oscilación:

La inclinación debe ser dirigida en tal forma, que permita el pasaje de la mayor cantidad posible del solvente extractor de un envase al otro, evitando el paso de los líquidos de cada envase. Para los aparatos menores se puede usar una inclinación de 11 grados a ambos lados de la posición horizontal. Con 4 ml de cada una de las soluciones y 30 ml del solvente extractor, se consigue que 10 ml de éste pasen de un envase al otro, durante la transición entre dos declives máximos. Si el aparato es movido a razón de 15 períodos por minuto, 150 ml por minuto ó 9 litros por hora, fluirán de un envase al otro. En los aparatos mayores de un contenido de 50 ml de las soluciones y 250 ml del solvente extractor fluyen en cada período 150 ml con una inclinación aproximada de 18 grados. Si el período dura 20 segundos fluyen 450 ml por minuto ó 27 litros por hora.

Movimiento de Vaivén:

Para obtener el movimiento continuo de los aparatos, se colocan sobre un caballete horizontal, cubierto a ambos lados por una capa de corcho provista de ranuras bien dispuestas para la contención de los apa-

ratos. Además, los aparatos están dispuestos de forma que sus picos quedan insertados en agujeros contenidos en tablas de madera dispuestas a ambos lados y en ángulo recto con el caballete. El sostén de los aparatos gira sobre su eje longitudinal, de modo que permite a los aparatos la inclinación a ambos lados de la posición horizontal. El ángulo de inclinación puede cambiarse por medio de una simple grampa. El movimiento se efectúa por medio de un eje excéntrico colocado al final del caballete e impulsado por una transmisión ó motor eléctrico (1/16 HP).

Capacidad de extracción del aparato:

La extracción se efectúa desde la superficie de la solución, y no sería efectiva si éstas no fueran constantemente renovadas, como lo son debido a que el envase de extracción tiene su base y su pared casi en ángulo recto, lo que permite a la solución efectuar movimientos dentro de su propio envase; además, el solvente extractor también provoca el movimiento de las capas colocadas debajo de ellas con su fluir.

Si analizamos detalladamente el aparato de agitación-extracción de Widmark, notaremos que es poco práctico por las siguientes razones:

- 1º) Requiere un funcionamiento continuo de un motor eléctrico y una vigilancia constante de su mecanismo durante un período de 48 horas.
- 2º) Por la dificultad de extraer el ácido oxálico del disolvente por la solución receptora, En el comienzo de la extracción habrá en el solvente pequeña cantidad de ácido oxálico, y una gran cantidad de cloruro de calcio en la solución receptora. El mismo Thomsen afirma que el exceso de cloruro de calcio impide la precipitación de pequeñas cantidades de ácido oxálico. Por lo tanto, para que sea extraído por la solución receptora el solvente debe tener disuelto una cantidad apreciable de ácido oxálico perdiendo por lo tanto la capacidad de disolver como lo haría el mismo solvente puro.
- 3º) El riesgo de que salte parte del líquido que va a ser extraído hacia el otro recipiente cuando se efectúan los movimientos de vaivén, cons

tituye otro inconveniente de este aparato.

4) Además el alto precio del aparato, por su mecanismo y motor, y la dificultad de encontrar quién construya los embudos separadores con bases planas y ángulos rectos, dificulta la utilización de este método.

Método de Shigeo Kamiya, Yoshio Nove y Hana Sato (1937) (6)

"Determinación de ácido oxálico en sangre por precipitación con sal de cerio"

Los autores realizan una modificación del método de Izumi (4) substituyendo el cloruro de cerio por el sulfato de cerio.

En este caso encontramos los mismos inconvenientes descriptos anteriormente, al estudiar el método de Izumi.

Método de Flaschenträger y Müller (1938) (7)

"Biología del ácido oxálico. Microestimación de ácido oxálico en sangre y orina."

Técnicas:

Desproteíniza el suero con bicloruro de mercurio, realiza una extracción con éter y precipita con agua de cal el ácido oxálico, luego redisuelve y valora con permanganato de potasio.

Por la imposibilidad de obtener el trabajo original no hemos podido comprobar este método.

Método de Laulier y Dorche (1939) (8)

"Notas sobre la oxalemia"

Técnicas:

Para la eliminación de las proteínas del suero tratan con pepsina al 1% y ácido clorhídrico al 5%, manteniendo en estufa durante 24 horas a una temperatura entre 37 y 50 grados C., luego filtran en caliente

El digerido es extraído con éter durante un período de 72 horas (tres días).

El residuo es filtrado y recogido en un tubo de centrifuga, al cual se le agrega - 10 ml de agua de cal saturada, y regulado el pH

utilizando como indicador rojo de metilo, se mantiene la mezcla en la heladera por espacio de 6 a 8 horas; redissuelven y dosan posteriormente con permanganato de potasio.

Estudio crítico del método:

Los son los inconvenientes que encontramos en este método:

1°) Es necesario un tiempo mínimo de 104 horas (cuatro días) para llegar a obtener el resultado.

2°) La destrucción de las proteínas mediante la pepsina y el ácido clorhídrico, no es un procedimiento fácilmente regulable; la filtración posterior en caliente constituye otro inconveniente. Es suficiente haber trabajado una sola vez con esta técnica, para desechar el método.

