M. Arthus

COMPENDIO DE QUÍMICA FISIOLÓGICA

SALVAT EDITORES, S. A.-BARCELONA

On/.92
$38.

COMPENDIO

DE

QUÍMICA FISIOLÓGICA



COMPENDIO

DE

QUÍMICA FISIOLÓGICA

POR

MAURICIO ARTHUS

CORRESPONDIENTE NACIONAL DE LA ACADEMIA DE MEDICINA DE PARÍS
CORRESPONDIENTE DE LA REAL ACADEMIA DE MEDICINA DE BÉLGICA
PROFESOR DE FISIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE LAUSANA

SEGUNDA EDICIÓN ESPAÑOLA
TRADUCIDA DE LA DÉCIMA EDICIÓN FRANCESA

Ilustrada con 115 figuras en el texto y 5 láminas en colores

LIBRERIA Y EDITORIAL
NASCIMENTO
Concepción

BARCELONA
SALVAT EDITORES, S. A.
41-CALLE DE MALLORCA-49
1927

ES PROPIEDAD

Establecimiento Tipolitográfico de SALVAT EDITORES, S. A.—Barcelona

Reiser Pinto
1930
Escuela de Medicina
Concepción

A LA GLORIOSA MEMORIA

DE LOS

ESTUDIANTES

MEDICOS AUXILIARES

Y

AUXILIARES SEGUNDOS

DE LOS EJÉRCITOS DE LA REPÚBLICA

muertos por Francia

EN LA GRAN GUERRA

1914-1918

MAURICIO ARTHUS



PREFACIO

Para conocer los fenómenos de la nutrición, que constituyen uno de los capítulos más importantes de la fisiología, es necesario poseer ciertas nociones elementales de química fisiológica. En el momento en que apareció la primera edición de este libro no existía obra alguna en la cual el estudiante pudiera encontrar expuesto el mínimo de estas nociones químicas fundamentales; los tratados de fisiología, o bien suponían conocidas estas nociones, o, si contenían un capítulo de química fisiológica, este capítulo no reunía todos los hechos indispensables para la comprensión de las otras partes de la obra; los tratados de química fisiológica contenían las nociones útiles a los fisiólogos, diseminadas en medio de muchas otras que sólo tienen interés para los químicos, sin que fuera posible al estudiante reconocer en este conjunto lo indispensable y lo superfluo. Este libro, intermedio a los tratados de química fisiológica y a los tratados de fisiología, ha sido escrito para llenar esta laguna y presentar a los estudiantes *todas las nociones químicas necesarias, y nada más que necesarias, para el estudio de la fisiología*.

Responde este libro evidentemente a una necesidad, como lo atestiguan las nueve ediciones francesas agotadas, las tres ediciones de su traducción alemana, las ediciones rusas y la traducción española. Indudablemente ha favorecido el desarrollo de los estudios fisiológicos, cuyo nivel en los países de lengua francesa es notablemente superior al del siglo pasado.

Me he esforzado siempre en las ediciones sucesivas en conservar a este libro su carácter primitivo de simplicidad, manteniéndolo, sin embargo, al corriente de los desarrollos rápidos de la fisiología. He debido introducir nuevas nociones sobre algunas propiedades de las soluciones, sobre la constitución y la estructura de la molécula proteica y de sus productos de desintegración, un capítulo sobre los encimoides, informaciones sobre la composición de los alimentos y los métodos adoptados para analizarlos, datos importantes sobre la composición y el modo de acción de los jugos digestivos, indicaciones sobre las glándulas vasculares sanguíneas, etc., sin las cuales numerosas cuestiones fisiológicas a la orden del día serían incomprensibles. A pesar de tales adiciones sucesivas, esta obra es el *libro elemental que contiene el mínimo de lo que debe saber hoy el estudiante de fisiología*.

MAURICIO ARTHUS.

COMPENDIO
DE
QUÍMICA FISIOLÓGICA

CAPITULO PRIMERO

MATERIAS MINERALES

AGUA, CENIZAS, SALES, GASES

SUMARIO.—Elementos de los tejidos y de los líquidos del organismo. Una substancia, ¿es nitrogenada, sulfurada, fosforada?

I. AGUA.—Agua de los tejidos y de los líquidos del organismo. *a*. Desecación y residuo seco; *b*. Carbonización e incineración.

II. CENIZAS.—a. *Cloruros*.—b. *Fosfatos*.—c. *Sulfatos*.—d. *Carbonatos*.—e. *Bases*.—f. *Origen de las cenizas*.

III. GASES de los líquidos del organismo: *Acido carbónico, nitrógeno, oxígeno*.

IV. REACCIÓN de los líquidos del organismo. Indices de color. Soluciones ácidas o alcalinas, normales, decinormales, etc. Dosificaciones acidimétricas y alcalimétricas.

Las substancias que entran en la constitución de los líquidos y de los tejidos del organismo están formadas por un pequeño número de elementos, que son: *carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre, cloro, fósforo, potasio, sodio, calcio, magnesio, hierro* y, accesoriamente, *silicio* y *flúor*.

Algunas substancias, únicamente constituídas por carbono, hidrógeno y oxígeno, se denominan *substancias ternarias*. Otras, constituídas por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, se llaman *substancias cuaternarias* o, mejor, *nitrogenadas* (1).

(1) Es preferible decir nitrogenadas que cuaternarias, porque las proteínas, que representan la fracción mayor de las substancias nitrogenadas del organismo, contienen siempre azufre, y, por consiguiente, están formadas de cinco elementos por lo menos.

Otras, constituídas por estos mismos elementos, a los cuales se añade un elemento metálico—por ejemplo, una substancia formada de carbono, hidrógeno, oxígeno, hierro y nitrógeno,—pueden ser denominadas *substancias metaloorgánicas* (1).

Excepto el agua, el gas carbónico, el amoníaco y las materias salinas, todas las substancias orgánicas de los tejidos animales contienen carbono, hidrógeno y oxígeno. Pero no todas contienen nitrógeno, azufre, fósforo, etc. Por consiguiente, puede ser útil, en ciertos casos, investigar si una substancia extraída del organismo animal es carbonada y si (en caso afirmativo) es nitrogenada, sulfurada, fosforada, etc.

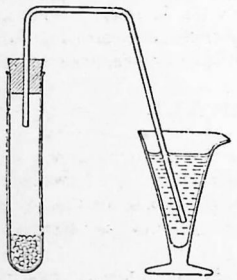


Fig. 1

I. Es posible poner de manifiesto la presencia de *carbono* en un compuesto orgánico fundándose en la propiedad que poseen todos los compuestos carbonados orgánicos, calentados a una temperatura conveniente con el óxido de cobre, de reducir este último, volviéndolo al estado de cobre metálico y de desprender ácido carbónico resultante de la combinación de su carbono con el oxígeno tomado del óxido de cobre y el ácido carbónico fáciles de caracterizar.

Prácticamente, en un tubo de vidrio verde (2) se introduce una mezcla bien homogénea formada de 1 a 2 decigramos de la substancia y de 4 a 5 gramos de óxido negro de cobre pulverizado: calentando al rojo obscuro se provoca el desprendimiento del ácido carbónico y la reducción del óxido de cobre. Si el tubo lleva otro tubo de desprendimiento cuya extremidad esté sumergida en agua de cal o en agua de barita, se ve que el gas desprendido provoca en ella la formación de un enturbiamiento, luego de un precipitado blanco (carbonato de cal o de barita). Al mismo tiempo el óxido de cobre cambia de color; se vuelve rojizo al pasar al estado de cobre metálico.

II. *¿Es nitrogenada una substancia?*

La investigación puede hacerse siguiendo los métodos (3):

1.° El primer método se funda en la propiedad que poseen todos los compuestos nitrogenados orgánicos, calentados a una temperatura

(1) Conviene reservar la denominación de *substancias órganometálicas* para los cuerpos designados por este término en química orgánica.

(2) Es necesario tomar un tubo de vidrio verde, es decir, poco fusible, para poder calentarlo al rojo obscuro sin deformarlo.

(3) El método descrito en el núm. 2 es principalmente recomendable.

conveniente con álcalis cáusticos o con tierras alcalinas, de desprender amoníaco, que es fácil de caracterizar.

Prácticamente, la substancia que se estudia se mezcla con un exceso de cal sodada previamente calcinada (por ejemplo, 1 parte de substancia y 10 a 20 partes de cal sodada, o, para precisar, 2 decigramos de substancia y 3 a 4 gramos de cal sodada) y la mezcla se calienta al rojo obscuro en un tubo de ensayo de vidrio verde. Si la substancia es nitrogenada, se desprenden vapores de amoníaco, fácilmente reconocibles por su olor picante, por la coloración azul que dan al papel rojo de tornasol humedecido con agua destilada y mantenido a pequeña distancia por encima del orificio del tubo, y por el humo blanco que da al combinarse con los vapores que desprende en el aire una solución acuosa de ácido clorhídrico (frasco de ácido clorhídrico concentrado abierto).

2.° El segundo método se funda en la propiedad que poseen todos los compuestos nitrogenados orgánicos, calentados con un metal alcalino a una temperatura conveniente, de dar un cianuro. Ahora bien, se reconoce fácilmente un cianuro transformándolo en ferrocianuro por una sal ferrosa y al engendrar azul de Prusia (que su tinte revela sin error posible), tratando el ferrocianuro por una sal férrica en licor acidulado por el ácido clorhídrico.

Prácticamente, la substancia que se estudia, de antemano desecada perfectamente, se introduce en un tubo de ensayo bien seco, de vidrio verde, que contenga ya un fragmento pequeño de potasio metálico o de sodio metálico (1). Se calienta la mezcla progresivamente al principio hasta fusión del metal, luego hasta el rojo obscuro, y se mantiene a esta temperatura hasta desaparición completa de las substancias alquitranadas engendradas por la influencia del calor, para que sea posible operar en seguida sobre líquidos claros. Se deja enfriar, se añade agua gota a gota (gota a gota para evitar las explosiones que se producirían por la acción de una cantidad excesiva de agua sobre el potasio o sobre el sodio en exceso) en el tubo; se agita, se filtra, y al filtrado claro se añaden algunas gotas de una solución de sulfato ferroso, al 1 por 100, que contenga un poco de sales férricas (2); se comprueba que el líquido es alcalino con un papel rosa tornasol, y en caso necesario se alcaliniza con potasa; se hace hervir un minuto y se acidula por el ácido clorhídrico después de enfriado. Se produce azul de Prusia.

(1) Si la substancia es sulfurosa, hay que emplear más potasio o sodio que si la substancia no es sulfurada; un exceso no es nocivo. En química fisiológica, como las substancias nitrogenadas son generalmente sulfuradas hay que emplear un peso por lo menos 4 ó 5 veces mayor de potasio o de sodio que de substancia a ensayar (por ejemplo 2 dgr. de substancia seca y 1 gr. de potasio ó 1 gr. de sodio).

(2) Se puede proceder con ventaja como sigue: al líquido filtrado se añade un pequeño cristal de sulfato ferroso del tamaño de un grano de mijo cuando más; se calienta muy ligeramente agitando en el aire, para oxidar y hacer pasar al estado de sal férrica una pequeña fracción de sal ferrosa.

III. *¿Es sulfurada una substancia? ¿Es fosforada?*

La investigación puede hacerse según dos métodos:

1.° El primer método se funda en la propiedad que poseen las substancias orgánicas sulfuradas o fosforadas de dar sulfato o fosfato de potasa cuando se calientan con una mezcla de nitrógeno de potasa y de potasa cáustica, a la temperatura de fusión de esta mezcla: el sulfato y el fosfato engendrados se manifiestan fácilmente por las reacciones clásicas.

Prácticamente, si la substancia es sólida, se mezcla bien íntimamente triturándola en un mortero, en la proporción de una parte con 12 partes de potasa cáustica sólida pura y 6 partes de nitrato de potasa cristalizado puro (hay que comprobar por los medios químicos apropiados que la potasa y el nitrato de potasa utilizados no contienen azufre ni fósforo); se calienta esta mezcla hasta fusión en una cápsula de platino o de plata y se mantiene a la temperatura de fusión hasta desaparición total del carbón. Después de enfriada la masa fundida, se disuelve por el agua y en la solución acuosa se buscan ora los sulfatos, ora los fosfatos.

2.° El segundo método se funda en la propiedad que posee el ácido nítrico de engendrar, a una temperatura elevada, y a expensas de substancias orgánicas sulfuradas o fosforadas, ácido sulfúrico o fosfórico, fáciles de evidenciar por sus reacciones clásicas.

Prácticamente, si la substancia es líquida o disuelta, se trata por el ácido nítrico fumante en tubo cerrado a la lámpara y se calienta a una temperatura de 150 a 200° durante algunas horas (1). Abierto el tubo después de enfriado, se investigan, en el líquido que contiene, los ácidos sulfúrico y fosfórico. Para esto se neutraliza el líquido por la adición de una cantidad conveniente de potasa o sosa cáusticas (comprobar la neutralidad con el papel de tornasol) y se caracterizan en el líquido el sulfato y el fosfato por sus reacciones clásicas.

I.—AGUA

Todos los líquidos y tejidos del organismo contienen agua, materias minerales y materias orgánicas.

Cualquier líquido o tejido del organismo, sometido a la acción de temperatura elevada, ora inferior, ora superior a 100°, pero próxima a ellos, desprende vapor de agua en cantidad mayor o menor. Sometida a la acción de una temperatura más elevada, la materia animal se descompone: se transforma en

(1) Importa, para evitar todo accidente, que el tubo de vidrio cerrado se introduzca en el aparato llamado cañón de fusil, para ser elevado a esta temperatura. Este procedimiento es de laboratorio de química.

masa negruzca, generalmente porosa, principalmente constituída por carbón. Por último, a temperatura más elevada todavía, próxima a la del rojo obscuro, el residuo de la carbonización se quema: el carbón da gas carbónico, y queda un residuo blanco grisáceo de naturaleza mineral: son las cenizas. Se pueden, pues, considerar tres estadios de transformación de

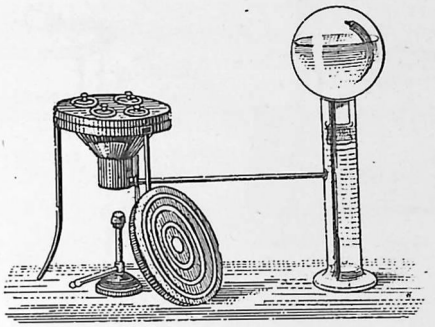


Fig. 2. — Baño de María de nivel constante.

las substancias del organismo, por la influencia del calor creciente: *desecación*, *carbonización* e *incineración*.

a) *Desecación y residuo seco*

Según la desecación se haga a una temperatura más o menos elevada, la cantidad de vapor de agua desprendida puede ser mayor o menor: en efecto, este vapor de agua proviene, no solamente del agua contenida en estado libre en los tejidos, sino también del resultado de la descomposición de ciertas materias orgánicas de los tejidos, por la influencia del calor. Ahora bien, se concibe fácilmente que un cuerpo puede ser descompuesto y, por consiguiente, puede desprender vapor de agua a 120°, sin ser descompuesto y, por lo tanto, sin desprender vapor de agua, a 100, 105 ó 110°. La expresión *desecación* debe, pues, ser precisada por la indicación de la *temperatura de desecación*: desecación a 120°, por ejemplo.

La proporción de agua contenida en los tejidos del organismo es variable; pero siempre es considerable, excediendo en

general de 60 por 100 del tejido fresco. El cuerpo de un hombre de 75 kilogramos está formado aproximadamente de 48 kilogra-

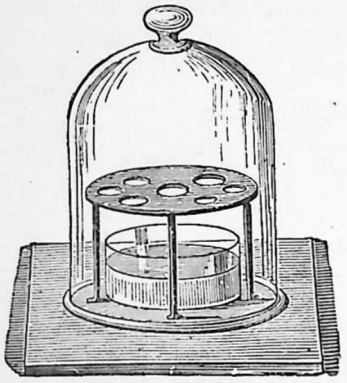


Fig. 3. — Campana para desecación sobre ácido sulfúrico.



Fig. 4. — Pequeño desecador de ácido sulfúrico.

mos de agua y de 27 kilogramos de residuo seco, lo que corresponde al 64 por 100 de agua y 36 por 100 de residuo seco.

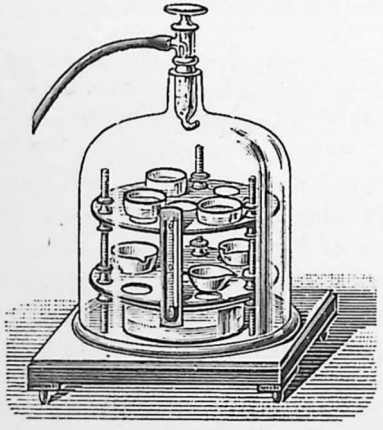


Fig. 5. — Gran desecador por el vacío



Fig. 6. — Pequeño desecador

La *desecación* de los líquidos y de los tejidos del organismo que acostumbran hacer los fisiólogos, es una desecación a 105 ó a 110°. Esta desecación se hace siempre en varios tiempos. Si la materia estudiada es líquida, se evapora a sequedad al baño de María hirviente (1); si esta materia es sólida se deseca al baño de María hirviente. La materia se seca en seguida a la estufa de aire a 110° (2), hasta que su peso queda constante, lo cual se ha logrado cuando una permanencia complementaria de algunas horas (6 horas, por ejemplo) en la estufa no determina ya disminución de peso. Conviene, antes de pesar el residuo, dejarlo enfriar en un secador de ácido sulfúrico para evitar cualquier absorción de vapor de agua atmosférica por este residuo, que a menudo es muy higroscópico, es decir, capaz de absorber el

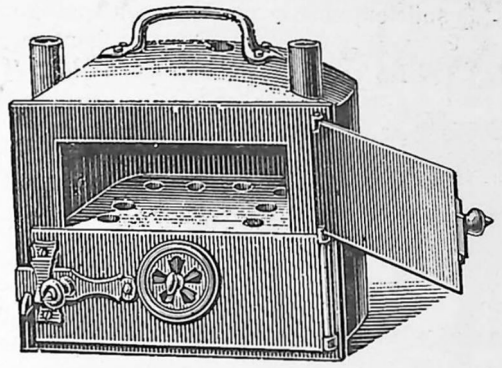


Fig. 7. — Estufa de desecación.

vapor de agua. El residuo así obtenido se denomina *residuo seco*. Se debe pesarlo al aire con una balanza encerrada en una caja de cristal, en la que se mantiene el aire seco por medio del cloruro de calcio, para evitar toda absorción de vapor de agua durante la pesada.

b) *Carbonización e incineración*

El término *carbonización* no tiene significación precisa: se dice en general que una substancia se carboniza cuando, reducida por la acción de una temperatura creciente, a una masa

(1) Los fisiólogos pueden utilizar cualquier baño de María; suelen, para mayor comodidad, emplear un baño de María de nivel constante. Conviene observar que el baño de María hirviente no hace hervir el líquido acuoso sometido a su acción: no eleva la temperatura a más de 96-98°. Calentar al baño de María hirviente es, pues, evaporar sin hacer hervir.

(2) Es ventajoso substituir las estufas de aire por estufas de aceite o glicerina, provistas de reguladores de temperatura, porque la constancia de ésta es más fácil de obtener con las segundas que con las primeras. El aceite y la glicerina soportan la temperatura de 110 ó 120° sin experimentar cambio de estado físico o descomposición química.

carbonosa negra y seca, no desprende ya, por la influencia del calor, vapores condensables, como son los hidrocarburos, es decir, vapores que pueden ser vueltos al estado sólido o líquido por enfriamiento. La temperatura de carbonización varía mucho de una substancia orgánica a otra, de un tejido a otro. La carbonización es un estudio por el cual pasan las materias animales sometidas a la acción del calor creciente, pero este estadio nada tiene bastan importante y sobre todo suficientemente preciso para que convenga interesarse por él en química fisiológica.

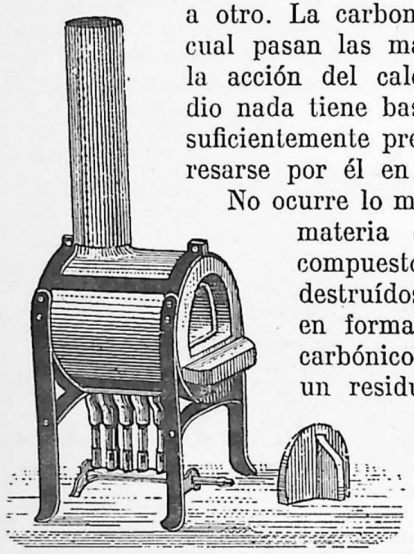


Fig. 8. — Horno de incineración de las materias orgánicas.

No ocurre lo mismo con la *incineración*. Una materia está incinerada cuando sus compuestos orgánicos están totalmente destruídos por el calor y eliminados en forma de gases o vapores (ácido carbónico, agua, etc.), y sólo queda ya un residuo mineral. Basta, en general, calentar la materia orgánica al rojo naciente para obtener una incineración perfecta.

La *incineración* debe hacerse en varios tiempos. Supongamos que la materia que se incinera haya sido desecada a 110°. Esta materia, introducida en una cápsula de platino o en un crisol de porcelana (1), se calienta poco a poco hasta la temperatura del rojo naciente, y se mantiene en esta temperatura hasta que se desprendan vapores; elevando con lentitud extrema la temperatura, se ha evitado la espuma, o las proyecciones, que provocarían un desprendimiento demasiado rápido de los gases resultantes de la descomposición de la materia orgánica. Al rojo naciente, la materia se carboniza, no está verdaderamente incinerada. Para ultimar la incineración convendría elevar todavía notablemente la temperatura; pero al proceder así se fundiría primero, luego se volatilizaría una parte de las sales alcalinas, especialmente los cloruros alcalinos, contenidos en el residuo de carbonización. Ahora bien, las sales fundidas, sobre todo si son algo abundantes, podrían englobar una parte del carbón y substraerlo así

(1) La capacidad de la cápsula y del crisol debe representar por lo menos 6 veces el volumen de la materia que se incinera, para que el aumento posible debido al desprendimiento del vapor de agua todavía fijado en la materia, o de los gases producidos en la destrucción de esta materia, no haga desbordar la masa.

a la combustión que nos proponemos realizar. Es sabido, además, que si los cloruros alcalinos no son sensiblemente volátiles al rojo naciente, son volátiles a una temperatura algo superior. Conviene, pues, agotar con el agua el residuo de la carbonización antes de exceder el rojo naciente, para disolver las sales fusibles o volátiles que contenga. Para esto se tritura la materia carbonosa en el crisol con una pequeña cantidad de agua, luego se lixivia con agua hirviendo; los líquidos, separados del carbón por filtración sobre un filtro sin cenizas, constituyen

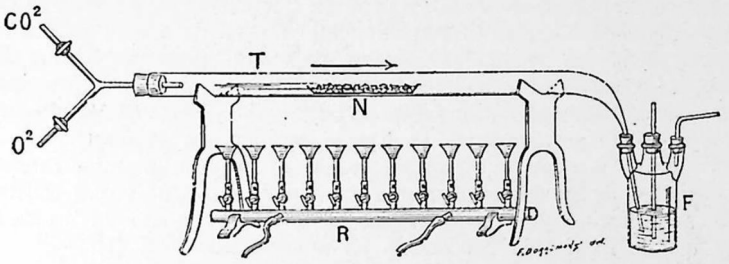


Fig. 9. — Aparato de incineración en una corriente de ácido carbónico y oxígeno. — T, tubo de vidrio que contiene el platillo de platino N, en el que hay la substancia que se debe incinerar. — R, fila de mecheros de gas. — CO^2, tubo de llegada del ácido carbónico. — O^2, tubo de llegada del oxígeno. — F, frasco lavador.

el extracto acuoso. Este extracto acuoso del residuo de carbonización contiene una parte de las substancias minerales de la materia analizada, pero sólo una parte; al evaporarla se obtiene un residuo mineral *a*.

El residuo de la calcinación agotado por el agua no contiene ya sales fusibles y volátiles: se puede entonces (después de haber desecado sucesivamente a 100° al baño de María hirviente y a 110° a la estufa de glicerina) incinerarlo sin inconveniente, elevando su temperatura hasta que haya desaparecido todo vestigio de carbón. Queda un segundo residuo salino *b*. Reuniendo los residuos salinos *a* y *b* se obtiene la totalidad de las cenizas de la substancia estudiada (1).

Cuando se practica la incineración en una cápsula o en un crisol de platino o de porcelana es difícil, a menudo, obtener cenizas absolutamente blancas, es decir, absolutamente desembarazadas de carbón. Se obtienen resultados mejores y más rápidos practicando la incineración

(1) Es posible que en esta incineración, una parte de las materias minerales se reduzca por el carbón a la temperatura del rojo: por ejemplo, los sulfatos pueden ser vueltos al estado de sulfuros, etc.; por consiguiente, es útil en ciertos casos, una vez terminada la incineración, añadir al residuo una pequeña cantidad de ácido nítrico, agente oxidante, y calcinar de nuevo para expulsar el exceso de ácido nítrico; las materias reducidas han sido reoxidadas por este tratamiento. Notemos que en este tratamiento por el ácido nítrico, los carbonatos de las cenizas son transformados en nitratos, y que estos últimos son, por la nueva calcinación, transformados en óxidos o en nitritos.

en una atmósfera de oxígeno. Para esto, habiendo carbonizado la materia a la menor temperatura posible, luego de lixiviada como se ha dicho antes, se coloca el carbón residuo en un platillo de platino y se introduce éste en un tubo de vidrio verde poco fusible, que se puede calentar intensamente por un mechero de gas. Por uno de sus extremos, este tubo de vidrio comunica con dos gasómetros, uno que contiene ácido carbónico y otro oxígeno; su otro extremo afilado se sumerge en el agua de un frasco lavador. Lleno el aparato de ácido carbónico, se calientan suave y progresivamente el tubo y el platillo que contiene, luego se hace penetrar lentamente el oxígeno; la calcinación se produce entonces progresiva, regular y completamente, con tal de que se gradúe razonablemente la llegada de oxígeno, dejándose guiar por la intensidad de la reacción, deteniendo la llegada del oxígeno y, en caso necesario, haciendo pasar ácido carbónico si la reacción se presenta súbita e inesperadamente. El frasco elevador, en el que vienen a burbujear los gases que han atravesado el aparato, permite conocer la rapidez de su desprendimiento y retener los cloruros que podrían ser volatilizados y arrastrados por la corriente gaseosa en los casos en que la lixiviación del carbón no hubiese sido total (1).

Una vez obtenidas las cenizas, se pesan generalmente; se admite que el peso de las cenizas es el peso de las *materias minerales* contenidas en el tejido o en el líquido orgánico examinados, lo que sólo aproximadamente es exacto, pues una parte de las materias contenidas en las cenizas, especialmente una parte del fósforo y del azufre, no se encontraban en forma mineral, sino que tomaban parte, en el tejido, en la constitución de materias orgánicas, como nucleínas, lecitinas, albúminas.

Restando del peso de la materia desecada el peso de las cenizas que ha suministrado, se obtiene el peso de las *materias orgánicas*; este peso es también aproximado, dado el error cometido en la determinación de las materias minerales.

II.—CENIZAS

Las cenizas obtenidas pueden contener *cloruros*, *sulfatos*, *fosfatos*, *carbonatos*, sales de *potasio*, de *sodio*, de *calcio*, de *magnesio* y de *hierro*.

(1) Con el fin de asegurar de un modo más perfecto la absorción de los cloruros volatilizados y arrastrados por la corriente gaseosa en el agua del frasco lavador, se recomienda afilar el tubo de llegada: las ampollas de gas que burbujean en el agua son pequeñas y el contacto es, por consiguiente, más íntimo entre el gas y el agua.

Pasemos rápida revista a las propiedades de estas sales que tendremos necesidad de conocer.

a) Cloruros

Los *cloruros alcalinos* y *alcalinotérreos* son sales muy solubles en el agua. El agua disuelve a 15° el 36 por 100; a 100°, el 40 por 100 de cloruro de sodio; disuelve a 15° el 33 por 100; a 100°, el 60 por 100 de cloruro de potasio. Los cloruros de sodio y de potasio son insolubles en el alcohol absoluto; en el alcohol diluído se disuelven tanto más cuanto menor es la proporción de alcohol. Los cloruros alcalinotérreos son volátiles al rojo intenso; los cloruros alcalinos son ya volátiles al rojo obscuro; por consiguiente, como hemos dicho antes, si se quiere obtener la totalidad de las materias minerales contenidas en un tejido o en un líquido del organismo, debe carbonizarse la materia al rojo naciente y desembarazarla por lixiviación de sus cloruros antes de ser llevada al rojo obscuro y *a fortiori* al rojo intenso, al que es necesario llegar para obtener una incineración completa (véase antes, página 8).

Los cloruros solubles en el agua son precipitados de su solución acuosa acidulada ligeramente (1 por 100 aproximadamente de ácido nítrico) por una solución acuosa de nitrato de plata, en estado de cloruro de plata insoluble en el agua acidulada por el ácido nítrico. El precipitado de cloruro de plata producido tiene la propiedad de ennegrecerse a la luz, especialmente a la del día. Es insoluble en el ácido nítrico a toda concentración; es fácil y abundantemente soluble en el amoníaco.

Para *dosificar los cloruros* contenidos en cenizas (1) se agotan éstas por el agua hirviendo; como los cloruros alcalinos y alcalinotérreos son solubles en el agua, el extracto acuoso de las cenizas contiene la tota-

(1) Durante la incineración de los tejidos del organismo, es posible que una parte de los cloruros que contienen sea descompuesta (acción de ácido fosfórico o de fosfatos ácidos), y que el ácido clorhídrico resultante de esta descomposición sea expulsado y perdido para el análisis. Importa, pues, cuando se quiera encontrar en las cenizas la totalidad del cloro contenido en un tejido o en un líquido del organismo, tomar disposiciones para evitar toda pérdida de ácido clorhídrico: se mezcla para esto a la materia, antes de la carbonización (o mejor aún a la materia a analizar antes de la desecación, para que la mezcla sea más homogénea), un exceso de carbonato de sosa o de carbonato de cal puro (es decir, que no contenga cloruro) que retienen el ácido clorhídrico en estado de cloruro de sodio o de cloruro de calcio (por ejemplo a 200 centímetros cúbicos de leche, cuya riqueza en cloruros deseamos conocer, se añaden, antes de desecación, 5 decigramos de carbonato de sosa o de carbonato de cal).

lidad de los cloruros (1). Se acidula este extracto por el ácido nítrico (se desprende ácido carbónico si las cenizas contienen carbonatos) y se añade una solución de nitrato de plata al 10 por 100 en tanto se forma precipitado. Cuando la adición de la sal de plata no enturbia el líquido, en cuyo fondo se ha depositado rápidamente el precipitado formado precedentemente, la totalidad del cloro de los cloruros de la solución se ha precipitado. Por otra parte, únicamente se han precipitado los cloruros, pues ni el carbonato de plata, ni el fosfato de plata, ni el sulfato de plata, son solubles en los líquidos acuosos acidulados por el ácido nítrico (2). Se vierte entonces el precipitado en un filtro sin cenizas (3) y se le lava con agua hirviendo para quitar el exceso de nitrato de plata, hasta que las aguas de lavado no contengan sales de plata, lo que se conoce en que estas aguas no precipitan y no se enturbian ya por la adición de algunas gotas de una solución acuosa de cloruro de sodio. El filtro (que debe ser un filtro sin cenizas) y el precipitado que conserva se desecan a la estufa según los preceptos que hemos indicado anteriormente, y luego se calcinan al rojo en un crisol de porcelana. En esta calcinación, una parte del cloruro de plata puede haberse descompuesto por el carbón del filtro y vuelto al estado de plata metálica. Conviene, pues, una vez terminada la calcinación y enfriado el crisol, añadir al residuo de la calcinación una gota de ácido nítrico, que transforma la plata metálica en nitrato de plata, y una gota de ácido clorhídrico, que precipita, en estado de cloruro de plata, la plata así disuelta. Una nueva calcinación arroja el exceso de ácido nítrico y de ácido clorhídrico. Sólo queda cloruro de plata AgCl, que se pesa después de enfriado en un secador de ácido sulfúrico. Conocido el peso de cloruro de plata, se deducen los pesos correspondientes de cloro (1 gramo de AgCl contiene 0,24729 gramos de Cl). Este cloro es el cloro de los cloruros contenidos en las cenizas analizadas.

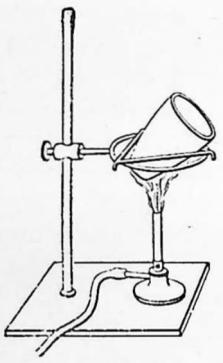


Fig. 10. — Crisol de calcinación.

(1) Se debe comprobar, naturalmente, que el agotamiento ha sido completo: para esto se comprueba que el agua de lavado acidulada por el ácido nítrico no precipita ya y no se enturbia cuando se le añade nitrato de plata.

(2) En cuanto a los carbonatos, no es posible tratarlos aquí, puesto que el extracto de las cenizas ha sido acidulado por el ácido nítrico, que ha transformado los carbonatos en nitratos.

(3) Se denominan *filtros sin cenizas* aquellos que han sido desembarazados de la casi totalidad de las materias minerales que contienen los filtros de papel por lavados repetidos con ácido clorhídrico diluído, ácido fluorhídrico diluído y agua destilada. Existen tales filtros en el comercio, que sólo contienen una cantidad despreciable de materias minerales y por la incineración sólo dan un residuo salino sin importancia. Por lo demás, puede tenerse en cuenta este residuo salino determinando su cantidad en una muestra de filtro.

Este método es aplicable a todas las determinaciones de cloruros en química fisiológica. Indicaremos, al estudiar la orina, dos procedimientos menos rigurosamente exactos, pero de ejecución más rápida, que permiten dosificar volumétricamente el cloro contenido en estado de cloruros metálicos en un líquido del organismo.

b) *Fosfatos*

Los *fosfatos* de las cenizas de las substancias animales son ortofosfatos, es decir, compuestos que corresponden a la fórmula general PO^4R^3, en la cual R designa el metal monovalente.

El ácido fosfórico triatómico da tres series de ortofosfatos:

Las sales trimetálicas PO^4M^3 o $(PO^4)^2D^3$ o $(PO^4)^3T^3$.
Las sales dimetálicas PO^4HM^2 o $(PO^4H)^2D^2$ o $(PO^4H)^3T^2$.
Las sales monometálicas PO^4H^2M o $(PO^4H^2)^2D$ o $(PO^4H^2)^3T$.

M representa un átomo de metal monovalente, como el sodio; D representa un átomo de metal divalente, como el calcio; T representa un átomo de metal trivalente, como el hierro.

Los ortofosfatos de álcalis trimetálicos se denominan también fosfatos básicos; los ortofosfatos de álcalis dimetálicos, fosfatos neutros; los ortofosfatos de álcalis monometálicos, fosfatos ácidos, porque los primeros son alcalinos, los segundos son neutros y, los últimos, ácidos a la fenolftaleína.

La reacción de los fosfatos de álcalis puede también variar según la naturaleza del reactivo indicador empleado. En el cuadro siguiente se han anotado las reacciones presentadas por los fosfatos de sosa en presencia de tres reactivos colorados.

	FTALEÍNA	TORNASOL	ANARANJADO
Fosfato monosódico..	ácido	ácido	neutro
» disódico..	neutro (1)	alcalino	alcalino
» trisódico	alcalino	alcalino	alcalino

Es, pues, necesario notar el reactivo indicador empleado cada vez que se hable de la reacción de un líquido o de un cuerpo en química fisiológica.

(1) Sería más rigurosamente exacto decir que el fosfato monosódico es muy débilmente alcalino a la fenolftaleína; pero su alcalinidad se manifiesta infinitamente menos perfecta con este reactivo que con el tornasol y el anaranjado; de tal suerte, que la indicación del cuadro conserva en realidad todo su valor.

Los ortofosfatos alcalinotérreos tribásicos se denominan fosfatos neutros; los ortofosfatos alcalinotérreos bibásicos o monobásicos se llaman fosfatos ácidos. Presentan, en efecto, los primeros una reacción neutra; los segundos y los terceros, una reacción ácida, en presencia de uno cualquiera de los tres indicadores: tornasol, ftaleína, anaranjado.

Conviene recordar estas denominaciones, pues, como se ve, el término *fosfato neutro* no representa compuestos químicamente análogos en la serie de las sales de álcalis y en la serie de las sales alcalinotérreas: los fosfatos trimetálicos son básicos en la serie de las sales de álcalis y en la serie de las sales alcalinotérreas; los fosfatos dimetálicos son neutros en la serie de las sales álcalis; son ácidos en la serie de las sales alcalinotérreas.

Cuando la materia incinerada tiene una reacción neutra a la ftaleína, cuando las mismas cenizas son neutras a la ftaleína, los fosfatos contenidos en estas cenizas son ortofosfatos alcalinotérreos trimetálicos y ortofosfatos de álcalis dimetálicos.

Cuando la materia incinerada, o las cenizas, son ácidas a la ftaleína o al tornasol, los fosfatos de las cenizas son fosfatos alcalinotérreos dimetálicos y fosfatos de álcalis monometálicos.

Todo fosfato trimetálico en presencia de un ácido, aun en presencia de ácido carbónico, se transforma total o parcialmente, según la naturaleza y la cantidad del ácido empleado, en fosfato dimetálico o monometálico y sal del ácido empleado. Inversamente, todo fosfato monometálico o dimetálico, en presencia de álcalis o de carbonatos alcalinos, se transforma total o parcialmente, según la naturaleza y la cantidad del álcali empleado, en fosfato dimetálico o trimetálico.

Estamos, pues, autorizados para decir que los fosfatos son substancias eminentemente instables por ser transformables por el simple cambio de reacción del medio.

Los fosfatos de álcalis son solubles en el agua e insolubles en el alcohol.

Cuando se calienta a 100° una solución que contenga fosfatos monometálicos de álcalis y ácido clorhídrico, una parte de este ácido es retenida por el líquido: en estas condiciones, en efecto, se produce un poco de cloruros alcalinos, al mismo tiempo que una cantidad equivalente de ácido fosfórico es puesta en libertad. Lo mismo se produce si se calienta a una temperatura superior a 100° una masa que contenga un fosfato monometálico de álcali y materias orgánicas cloradas descomponibles capaces de dar un desprendimiento de ácido clorhídrico: como una parte del ácido proviene de la descomposición de estas substancias, forma, a expensas del fosfato monometálico de álcali, un cloruro alcalino y pone una cantidad equivalente de ácido fosfórico en libertad. Esta noción tendrá su aplicación en el estudio de las combinaciones ácidas del contenido gástrico.

El fosfato tricálcico $(PO^4)^2Ca^3$ es insoluble en el agua e insoluble en el alcohol. El fosfato dicálcico $(PO^4H)^2Ca^2$ es algo soluble en el agua, insoluble en el alcohol.

Por consiguiente, si se pone en suspensión en el agua fosfato tricálcico y se hace pasar una corriente de gas carbónico, se logrará disolver una parte del fosfato tricálcico: por el gas carbónico este fosfato se descompone en fosfato dicálcico, algo soluble en el agua, y en bicarbonato de cal, igualmente algo soluble en el agua. Se ha denominado algunas veces a la substancia que así se disuelve *fosfocarbonato de cal*: no es una sal químicamente definida, es una mezcla de fosfato dicálcico y de bicarbonato de cal. A la temperatura de ebullición, el bicarbonato de cal se descompone en gas carbónico, que se desprende, y carbonato de cal; el carbonato de cal, en presencia de fosfato dicálcico, se descompone: el gas carbónico se pone en libertad y la cal se combina con el fosfato dicálcico para reconstituir el fosfato tricálcico.

El fosfato tricálcico es insoluble en el agua, pero se disuelve en el agua acidulada por el ácido clorhídrico o por el ácido acético. En efecto, por la influencia de estos ácidos se descompone en fosfato dicálcico algo soluble y cloruro o acetato de calcio solubles. El fosfato tricálcico no es, pues, verdadera y directamente soluble en el agua acidulada; se transforma por el agua acidulada, y los productos de su transformación son solubles en el agua acidulada.

Cuando se calienta al rojo una mezcla de fosfato dicálcico y de cloruros de álcalis, el fosfato dicálcico descompone parcialmente los cloruros: se produce un fosfato tricálcico y es puesto en libertad el ácido clorhídrico. Esta noción tendrá su aplicación en el estudio del contenido gástrico.

Las cenizas de los tejidos y de los líquidos del organismo contienen algunos fosfatos de hierro PO^4Fe. Esta sal es insoluble en el agua, como el fosfato tricálcico; insoluble en el ácido acético, lo que permite separarla del fosfato tricálcico; pero soluble, como este último, en el ácido clorhídrico.