Métodos gasométricos

Método de Khouri (1937) (9)

Análisis de ácido oxálico en la sangre, orina y otros fluidos del cuerpo.

Técnica:

El suero (5 ml del término medio) es desalbuminado por adición de igual parte de ácido tricloroacético al 1/5; se centrifuga y se toma un volumen determinado de líquido defecado límpido, al cual se le agrega extracto de Saturno del Codex en cantidad suficiente para precipitación completa; hace falta término medio 5 a 6 ml por cada 10 de líquido desalbuminado; se centrifuga nuevamente, se decanta con precaución todo el líquido que sobrenada; el depósito adherido al fondo y a las paredes del tubo de centrifuga es tratado minuciosamente con algunos ml (4 ml) de ácido sulfúrico diluido (10% en volumen) se centrifuga, se decanta el líquido límpido que se pone aparte; se trata nuevamente el depósito con 2 ml de sulfúrico diluido como precedentemente, se centrifuga, se lo reúne al líquido separado primeramente; se trata cuidadosamente la mezcla con 2 volúmenes de éter alcoholizado al 10%, 3 ó 4 veces sucesivas.

La solución etérea, filtrada a través de papel de filtro, es

destilada hasta reducción a pequeño volumen, que se evapora seguidamente a baño maría en una cápsula de vidrio de Bohemia hasta sequedad; allí se le agrega entonces 2 ml de una solución alcohólica de úrea al 0,5% se mezcla y evapora a sequedad a baño maría.

El residuo es extraído en dos veces por 10 ml de alcohol amílico puro y caliente. Esta solución es centrifugada y el líquido límpido es evaporado a seco en baño maría. Se disuelve el residuo en algunos ml de agua destilada y en la solución acuosa se dosa la úrea residual por el método del hipobromito en un ureómetro de precisión.

Se ha tenido precaución de evaporar a seco en otra cápsula 2 ml de la misma solución titulada de úrea; se disuelve el residuo en un poco de agua destilada y la úrea es dosada en la solución en la misma condición que anteriormente. La diferencia de la úrea obtenida en estas dos determinaciones corresponde a la úrea combinada con el ácido oxálico existente; basta multiplicar esta cifra por $9/12$ para tener la cantidad de ácido oxálico contenido.

Estudio crítico del método

a) Este procedimiento involucra un gran número de operaciones heterogéneas (precipitaciones, lavados, evaporaciones, etc.) durante cuyo transcurso pueden perderse cantidades apreciables de ácido oxálico.

b) No está suficientemente demostrado que la úrea precipite cuantitativamente el ácido oxálico.

c) No hay acuerdo general en que el extracto de Saturno sea un precipitante ideal para ser empleado en micrométodos, aplicados a la sangre máxime existiendo desalbuminantes tan probados como el tungstato de sodio y el ácido tricloroacético.

Método de Van Slyke y Sendroy (h) (1929) (10)

"Método gasométrico para la determinación de ácido oxálico"

La autoridad de los creadores del método gasométrico y la dificultad de poseer un aparato manométrico de Van Slyke, nos impiden dar una opinión al respecto.

B I B L I O G R A F Í A

- (1) GUILLAUMIN C. A. - Bull. soc. chim. biol. 9, 247-61 (1927)
- (2) LEULIER, VELLUZ y GRIFFON - Bull. soc. chim. biol. II. 46 (1929)
- (3) MERZ y MAUGERI - Z. physiol. chem. 201, 31-7 (1931)
- (4) IZUMI S. - Japan J. med. sci., II biochem. 2, 19⁵~~6~~-204 (1933)
- (5) THOMSEN A. - Z. physiol. chem. 237, 199-~~213~~ (1935)
- (6) KAMIYA, NOYE y SATO - Japan J. med. sci. II biochem. 3, 317-24 (1937)
- (7) FLASCHENTRÄGER y MÜLLER - Z. physiol. chem. 251, 52-61 (1938)
- (8) LEULIER y DORCHE - Compt. rend. soc. biol. 132, 5-7 (1939)
- (9) KHOURI J. - Bull. soc. chim. 41, 394-6 (1927)
- (10) VAN SLYKE D.D. y SENDROY - J. biol. chem. 84, 217-32 (1929)
- (11) SUZUKI S. - Z. physiol. chem. 244, 23⁵~~4~~-7 (1936)
- (12) WIDMARK E. M. P. - Skand. arch. f. physl 48, 61-71 (1926)

Capítulo III

PARTE EXPERIMENTAL

Técnica que proponemos:

El estudio crítico que antecede indica que la mayoría de los métodos propuestos por diversos autores, adolecen de defectos de orden práctico.

Con objeto de salvar los inconvenientes que estos presentan proponemos una técnica personal y un nuevo aparato.

Previamente hemos tratado de interiorizarnos de las propiedades del ácido oxálico y de sus sales, prestando especial atención a las solubilidades de sus diferentes sales aisladamente, es decir en soluciones puras y luego en presencia de mezclas salinas conteniendo las mismas sales que el suero (cloruro de sodio, fosfatos, etc.) y así mismo, su solubilidad en soluciones neutras ó ácidas y en diferentes disolventes (éter, alcoholes varios, etc.). Con tal fin, recurrimos al tratado de Solubilities of Inorganic and Organic Compounds by Atherton Seidell, Ph. D. transcribiendo a continuación las más interesantes.