Los fosfatos solubles son precipitados de sus soluciones por una solución ácida de molibdato de amoníaco o por una solución amoniacal de sales de magnesia.

Cuando se trata una solución de un fosfato soluble, acidulada por el ácido nítrico, por un exceso de una solución de molibdato de amoníaco, se forma muy lentamente en frío, más rápidamente en caliente, un precipitado fino amarillento de fosfomolibdato, insoluble en el ácido nítrico, pero soluble en los álcalis: de ahí la necesidad de hacer la precipitación en un licor ácido, nítrico, por ejemplo. Este precipitado no puede ser desecado sin descomponerse; por consiguiente, no puede permitir dosificar en peso el ácido fosfórico contenido en una solución, pero permite fácilmente reconocer la presencia de fosfatos.

Cuando se añade a una solución de fosfato soluble una solución que contenga clorhidrato de amoníaco, amoníaco y cloruro de magnesio, se forma, en frío, un precipitado blanco cristalino de fosfato amónicomagnesiano, insoluble en el amoníaco, pero soluble en los ácidos: de ahí la necesidad de hacer la precipitación en un medio amoniacal. Los fosfatos son las únicas sales contenidas en las cenizas de los tejidos animales que se precipitan en estas condiciones; por otra parte, su precipitación es total si la cantidad de solución amónicomagnesiana añadida es suficiente. Se tiene, pues, un medio de dosificar los fosfatos de las cenizas.

Las cenizas se disuelven calentando ligeramente y sin llegar a la ebullición, en agua acidulada débilmente (a medio por 100, por ejemplo) por el ácido clorhídrico, y la solución es precipitada en frío por adición de una solución que contenga clorhidrato de amoníaco en exceso y cloruro de magnesio (1), que se añade en exceso; se vierte, pues, por pequeñas porciones esta solución en tanto se forma precipitado, y en cuanto deja de formarse, se añade todavía un poco de esta solución. Se echa el precipitado en un filtro, se lava con agua amoniacal obtenida mezclando 1 volumen de una solución fuerte de amoníaco y 2 volúmenes de agua destilada), se deseca, calcina y pesa. Por la calcinación el fosfato amónicomagnesiano PO^4MgNH^4 se descompone en agua, amoníaco y pirofosfato de magnesia $P^2O^7Mg^2$. Sabiendo que un gramo de pirofosfato de magnesia corresponde a 0,86485 gramos de

(1) Para preparar este licor se pueden añadir, a 500 centímetros cúbicos de agua destilada, 120 centímetros cúbicos de ácido clorhídrico concentrado; luego, a pequeñas porciones, 50 gramos de carbonato de magnesia pulverizado, después 100 gramos de clorhidrato de amoníaco, luego 100 centímetros cúbicos de una solución fuerte de amoníaco, y completar a 1 litro por adición de agua destilada.

ácido fosfórico PO^4H^3 o a 0,71171 PO^3 gramos se puede, conociendo el peso del pirofosfato obtenido, calcular el peso del ácido fosfórico contenido en las cenizas.

Indicaremos, al estudiar la orina, un procedimiento volumétrico de dosificación de los fosfatos disueltos.

c) *Sulfatos*

Los *sulfatos* contenidos en las cenizas animales son sulfatos de potasio, de sodio, de cal, de magnesia.

Es sabido que existen dos series de sulfatos alcalinos: los sulfatos neutros como el SO^4Na^2 y los sulfatos ácidos o bisulfatos como el SO^4HNa. En las cenizas de las substancias animales se encuentran los sulfatos neutros.

Todos los sulfatos de las cenizas son solubles en el agua: los sulfatos de potasa, de sodio y de magnesia son muy solubles en el agua; el sulfato de cal es menos soluble: el agua a la temperatura ordinaria disuelve 0,25 por 100. Todos estos sulfatos son insolubles en el alcohol.

Los sulfatos no son volátiles: por consiguiente, cuando nos proponemos determinar los sulfatos de las cenizas de una materia animal, se puede incinerar francamente al rojo intenso: no hay pérdidas de sulfatos por volatilización.

Pero los sulfatos de las cenizas, al rojo, se reducen por el carbón al estado de sulfuros. Por consiguiente, cuando se ha incinerado una materia animal conviene añadir a las cenizas una gota de ácido nítrico para volver los sulfuros, que se han podido engendrar durante la incineración, al estado de sulfatos y calcinar de nuevo para arrojar el exceso de ácido nítrico.

Las soluciones acuosas de los sulfatos solubles, tratadas por el cloruro de bario, dan un precipitado de sulfato de bario absolutamente insoluble en el agua destilada o en el agua acidulada por el ácido acético o por el ácido clorhídrico. El precipitado de sulfato de bario, en el momento de su formación, es extremadamente fino y pasa a través de los filtros, pero se aglomera con bastante rapidez en caliente, de modo que puede ser retenido fácilmente por estos mismos filtros de papel. Es necesario, pues, antes de echarlo sobre un filtro, llevar al baño de María hirviente (hasta que la aglomeración del precipitado sea suficiente) el líquido que tiene en suspensión el precipitado de sulfato de bario.

Para dosificar los sulfatos disueltos en un extracto acuoso de cenizas animales, se acidula ligeramente (sin exceder de 1/2 por 100) esta

solución por el ácido acético o por el ácido clorhídrico (lo que da lugar a un desprendimiento de gas carbónico, si hay carbonatos presentes, como ocurre generalmente), teniendo cuidado de añadir el ácido a pequeñas fracciones para evitar toda efervescencia y pérdida de materia; luego se añade un exceso de una solución de cloruro de bario, es decir, una cantidad más que suficiente para precipitar la totalidad de los sulfatos presentes en el líquido. La solución, en la cual el precipitado de sulfato de barita se halla en suspensión, se mantiene durante una hora o dos en el baño de María hirviente para que el precipitado se reúna en el fondo del vaso en una masa granujienta, fácilmente separable por filtración. Se comprueba que el licor no precipita ya por el cloruro de bario, es decir, no contiene ya sulfatos no precipitados. Se echa el precipitado en un filtro sin cenizas; se lava con agua acidulada por el ácido acético o por el ácido clorhídrico (por ejemplo, agua acidulada al uno por mil), luego con agua destilada hirviendo, y se calcina el filtro y el precipitado que lleva. Durante esta calcinación puede haberse producido una reducción parcial del sulfato de bario al estado de sulfuro por el carbón de filtro. Conviene, pues, terminada la calcinación, añadir una gota de ácido nítrico para transformar el sulfuro en sulfato y calcinar de nuevo para arrojar el exceso de ácido nítrico. Sólo falta pesar el sulfato de bario calcinado y calcular el peso correspondiente de ácido sulfúrico, cálculo que es fácil: 1 gramo de sulfato de bario corresponde a 0,4205 gramos de ácido sulfúrico SO^4H^2 o a 0,3433 gramos de anhídrido sulfúrico SO^3.

d) ***Carbonatos***

Los *carbonatos* se encuentran en pequeña cantidad en las cenizas: son carbonatos alcalinos.

Existen, como es sabido, dos series de carbonatos: los *carbonatos neutros*, que corresponden a la fórmula CO^3X^2 o CO^3Y, en las que X representa un metal monovalente como el sodio; Y, un metal divalente como el calcio, y los *bicarbonatos* corresponden a la fórmula CO^3HX o $(CO^3)^2H^2Y$.

Los carbonatos y los bicarbonatos de álcalis son solubles en el agua e insolubles en el alcohol; los carbonatos alcalinotérreos son insolubles en agua e insolubles en alcohol; los bicarbonatos alcalinotérreos son algo solubles en el agua e insolubles en el alcohol.

Si se hace pasar una corriente de gas carbónico por una solución de un carbonato alcalino, se transforma esta sal en bicarbonato. Si se hace pasar una corriente de gas carbónico por una solución que tenga una suspensión de carbonato de cal, cambia esta sal en bicarbonato de cal algo soluble en el agua.

Inversamente, calcinando los bicarbonatos alcalinos, se los descompone en carbonatos neutros, agua y gas carbónico. Si se hace hervir una solución acuosa de un bicarbonato alcalinotérreo, bicarbonato de cal, por ejemplo, se descompone la sal en agua, gas carbónico, que se desprende, y carbonato, que se precipita, pues es insoluble en el agua. Las cenizas obtenidas por calcinación de las materias orgánicas no pueden, pues, contener bicarbonatos.

Los carbonatos alcalinos no se descomponen al rojo; los carbonatos de cal y de magnesia son, por el contrario, descompuestos al rojo en óxido metálico, cal y magnesia cáusticas, por una parte, y gas carbónico por otra. Por consiguiente, las cenizas obtenidas por calcinación de las materias animales pueden no contener carbonatos alcalinotérreos si la calcinación se ha hecho a temperatura elevada, y contener, en su lugar, una pequeña cantidad de cal o de magnesia procedentes de su descomposición.

Los carbonatos de álcalis son los únicos carbonatos de las cenizas obtenidas al rojo. Siendo estas sales solubles en el agua, el extracto acuoso de las cenizas contiene la totalidad de los carbonatos de las mismas, pero no la totalidad de los carbonatos que podrían existir en la substancia analizada, por lo menos en estado de tales, pues una parte ha podido ser destruída por el calor y otra parte ha podido ser descompuesta por un ácido, en el caso en que la reacción no ha quedado alcalina o neutra durante todo el tiempo de la incineración.

La dosificación de los carbonatos de las cenizas consiste esencialmente en poner en libertad el gas carbónico de estos carbonatos por un ácido y en determinar, ora en volumen, ora en peso, la cantidad de gas carbónico desprendida (1).

e) ***Bases***

Las cenizas contienen siempre *sales de potasio, de sodio, de cal, de magnesia* y, algunas veces, *sales de hierro.*

Al estudiar los cloruros, sulfatos, fosfatos y carbonatos,

(1) La dosificación en volumen consiste esencialmente en recoger los gases del recinto en donde se ha hecho la descomposición y en determinar la disminución de volumen que se observa en los gases recogidos, en presencia de una solución de potasa cáustica. La dosificación en peso consiste esencialmente en hacer pasar los gases del recinto en que se ha hecho la descomposición a tubos absorbentes con potasa cáustica, y en determinar el aumento de peso de estos tubos.

hemos revistado las sales alcalinas y alcalinotérreas de las cenizas. Ahora indicaremos las particularidades siguientes:

Las *sales de cal* solubles en el agua son totalmente precipitadas en su solución acuosa por un exceso de solución acuosa saturada (30 por 100, aproximadamente) de oxalato de amoníaco; el precipitado de oxalato cálcico es insoluble en el agua, insoluble en el agua acidulada por el ácido acético, soluble en el agua acidulada por el ácido clorhídrico (formación de cloruro de calcio soluble en el agua y liberación de ácido oxálico igualmente soluble en el agua); calcinado, da primero carbonato de cal, y luego, si la temperatura es suficiente (al rojo blanco), cal CaO.

Las *sales de magnesia* solubles son precipitadas de sus soluciones por adición (añadido en exceso) de amoníaco y de fosfato de sosa al estado de fosfato amónico magnesiano, insoluble en el agua amoniacal.

Por consiguiente, en la solución clorhídrica de las cenizas, alcalinizada por el amoníaco, las sales de cal serán separadas en estado de oxalato cálcico por adición de una solución acuosa saturada de oxalato amónico añadida en gran exceso; en la solución clorhídrica de las cenizas, hecha alcalina por adición de amoníaco y desembarazada de las sales de cal por el oxalato de amoníaco, las sales de magnesia serán separadas, en estado de fosfato amónicomagnesiano, por adición de clorhidrato de amoníaco (1), de amoníaco en exceso y fosfato de sosa. Por calcinación del oxalato cálcico al rojo intenso se obtiene cal CaO, que se pesa, lo que permite conocer la cantidad de calcio contenida en el extracto clorhídrico de las cenizas. Por calcinación al rojo intenso del fosfato amoníacomagnesiano se obtiene pirofosfato de magnesia $P^2O^7Mg^2$, que se pesa, lo que permite conocer la cantidad de magnesio contenida en el extracto clorhídrico de las cenizas (2).

Las cenizas pueden contener *óxido férrico* o *fosfato de hierro*, insolubles en el agua acidulada por el ácido clorhídrico.

Se reconoce en un extracto clorhídrico de las cenizas la

(1) La adición de clorhidrato de amoníaco tiene por objeto impedir que el amoníaco añadido precipite la magnesia en forma de hidrato de magnesia.

(2) Es inútil dar aquí los detalles prácticos del análisis cualitativo y cuantitativo de las bases alcalinotérreas. En caso necesario, se encontrarán expuestas en los tratados de química analítica. Basta recordar los principios de los métodos. Se consultarán estas mismas obras para lo concerniente a la separación y dosificación de los métodos alcalinotérreos, operaciones largas, delicadas, que sólo por excepción realiza el biólogo.

presencia de una sal de hierro por medio de las reacciones siguientes: 1.°, la potasa o el amoníaco determinan la formación de un precipitado, en copos de color rojo pardo de hidrato de hierro; 2.°, el ferrocianuro de potasio da un precipitado de azul de Prusia; 3.°, el sulfocianuro de potasio da una coloración rojo de sangre; 4.°, el tanino colora la solución en negro.

La dosificación del hierro en el extracto clorhídrico de las cenizas se hace siempre volumétricamente o colorimétricamente en química fisiológica. No podemos detenernos a describir los diferentes procedimientos de dosificación del hierro: se hallan detalladamente en los tratados de química analítica.

f) Origen de las cenizas

El conocimiento de la composición de las cenizas sólo informa imperfectamente sobre la naturaleza y las proporciones de las diferentes materias minerales de los líquidos y de los tejidos del organismo.

Los *cloruros de las cenizas* pueden proceder de la descomposición de los compuestos orgánicos clorados. Tenemos de ello un ejemplo en el contenido gástrico; las combinaciones cloradas ácidas de este líquido se descomponen a temperatura de 110 a 120° aproximadamente, desprendiendo ácido clorhídrico, capaz de formar cloruros a expensas de ciertos fosfatos de las cenizas o a expensas de los carbonatos alcalinos que resultan de la destrucción de las sales de ácidos orgánicos en el curso de la incineración.

Los *fosfatos de las cenizas* pueden provenir parcialmente de la descomposición de las substancias orgánicas fosforadas. Así es que los núcleoproteídos, la lecitina y la caseína, suministran por calcinación ácido fosfórico que se combina con los carbonatos o con las bases de las cenizas para dar fosfatos.

Los *sulfatos de las cenizas* pueden proceder parcialmente de la descomposición de las substancias orgánicas sulfuradas. Así es como todas las substancias proteicas, el ácido taurocólico biliar, numerosos compuestos urinarios conocidos o ignorados, suministran por calcinación ácido sulfúrico, que, reaccionando con los carbonatos o con los álcalis y tierras alcalinas de las cenizas, da sulfatos.

Los *carbonatos de las cenizas* pueden provenir parcialmente de la combustión de sales de álcalis de ácidos orgánicos, como los oxalatos, los lactatos, los malatos, los tartratos, etc.

Las *tierras alcalinas de las cenizas* pueden proceder parcialmente de la descomposición de carbonatos alcalinotérreos, procedentes a su vez de la descomposición de bicarbonatos alcalinotérreos o de la descomposición de sales alcalinotérreas de ácidos orgánicos.

El *óxido férrico* o el *fosfato de hierro de las cenizas* pueden provenir de combustiones orgánicas ferruginosas, como la hemoglobina de la sangre y el hematógeno de la yema del huevo de las aves.

III.—GASES

Todos los líquidos del organismo contienen gases disueltos; éstos son: *gas carbónico, oxígeno* y *nitrógeno.*

Es sabido que los gases disueltos en los líquidos pueden ser extraídos por el vacío o por ebullición, y *a fortiori* por la acción combinada del vacío y de la ebullición.

Se puede hacer esta extracción por medio de la bomba de mercurio y gracias a una disposición descrita en todos los tratados técnicos de fisiología al tratar de los gases de la sangre.

Los gases se recogen generalmente húmedos (saturados de vapor de agua) sobre el mercurio en un tubo de vidrio graduado en décimas de centímetro cúbico y se determina el volumen total. Para esto el tubo, cogido con los dientes de unas pinzas de madera (para evitar todo calentamiento del tubo y del gas que contiene), es hundido hasta que el nivel de mercurio es el mismo en el tubo y en la cubeta (la presión del gas del tubo es igual entonces a la presión atmosférica). Sea V el volumen observado; H la presión atmosférica dada por el barómetro; T la temperatura dada por el termómetro; F la tensión máxima del vapor de agua a la temperatura T dada por todos los tratados de física; α el coeficiente de dilatación cúbica de los gases = 0,003665; el volumen del gas medido a 0° y a la presión 760 mm. (1) es dado por la fórmula:

$$V_0 = V \times \frac{1}{1+\alpha T} \times \frac{H-F}{760}.$$

(1) Algunos fisiólogos suelen calcular el volumen de los gases a la presión de un metro de mercurio. El cálculo se encuentra casi simplificado, puesto que la fórmula es entonces:

$$V_0 = V \times \frac{1}{1+\alpha T} \times (H-F) \times \frac{1}{1000}$$

y se evita así una división por 760.

No aceptamos esta práctica porque los resultados así registrados son artificiales, los números dados no representan los volúmenes tal como se manifiestan en las experiencias reales, sino los volúmenes tal como se manifestarían si se comprimieran a un metro de mercurio los gases recogidos.

Para reconocer y dosificar los tres gases generalmente contenidos en la mezcla gaseosa, se emplea en química fisiológica el método por absorción; el gas carbónico es absorbido por la potasa; el oxígeno no es absorbido por la potasa, pero lo es por el pirogalato de potasa; el nitrógeno no es absorbido por ninguna de estas substancias.

Se hace, pues, penetrar en el tubo graduado que contiene los gases y descansar sobre el mercurio, por medio de una pipeta de punta curva o de una jeringa con aguja curvada, una pequeña cantidad (de 0,3 a 0,5 centímetros cúbicos) de una solución acuosa de potasa cáustica cuya concentración no pase de 7 a 8 por 100 (1).

Se coge el tubo con unas pinzas de madera y se eleva y hunde alternativamente en la cubeta de mercurio, de modo que se active la absorción por la potasa gracias a la agitación así producida. Cuando se ha comprobado que el volumen de gas no disminuye, se determina el nuevo volumen V y se calcula el volumen correspondiente del gas medido seco a 0° y a 760 mm. por la fórmula:

$$V_0 = V' \times \frac{1}{1+\alpha T} \times \frac{H-F}{760},$$

admitiendo que la temperatura y la presión atmosférica no han variado de una determinación a otra.