ÁCIDO OXÁLICO $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$.

Solubilidad en agua

t°	g $H_2C_2O_4$ p/100 g sol. sat.	fase sólida	t°	g $H_2C_2O_4$ p/100g sol. sat.	fase sólida
- 0.064	0.1805	hielo	20	8.60	$H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$
- 0.152	0.452	"	30	12.46	"
- 0.533	1.820	"	40	17.71	"
- 0.936	3.291	"	50	23.93	"
- 1.50	5.836	"	60	30.71	"
- 0.95	3.302	$H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$	70	37.92	"
0	3.416	"	80	45.80	"
+10	5.731	"	90.2	54.67	"

$H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ se disuelve en su H_2O de cristalización a 98°.

Distribución de ácido oxálico entre agua y éter. Resultados a 15°.

Mol. g (COOH) ₂ p/1000		Coef. Dist.		Mol. g (COOH) ₂ p/1000		Coef. Dist.	
Capa agua	Capa éter	Tot. Ác.	Ácid. disos	Capa agua	Capa éter	Tot. Ác.	Ác. no disos
0.3455	0.02945	11.6	8.49	0.760	0.0637	11.9	8.18
0.1885	0.01395	13.5	8.81	0.561	0.0433	13	8.37
0.124	0.00845	14.8	8.69	0.3575	0.0250	14.3	8.26
0.0892	0.00553	16.1	8.72	0.2550	0.0165	15.5	8.12
0.0470	0.00248	19	8.19	0.1754	0.01025	17.1	7.94
0.0435	0.0022	19.8	8.26				

Solubilidad del ácido oxálico en soluciones acuosas de H₂SO₄ a 25°.

Conc.d H ₂ SO ₄ Eq.Norm	g en 100 g de sat.sol. SO ₃	g de sat.sol. (COOH) ₂	Conc.d H ₂ SO ₄ Aq.Norm	g en 100 g de sat.sol. SO ₃	g de sat.sol. (COOH) ₂
0	0	10.23	4.85	14	3.92
1	2.98	8.03	5.67	16.44	3.51
2.30	7.30	6.02	6.45	17.84	3.12
4.36	12.57	4.26	8.9	25.92	2.37

Solubilidad del ácido oxálico en diferentes alcoholes

Alcohol	t°	(COOH) ₂ en 100 g sol. sat.	Alcohol	t°	(COOH) ₂ en 100 g sol. sat.
Alcohol met	-1.5	34.2	Ale. Propil	-1.5	12.2
" "	+20.2	39.8	" "	+18.5	16.7
Ale. Etilico	-1.5	22.4	" "	+20.2	17.5
" "	+18.5	26.2	Ale. Isobut.	20.2	10.9
	+20.2	26.9			

Solubilidad del ácido oxálico en éter absoluto y acuoso a 25°.

100 g éter absoluto disuelven 1.47 g (COOH)₂.2H₂O.

100 g de éter absoluto disuelven 23.59 g (COOH)₂.

Solubilidad en soluciones acuosas de éter

g de ác. sól. agregado a 100 ml éter(1) (COOH) ₂ .2H ₂ O.	(COOH) ₂ .	g en 100 ml de solución de éter(2) H ₂ O.	(COOH) ₂ .
5	0	1.250	0.742
5	0	0.788	0.720

5	0	0.418	1.044
5	2.44	0.360	3.388
5	4.82	0.484	6.038
5	7.14	0.558	8.538
5	9.42	0.632	10.996
5	11.63	0.676	13.316
5	13.70	0.760	15.684
5	18.18	0.816	17.818
5	22.73	0.816	17.818

(1) Éter saturado con agua

(2) Éter conteniendo 0.694% agua

100 g glicerol disuelven 15 g ácido oxálico a 15.5°.

100 g 95% ácido fórmico disuelven 9.74 g ácido oxálico anhidro a 16.8°.

OXALATO DE CALCIO

Solubilidad de oxalato de calcio en soluciones acuosas de ácido clorhídrico a 25°

Norm de HCl	g CaC ₂ O ₄ por litr. Sol.Sat.	Norm. de HCl	g CaC ₂ O ₄ por litr.Sol.Sat.
0	0.009	0.500	2.638
0.125	0.717	0.625	3.319
0.250	0.359	0.750	3.922
0.375	2.019	1	5.210

Se dan también algunas cifras demostrando el efecto causado por el aumento de las cantidades de KCl y KNO₃ sobre la solubilidad de oxalato de calcio en 0,5 normal HCl a 25°, y también sobre el efecto de aumentar las cantidades de tricloracetato de potasio sobre la solubilidad en 0,5 de ácido tricloracético normal, y de aumentar cantidades de monocloracetato de potasio sobre la solubilidad de oxalato de calcio en 0,5 de ácido monocloracético normal.