Se introduce entonces una solución acuosa saturada de ácido pirogálico, que combinándose con la potasa ya introducida en el tubo, suministra el pirogalato de potasa, capaz de absorber el oxígeno. Se produce una absorción de oxígeno, pero esta absorción al principio muy activa (la mayor parte del oxígeno es absorbido en cinco minutos), se retarda en seguida, de suerte que la absorción no es generalmente total sino después de un largo tiempo bastante largo (una o varias horas), aunque en varias ocasiones se procure subir y bajar el tubo

(1) Sólo en las soluciones que no excedan de esta concentración las soluciones de potasa cáustica emiten vapor de agua que saturan los gases a la misma tensión máxima que lo puede hacer el agua pura. Si se emplearan soluciones de potasa cáustica más concentradas, el término F de las fórmulas de cálculo de los volúmenes gaseosos no sería ya el número inscrito en las tablas de los físicos para las tensiones máximas del vapor de agua, sino un número desconocido más débil. Utilizando el número dado por las tablas de los físicos se cometería un error: el volumen así calculado sería inferior al verdadero volumen de los gases.

en la cuba de mercurio para favorecer la absorción por la agitación. Se nota el nuevo valor V'' que corresponde al nitrógeno y se calcula el volumen correspondiente de nitrógeno medido seco a 0° y a 760 mm. por la fórmula:

$$V''_0 = V'' \times \frac{1}{1+\alpha T} \times \frac{H-F}{760}.$$

Los volúmenes de los gases son:

$$\left\{\begin{array}{l} \text{Nitrógeno} = V''_0 = V'' \times \dfrac{1}{1+\alpha T} \times \dfrac{H-F}{760}. \\ \text{Oxígeno} = V_0 - V''_0 = (V' - V'') \times \dfrac{1}{1+\alpha T} \times \dfrac{H-F}{760}. \\ \text{Gas carbónico} = V_0 - V'_0 = (V - V') \times \dfrac{1}{1 \times \alpha T} \times \dfrac{H-F}{760}. \end{array}\right.$$

Si nos proponemos solamente conocer la relación de los volúmenes de dos gases disueltos, por ejemplo, la relación del oxígeno con el gas carbónico, es inútil hacer las correcciones precedentes, suponiendo las medidas de volúmenes hechas a la misma presión y a la misma temperatura: en efecto,

$$\frac{O}{CO^2} = \frac{V'_0 - V''_0}{V_0 - V'_0} = \frac{(V' - V'') \times \dfrac{1}{1+\alpha T} \times \dfrac{H-F}{760}}{(V - V') \times \dfrac{1}{1+\alpha T} \times \dfrac{H-F}{760}}$$

o, suprimiendo al numerador y al denominador, los factores comunes:

$$\frac{O}{CO^2} = \frac{V' - V''}{V - V'}.$$

El *método de absorción del oxígeno por el pirogalato de potasa* es eminentemente simple; pero no es plenamente satisfactorio para determinaciones rigurosas, por dos razones:

1.° Al absorber el oxígeno la solución de pirogalato se ennegrece: por consiguiente, la lectura del volumen gaseoso contenido en el tubo después de absorción del oxígeno no puede hacerse ya rigurosamente, pues es imposible reconocer la posición exacta del vértice del menisco cóncavo de la solución del pirogalato estando este vértice oculto por los bordes opacos del menisco que se elevan por las paredes del tubo. Sin embargo, se puede remediar parcialmente este inconveniente leyendo el volumen correspondiente a la altura de los bordes del menisco y añadiendo a este volumen 0,20 centímetros cúbicos cuando se opera con un tubo de 1 centímetro de diámetro interior: ésta es una corrección empírica, sin duda, pero completamente satisfactoria en la práctica.

2.° Al absorber el oxígeno el pirogalato de potasa desprende una pequeña cantidad de óxido de carbono que se mezcla al nitrógeno residual cuyo volumen se encuentra aumentado por este hecho. Prácticamente, se desprecia este error, considerándolo extremadamente pequeño (corresponde aproximadamente al 2 ó 3 por 100 del volumen de oxígeno absorbido), y, en realidad, es despreciable en la mayoría de las investigaciones fisiológicas.

A causa de estas imperfecciones del método de absorción del oxígeno por el pirogalato se ha propuesto substituirlo por el *método de absorción por el fósforo amarillo*: se introduce el fósforo amarillo húmedo en bastoncitos o en bolitas en el recinto gaseoso que debe analizarse. Pero el manejo del fósforo es siempre muy delicado y su empleo como absorbente del oxígeno no es siempre plenamente satisfactorio, de suerte que en realidad el método por el fósforo no ha reemplazado al método por el pirogalato.

Cuando es necesario determinar muy exactamente la cantidad de oxígeno contenida en una mezcla gaseosa se emplea el *método eudiométrico*, que consiste en introducir en la mezcla gaseosa un exceso de hidrógeno y provocar por la chispa eléctrica la combinación del oxígeno con este hidrógeno; la disminución del volumen gaseoso después de la chispa corresponde al doble de volumen del oxígeno desaparecido. No hay motivo para describir aquí detalladamente la técnica eudiométrica.

IV.—REACCION DE LOS LIQUIDOS DEL ORGANISMO

Los fisiólogos tienen que determinar cualitativamente y cuantitativamente la *reacción de cualquier líquido existente en el organismo.*

1.° Desde el punto de vista *cualitativo*, ¿es un líquido *ácido*, *neutro* o *alcalino?* Se responde fácilmente a esta pregunta recurriendo a los reactivos de color, de los cuales los principales son el *tornasol* y la *fenolftaleína* (1), accesoriamente el *ácido rosólico* y el *metilnaranja*.

(1) La fenolftaleína se emplea en forma de solución al 1 por 100 en alcohol al 50 por 100. Se vierten 1 ó 2 gotas en el licor cuya reacción nos proponemos determinar.

El tornasol se emplea ora en forma de tintura alcohólica, que se encuentra en el comercio, ora en forma de papeles de tornasol, unos débilmente azules y que se emplean para manifestar por un cambio de tinte la acidez de los líquidos; los otros débilmente rosados y que se emplean para manifestar por un cambio de tinte la alcalinidad de los líquidos. Un líquido neutro no modifica el tinte de ningún papel de tornasol, tanto si es azul como rosa.

También se puede emplear un solo papel de tornasol neutro, que virará al

En solución ácida, el tornasol es de color rojo de piel de cebolla (L. col. III, figura A_1, A_3), la fenolftaleína es incolora, el ácido rosólico es rosa, el metilnaranja anaranjado.—En solución alcalina, el tornasol es azul, la fenolftaleína es violada, el ácido rosólico incoloro, el metilnaranja es rojo (L. col. III, figura A_2, B).

Importa, sin embargo, cuando se trata de soluciones muy débilmente ácidas o muy débilmente alcalinas, notar el reactivo indicador a que se recurre, pues no todos estos reactivos son equivalentes: una solución puede ser ácida o alcalina para un indicador dado, neutra para otro indicador.

Por ejemplo, el ácido carbónico disuelto en el agua es ácido por la fenolftaleína, neutro por la metilnaranja; el fosfato bipotásico disuelto en el agua es neutro a la fenolftaleína, apenas alcalino por el tornasol, francamente alcalino por el metilnaranja. Es, pues, indispensable decir que un líquido es ácido con el tornasol, o ácido con el metilnaranja, o alcalino con la fenolftaleína, o neutro con el ácido rosólico, etc., y no solamente que es ácido, alcalino o neutro. La reacción de un líquido es función de la constitución de este líquido y también del reactivo indicador empleado.

2.° Desde el punto de vista *cuantitativo*, se dosifica la acidez o la alcalinidad de un líquido refiriéndola a la acidez o alcalinidad de soluciones típicas de composición que nos sea conocida.

Se dirá, por ejemplo, que un jugo gástrico tiene una acidez de 4 por 1.000, expresada en ácido clorhídrico, cuando para neutralizar, en presencia del tornasol, por ejemplo, un volumen V de este líquido será necesario añadirle una cantidad de una solución dada de sosa cáustica igual a la que es necesario añadir al mismo volumen V de una solución al 4 por 1.000 de ácido clorhídrico en presencia del mismo reactivo indicador, el tornasol, para neutralizarlo.

Se dirá, por ejemplo, que un jugo intestinal tiene una alcalinidad de 5 por 1.000 expresada en sosa cáustica, cuando para neutralizar en presencia de fenolftaleína, por ejemplo, un volumen V de este jugo será necesario añadirle una cantidad de una solución dada de ácido oxálico, por ejemplo, igual a la que es necesario añadir al mismo volumen de una solución al 5 por 1000 de sosa cáustica en presencia del mismo reactivo indicador, la fenolftaleína, para neutralizarlo.

azul o al rosa según la reacción del líquido. Se prepara del modo siguiente: Se pulverizan 0,5 gramos de azolitmina (materia colorante del tornasol) y se disuelven en 22,5 centímetros cúbicos de sosa decinormal (solución de sosa al 4 por 1.000), luego se diluye en 200 centímetros cúbicos de agua, se filtra y se añaden 50 centímetros cúbicos de alcohol fuerte. Se mojan en este líquido tiras de papel de filtro y se dejan secar.

Para estas determinaciones de acideces y alcalinidades se emplean ventajosamente las soluciones llamadas *normales*, *decinormales*, *centinormales*, etc.

¿Qué es, pues, una solución normal? Consideremos la sosa cáustica NaOH: su peso molecular es 40; por definición, la solución normal de sosa cáustica es la que contiene 40 gramos de sosa por litro. Consideremos el ácido clorhídrico HCl: su peso molecular es 36,5; por definición, la solución normal de ácido clorhídrico es la que contiene 36,5 g. de ácido por litro. Notemos que un volumen dado de la solución normal de ácido clorhídrico neutraliza un volumen igual de la solución normal de sosa, puesto que 40 gramos de sosa son neutralizados por 36,5 de ácido clorhídrico.

Para todas las bases monoatómicas: potasa, amoníaco, etc., la solución normal se obtendrá disolviendo en el agua un peso de la substancia representada en gramos por su peso molecular y completando a un litro por adición de agua: 56 gramos de potasa KHO (K=39; H=1; O=16; en total 39+1+16=56), 17 gramos de amoníaco NH^3 (N=14; H^3=3 en total 14+3=17). Para la bases diatómicas: cal, magnesia, etc., la solución normal se obtendrá disolviendo en el agua un peso de la substancia representada en gramos por la mitad de su peso molecular y completando a un litro por adición de agua, etc.

Para todos los ácidos monobásicos, ácido bromhídrico, ácido acético, etc., la solución normal se obtendrá disolviendo en el agua un peso de la substancia representado en gramos por su peso molecular y completando hasta un litro por adición de agua. Para los ácidos bibásicos, como el ácido sulfúrico, ácido oxálico, etc.; para los ácidos tribásicos, como el ácido fosfórico, la solución normal se obtendrá disolviendo en el agua un peso de la substancia representada en gramos por la mitad para los ácidos bibásicos, por el tercio para los tribásicos, de su peso molecular y completando hasta un litro por adición de agua.

Las soluciones decinormales o centinormales son las soluciones que contienen 1/10 o 1/100 de la cantidad de substancia contenida en un mismo volumen de la solución normal: 10 c. c. de la solución decinormal, 100 c. c. de la solución centinormal son equivalentes a un c. c. de la solución normal.

Prácticamente se preparan las soluciones normales del modo siguiente: Se calcina bicarbonato de sosa químicamente puro para obtener carbonato neutro de sosa. De este último se pesan 53 gramos (peso

molecular del $CO^3Na^2=106$; se toman 53, mitad de este peso molecular, porque una molécula de carbonato de sosa es neutralizada por dos moléculas de ácido clorhídrico), que se disuelven en el agua, y se completa hasta un litro por adición de agua.

Si se quiere preparar una solución normal de un ácido bibásico, ácido oxálico, por ejemplo, cuyo peso molecular $CO^2H — CO^2H$ es de 90 y cuyo semipeso molecular es de 45, se disuelven 45 gr. de este ácido en una cantidad de agua menor que un litro (800 a 900 gr., por ejemplo). Se determina entonces, como indicaremos luego, qué cantidad de solución ácida debe ser añadida a un volumen dado de la solución normal de carbonato de sosa para neutralizarla en presencia del tornasol, por ejemplo. Supongamos que a 10 c. c. de la solución normal de carbonato de sosa, sea preciso añadir 8,7 c. c. de la solución de ácido oxálico. Por definición, los 10 c. c. de la solución normal de carbonato de sodio son neutralizados por 10 c. c. de una colución normal de ácido oxálico. Así, pues, 8,7 c. c. de la solución preparada equivalen a 10 c. c. de una solución normal. Se podrá, pues, transformar sin trabajo la solución considerada en solución normal añadiendo a 870 c. c. de esta solución 130 c. c. de agua destilada.



Fig. 11. — Frascos cónicos de cristales de Bohemia.

Se procederá igualmente para preparar una solución alcalina normal cualquiera, neutralizando con una solución análoga la solución normal ácida antes preparada.

Para practicar una dosificación acidimétrica o alcalimétrica se procede del modo siguiente: supongamos que se trata de determinar la alcalinidad de un líquido del organismo. En un frasco cónico de fondo plano (fig. 11) de cristal de Bohemia, se introducen, por ejemplo, 25 c. c. de líquido; se añaden una o dos gotas de tintura de tornasol o de cualquier otro indicador de color que se habrá escogido. Se calienta hasta ebullición y se hace caer gota a gota una solución ácida valorada, por ejemplo, una solución decinormal de ácido oxálico, hasta que la coloración azul de tornasol haya desaparecido completa y definitivamente. Estando contenida la solución ácida decinormal en una bureta graduada, se conoce por una simple lectura la cantidad de ácido empleada: sea 7,3 c. c. Así, pues,

los 25 c. c. de la solución examinada contenían una cantidad de álcalis químicamente equivalente a 7,3 c. c. de una solución

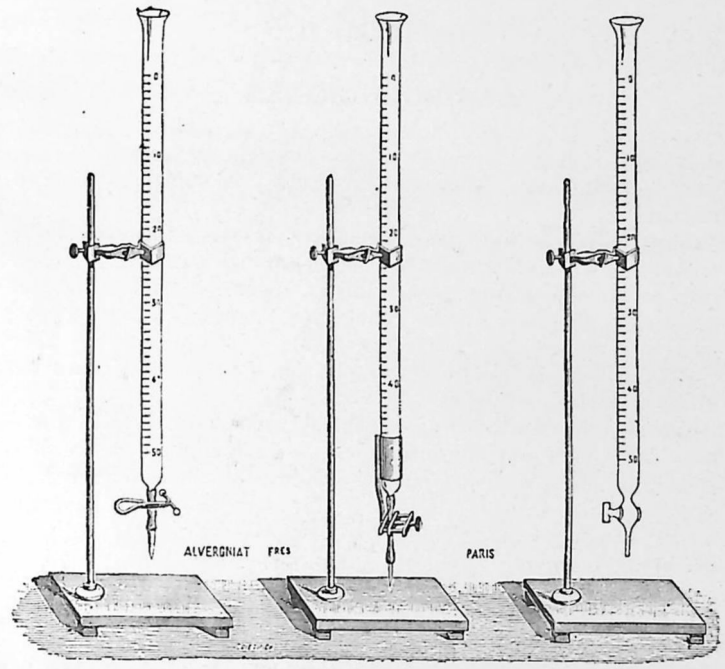


Fig. 12. — Buretas graduadas.

decinormal de ácido oxálico o a 7,3 c. c. de solución decinormal de sosa, o sea 0,004 g. × 7,3 ó 0,0292 g. de sosa.

CAPITULO II

LAS SOLUCIONES

SUMARIO. — Definiciones. Soluciones saturadas y no saturadas. Concentración.

I. CRIOSPIA.—Temperatura de congelación de las soluciones. Punto crioscópico y su determinación. Descenso del punto de congelación de las soluciones equimoleculares. Determinación de la concentración molecular de las soluciones; determinación del peso molecular de un cuerpo disuelto. Punto crioscópico de las soluciones acuosas de electrólitos. Ionización y descomposición electrolítica de las soluciones.

II. OSMOSIS.—Membrana hemipermeable y osmómetro. Presión osmótica; variaciones con la concentración y la naturaleza de la substancia disuelta. Presión osmótica de las soluciones equimoleculares. Isotonía. Caso de electrólitos. Presión osmótica de las soluciones complejas. El glóbulo rojo, osmómetro de los biólogos. Membrana dializante: ósmosis y equilibrio químico.

En contacto de líquidos convenientemente escogidos (agua, alcohol, éter, etc.), las materias sólidas, minerales u orgánicas, pueden disolverse, es decir, disgregarse al estado de moléculas libres y desaparecer en el seno de la masa líquida.

Los sólidos no se disuelven en todas proporciones en los líquidos; para cada sólido y para cada líquido disolvente hay, a una temperatura determinada, una cantidad máxima de substancia sólida que puede ser disuelta en el líquido. Cuando se ha disuelto esta cantidad máxima se dice que la solución está *saturada*.

Se denomina *coeficiente de solubilidad* de un sólido en un líquido, a una temperatura determinada, la relación entre el peso del sólido disuelto, expresada en gramos, y el volumen del líquido disolvente, expresado en centímetros cúbicos cuando la solución está saturada.

Cuando la solución no está saturada se indica su *concentración*. Se designa con este nombre la relación entre el peso de la substancia sólida disuelta, expresada en gramos, y el volumen del disolvente expresada en centímetros cúbicos.

A la temperatura de 15°, el cloruro de sodio se disuelve en el agua hasta que 100 c. c. de la solución contienen 36 g. de esta sal. El coeficiente de solubilidad del cloruro de sodio en el agua a 15° es, según nuestra definición, $\frac{36}{100}$, siendo 36 el peso en gramos de cloruro de sodio disuelto y 100 el volumen en centímetros cúbicos de la solución. Esta solución a $\frac{36}{100}$ o, como se dice también, a 36 por 100, es una solución saturada. Por otra parte, si 100 c. c. de una solución acuosa de cloruro de sodio contienen 18 g. de cloruro de sodio en solución, se dice que la concentración de la solución es igual a $\frac{18}{100}$ o a 18 por 100, o, simplemente, que la solución es a $\frac{18}{100}$ o a 18 por 100.

Cuando se disuelve un cuerpo sólido en un líquido, el volumen de la solución es mayor que el volumen del líquido disolvente, pero, en general, es menor que la suma de los volúmenes del licor disolvente y del cuerpo disuelto. Durante la disolución ha habido concentración del cuerpo disuelto.

Por consiguiente, cuando nos proponemos hacer una solución de concentración determinada, por ejemplo, una solución al 10 por 100 de cloruro de sodio, no debemos disolver 10 g. de cloruro de sodio en 100 c. c. de agua, pues el volumen de la solución, siendo entonces superior a 100 c. c. (107 c. c., por ejemplo), la concentración $\left(\frac{10}{107}\right.$ por definición$\left.\right)$ sería menor que $\frac{10}{100}$, ya que de dos fracciones que tienen un mismo numerador 10 y denominadores diferentes 107 y 100, la menor es aquella cuyo denominador es mayor. Para hacer una solución de cloruro de sodio al 10 por 100 deben disolverse 10 g. de cloruro de sodio en 75 c. c. de agua, por ejemplo, para que el volumen de la solución así hecha sea menor ciertamente que 100 c. c., y luego añadir agua hasta que el volumen sea igual a 100 c. c.

Para determinar la concentración o el valor de una solución determinada, se puede evaporar un volumen medido de la solución, desecar el residuo hasta peso constante y pesar este residuo. La relación del peso del residuo, expresado en gramos, con el volumen de la solución, expresado en centímetros cúbicos, representa la concentración de la solución.

Es evidente que este modo de proceder supone que el líquido considerado sólo contiene una substancia disuelta y que esta substancia no es volatilizada, destruída o transformada durante la evaporación y la desecación. Si no fuera así, si se tratara, por ejemplo, de determinar la concentración salina

de una solución de cloruro de sodio, de azúcar, de urea, etc., sería necesario separar por procedimientos físicos apropiados, o dosificar por procedimientos químicos convenientes, la sal contenida en un volumen determinado de la solución. Igualmente, sería necesario proceder a una dosificación química si la substancia disuelta fuera volátil a una temperatura que se alcanzara o excediera en el curso de las manipulaciones, o destruída por el calor a una temperatura de desecación.

El conocimiento de algunas propiedades de las soluciones es necesario al fisiólogo. La exposición siguiente se reduce al mínimo indispensable actualmente.

I.—CRIOSCOPIA

La temperatura de congelación de una solución, o, como se dice también, el *punto de congelación* de una solución es siempre inferior a la temperatura de congelación del disolvente, y tanto más baja cuanto mayor es la concentración de la solución. Así, una solución de cloruro de sodio al 1 por 100 se congela a —0,65°; una solución al 2 por 100 se congela a —1,30°; una solución a 5 por 100 se congela a —3,25°.

Los físicos han establecido que la temperatura de congelación de un cuerpo líquido puede quedar constante durante toda la duración de la congelación; cuando, por ejemplo, se enfría el agua por medio de una mezcla refrigerante de hielo y de sal, en la cual se ha sumergido el vaso que la contiene, se comprueba que la temperatura de un termómetro sumergido en esta agua baja hasta 0° y se mantiene rigurosamente a esta temperatura mientras el agua se transforma en hielo, para bajar de nuevo a partir del momento en que la totalidad del agua ha sido transformada en hielo.

No ocurre así con una solución, o cuando menos con una solución no saturada, y se comprende fácilmente. Cuando una solución no saturada se congela, no es primeramente la solución total la que se solidifica, sino exclusivamente el agua disolvente: la sal disuelta queda primero en totalidad en el agua no congelada todavía, hasta que la solución (cuya concentración aumenta así progresivamente) queda saturada. Sólo a partir del momento en que se llega a la saturación, el disolvente y el cuerpo disuelto se solidifican simultáneamente. Por

consiguiente, a medida que progresa la congelación del agua, la temperatura de congelación baja (puesto que la concentración de la solución aumenta, y la temperatura de congelación es tanto más baja cuanto más elevada es la concentración) hasta que la solución está saturada. A partir de este momento, y hasta congelación total, la temperatura de congelación queda fija.

La temperatura a la que comienza la congelación de una solución se denomina *punto crioscópico*; la temperatura a la cual termina la congelación de la solución se denomina el punto criohidrático. Estos puntos son idénticos para los líquidos puros o para las soluciones saturadas; difieren para las soluciones no saturadas, y tanto más cuanto más alejadas están las soluciones, al principio, de su saturación.

Determinar el punto de solidificación de un líquido puro es una operación sumamente sencilla y fácil, puesto que este punto es el mismo en el que se fija el termómetro durante el tiempo que dura la solidificación, mientras que antes de la solidificación, o después de la solidificación total, la temperatura desciende progresivamente por la influencia de la mezcla refrigerante en la cual está sumergido. Basta, por consiguiente, anotar el grado termométrico en el que se fija durante cierto tiempo el mercurio, durante el enfriamiento del líquido por una mezcla refrigerante, para conocer la temperatura de solidificación.

Pero cuando se enfría una solucion no hay detención en el descenso del termómetro, por lo menos hasta el momento en que la solución está saturada; este punto de detención es entonces el punto criohidrático, y no tiene para nosotros ningún interés; lo que debemos determinar es el punto crioscópico. Para conocerlo nos fundaremos en las observaciones siguientes:

Cuando un cuerpo líquido pasa al estado sólido, desprende calor (se sabe, por ejemplo, que un kg. de agua al solidificarse desprende unas 80 calorías).

Si, pues, una solución es sumergida en una mezcla refrigerante que determina un descenso regular de la temperatura de la solución, se comprende que el desprendimiento de calor producido por la solidificación del agua desde que comienza a solidificarse, pueda retardar la caída termométrica.

Se anotará, pues, la temperatura del termómetro sumergido en la solución en el momento preciso en que el descenso de la columna mercurial sufra un retardo. Este será el punto crioscópico. Sin embargo, nada es más difícil que apreciar este retardo de la caída termométrica, de suerte que este procedimiento, perfecto en teoría, es casi inútil en la práctica.

Obtenemos felizmente resultados mucho mejores utilizando las propiedades de los líquidos en superfusión. Algunos líquidos—entre los cuales podemos señalar el agua y las soluciones salinas, por lo menos en ciertas circunstancias — pueden ser llevados a una temperatura inferior a la temperatura de congelación, sin cesar de ser líquidos: se hallan entonces en ese estado de equilibrio físico eminentemente instable que se denomina *sobrefusión*. Este equilibrio puede romperse fácilmente por la introducción en el líquido en sobrefusión de una partícula de la substancia solidificada, por la introducción de un pequeño fragmento de hielo cuando se trata de agua o de soluciones acuosas. El líquido pasa entonces del estado líquido al sólido con bastante brusquedad y rapidez para que el calor liberado durante el cambio de estado haga subir la temperatura del líquido al grado en que se habría efectuado la congelación en ausencia de toda sobrefusión, es decir, a la temperatura de congelación o punto crioscópico.

Cuando el líquido en sobrefusión es un líquido puro, la temperatura del termómetro se mantiene constante durante la solidificación, después de rota la sobrefusión. Cuando, por el contrario, el líquido en sobrefusión es una solución, la temperatura de congelación desciende mientras dura la solidificación, puesto que, a medida que ésta progresa, la solución se hace cada vez más concentrada; por consiguiente, se congela a una temperatura cada vez más baja.

Si queremos conocer, pues, la temperatura de congelación en el origen, es decir, el punto crioscópico de una solución, será necesario anotar el grado al que sube el termómetro en el momento de la rotura de la sobrefusión.

Es mucho más fácil, como se comprende, reconocer esta ascensión de la columna mercurial interrumpiendo su descenso y anotar su máximo, que reconocer un simple retardo en el descenso de la columna de mercurio. Esta segunda observación sobre los líquidos en sobrefusión nos conduce, pues, a un resultado verdaderamente práctico, mientras que la primera observación sobre el calor desprendido durante la solidificación sólo permite resolver el problema teóricamente.

He aquí cómo se podrá operar para encontrar el punto crioscópico, en determinaciones cuya precisión no será ciertamente la más perfecta que se pueda obtener, pero que será suficiente para el fisiólogo y el médico.

Se puede emplear el aparato representado por la figura 13. Comprende un gran cubo de vidrio en el cual se coloca una mezcla refrigerante, por ejemplo, una mezcla de hielo machacado y sal común (1). Se introduce en él un primer tubo ancho

(1) Las mezclas refrigerantes más comúnmente empleadas son: 1.º, la mezcla de dos partes de hielo machacado y una parte de sal común (que puede producir un descenso de temperatura hasta —20°); 2.º, la mezcla en partes iguales de agua y nitrato amónico; 3.º, la mezcla de 5 partes de ácido clorhídrico fuerte y 8 partes de sulfato de sosa. Para las determinaciones crioscópicas que se practican en fisiología y en medicina no hay necesidad de llegar a —20°; basta en general poder disminuir la temperatura de algunos grados por debajo de 0 cuando más. Se podrán, por consiguiente, utilizar mezclas formadas de una parte de sal marina y 3, 4, 5... 10 partes de hielo machacado, que producen descensos de temperatura tanto menores cuanto más hielo contienen.

que contiene una mezcla a partes iguales de agua y glicerina o cualquier otro líquido que constituya un medio de transmisión del frío y sea al mismo tiempo incongelable; en este tubo se introduce un segundo tubo, de diámetro notablemente menor, destinado a recibir el líquido o solución que deba observarse. De este líquido o solución se introducirá en el tubo central una cantidad suficiente para que la cubeta del termómetro introducida en el mismo esté enteramente cubierta. El termómetro deberá estar graduado en centésimas de grado y su cero habrá sido rigurosamente comprobado. Por último, un pequeño alambre de hierro arrollado en espiral alrededor de la cubeta termométrica constituirá un agitador que permita asegurar la homogeneidad térmica del líquido durante su enfriamiento.

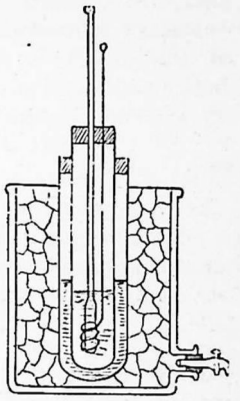


Fig. 13. — Crioscopio de hielo.

Se sigue atentamente el descenso de la columna de mercurio del termómetro y se agita fuertemente el líquido por medio de la pequeña espiral de alambre cuando la temperatura se aproxima a 0°. Cuando el termómetro marca una temperatura de algunas centésimas de grado inferior a la que se estima debe ser el punto crioscópico buscado, se deja caer en el líquido un pequeño pedacito de hielo: la congelación comienza inmediatamente; el nivel del mercurio sube rápidamente, mientras se agita, y llega a cierto máximo, en el que se fija por lo menos durante algunos segundos: se anota este máximo, que es el punto crioscópico.

Importa provocar la congelación desde que se han pasado algunas centésimas de grado por debajo del punto crioscópico presumido, en el caso de las soluciones, pues si se bajara la temperatura de la

solución en sobrefusión muy notablemente por debajo del punto crioscópico, en el momento de la solidificación provocada por la caída del fragmento de hielo, se determinaría una congelación de agua en cantidad bastante grande para que de ello resultara una importante concentración de la solución y para que el ascenso del termómetro correspondiera al punto crioscópico de esta solución concentrada y no al punto crioscópico buscado, que es el de la solución primitiva.

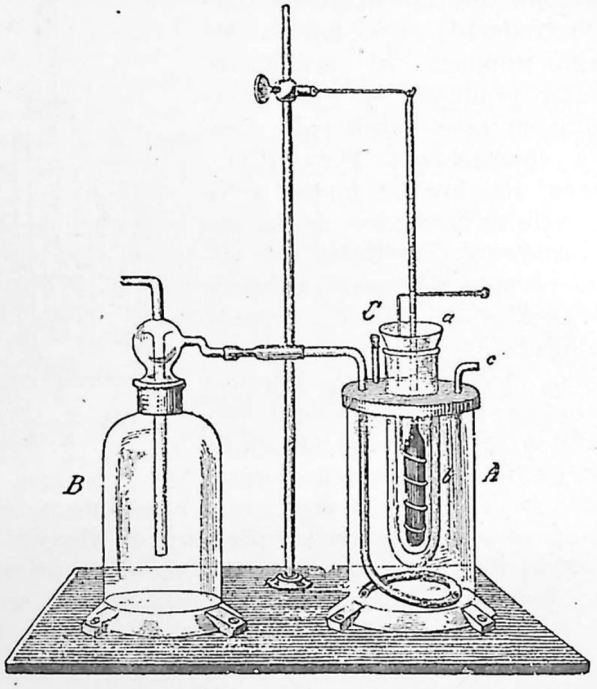


Fig. 14. — Crioscopio de evaporación.

En lugar de emplear para enfriar la solución estudiada una mezcla refrigerante, se puede utilizar ventajosamente el frío producido por la evaporación de ciertos líquidos.

Se empleará, por ejemplo, el aparato representado en la figura 14, en la cual el frasco A, en el centro del cual está suspendido el sistema crioscópico, contiene un líquido volátil como el éter o el sulfuro de carbono. Se provoca la evaporación haciéndolo atravesar por una corriente de aire aspirado por una trompa unida al pequeño tubo *c*, aire previamente desecado al atravesar ácido sulfúrico colocado en el frasco B. Regulando la aspiración por el juego de la trompa se determinará a voluntad un enfriamiento más o menos considerable y que se podrá hacer variar rápida y fácilmente según las necesidades de la determinación.

Al estudiar el descenso del punto de congelación de las soluciones acuosas de las diversas substancias se ha reconocido que, para una misma concentración, las soluciones de diversas naturalezas presentan un descenso eminentemente variable: así una solución de sacarosa que contenga el 1 por 100 de azúcar se congela a — 0,055°; una solución acuosa de alcohol al 1 por 100 se congela a — 0,400°; una solución acuosa de ácido acético al 1 por 100 se congela a — 0,310°.

Pero si en lugar de comparar entre sí soluciones de igual concentración se comparan soluciones que contengan respectivamente cantidades de substancias disueltas proporcionales a los pesos moleculares de estas substancias, se puede reconocer que estas diversas soluciones presentan el mismo punto de congelación.

Consideremos, por ejemplo, el azúcar de caña, la glicosa, el alcohol y el ácido acético, que tienen respectivamente por pesos moleculares:

Azúcar de caña.	$C^{12}H^{22}O^{11} = 342$
Glicosa.	$C^{6}H^{12}O^{6} = 180$
Alcohol.	$C^{2}H^{6}O = 46$
Acido acético.	$C^{2}H^{4}O^{2} = 60$

Se comprueba que soluciones acuosas que contengan respectivamente 3,42 gramos de azúcar de caña, 1,80 de glucosa, 0,46 de alcohol y 0,60 de ácido acético, es decir, el centésimo de su peso molecular expresado en gramos, disueltos en 100 c. c. de la solución, se congelan todas a —0,180°.

Los descensos del punto de congelación de las soluciones de una misma substancia son proporcionales a la concentración de la solución.

Acabamos de observar que las soluciones de azúcar de caña, de glucosa, de alcohol y de ácido acético que contienen por 100 c. c. un centésimo de los respectivos pesos moleculares expresados en gramos, se congelaban todas a —0,180°. Las soluciones de las mismas substancias que contienen en 100 c. c. la mitad del peso molecular expresado en gramos (1,71 gramos de azúcar de caña, 0,90 de glucosa, 0,23 de alcohol y 0,30 de ácido acético) se congelan todas a —0,090°

(es decir, el semivalor del descenso de las soluciones de la primera serie). Las soluciones de las mismas substancias que contienen en 100 c. c. el doble del peso molecular expresado en gramos (6,84 gramos de azúcar de caña, 3,60 de glucosa, 0,92 de alcohol y 1,20 de ácido acético) se congelan todas a —0,360° (es decir, el doble del valor del descenso de las soluciones de la primera serie y el cuádruple del valor del descenso de las soluciones de la segunda serie).

Es posible, pues, enunciar las leyes siguientes:

1.° El *descenso del punto de congelación de una solución es proporcional* al número de moléculas disueltas en la unidad de volumen de la solución, o, como se dice también, *proporcional a la concentración molecular de la solución.*

2.° El *descenso del punto de congelación de las soluciones equimoleculares*, es decir, aquellas cuyas concentraciones son proporcionales a su peso molecular, o, como se dice también, soluciones que contengan el mismo número de moléculas disueltas en un mismo volumen, *es el mismo, sea cual fuere la substancia disuelta.*

Estos resultados se pueden expresar en forma matemática. Designemos por Δ, como se hace generalmente, el descenso del punto de congelación de una solución dada, de concentración c (relación del peso de la substancia disuelta expresada en gramos con el volumen de la solución expresado en centímetros cúbicos); sea m el peso molecular expresado en gramos.

El descenso del punto de congelación Δ' para una solución de concentración 1 será

$$\frac{\Delta'}{1} = \frac{\Delta}{1} \text{ de donde } \Delta' = \frac{\Delta}{c}$$

puesto que los descensos del punto de congelación son proporcionales a las concentraciones.

El descenso del punto de congelación Δ'' para una solución de concentración m (siendo m el peso molecular expresado en gramos) podrá deducirse de la proporción

$$\frac{\Delta''}{m} = \frac{\Delta}{1} \text{ de donde } \Delta'' = m\Delta' \text{ o } \Delta'' = m\frac{\Delta}{c}$$

Siendo este valor Δ'' el mismo para todas las substancias disueltas, se podrá escribir

$$\Delta'' = m\frac{\Delta}{c} = \text{constante.}$$

Esta constante tiene un valor medio (1) de 18,5. Se podrá, pues, escribir

$$m\frac{\Delta}{c} = 18{,}5$$

igualdad que permite calcular uno de los tres valores m, Δ o c cuando se conocen los otros dos.

Apoyándose en estos resultados, se pueden resolver fácilmente dos problemas que tienen un interés indudable para el fisiólogo:

1.° Dada una solución que contenga una sola substancia disuelta, de la que se conoce el peso molecular, y presentando un descenso del punto de congelación que se ha determinado, calcular la concentración de la solución.

Sea, por ejemplo, una solución acuosa de urea que presenta un punto de congelación de —0,031°; ¿cuál es la concentración de esta solución?

De la igualdad establecida antes

$$m\frac{\Delta}{c} = 18{,}5$$

se deduce

$$c = \frac{m\Delta}{18{,}5}.$$

Ahora bien, el peso molecular de la urea CON^2H^4 es 60; reemplazando m y Δ por sus valores, se puede escribir

$$c = \frac{60 \times 0{,}031}{18{,}5} = 0{,}10.$$

La solución contiene 0,10 por 100 de urea.

(1) Decimos un valor medio y no solamente un valor, porque las leyes que hemos enunciado antes no tienen el rigor absoluto que les hemos dado. En realidad, los descensos del punto de congelación no son rigurosamente proporcionales a las concentraciones; tampoco son rigurosamente independientes de la naturaleza de la substancia disuelta para las soluciones equimoleculares, sino solamente casi independientes.

Al enunciar las leyes hemos esquematizado para simplificar y para tener de nuestro primer contacto con estos hechos una impresión clara. Igualmente ocurre en todas las leyes físicas: ninguna es rigurosamente exacta, todas son aproximadas. La ley de Mariotte (los volúmenes de una misma masa de gas son inversamente proporcionales a las presiones que soporta), la ley de Gay-Lussac (la dilatación de una misma masa de gas por la influencia del calor es proporcional a la elevación de su temperatura), por ejemplo, sólo son enunciados esquemáticos, no son enunciados rigurosamente exactos de los hechos. Sin embargo, en la práctica, las leyes de Mariotte y de Gay-Lussac bastan para nuestras necesidades. Igualmente los enunciados de las leyes crioscópicas bastan ampliamente, en su forma simple, tal como la hemos adoptado, a las necesidades actuales de los fisiólogos.

2.° Dada una solución de concentración conocida de una substancia, determinar el peso molecular de esta substancia, conociendo el punto de congelación de la solución.

Sea, por ejemplo, una solución acuosa de ácido hipúrico al uno por 100; se ha encontrado un punto de congelación igual a —0,112°; ¿cuál es el peso molecular del ácido hipúrico?

De la ecuación

$$m \frac{\Delta}{c} = 18{,}5$$

se deduce

$$m = 18{,}5 \frac{c}{\Delta}$$

y reemplazando c y Δ por sus valores

$$m = 18{,}5 \times \frac{1}{0{,}112} = 166.$$

El peso molecular del ácido hipúrico es de 166.

Sea también una solución acuosa de ácido taurocólico que contenga 1 por 100 de este compuesto. Se ha encontrado como punto de congelación —0,036°. El peso molecular es dado por la expresión

$$m = 18{,}5 \frac{c}{\Delta}$$

de la que, reemplazando c y Δ por sus valores numéricos,

$$m = 18{,}5 \times \frac{1}{0{,}036} = 514.$$

Este número no difiere sino en una unidad del número 515, que es el peso molecular del ácido taurocólico. Es decir, que el método crioscópico ha dado aquí un resultado excelente, puesto que sólo comprende un error de 1 por 500 o sea de 2 por 1.000.

Pero sería cometer una gran imprudencia pretender emplear este método con exclusión de cualquier otro para determinar el peso molecular. Pues un error de apreciación de la temperatura de congelación de 1/100 de grado acarrearía un error bastante grave para el peso molecular. Si, por ejemplo, se había notado — 0,035° para el punto de congelación de la solución en lugar de —0,036°, el peso molecular sería

$$m = 18{,}5 \times \frac{1}{0{,}035} = 528$$

que difiere del peso molecular verdadero en 13 unidades y corresponde a un error de 13 por 500, ó 26 por 1.000, ó 2,6 por 100.

Por esto no se exige al método crioscópico suministrar el peso molecular, sino precisar, entre los pesos moleculares posibles, acordes con un análisis centesimal preciso, el que necesariamente hay que adoptar.

Por ejemplo, haciendo el análisis elemental del ácido taurocólico, se han encontrado las proporciones siguientes de los elementos: C = 60,78 por 100; —H = 8,74 por 100; —N = 2,72 por 100; —S = 6,21 por 100, y O = 21,75 por 100. Estos resultados concuerdan con la fórmula $C^{26}H^{45}NSO^{7}$, correspondiente al peso molecular 515; pero concuerdan también con fórmulas en las cuales los exponentes son dobles, triples, cuádruples..., décuplos, correspondientes a los pesos moleculares 1.030, 1.545, 2.060..., 5.150.

El cuerpo no es volátil, no se puede recurrir al método de determinación del peso molecular por la densidad del vapor, que es el más preciso de los que disponemos. El método crioscópico puede substituirle. Supongamos que en la determinación crioscópica hacemos un error de 4/100 de grado, que notamos para la solución a 1 por 100 un punto de congelación de —0,032° en lugar del punto exacto de —0,036; el cálculo nos dará para el valor del peso molecular 578 en lugar del peso exacto 515, lo que representa un craso error ciertamente, pero que nos permite, entre los pesos moleculares posibles (según el análisis centesimal) 515, 1030, etc., escoger con seguridad el primero, que se aproxima más al resultado 578 que todos los demás.

Observemos, además, que un error de 4/100 de grado acarrea aquí un error de 60 por 500 aproximadamente o de 12 por 100. De ello concluímos que las determinaciones crioscópicas deben hacerse con exactitud extrema y empleando—por lo menos cuando se trata de resolver estos problemas de pesos moleculares—termómetros graduados por lo menos al centésimo de grado y cuyo 0 se ha comprobado rigurosamente.

Hemos considerado hasta ahora soluciones acuosas de una sola substancia. Para las soluciones mixtas el descenso del punto de congelación es la suma aritmética de descensos debidos a cada una de las substancias disueltas, a la concentración en que ellas se encuentran en la mezcla.

Consideremos, por ejemplo, una solución acuosa de ácido hipúrico y de ácido taurocólico que contenga 1 por 100 de cada uno de estos dos ácidos. El punto de congelación de una solución de ácido hipúrico al 1 por 100 es, como hemos observado antes, —0,112°; el punto de congelación de una solución de ácido taurocólico al 1 por 100 es, como hemos anotado también, —0,036°; el punto de congelación de la solución mixta será —0,148°, obtenido añadiendo los dos números precedentes.