Solubilidad de oxalato de calcio en soluciones acuosas de cloruro de sodio y fosfato de sodio

Sal en sol.aq.	g sal p/litr	t°	g CaC ₂ O ₄ p/litro.	sal en sol.aq.	g sal p/lit	t°	g CaC ₂ O ₄ p/litro.
NaCl	1	25	0.0075	NaCl	25	37	0.0414
"	5	25	0.0188	Na ₂ H(PO ₄) ₂	4.8	15	0.016
"	10	25	0.0255	"	4.8	37	0.033
"	25	25	0.0291				

OXALATO DE CALCIO $\text{Ca}(\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Solubilidad en agua

t°	g CaC_2O_4 por lit. de sol.	t°	g CaC_2O_4 por lit. de sol.
13	0.0067 (h)	25	0.0068 (R, MoC y B)
18	0.0056 (K y R)	50	0.0095 "
24	0.0080 (H)	95	0.0140 "

Solubilidad de oxalato de calcio en soluciones acuosas de ácido acético a 26°- 27°

Normalidad del ácido acético	g CH_2COOH % cc sol.	Residuo de 50.052 ml solución
0	0.00	0.0017
0.58	3.48	0.0048
2.89	17.34	0.0058
5.79	34.74	0.0064

Los residuos fueron secados a 70° C.

Técnica propuesta:

Se toman 10 ml de suero y se tratan con 10 ml de ácido tricloroacético al 20% del modo usual. Transcurridos 2 minutos se filtra. Se toman 10 ml del filtrado que se llevan a un pH comprendido entre 6 a 6,2 utilizando como indicador el reactivo de Guillaumin; luego se agrega 0,5 ml de acetato de calcio al 10% se agita y se deja 12 horas en la heladera, después de las cuales se centrifuga durante 3 a 5 minutos a 4.000 revoluciones p.m. Luego se procede al lavado, una vez con 2 a 2 ml de acetato de litio al 0,5% y dos veces con agua amoniacal al 0,5%. Se extrae el líquido con un sifón en forma de U. Se disuelve el precipitado con 0,5 ml de ácido sulfúrico al 20% y se pasa el líquido al tubo extractor (figura III A) lavando bien el tubo de centrifuga con una cantidad máxima de 3 ml.

Se deja actuar el éter 4 horas el cual es renovado continuamente por destilación y en el tubo (figura III) se agrega después 0,5 ml de ácido sulfúrico al 20%, se añaden unas gotas ^{sol.} de manganesa al 1% y 5 ml de MnO_4K N/400 y se titula con tiosulfato N/400 después de haber agregado 4 hasta 6 gotas de una solución de IK al 5% y 3 gotas de almidón al 1%.

Aparatos

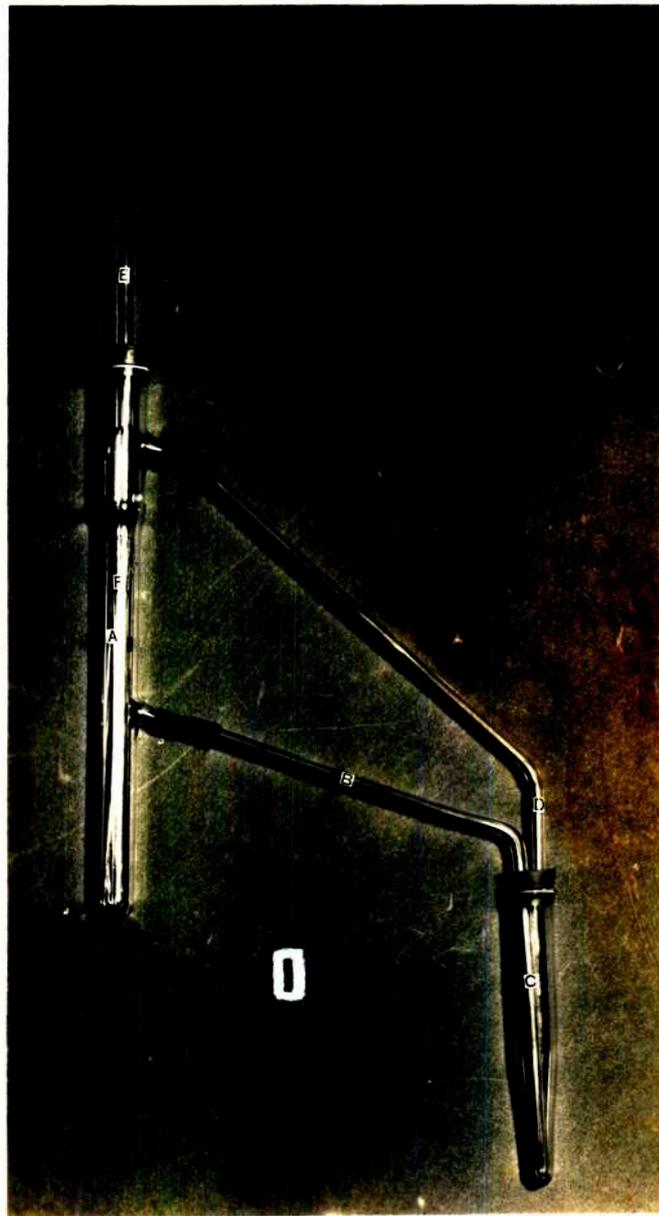
a) Aparato primitivo:

El aparato de Widmark, a nuestro juicio es costoso por necesitar un motor eléctrico, y presenta el gran inconveniente de necesitar un embudo separador de fondo plano difícil de adquirir. Por tales motivos tratamos de idear un aparato que pudiéramos construir con escasos elementos siendo práctico y económico. Teniendo en cuenta esto, ideamos el aparato que pasamos a describir (figura I) y que a la vez de ser práctico, es económico. Consta de un tubo de ensayo A, un tubo de centrifuga C, un tubo E que actúa como refrigerante, 2 tubos acodados B y D que unen los tubos A y C y por último en el interior del tubo A va colocado un pequeño embudo F