Los resultados a los que hemos llegado se comprueban para todas las soluciones (acuosas o neutras), excepto para las *soluciones acuosas de los electrólitos*, es decir, substancias cuyas soluciones acuosas conducen la corriente eléctrica.

Para todas las soluciones acuosas de los electrólitros, sales minerales, ácidos fuertes y bases fuertes (pero no para las soluciones distintas de las acuosas), el descenso del punto de congelación es siempre mayor de lo que debería ser si estos cuerpos se condujeran como el azúcar; y difiere, para las soluciones equimoleculares, según la substancia considerada.

Así, se prepara una solución acuosa de cloruro de potasio (cuyo peso molecular es 74,5) que contenga 0,475 gramos de sal por 100 c. c. de la solución (es decir, el centésimo del peso molecular expresado en gramos), se debería encontrar como punto de congelación —0,180° si esta sal se comportara como el azúcar. Se encuentra —0,329°. Si se prepara una solución de cloruro de sodio (cuyo peso molecular es de 58,5) que contenga 0,585 gramos de sal para 100 c. c. de la solución, se debería encontrar como punto de congelación —0,180°, si esta sal se comportara como el azúcar. Se encuentra —0,341°.

Podría bastar anotar el hecho como una excepción a la ley general; se prefiere procurar su inclusión en la ley general enunciando dos hipótesis. Se supone en primer lugar que las substancias electrolíticas en solución en el agua están disociadas en moléculas electrolíticas, en radicales electropositivos y electronegativos, o, como se dice hoy, en *iones*. Se supone luego que estos iones se conducen como las moléculas desde el punto de vista crioscópico.

Por consiguiente, se comprende que el punto de congelación de las soluciones de electrólitos sea más bajo de lo que debería ser, puesto que por el hecho de la disociación electrolítica, el número de los elementos crioscópicos está aumentado, pues cada molécula disociada da dos iones, crioscópicamente equivalentes a dos moléculas. Se comprende también que los puntos crioscópicos de dos soluciones equimoleculares de electrólitos no sean los mismos, puesto que estos puntos dependen de la magnitud de la disociación electrolítica (la que es variable según el cuerpo considerado), o, como se dice también, del grado de *ionización* de la solución salina.

El descenso del punto de congelación de los líquidos del organismo, especialmente del suero sanguíneo, es notablemente constante: es igual a 0,56°, que es el punto de congelación de una solución de cloruro de sodio al 9 por 1.000.

El descenso del punto de congelación de la orina es, por el contrario, variable; este punto de congelación está generalmente comprendido entre —1,3 y —2,3°.

II.—OSMOSIS

Supongamos que tomando uno de estos vasos de porcelana porosa que se emplean para la constitución de las pilas de dos líquidos (pila de Daniel, de Bunsen, etc.), se le sumerge en una solución de sulfato de cobre al 3 por 100, por ejemplo, y que se llena su cavidad de la misma solución para que el vaso de porcelana se embeba bien y en todas sus partes de esta solución; luego, que después de algunas horas necesarias para llegar a este resultado se retira el vaso, se le enjuaga rápidamente y se seca para quitar toda gota de líquido dentro y fuera del mismo; y por último, que se le sumerge en la solución de sulfato de cobre al 3 por 100 al mismo tiempo que se llena de una solución de ferrocianuro de potasio al 3 por 100; se produce en la vecindad inmediata de la superficie interna del vaso un precipitado de ferrocianuro de cobre que representa una membrana continua, sostenida por el vaso poroso que hace el papel de tutor.

La membrana de ferrocianuro de cobre así constituída y solidificada tiene la notable propiedad de dejar pasar el agua, pero de oponerse al paso de las substancias disueltas en el agua, azúcar de una solución azucarada, sal de una solución salada, etc. Esta membrana es el tipo de las *membranas* denominadas *hemipermeables* (o semipermeables), que de un modo general se comportan como ésta con las soluciones acuosas de sales, azúcares, etc.

Se pueden obtener diversas membranas hemipermeables por procedimientos diversos; pero la membrana de ferrocianuro de cobre es aquella con la que se han hecho los experimentos clásicos y con la que se han obtenido mejores resultados.

Supongamos que el vaso de pila, portador de la membrana hemipermeable esté cerrado por un tapón atravesado por un tubo de vidrio vertical muy largo. Introduzcamos por un segundo tubo, que atraviesa igualmente el tapón, una solución de azúcar de caña, por ejemplo, una solución al 2,5 por 1.000 hasta llenar completamente el frasco; cerremos a la lámpara el tubo por el cual hemos introducido la solución y sumerjamos el vaso poroso en un recipiente que contenga agua destilada. Muy rápidamente, vemos que el líquido sube en el tubo

vertical hasta llegar a 1,80 m. aproximadamente y se fija en este nivel.

Este aparato, poco manejable a causa de la longitud del tubo de vidrio, se substituye generalmente por otro en el cual la presión se mide por un manómetro de mercurio de tallo cerrado.

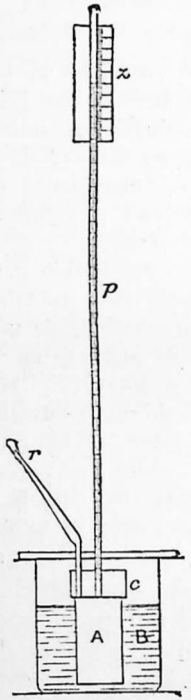


Fig. 15.—Osmómetro. A, vaso poroso que sostiene la membrana semipermeable.—B, líquido exterior, agua destilada, por ejemplo.—*c*, cierre hermético del vaso poroso.—*r*, tubo destinado a introducir la solución en el osmómetro y que se cerrará a la lámpara después de esta introducción.—*p*, tubo manométrico.

Si se ha introducido en el aparato una solución de azúcar de caña al 6 por 100, por ejemplo, se comprueba en el manómetro una presión que crece hasta llegar a 307 cm. de mercurio y que se fija en este nivel.

Estos experimentos nos revelan la existencia de una fuerza, la *ósmosis*, que hace subir el líquido en el tubo vertical o en el manómetro hasta que se ha establecido un equilibrio entre esta fuerza y la presión manométrica. Se puede, pues, medir esta fuerza por la presión manométrica equivalente y, para recordar este hecho, considerarla como una presión que determina el paso del líquido (de agua en el caso presente) a través de la membrana hemipermeable y darle el nombre de *presión osmótica*.

Estudiando estos fenómenos de ósmosis con una solución de azúcar, por ejemplo, se comprueban los siguientes hechos:

1.° La *presión osmótica* aumenta con la concentración del líquido; *es proporcional a esta concentración*.

2.° La *presión osmótica* varía con la naturaleza de la substancia disuelta para una misma concentración de la solución.

3.° La *presión osmótica* tiene el mismo valor para las más diversas soluciones (excepto las substancias electrolíticas) que contienen cantidades de substancias disueltas proporcionales a sus pesos moleculares, o, como se dice de ordinario, *para las soluciones equimoleculares*.

4.° La *presión osmótica* es mayor para las *soluciones de electrólitos* de lo que debería ser si la ley formulada en el

número 3 le fuera aplicable, lo que conduce a admitir, como lo hemos hecho antes en nuestros estudios de crioscopia, que una parte del electrólito se disocia en iones equivalentes a moléculas desde el punto de vista osmótico, como lo son desde el punto de vista crioscópico.

De un modo general, se puede decir que las leyes crioscópicas y las leyes osmóticas son rigurosamente semejantes.

He aquí algunos ejemplos numéricos:

1.° La presión osmótica para una solución de azúcar de caña al 1 por 100 es de 52 centímetros de mercurio; es de 104 cm. para un solución al 2 por 100; es de 208 cm. para una solución al 4 por 100. Las concentraciones de estas tres soluciones son como los números 1, 2, 4; las presiones osmóticas son como los mismos números 1, 2, 4. Existe, pues, proporcionalidad entre la concentración y la presión osmótica para las soluciones de una misma substancia, y, como se puede decir también, la presión osmótica de una solución es proporcional a la concentración de la misma.

2.° La presión osmótica para soluciones al 1 por 100 de goma, de azúcar de caña, de glicosa, de urea, de ácido hipúrico, de ácido taurocólico, etc., es respectivamente, de 7 cm. de mercurio, de 52 cm., de 98 cm., de 297 cm., de 107 cm., de 34 cm. Es, pues, eminentemente variable según la naturaleza de la substancia disuelta.

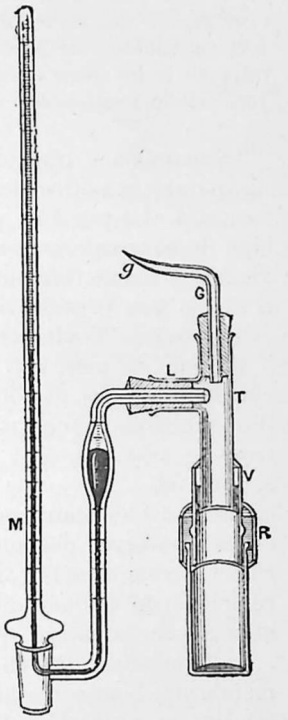


Fig. 16. — Osmómetro de manómetro de mercurio. Se reconocen fácilmente el vaso poroso portamembrana, el manómetro M, el tubo de introducción de la solución G, cerrado a la lámpara en *g*, y las disposiciones destinadas a asegurar el cierre perfecto del sistema.

3.° Consideremos una solución de sacarosa y una solución de glicosa que contenga: la primera, 3,42 gr. de sacarosa por 100 c. c. de la solución; la segunda, 1,80 gr. de glicosa para el mismo volumen de la solución, es decir, 1/100 del peso molecular expresado en gramos en 100 c. c. (el peso molecular de la sacarosa es de 342; el de la glicosa, 180). Estas soluciones tienen la misma presión osmótica, 178 cm. de mercurio.

Esta misma presión osmótica es la que se obtiene con soluciones de urea, de ácido hipúrico, de ácido taurocólico, que contengan en el

mismo volumen de la solución 100 c. c., respectivamente: 0,60 gramos de urea, 1,66 de ácido hipúrico, 5,15 de ácido taurocólico, es decir, 1/100 del peso molecular de estas substancias expresado en gramos.

4.° El peso molecular del nitrato de potasa es de 101. La solución acuosa de nitrato de potasa a 1,01 por 100 debería tener una presión osmótica de 178 cm. de mercurio si el nitrato de potasa entrara en la ley general enunciada en el núm. 3; es notablemente mayor, siendo igual a 268 cm. de mercurio.

Supongamos que en lugar de sumergir en agua destilada el aparato osmótico lleno de una solución, de una solución de sacarosa al 4 por 100, por ejemplo, lo sumergimos en una solución de sacarosa menos concentrada, solución al 1 por 100, por ejemplo; vemos también que el líquido sube en el manómetro o ejerce una presión sobre el mercurio del manómetro de que está provisto, traduciendo así una presión osmótica que se fija a 156 cm. de mercurio, es decir, a un valor igual a la diferencia de presiones osmóticas (respecto al agua destilada) de las dos soluciones puestas en presencia, 208 cm. para la solución de sacarosa al 4 por 100 y 52 cm. para la solución al 1 por 100.

Si consideramos ambas soluciones azucaradas en presencia en este ensayo, decimos que la más diluída es *hipotónica* en relación con la más concentrada, y que ésta es *hipertónica* en relación con la más diluída. Dos soluciones azucaradas de la misma concentración serían *isotónicas*.

Supongamos que en lugar de colocar en los dos lados de la membrana hemipermeable dos soluciones de la misma substancia de concentración diferente, colocamos soluciones de substancias diferentes. Coloquemos, por ejemplo, en el osmómetro una solución de glicosa al 1 por 100 y en el vaso exterior una solución de sacarosa al 1 por 100. Vemos que el agua sube en el osmómetro hasta que ha llegado a una presión de 46 cm. de mercurio, es decir, a una presión igual a la diferencia aritmética de las presiones osmóticas de la solución de glicosa al 1 por 100 (98 cm.) y de la solución de sacarosa al 1 por 100 (52 cm.).

La solución de glicosa al 1 por 100 es hipertónica respecto a la solución de sacarosa al 1 por 100.

Coloquemos en el osmómetro una solución de glicosa de 1,80 gramos por 100 c. c. y alrededor del osmómetro una solución de sacarosa de 3,42 gramos por 100 c. c., es decir, soluciones que contengan por 100 c. c. pesos de substancias disueltas iguales al centésimo de los pesos moleculares de estas dos substancias expresados en gramos; comprobamos que se establece desde el primer momento el equilibrio, pues ningún movimiento de líquido se traduce por una modificación manométrica. Decimos que las soluciones de glicosa al 1,80 por 100 y de sacarosa al 3,42 por 100 son isotónicas.

De un modo general, las *soluciones equimoleculares* (excepto los electrólitos) *son isotónicas*.

Por último, podríase considerar un caso más complicado: aquel en que de una y otra parte de la membrana hemipermeable hubiese soluciones que contuvieran cada una varias substancias disueltas. Tendríamos, por ejemplo, en el osmómetro una solución acuosa que contenga 1 por 100 de nitrato de potasa y 1 por 100 de urea, y en el vaso exterior una solución acuosa con el 1 por 100 de azúcar de caña y el 1 por 100 de glicosa. Se comprobará que el líquido contenido en el osmómetro tiene una presión osmótica mayor que el líquido exterior, siendo esta presión osmótica, tal como se manifiesta en este experimento, la diferencia de las presiones osmóticas de los dos líquidos respecto al agua, y siendo estas presiones osmóticas respecto al agua de cada uno de ellos la suma aritmética de las presiones osmóticas respecto del agua de cada uno de los constituyentes disueltos al grado de concentración en que se encuentran en la solución mixta.

Para la solución de nitrato de potasa y de urea, la presión osmótica del agua es de 265+297, o sea, 562 cm. de mercurio (265 es la presión osmótica de una solución de nitrato de potasa al 1 por 100, y 297 la de una solución de urea al 1 por 100). Para la solución de sacarosa y de glicosa, la presión osmótica respecto al agua es de 52+98, o sea 150 cm. de mercurio (siendo 52 la presión osmótica de una solución de sacarosa al 1 por 100 y 98 la de una solución de glucosa al 1 por 100).

Por este experimento veríamos que el líquido penetra en el osmómetro hasta que llega a una presión de 412 cm. de mercurio, diferencia de los dos números antes encontrados: 562 y 150.

Se llega así a la noción de las soluciones de composición compleja que pueden ser isotónicas. Resulta de lo que acabamos de indicar, y la experiencia lo comprueba, que *soluciones mixtas son isotónicas cuando son equimoleculares*, e inversamente, que *soluciones mixtas son equimoleculares cuando son isotónicas* (considerando, como se comprende, los iones como equivalentes a las moléculas no disociadas).

Los *biólogos* tienen gran interés, en muchas circunstancias, en determinar la *concentración molecular de los líquidos de la*

economía, dato muy importante porque permite explicar los movimientos de agua que se hacen unas veces de los líquidos del organismo hacia las células y otras veces en sentido inverso en las condiciones normales o patológicas.

Para esto pueden hacer una determinación osmométrica o una determinación crioscópica. Esta última es de fácil realización; basta que se disponga de un termómetro exactamente graduado, sensible al centésimo de grado por lo menos, al 500° o al 1.000° si es posible, de una mezcla refrigerante y de algunos centímetros cúbicos del líquido que debe examinarse. La determinación osmométrica es más delicada por muchas razones, en particular porque es muy difícil, sin un largo aprendizaje, preparar una buena membrana hemipermeable.

Los *biólogos*, por otra parte, han imaginado un *método de osmometría práctica* de fácil realización, que da resultados suficientemente precisos para satisfacer la mayoría de las necesidades de los fisiólogos y de los médicos.

La capa periférica del protoplasma celular presenta propiedades muy semejantes a las propiedades de las membranas. He aquí, por ejemplo, los glóbulos rojos de la sangre: contienen en su protoplasma sales de potasio y, cuando más, algunos indicios de sales de sodio, mientras que el plasma, en el cual se hallan en suspensión, contiene hasta el 1 por 100 de cloruro de sodio e indicios solamente de sales de potasio: su zona periférica es, pues, impermeable a las sales de potasio y a las sales de sodio. En cambio, esta zona se deja atravesar por el agua; si se diluye sangre desfibrinada vertiendo en ella agua destilada en pequeña cantidad, se comprueba que los glóbulos rojos aumentan de volumen tomando la forma vesiculosa en lugar de la forma aplanada que tienen en la sangre normal; si se añade a la sangre desfibrinada una solución de cloruro de sodio al 2 por 100, se reconoce al examen microscópico que los glóbulos rojos han disminuído de volumen y se han contraído: en el primer caso, los glóbulos rojos han absorbido el agua del medio ambiente; en el segundo, la han cedido a dicho medio.

Añadiendo a la sangre desfibrinada proporciones crecientes de agua destilada, se ha reconocido que para pequeñas cantidades de agua los glóbulos rojos se hinchan simplemente, pero que en cantidades mayores se destruyen, dejando pasar al medio ambiente la hemoglobina, es decir, el pigmento rojo que contenían, como si la zona periférica de su protoplasma, que forma envoltura o membrana, hubiese estallado por la

presión del agua absorbida. Este fenómeno, que se designa con el nombre de hematólisis o hemólisis, se produce con todas las cantidades importantes de agua que se añadan a la sangre, a partir de una adición mínima (la que frecuentemente no produce más que una hematólisis parcial).

Mediante estos glóbulos rojos no se puede determinar directamente la presión osmótica de un líquido diluído, pero sí la dilución a que hay que someter un líquido para que sea hematolítico hasta el límite. Ahora bien, dos soluciones hematolíticas hasta el límite son isotónicas, ya que su poder osmótico se diferencia del poder osmótico del protoplasma de los glóbulos rojos en un mismo valor, que es la presión justa suficiente para hacer estallar la zona periférica de los glóbulos rojos; por consiguiente, si de los dos líquidos considerados hay uno cuya concentración molecular es conocida, será fácil calcular la del líquido sometido a la determinación.

Supongamos que se quiera determinar la concentración molecular del suero sanguíneo.

Recogemos la sangre; se desfibrina por el batido y se centrifuga vigorosamente para separar los glóbulos rojos del suero.

En una serie de tubos de ensayo se ponen 5 c. c. de suero, y se añaden respectivamente en estos tubos 1, 2, 3..... 10 c. c. de agua destilada. Se dejan caer en cada una de estas mezclas algunas gotas de los glóbulos rojos separados por centrifugación; se agita para repartirlos por toda la masa del líquido; se espera algunos minutos y se centrifuga a fin de separar los glóbulos del líquido en el que estaban en suspensión. En algunos tubos, y particularmente en los primeros de la serie, los glóbulos se separan en el fondo de un líquido incoloro; en los demás, y particularmente en los últimos de la serie, la masa total queda roja después de la centrifugación. Se notará, por ejemplo, que el tubo menos diluído, en el cual el líquido queda rojo, es aquel en el que a 5 c. c. de suero se habían añadido 4 c. c. de agua destilada.

Se repite la prueba utilizando los mismos glóbulos rojos y preparando una serie de líquidos obtenidos añadiendo a 5 c. c. de una solución de cloruro sódico al 1 por 100, respectivamente, 1, 2, 3..... 10 c. c. de agua destilada. La hematólisis se produce en todas las las mezclas en cuya constitución han entrado por lo menos 5 c. c. de agua destilada.

De esto se deduce que la mezcla formada por 5 c. c. de suero y 4 c. c. de agua destilada, y la mezcla formada por 5 c. c. de una solución de cloruro sódico al 1 por 100 y 5 c. c. de agua destilada, tienen la misma presión osmótica, y por lo tanto, la misma concentración molecular.

Ahora bien, 9 c. c. del líquido sérico contienen las substancias disueltas en 5 c. c. de suero, ya que 1 c. c. de este líquido contiene las substancias disueltas en $\frac{5}{9}$ c. c. de suero; esta cantidad debe ser la misma que la contenida en 1 c. c. del líquido salado, o sea $\frac{5}{1.000}$. Así, pues, $\frac{5}{9}$ c. c. de suero contienen substancias disueltas equivalentes osmométricamente a 0,005 gr. de cloruro sódico. Por lo tanto, podemos calcular la cantidad contenidada en 1 c. c. de suero, multiplicando 0,005 gr. por $\frac{9}{5}$, que resulta $\frac{0,045}{5}$ ó 0,009 gramos. El suero examinado es equivalente osmométricamente a una solución de cloruro sódico al 0,9 por 100.

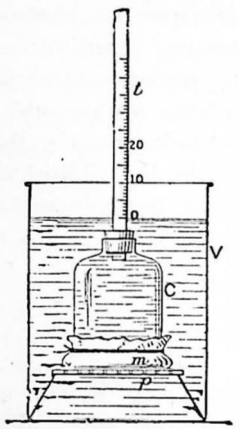


Fig. 17. — Osmómetro de endósmosis y exósmosis. — C, célula osmométrica. — M, membrana de pergamino dializante. — P, placa de sostén de porcelana agujereada. — V, vaso exterior.

No hay duda de que este procedimiento no es de una precisión extrema, pero basta en general para las determinaciones biológicas; es de realización muy fácil, y por lo tanto, al alcance de todo el mundo: basta saber medir volúmenes mediante una pipeta.

Supongamos que se trata de estudiar los movimientos del agua determinados por la presión osmótica sirviéndonos de una membrana hemipermeable: utilizaremos una membrana de pergamino artificial tal como se prepara para los dializadores (1).

En la célula osmométrica, y llenándola completamente, se coloca una solución de azúcar de caña al 2,5 por 100, por ejemplo; después se sumerge el aparato en el agua destilada.

El líquido sube por el tubo vertical hasta alcanzar la altura de 1,80 m., que es la repetición de lo que ya hemos visto empleando la membrana hemipermeable. Pero, casi al momento en que esta altura es alcanzada, la columna líquida baja progresivamente hasta que el nivel del líquido es el mismo dentro del osmómetro que dentro del vaso que lo contiene.

Por lo tanto, hay que distinguir dos fenómenos sucesivos, un fenómeno de *endósmosis* y un fenómeno de *exósmosis*: el primero se traduce por un movimiento del agua, que va del agua destilada hacia la solución, y más generalmente de la

(1) Se toma un buen papel de filtro bien homogéneo; se sumerge durante algunos minutos en una mezcla enfriada de 2 volúmenes de ácido sulfúrico concentrado con 1 volumen de agua; se lava abundantemente; se hace secar.

solución hipotónica hacia la solución hipertónica; el segundo se traduce por un movimiento inverso, de la solución hacia el agua, o más generalmente de la solución hipertónica hacia la solución hipotónica.

Con las membranas hemipermeables, la ascensión del líquido es definitiva; con las membranas de pergamino artificial no es más que temporal. Con las membranas hemipermeables, el fenómeno se reduce a la endósmosis.

Ahora bien, si se examina la composición de los líquidos interior y exterior (hechos homogéneos por agitación de su masa total) mientras la columna líquida baja, se ve que cambia constantemente, disminuyendo progresivamente la concentración azucarada del líquido interior, al tiempo que el medio exterior aumenta cada vez más en azúcar hasta que contiene la misma proporción que la que contiene el líquido interior; la igualdad de composición es alcanzada cuando el nivel de los líquidos es el mismo en una y otra parte de la membrana de pergamino.

Ha habido, pues, difusión del azúcar a través de la membrana de pergamino, y a esta difusión se debe el descenso de la columna de líquido, ya que, a medida que se consigue esta difusión, la diferencia de las presiones osmóticas de los dos líquidos, que es proporcional a la diferencia de sus concentraciones, disminuye y tiende hacia 0.

El fenómeno que se observa en este experimento es doble: primeramente se manifiesta la acción de la presión osmótica de un modo muy brusco; después, secundariamente y con más lentitud, el efecto de la difusión (1). El primer fenómeno conduce a un equilibrio mecánico entre dos fuerzas; el segundo conduce a un equilibrio de composición química de dos líquidos separados por la membrana dializante.

Imaginemos que por una y otra parte de la membrana dializante de pergamino hemos colocado líquidos de composición compleja, por ejemplo: en el osmómetro, una solución que contenga 1 cg. por 100 de nitrato de potasa y 1 cg. por 100 de urea; y en el vaso exterior, una solución que contenga 1 cg. por 100 de glicosa, como hemos indi-

(1) Sin embargo, no es preciso creer que la difusión espera para producirse que la presión osmótica haya agotado sus efectos. En realidad, la difusión se produce así que el aparato es sumergido en el agua, de manera que en el momento en que la columna del líquido que se eleva en el tubo vertical llega a su máximo, una fracción por lo menos de la substancia disuelta se ha difundido ya al exterior. Resulta que el máximo al que llega la columna líquida es siempre inferior al máximo a que habría llegado si la membrana hubiese sido hemipermeable.

cado hace poco (pág. 47), pero utilizando soluciones 100 veces más diluídas. La presión osmótica se manifiesta: el agua penetra rápidamente en el osmómetro, y llega a cierto límite máximo, luego desciende hasta el nivel del líquido del vaso exterior. Si en este momento se examina la composición química de los dos líquidos separados por la membrana dializante, se ve no solamente que su concentración molecular es la misma, sino también que la proporción de cada uno de los elementos es rigurosamente la misma en ambos líquidos.

Las membranas hemipermeables y las membranas dializantes que aquí hemos considerado, son dos tipos muy claros. Pero se puede concebir la existencia—efectivamente, hay una serie de ellas—de otras membranas que posean las propiedades intermedias.

Tal membrana, por ejemplo, que puede considerarse como membrana hemipermeable, no presenta una hemipermeabilidad absoluta, ora porque no es rigurosamente impermeable a las substancias disueltas, ora porque no es impermeable más que para algunas de ellas (la zona periférica de los glóbulos rojos, por ejemplo, entra en esta última categoría, pues, aunque totalmente impermeable a las sales de sodio, de potasio, etcétera, se deja atravesar por la urea, por las sales amoniacales, etc.). Estas membranas se asemejan más o menos a las membranas dializantes, de las que se diferencian únicamente porque oponen a la difusión de las substancias disueltas una resistencia mayor que las membranas de pergamino artificial.

CAPÍTULO III

LAS GRASAS O MATERIAS GRASAS

SUMARIO.—I. NOCIONES GENERALES QUÍMICAS.—¿Qué es un ácido, una base, una sal? ¿Qué es un alcohol, un éter?

II. GRASAS DE LOS TEJIDOS.—Composición de las grasas del organismo: trioleína, tripalmitina, triestearina. Otras grasas.—*a*. Propiedades de las *grasas neutras*. Emulsión. Solubilidades. Combustión. Saponificación. *b*. Propiedades de los *jabones*. Solubilidades y precipitaciones. *c*. Propiedades de los *ácidos grasos*. Solubilidades y combinaciones. *d*. Aplicación. Separación y dosificación de las grasas neutras, de los jabones, de los ácidos grasos contenidos en una mezcla. Extracción de las materias grasas contenidas en un tejido del organismo.

III. LECITINAS.—Constitución de las lecitinas. Tres propiedades características de las lecitinas. Saponificación de las lecitinas. Dosificación de las lecitinas.

IV. LIPOCROMAS Y LIPOIDES.—*a*. Lipocromas. *b*. Lipoides.

Antes de emprender el estudio de las materias grasas es conveniente recordar brevemente lo que es un *ácido*, una *base*, una *sal*, un *alcohol*, un *éter*.

I.—NOCIONES GENERALES QUIMICAS

Los *ácidos* son *compuestos esencialmente hidrogenados*, en los cuales por lo menos un átomo de hidrógeno puede ser reemplazado por un átomo de metal monovalente (1): los productos de substitución así obtenidos son las *sales*.

En el ácido clorhídrico ClH, por ejemplo, el hidrógeno puede ser reemplazado por el sodio: el producto es una sal, el cloruro sódico ClNa.

En el ácido nítrico NO^3H, el hidrógeno puede ser reemplazado por el sodio; el producto es una sal, el nitrato sódico NO^3Na.

(1) La proporción recíproca no es verdadera; en efecto, existen compuestos que no son ácidos en los cuales un átamo de hidrógeno es reemplazable por un átomo de metal monovalente.

Estos ácidos, en los cuales un solo átomo de hidrógeno es reemplazable por un átomo metálico monovalente, son llamados *ácidos monoatómicos* o *monobásicos*. Hay otros ácidos en los cuales dos, tres... átomos de hidrógeno son reemplazables por dos, tres... átomos de sodio; estos ácidos son llamados *diatómicos*, *triatómicos*... o *bibásicos*, *tribásicos*...

En el ácido sulfúrico SO^4H^2, por ejemplo, uno solo, o los dos átomos de hidrógeno, pueden ser reemplazados por uno solo o por dos átomos de sodio: el ácido sulfúrico es un ácido diatómico. El compuesto obtenido reemplazando un solo átomo de hidrógeno por un solo átomo de sodio, SO^4HNa, es una *sal ácida* o *monobásica*; el compuesto obtenido reemplazando los dos átomos de hidrógeno por dos átomos de sodio, es una *sal neutra* o *bibásica*.

En el ácido fosfórico PhO^4H^3, uno, dos o tres átomos de hidrógeno pueden ser reemplazados por uno, dos o tres átomos de sodio: el ácido fosfórico es un ácido triatómico. Este ácido produce tres series de sales: los *fosfatos monobásicos* como el PhO^4H^2Na, los *fosfatos bibásicos* como el PhO^4HNa^2, y los *fosfatos tribásicos* como el PHO^4Na^3.

El grupo atómico obtenido separando de la molécula ácida el o los hidrógenos reemplazables por los átomos metálicos, es lo que se puede llamar un *resto* o *residuo de ácido*:

El residuo del ácido clorhídrico es Cl.
» » nítrico es NO^3.
» » sulfúrico es SO^4.
» » fosfórico es PhO^4.

Ocurre lo mismo en química orgánica. El ácido acético $CH^3\text{-}CO^2H$ es un ácido monoatómico, un solo átomo de hidrógeno es reemplazable por un átomo de sodio, $CH^3\text{-}CO^2NA$.—El ácido oxálico $CO^2H\text{-}CO^2H$ es un ácido diatómico (1), dos átomos de hidrógeno son reemplazables por el sodio; el compuesto $CO^2H\text{-}CO^2Na$ es una sal ácida o monobásica; el compuesto $CO^2Na\text{-}CO^2Na$ es una sal neutra o bibásica. Se pueden considerar también los restos o residuos de ácidos orgánicos.

El residuo del ácido acético es $CH^3\text{-}CO^2$.
» » oxálico es $CO^2\text{-}CO^2$.

Las *bases* son *compuestos esencialmente oxihidrilados*, o sea que contienen el grupo atómico OH (*oxhidrilo*), reemplazable por un resto de ácido monoatómico. El producto de substitución es una *sal*.

En la sosa NaOH, el oxhidrilo OH puede ser reemplazado por el resto de ácido nítrico NO^3; este producto es el nitrato de sosa $NaNO^3$.

(1) Toda fórmula química que representa un ácido orgánico contiene el grupo atómico COOH o CO^2H, denominado *carboxilo*. La fórmula de un ácido monoatómico contiene un carboxilo, la de un ácido diatómico contiene dos, la de un ácido triatómico tres y así sucesivamente.

Estas bases en las cuales no existe más que un oxhidrilo reemplazable por un resto de ácido monoatómico se llaman *bases monoatómicas*. Existen bases en las cuales dos grupos oxhidrilos son reemplazables por dos restos de ácidos monoatómicos o por un resto de ácido diatómico: estas bases se llaman *diatómicas*. Igualmente existen bases que contienen tres grupos oxhidrilos reemplazables por tres restos de ácidos monoatómicos o por un resto de ácido triatómico.

En la cal, por ejemplo, $Ca(OH)^2$, los dos oxhidrilos pueden ser reemplazados por dos restos de ácido nítrico monoatómico $Ca(NO^3)^2$ o por un resto de ácido sulfúrico diatómico $CaSO^4$. La cal es una base diatómica.

En el hidrato férrico $Fe(OH)^3$, los tres oxhidrilos pueden ser reemplazados por tres restos de ácido monoatómico, NO^3, por ejemplo, o por un resto de ácido triatómico, PhO^4, por ejemplo, $Fe(NO^3)^3$ o $FePhO^4$. El hidrato férrico es una base triatómica.

Las bases de la química orgánica llevan el nombre de *alcoholes*. Los alcoholes son igualmente *monoatómicos*, *diatómicos*, *triatómicos*, según que contengan uno, dos o tres grupos de oxhidrilos reemplazables por uno, dos o tres restos de ácido monoatómico. La substancia resultante de la substitución es un *éter*.

El alcohol etílico $CH^3\text{-}CH^2OH$ es un alcohol monoatómico: un solo oxhidrilo es reemplazable por un resto de ácido monoatómico, NO^3, por ejemplo: $CH^3\text{-}CH^2NO^3$.

El glicol $CH^2OH\text{-}CH^2OH$ es un alcohol diatómico, ya que los dos oxhidrilos pueden ser reemplazados o por dos restos de ácido monoatómico NO^3, o por un resto de ácido diatómico SO^4: así son obtenidos los dos compuestos $CH^2NO^3\text{-}CH^2\text{-}NO^3$ y $(CH^2)^2SO^4$.

La *glicerina* $CH^2OH\text{-}CHOH\text{-}CH^2OH$ es un alcohol triatómico, los tres oxhidrilos son reemplazables o por tres restos de ácido monoatómico NO^3, o por un resto de ácido triatómico PhO^4: así son obtenidos los siguientes compuestos:

$CH^2NO^3\text{-}CHNO^3\text{-}CH^2NO^3$ y $(CH^2\text{-}CH\text{-}CH^2)\text{—}PhO^4$

Se concibe que uno, dos o tres oxhidrilos de la glicerina son reemplazados por uno, dos o tres restos de ácido monoatómico; se obtienen así un *monoglicérido*, un *diglicérido*, un *triglicérido*, tales como:

La mononitrina $CH^2OH\text{-}CHOH\text{-}CH^2NO^3$.
La dinitrina $CH^2OH\text{-}CHNO^3\text{-}CH^2NO^3$.
La trinitrina $CH^2NO^3\text{-}CHNO^3\text{-}CH^2NO^3$.

Los ácidos orgánicos pueden, como los ácidos minerales, formar éteres. En particular se obtiene con la glicerina mono, di y triglicéridos de ácidos orgánicos, monoestearina, diestearina y triestearina, por ejemplo.

Dada una sal mineral, se puede descomponer de manera que se regeneren o el ácido o la bases que la han formado. De una manera

general, para obtener el ácido es necesario tratar la sal por otro ácido más enérgico; para obtener la base hay que tratar la sal por otra base más enérgica.

Por ejemplo, para obtener el ácido nítrico a expensas de una de las sales de dicho ácido, del nitrato de sosa, por ejemplo, NO^3Na, se hace obrar en condiciones convenientes el ácido sulfúrico sobre esta sal: el ácido nítrico es regenerado.

Para obtener el hidrato férrico a expensas de una sal de hierro, el nitrato, por ejemplo, se hace obrar en condiciones convenientes la sosa sobre esta sal: la base, hidrato férrico, es regenerada.

Esto, que se verifica en química mineral, se realiza también en química orgánica. En particular, dado un éter, se puede regenerar el alcohol que lo ha formado, haciendo obrar una base sobre el éter. Supongamos, por ejemplo, que se hace obrar la sosa sobre el éter nítrico del alcohol etílico CH^3-CH^2NO^3: se regenerará el alcohol etílico CH^3CH^2OH.

Establecidas estas nociones, podemos emprender el estudio de las materias grasas del organismo.

II.—GRASAS DE LOS TEJIDOS

Las *grasas neutras* (1) de los tejidos del organismo son *triglicéridos*. Por mucho tiempo se ha admitido que estaban constituídos exclusivamente por los éteres trioleico, tripalmítico y triesteárico de la glicerina, la *trioleína*, la *tripaltina* y la *triestearina*, que resultan de la unión de una molécula de glicerina con tres moléculas de ácido oleico, palmítico o esteárico, con eliminación de tres moléculas de agua.

CH^2-$C^{18}H^{33}O^2$	CH^2-$C^{16}H^{31}O^2$	CH^2-$C^{18}H^{35}O^2$
CH-$C^{18}H^{33}O^2$	CH-$C^{16}H^{31}O^2$	CH-$C^{18}H^{35}O^2$
CH^2-$C^{18}H^{33}O^2$	CH^2-$C^{16}H^{31}O^2$	CH^2-$C^{18}H^{35}O^2$
tioleína	tripalmitina	triestearina

Se sabe hoy que las grasas neutras contienen junto con

(1) Se dice *grasas neutras* porque si a una solución etérea de triglicéridos puros se añaden algunas gotas de una solución alcohólica de tornasol, lo más débil posible, no se comprueba ningún cambio del tinte del tornasol: el tinte queda azul sin acentuarse por otra parte. Se emplea ventajosamente, para hacer esta observación, una solución de tornasol preparada como sigue: a 100 centímetros cúbicos de alcohol de 30° se añade un gramo de tornasol en polvo y se calienta algunos instantes al baño de María. Se deja reposar; se decanta y se añade una cantidad mínima de sosa exactamente suficiente para hacer reaparecer un tinte azul muy débil.

estos triglicéridos, *triglicéridos mixtos* en los que una molécula de glicerina está unida a residuos de ácidos grasos diferentes, triglicéridos mixtos como la distearopalmitina, distearooleína, oleopalmitostearina, etc.

Además, se encuentran en las grasas del organismo, si no siempre, por lo menos algunas veces, los éteres tributírico, trivaleriánico, etc., de la glicerina, que resultan de la unión de una molécula de glicerina con tres moléculas de ácido butírico, etc., de un ácido orgánico monoatómico del tipo del ácido acético, $C^nH^{2n}O^2$.

Hay que hacer notar, de paso, que el ácido oleico no pertenece a la serie acética, sino a la serie acrílica $C^nH^{2n-2}O^2$. Su fórmula de constitución es verosímilmente la siguiente:

$$CH^3—(CH^2)^7—CH=CH—(CH^2)^7—COOH:$$

el ácido oleico es un cuerpo no saturado (1).

La trioleína, la tripalmitina y la triestearina, mezcladas en proporciones variables, constituyen la mayor parte de las diferentes materias grasas que se encuentran en los seres vivos (2). Las mezclas que contienen una fuerte proporción de trioleína y poca tripalmitina y triestearina, son líquidas a la temperatura ordinaria (se las designa con el nombre general de *aceites*): las mezclas ricas en triestearina se mantienen sólidas hasta una temperatura notablemente elevada. En una palabra, la temperatura de fusión de estas mezclas varía según su composición (3). Cuando se eleva lentamente la temperatura de una materia grasa natural, las primeras partes que se funden son las ricas en trioleína, pero no son trioleína pura, porque esta materia grasa posee la propiedad de disolver cierta

(1) Los ácidos grasos no saturados y los glicéridos correspondientes pueden fijar tantas moléculas de yodo como dobles conexiones tenga su fórmula de constitución.

Cuando hay interés en conocer la proporción de materias grasas no saturadas contenidas en una grasa dada, se puede determinar el índice de yodo. Se designa con este nombre al número correspondiente al peso, expresado en gramos, del yodo absorbido por 100 gramos de la materia examinada.

Los tratados de química analítica exponen la técnica que hay que seguir para determinar este índice.

(2) Las grasas presentan una reacción microquímica utilizada frecuentemente por los histólogos: la solución acuosa de ácido ósmico al 1 por 100 colora en negro las gotitas oleosas contenidas en los tejidos, como consecuencia de la reducción del ácido ósmico por la trioleína, constantemente presente en las grasas del organismo.

(3) La grasa humana, bastante rica en oleína (65 a 85 por 100), se funde entre 17 y 22°; la grasa de carnero, pobre en oleína (alrededor de 15 por 100), se funde entre 45 y 50°.

cantidad de otros triglicéridos, del mismo modo que la tripalmitina fundida posee la propiedad de disolver cierta cantidad de compuestos esteáricos.

La trioleína pura es un líquido incoloro, oleoso a la temperatura ordinaria, que se solidifica en masa pastosa a una temperatura aproximada a 0°. La tripalmitina pura y la triestearina pura son sólidas a la temperatura ordinaria; se funden la primera a 62°, y la segunda a 71,5°.

a) *Propiedades de las grasas neutras*

Cuando se agita vigorosamente una grasa neutra natural líquida, sea un aceite, sea una grasa fundida, con agua, la materia grasa se divide en una infinidad de pequeños glóbulos que se encuentran esparcidos por todo el líquido, al que dan un aspecto lechoso: la materia grasa ha sido puesta en *emulsión* en el agua, ha sido emulsionada por agitación en el agua. Pero una emulsión así obtenida no es permanente: los glóbulos grasos no tardan en reunirse entre ellos para formar gotas grasosas, que a la vez se fusionan formando una capa en la superficie del agua.