Funcionamiento del aparato:

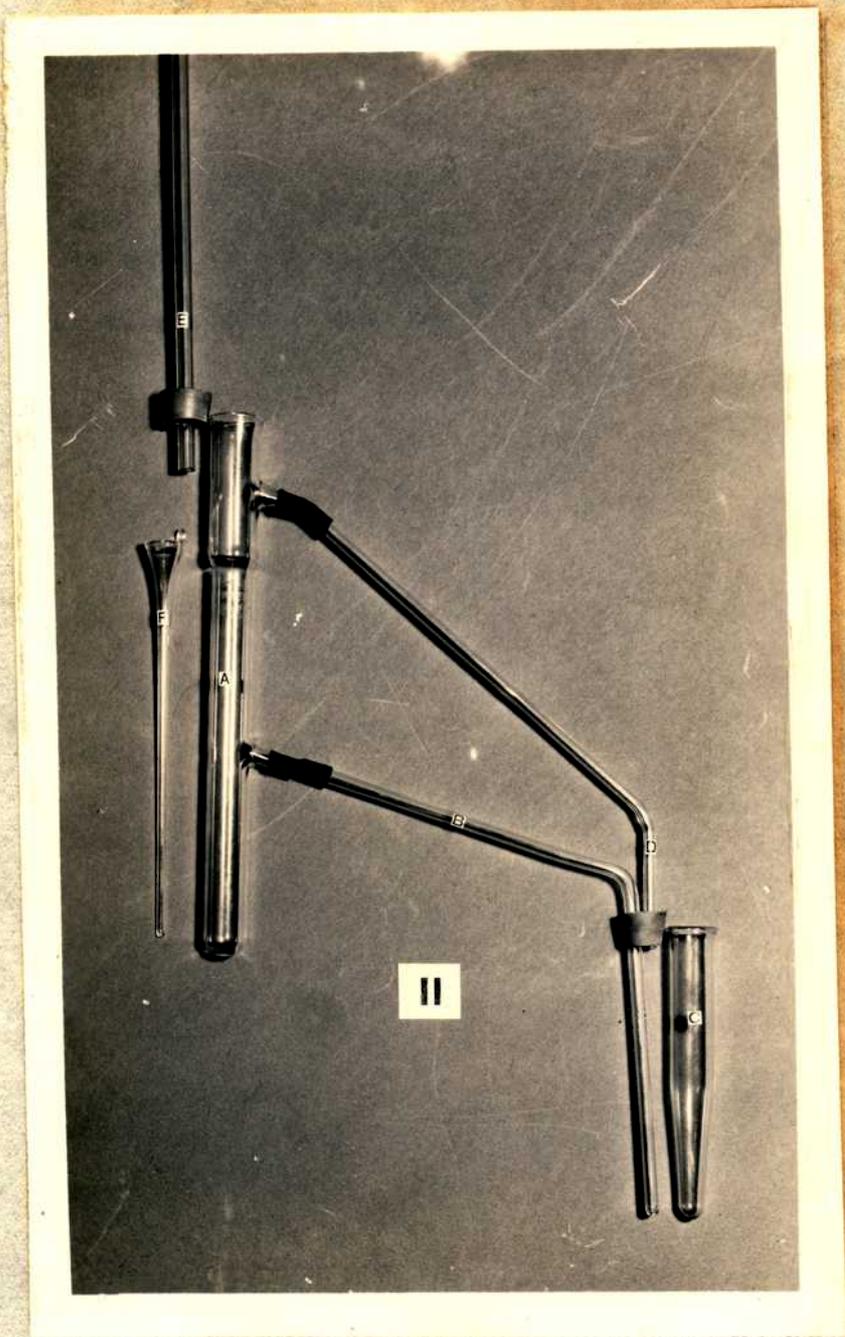
Se coloca la solución a extraer (5 ml) en el tubo A. En el tubo C se coloca 1 ml de agua destilada. Se une los tubos A y C mediante los tubos acodados B y D. Se agrega 10 ml de éter en el tubo A que llega al fondo a través del embudo F que ha sido previamente colocado, de estos 10 ml aproximadamente 5 ml pasan por intermedio del tubo B al fondo de C, y por último se coloca el tubo refrigerante E quedando el aparato en condiciones de funcionar. Con tal objeto se coloca el tubo C a baño maría a una temperatura constante de 45° C. El éter contenido en él entra en ebullición pasando sus vapores por el tubo D a E en el cual se condensan cayendo por el embudo F hacia el fondo del tubo A. Debido a que el embudo F posee en su extremidad un orificio muy pequeño, alrededor de 1 mm, se forman pequeñas gotitas de éter puro, que en su recorrido hacia la superficie a través de la solución a extraer, van disolviendo ácido oxálico. A medida que va llegando éter al tubo A, el excedente pasa por B al fondo de C llevando disuelto ácido oxálico. Al alcanzar el éter nuevamente su temperatura de ebullición se volatiliza, dejando en el agua destilada el ácido oxálico que traía

FIGURA N° I



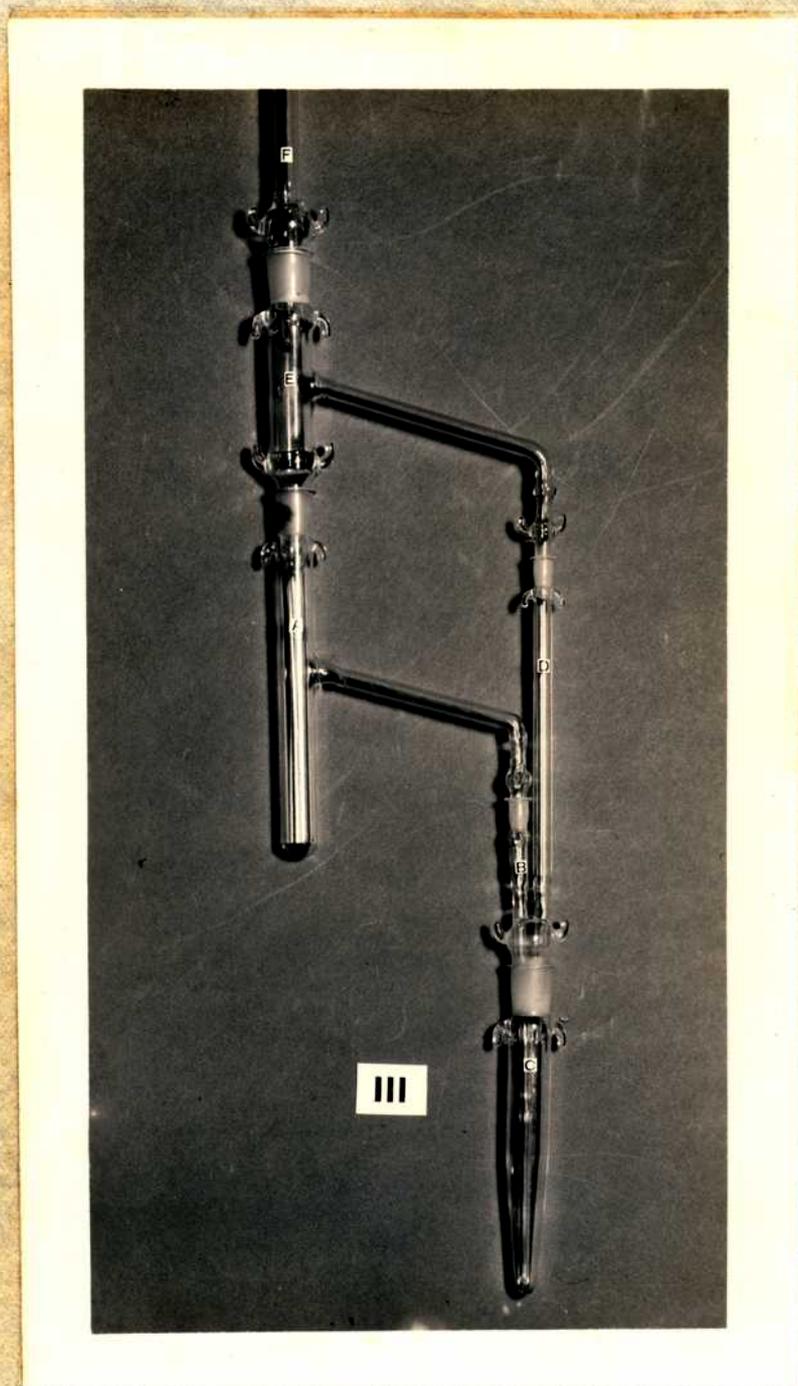
APARATO PRIMITIVO COMPLETO

FIGURA N° II



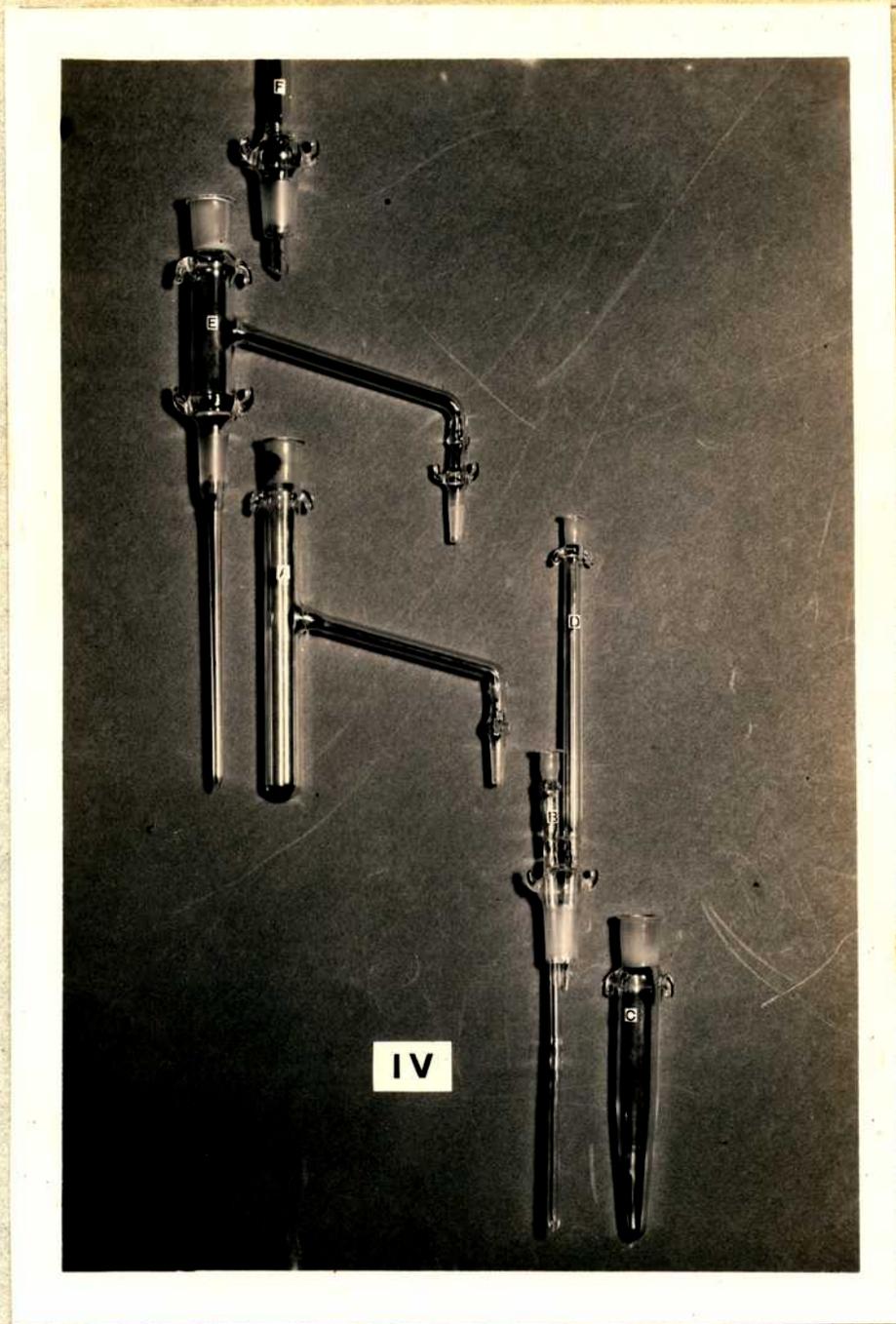
APARATO PRIMITIVO DESARMADO

F I G U R A N º I I I



APARATO DEFINITIVAMENTE ADOPTADO

FIGURA N° IV



APARATO ADOPTADO DESARMADO

disuelto y así sucesivamente; el aparato continúa trabajando sin vigilancia especial.

Para conocer la bondad de este aparato, colocamos en A soluciones conocidas, determinando después de tiempos prudenciales la cantidad de ácido oxálico en C y nos encontramos con sorpresa con cantidades mayores de sustancias reductoras que las correspondientes al ácido oxálico contenido en la solución a extraer. Analizando las causas de error, pensamos enseguida que el éter podría disolver sustancias reductoras existentes en los tapones y tubos de goma empleados en el aparato. Habiendo que fué confirmado al tratar los tapones y gomas en un Kamawaga-Suto, que a pesar de ser tratados durante dos períodos de 8 horas cada uno, continuaron conteniendo sustancias reductoras solubles en éter. Inconveniente que nos llevó a la construcción de nuevo aparato, prescindiendo de ese factor.

b) Nuevo aparato propuesto:

Con el objeto de subsanar el factor que indujo a error en el aparato anteriormente descrito y de perfeccionar su funcionamiento, hicimos construir el aparato de la figura III en el cual se han suprimido los tapones y uniones de tubos de goma reemplazados con cierre esmerillado, usando solamente material de vidrio. Además, en lugar de el embudo F del aparato primitivo, que permitía el pasaje de cierta cantidad de éter condensado por las paredes del tubo sin pasar por él y por lo tanto sin llegar a actuar sobre la solución a extraer, en el nuevo aparato, este embudo constituye una nueva pieza figura IV E que tiene por finalidad, de que todo el éter que se condensa en F (figura III) está obligado a llegar al fondo del tubo A y por consecuencia este aparato es de mayor rendimiento que el anterior.

Funcionamiento del aparato Figura III

Se coloca en el tubo A la solución a extraer, en el tubo C, agua destilada y se introduce por el tubo E la cantidad de éter necesario (10 ml); conectando el refrigerante F queda el aparato en condiciones de

funcionar. Igual que en el anterior el tubo C se coloca a baño maría a temperatura constante de 45° C.

Ensayos "en blanco" . Uso de diversos disolventes. Ensayos de recuperación

La obtención de un éter^{puro} presenta dificultades en la práctica diaria, por lo cual pensamos en la posibilidad de emplear un disolvente más estable. Dicho solvente debía reunir, entre otras, las siguientes condiciones:

- a) Disolver cantidades apreciables de ácido oxálico
- b) Ser de fácil obtención y elaborado en el país
- c) Tener un punto de ebullición relativamente bajo para poder usar un baño maría de uso corriente en los laboratorios biológicos
- d) No descomponerse por calentamiento prolongado en medio ácido
- e) No dar por descomposición sustancias reductoras
- d) No ser miscible con el agua

La elección de tales disolventes fué facilitada por las siguientes obras:

- 1) Tratado de Mellan I (1)
- 2) Tratado de Durran T.H (2)
- 3) Tablas de disolventes orgánicos por Adolfo L. Montes (3)
- 4) Tablas de la Revista Industrial and Engineering Chemistry (4)

Como resultado de esta búsqueda nos decidimos a ensayar dos de ellos. El acetato de etilo y el bensol pero después de varios ensayos hubimos de desecharlos; el primero, por experimentar una acentuada descomposición al ser calentado en medio ácido y el segundo por disolver cantidades ínfimas de ácido oxálico.

Decidimos pues utilizar el éter sulfúrico (etane-oxi-etane). Empleamos diversas marcas comerciales, pero todos contenían sustancias reductoras que fueron demostradas por ensayos en blanco, es decir colocando los reactivos sin el agregado de ácido oxálico.

Después de repetidas ensayos , nos decidimos por el éter anestésico de la Droguería de la Estrella, gentilmente suministrado por el Doctor Julio César C_aballero, director del laboratorio de ácha casa y a quien agradecemos su cooperación en este sentido.

Una vez realizados los ensayos en blanco antes indicados, y comprobada la conveniencia de este disolvente, realizamos los ensayos comunes de recuperación de cantidades conocidas de ácido oxálico, añadidas habiendo recuperado íntegramente las cantidades previamente agregadas.

Estabilidad del ácido oxálico en las condiciones experimentales del método empleado.

Como nuestra técnica, requiere para su funcionamiento la utilización de un baño maría a una temperatura constante de 45°C., podría objetarse que su esa temperatura actuando durante un lapso de 4 horas, sobre el ácido oxálico sería capaz de alterarlo. Para descartar esa posibilidad sometíamos soluciones conocidas del ácido oxálico a temperatura de 45° C. durante 12 horas, no encontrando variación alguna en su título.

Tiempo de extracción

Proponemos que el tiempo de funcionamiento de nuestro aparato sea 4 horas porque fué necesario ese tiempo, para poder extraer totalmente del tubo A (figura III) la cantidad colocada (1 milígramo) de ácido oxálico es decir que consideramos que durante ese tiempo es posible extraer diez veces más ácido oxálico que la cantidad existente normalmente en el suero humano.

Terminados los ensayos previos para establecer la influencia de las diversas variables (clase de disolvente, estabilidad del ácido oxálico, tiempo de extracción) y logrado el correcto funcionamiento del aparato ultimamente adoptado, realizamos algunos ensayos en sangre de personas aparentemente normales (no diabéticas, no urémicas, no nefríticas, no litiasicas) sometidas a dieta mixta.

Las valoraciones fueron realizadas por duplicado, siendo los datos indicados a continuación correspondientes al promedio de ambas determinaciones:

Muestra N°	Acido oxálico Mg %/cc
2	19.9
3	10.-
3	13.5
4	12.2
5	13.-
6	12.5
7	11.2
8	16.-
9	18.7
10	14.3

Experiencia de recuperación

A cinco muestras de sangre en las cuales se había determinado previamente la cantidad de ácido oxálico, se añadieron iguales cantidades de ácido oxálico efectuando nuevamente la valoración, habiéndose encontrado los siguientes valores:

Muestra N°	Contenido original de ácido oxálico mg %/cc	Acido oxálico agregado mg	Acido oxálico encontrado
1	17.2	17.2	34.-
2	11.-	11.-	21.8
3	20.1	20.1	40.-
4	19.-	19.-	38.-
5	15.-	15.-	29.5

Ventajas de la técnica propuesta:

- 1) Se emplea un aparato sencillo de pequeño costo y de fácil adquisición
- 2) Escasa cantidad de disolvente utilizado, 10 ml
- 3) Requiere un tiempo de funcionamiento 12 veces menor que el de Widmark
- 4) Es de funcionamiento automático. No requiere parte mecánica alguna, salvo un regulador de temperatura para el baño maría

- 5) El disolvente actúa sobre la solución a extraer siempre con la misma capacidad de extracción por ser constantemente destilado
- 6) El ácido oxálico se valora directamente en el tubo C (figura III) no requiriendo ninguna clase de manipuleos tan expuestos a errores en determinaciones microquímicas.

FOFNBA.

CONCLUSIONES

- 1) Se ha realizado un estudio crítico de los métodos más importantes propuestos por diversos autores, desde 1926 hasta el presente, puntualizando las fallas é in convenientes de que adolecen.
- 2) No llenando a nuestro juicio la finalidad que estos métodos se proponen, después de experiencias realizadas, proponemos una técnica personal y un nuevo aparato de extracción, que simplifica y facilita el método, permitiendo también ser empleado en otros procedimientos microquímicos.
- 3) Mediante dicho aparato de extracción y con la técnica descrita, hemos obtenido la extracción total del ácido oxálico de soluciones conocidas y hemos realizado valoraciones de ácido oxálico en suero de personas aparentemente sanas con dieta mixta, habiendo encontrado valores comprendidos entre 10 y 20,1 miligramos en mil ml de suero.

B I · B · L · I · O · G · R · A · F · I · A
B I · B · L · I · O · G · R · A · F · I · A

- (1) MELLAN I. - Industrial Solvents (Reinhold Pub.Co. 1939)
- (2) DURRAN T. H. - Solvents
- (3) MONTES A. - Disolventes Orgánico - Revista Industria y Química (1942)
- (4) Revista Industrial in Engineering Chemistry - Vol. 27, N° 10.
p. 1169-1179 (1935)

Emilio J. Vitegaray