Cuando se agita una materia grasa líquida con una solución diluída (a 2 por mil, por ejemplo) de sosa cáustica o de potasa cáustica, o bien con una solución diluída (a 2 por 1.000, por ejemplo) de carbonato de sosa o carbonato de potasa, se forma una *emulsión* que es *estable* o *permanente* (una *leche*) (1): los glóbulos grasos permanecen muy divididos y quedan en suspensión en el líquido por lo menos durante un tiempo bastante largo. Se obtienen también emulsiones más o menos permanentes agitando las grasas líquidas con soluciones acuosas de jabones, con líquidos acuosos que contengan mucina, con una solución acuosa de saponina (2), etc. Cuando la densidad de la grasa emulsionada y del líquido emulsionante son diferentes, la mezcla no permanece homogénea: la materia grasa sube a la superficie o desciende al fondo del líquido, sin dejar de estar emulsionada (una *crema*) (3).

(1) Se puede emplear, para designarlas, el nombre de leche, porque la leche es una emulsión estable, en la cual los glóbulos grasos están regularmente distribuídos por toda la masa del líquido.

(2) La saponina de un glucósido fácilmente soluble en el agua extraída de la corteza de *Quilaia saponaria* o palo de Panamá.

(3) Se puede emplear la palabra crema, porque la crema resulta precisamente de la ascensión y de la reunión en la superficie de la leche, de las grasas emulsionadas, esparcidas antes por toda la masa, sin que la emulsión se destruya.

Las grasas neutras son insolubles en el agua. Son solubles en el éter, en el cloroformo, en la bencina, en el éter del petróleo, en el sulfuro de carbono, en la acetona, etc. Son muy poco solubles en el alcohol absoluto en frío, algo más solubles en el alcohol absoluto hirviendo.

El alcohol fuerte las disuelve siempre menos que el alcohol absoluto, y mucho menos si contiene una fuerte proporción de agua. La trioleína es más soluble en el alcohol que la tripalmitina, y la tripalmitina más que la triestearina.

La triestearina precipita de su solución en el alcohol absoluto hirviendo, por enfriamiento, en cristales que generalmente son tabletas rectangulares, y especialmente prismas rómbicos. La tripalmitina precipita de su solución en alcohol absoluto hirviendo por enfriamiento, en finas agujas cristalinas. Si en alcohol absoluto hirviendo se disuelve una mezcla de triestearina y tripalmitina, precipitan por enfriamiento bolas formadas por cristales dispuestos radialmente. Antes se consideraban estas bolas formadas por una grasa especial, la *margarina* o *trimargarina*; actualmente se sabe que es una mezcla formada de tripalmitina y de triestearina.

Las substancias grasas líquidas (trioleína) disuelven a las substancias grasas sólidas (tripalmitina, triestearina); así están constituídos los aceites naturales. Las substancias grasas líquidas disuelven también los ácidos grasos libres, y en particular al ácido oleico, palmítico y esteárico.

Las materias grasas no obran sobre la luz polarizada.

Cuando las materias grasas sufren una emulsión, sea en el organismo, sea fuera de él, producen exclusivamente ácido carbónico y agua. Estudiando las fórmulas químicas de estas materias grasas, se reconocerá fácilmente que el volumen de oxígeno necesario para asegurar su combustión es mayor que el volumen de ácido carbónico producido en la combustión: la relación de estos volúmenes $\frac{\text{vol. } CO^2}{\text{vol. } O^2}$ cuyo conocimiento es de tanta importancia en fisiología, el *cociente respiratorio* de las grasas, como es llamado en fisiología, varía algo según la naturaleza de la grasa quemada, pero estas variaciones son tan pequeñas que prácticamente no se tienen en consideración: se admite que el cociente respiratorio de todas las grasas neutras es igual 0,70.

Dejadas en contacto con el aire y la luz, las materias grasas sufren una transformación particular llamada *enranciamiento*. Se vuelven

amarillas, toman un olor y un sabor desagradables, y adquieren una reacción ácida. Se produce primeramente una pequeñísima descomposición de la materia grasa en glicerina y ácidos grasos libres, después de una oxidación parcial de estos últimos, que son transformados en substancias volátiles de olor desagradable.

Hemos dicho hace poco, que si se hace obrar a una temperatura conveniente sobre una sal o sobre un éter, una base metálica convenientemente escogida, se descompone la sal o el éter; se regenera la base de la sal o el alcohol del éter, y se forma una sal a expensas del ácido de la sal y de la base que obra sobre la sal o el éter.

Si se hace obrar sobre las grasas neutras, a la temperatura de ebullición, una lejía de sosa cáustica, o, a la temperatura ordinaria, una solución alcohólica de sosa cáustica, o una solución alcohólica de alcoholato sódico (1), se descomponen las grasas neutras en glicerina y ácidos grasos, combinándose estos últimos con la sosa para formar sales sódicas. Las sales minerales de los ácidos oleico, palmítico y esteárico se llaman jabones; en el caso presente son jabones de sosa. La descomposición de las grasas neutras por los álcalis cáusticos en glicerina y jabones alcalinos es llamada *saponificación*.

Prácticamente, se puede proceder como sigue para la saponificación de las grasas. Se hacen fundir al baño de María hirviente, por ejemplo, 10 gramos de grasa en una cápsula de 1/4 de litro. Cuando la temperatura de la grasa ha llegado a 90-95°, se añaden 10 c. c. de una lejía de sosa cáustica de 36° y 5 c. c. de alcohol fuerte de 95 por 100. Se remueve la mezcla durante 1 a 2 minutos. La saponificación queda terminada. Como que una parte del jabón formado en estas condiciones es precipitado, se añaden, si se quiere obtener la disolución total, 200 c. c. de agua hirviendo, y se mantiene en ebullición removiendo hasta la completa disolución del jabón.

Con el alcoholato sódico, la saponificación se verifica ya a la temperatura ordinaria. Para obtener la saponificación total, basta someter la grasa a la temperatura de fusión, verter en ella la solución alcohólica de alcoholato sódico (que contenga una cantidad suficiente de sodio para saturar los ácidos grasos de la grasa, o sea 1 gr. de sodio por 10 gr. de grasa) y remover durante 5 minutos. Los jabones formados serán redisueltos, si hay lugar a ello, con agua hirviendo.

(1) Esta solución se obtiene proyectando en el alcohol absoluto pequeños fragmentos de sodio metálico. El sodio se disuelve desprendiendo hidrógeno y substituyendo a este último en el alcohol para formar el compuesto CH^3-CH^2-ONa, llamado alcoholato de sodio.

Por extensión, alguna vez se aplica en fisiología la expresión *saponificación* a una simple descomposición de las materias grasas neutras en glicerina y ácidos grasos libres, sin formación de jabones. Tenemos un primer ejemplo de ello en la industria, en la que se descomponen a menudo las grasas neutras en glicerina y ácidos grasos libres por la acción del vapor de agua sobrecalentado a 220°. Un segundo ejemplo lo tenemos en fisiología, en la acción del jugo pancreático sobre las materias grasas, que descompone en materias grasas y glicerina.

Los álcalis cáusticos, las tierras alcalinas, a la temperatura de ebullición saponifican las materias grasas neutras. Pero los carbonatos alcalinos y los carbonatos alcalinotérreos no obran sobre las grasas neutras, no las saponifican.

En la saponificación de las materias grasas hay regeneración de la glicerina y formación de jabones (1). La *glicerina* (2) $C^3H^8O^3$ o CH^2-OH-CHOH-CH^2OH es una substancia líquida, incolora, en extremo viscosa, miscible en todas proporciones en agua y alcohol, insoluble en el éter y en el cloroformo, insoluble también en los aceites y grasas. Hay que notar que estas solubilidades e insolubilidades son inversas a las de las grasas. La glicerina, como ya hemos dicho, es un alcohol tritómico, dos veces alcohol primario y una vez secundario.

Si se somete a la acción de una temperatura elevada a la glicerina o sus compuestos (grasas neutras, por ejemplo), y principalmente en presencia de cuerpos deshidratantes como el ácido fosfórico anhidro, el bisulfato de potasa, etc., pierde dos moléculas de agua y desprende vapores de *acroleína* o aldehido alílico CH^2=CH-CHO, reconocibles por su olor acre (3).

(1) Con 100 gramos de materias grasas se obtienen aproximadamente 10 gramos de glicerina y algo más de 100 gramos de jabones de sosa correspondiendo a unos 95 gramos de ácidos grasos.

(2) Se ha dado a esta substancia el nombre de glicerina a causa del sabor dulzaino que tiene.

(3) Para poner de manifiesto la presencia de glicerina o de éteres de la glicerina se puede proceder de la manera siguiente: En un tubo de ensayo se coloca un gramo, poco más o menos, de bisulfato de potasa, y se deja caer en él una gota de la materia a ensayar; se calienta. Si hay glicerina o glicéridos, se desprenden vapores blancos de un olor vivo e irritante.

Los vapores de acroleína poseen propiedades reductoras; en particular reducen el nitrato de plata amoniacal (partes iguales de amoníaco concentrado, de lejía de sosa y de solución acuosa de nitrato de plata al 2 por 100). Una varilla mojada con este reactivo se introduce en el eje del tubo del que salen los vapores de acroleína, la varilla queda colorada en negro por la plata reducida puesta en libertad. Esta reacción permite comprobar las indicaciones producidas por la percepción del olor acre de la acroleína.

Esta reacción permite caracterizar la glicerina y sus combinaciones, y distinguirlas de substancias tales como los ácidos grasos y la colesterina, que son solubles en los disolventes de las grasas.

b) *Propiedades de los jabones*

Los *jabones* son las sales minerales de los ácidos oleico, palmítico y esteárico. Los jabones alcalinos son solubles en el agua, en el alcohol fuerte, algo solubles en el alcohol absoluto, e insolubles del todo en el éter absoluto (1) y en el cloroformo Los jabones alcalinos presentan las mismas solubilidades e insolubilidades que la glicerina, y, por lo tanto, inversas a las de las grasas. Son insolubles en las soluciones saturadas de cloruro sódico y de sulfato amónico; la adición de estas sales a saturación en los líquidos que contienen los jabones, los precipita en su totalidad. Los jabones alcalinotérreos son insolubles en el alcohol y en el éter. Entre los jabones metálicos, los jabones de plomo únicamente tienen algún interés para nosotros: el oleato de plomo es insoluble en el éter frío (2); el estearato y el palmitato de plomo son insolubles: el éter frío permite, pues, separar los compuestos oleicos de los compuestos palmíticos y esteáricos en estado de jabones de plomo.

c) *Propiedades de los ácidos grasos* (3)

Acabamos de decir que haciendo obrar un ácido convenientemente escogido sobre una sal, se puede regenerar el ácido de esta sal y producir una nueva sal a expensas de la

(1) Han sido emitidas opiniones discordantes referentes a la solubilidad de los jabones alcalinos en el éter. Estas discordancias tienen por causa la diferencia de los éteres empleados por los observadores.

El éter puro y seco (éter oficinal de 0,720 de densidad a 15°) no disuelve en absoluto los jabones alcalinos. El éter húmedo, saturado de agua, disuelve cantidades indosificables de jabones alcalinos. El éter alcoholizado, sea húmedo o no, disuelve tanto más jabón cuanto más alcohol contenga; pero la cantidad disuelta no es notable más que si la proporción de alcohol es grande; el éter rectificado del comercio (0,724 de densidad a 15°) que contiene 3 por 100 de alcohol, no disuelve más que cantidades insignificantes de jabones alcalinos.

(2) Se debe emplear el éter frío, porque los oleatos son descompuestos por el éter hirviendo.

(3) Los ácidos grasos son débilmente ácidos al tornasol. Se demuestra muy fácilmente añadiendo a una solución alcohólica de ácido oleico al 1 por 100, una solución alcohólica de tornasol alcalinizado al mínimo (véase pág. 57, nota); el ligero tinte azulado de la solución de tornasol desaparece para ceder el lugar a la coloración de piel de cebolla.

base de la sal primitiva y del ácido que la descompone. Haciendo obrar sobre los jabones un ácido mineral, descompondremos estos jabones en ácidos grasos libres y en bases metálicas, las que se combinan con el ácido mineral para formar una sal. Si, por ejemplo, hacemos obrar sobre un oleato de sosa el ácido clorhídrico, ponemos en libertad el ácido oleico y se forma cloruro sódico: como que el ácido oleico es insoluble en el agua, se precipita cuando se trata por el ácido clorhídrico una solución acuosa de oleato sódico.

Los *ácidos grasos oleico, palmítico* y *esteárico* son insolubles en el agua, solubles en el alcohol, en particular a la temperatura de ebullición, solubles en el éter, en el cloroformo, la bencina, etc., y en general en los disolventes de las grasas. Son igualmente solubles en las materias grasas neutras. Las materias grasas que tienen en solución ácidos grasos libres forman emulsiones mucho más persistentes que las grasas neutras. El ácido oleico se funde a 14°; los ácidos palmítico y esteárico se funden respectivamente a 62 y 72°. Cuando se tratan los ácidos grasos por un álcali cáustico o por una tierra alcalina, la sosa cáustica o la cal cáustica, por ejemplo, se determina la formación de los jabones correspondientes. Se producen jabones de la misma manera, tratando los ácidos grasos por los carbonatos alcalinos o alcalinotérreos, cuyo gas carbónico es puesto en libertad. (Este es un carácter que los diferencia de las grasas neutras (1): las grasas neutras son saponificadas por los álcalis cáusticos, pero no lo son por los carbonatos alcalinos; los ácidos grasos son transformados en jabones por los álcalis cáusticos y por los carbonatos alcalinos.)

d) *Aplicaciones*

Aplicaciones para la separación y dosificación de las materias grasas y de sus derivados.—Supongamos una mezcla de materias grasas neutras, de ácidos grasos libres y de jabones (jabones alcalinos y jabones alcalinotérreos).

No se trata de una suposición gratuita, ya que los excrementos contienen estas diferentes substancias.

Se agotan por el *éter puro* y *seco* las materias a analizar, desecadas previamente a 110° y trituradas, caso necesario, con arena fina: se disuelven las grasas neutras y los ácidos grasos libres; se dejan

(1) Los ácidos grasos no dan la reacción de la acroleína que dan las grasas neutras y la glicerina.

en el residuo los jabones alcalinos y alcalinotérreos, obteniéndose así una solución etérea S y un residuo R.—La solución etérea, S, que contiene las grasas neutras y los ácidos grasos libres se agita con una solución acuosa de carbonato sódico: los ácidos grasos libres pasan al estado de jabones sódicos y se disuelven en el agua (solución acuosa *a*); las grasas neutras no son alteradas y quedan en solución en el éter (solución etérea *b*).

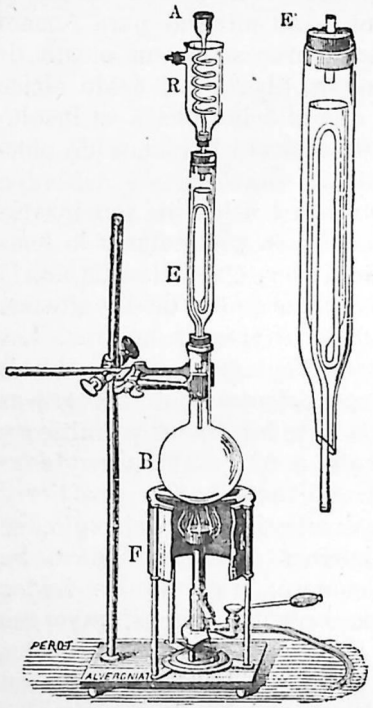


Fig. 18. — Aparato de Soxhlet para la extracción de las materias grasas. — A, aparato completo. — E', parte E del aparato A aumentada. — F, hornillo de gas. — B, matraz en el que se coloca el éter (en la práctica no hay que calentar jamás directamente un matraz con éter, hay que calentarlo al baño de María). — E, aparato extractor compuesto de dos partes, una externa formando envoltura y una interna provista de un tubo sifón en la que se coloca la materia a agotar dentro de un papel de filtro. — R, refrigerante de agua.

La solución acuosa de los jabones sódicos *a* puede, después de neutralización del exceso de carbonato de sosa que contiene, ser precipitada por el cloruro de bario, y los jabones baríticos insolubles, ser separados por el filtro, lavados, desecados y pesados. Pero esta manera de proceder es muy delicada; en efecto, en la neutralización es preciso añadir una cantidad de ácido suficiente para neutralizar rigurosamente la totalidad del carbonato de sosa, si no se quiere formar al momento carbonato de barita que enturbiaría el precipitado de los jabones de barita; es conveniente, por otra parte, evitar la adición de un exceso de ácido, si no se quiere precipitar una parte de los ácidos grasos de los jabones y disminuir; por lo tanto, el precipitado de los jabones de barita. Por todo lo cual es preferible proceder como sigue: los ácidos grasos de la solución de los jabones son precipitados por un exceso de ácido clorhídrico, puestos sobre un filtro, lavados, disueltos por la sosa cáustica: la solución es precipitada por el cloruro de bario, y los jabones de barita son lavados, desecados y pesados.

La solución etérea *b*, exenta de los ácidos grasos libres, contiene grasas neutras: será saponificada por la sosa cáustica. Los jabones sódicos producidos serán disueltos en el agua, precipitados por el cloruro de bario, y los jabones baríticos producidos, separados por el filtro, serán lavados, desecados y pesados.

El residuo de las materias agotadas por el éter R contiene aún los jabones alcalinos y alcalinotérreos. Tratando este residuo por un líquido ácido, una solución clorhídrica diluída, por ejemplo, los jabones serán descompuestos: los ácidos serán puestos en libertad. Se podrá, por consiguiente, después de desecada la masa, extraerlos por el éter, agitar la solución etérea con una solución acuosa de carbonato de sosa y obtener jabones alcalinos en solución en el líquido carbonatado, precipitar de esta solución los ácidos grasos, acidulando mediante el ácido clorhídrico, lavar estos ácidos sobre un filtro, disolsolverlos en la sosa cáustica en estado de jabones sódicos, precipitar estos jabones sódicos por el cloruro de bario, separar por filtración los jabones baríticos, lavarlos con agua, desecarlos y pesarlos. De esta manera se han aislado los tres grupos de substancias grasas que han pasado al estado de jabón barítico.

Si se quieren separar los jabones alcalinos de los jabones alcalinotérreos, se agotará el residuo R por el agua, que, entre otras substancias, le quitará los jabones alcalinos (solución acuosa *c*), quedando los jabones alcalinotérreos en el nuevo residuo *r*. La solución *c* es entonces tratada por un ácido que precipita, entre otras substancias, los ácidos grasos; éstos son disueltos por el éter, después saponificados por el carbonato de sosa o mejor por la sosa cáustica, y los jabones así formados son precipitados por el cloruro de bario en estado de jabones de barita. El residuo *r* es tratado por un ácido que separa los ácidos grasos de los jabones alcalinotérreos que contiene, se deseca y se agota por el éter; los ácidos grasos disueltos en el éter son saponificados por el carbonato de sosa, o todavía mejor por la sosa cáustica, y precipitados por el cloruro de bario en estado de jabones de barita.

Nota. Es posible extraer con bastante rapidez, mediante el éter, las materias grasas y sus derivados contenidos en los excrementos; es muy distinto cuando se trata de un tejido orgánico; las grasas quedan retenidas, una parte por lo menos, de tal manera, que un agotamiento por el éter, por prolongado que sea, no basta para separarlas en su totalidad. En este caso, se puede recurrir a uno de los dos procedimientos siguientes:

1.° Después de haber agotado por el éter el tejido desecado previamente, se tritura y se somete a la acción del jugo gástrico artificial. Las substancias proteicas son transformadas; las materias grasas no son modificadas; un nuevo agotamiento por el éter del residuo de esta digestión gástrica desecado permite extraer la totalidad de las materias grasas que tenía retenidas.

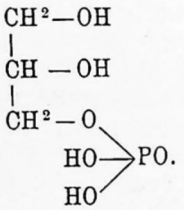
2.° Se puede proceder por extracciones sucesivas con el alcohol fuerte y el éter: el tratamiento por el alcohol favorece el ulterior agotamiento por el éter.

III.—LECITINAS

Al lado de las substancias grasas que acabamos de estudiar, es conveniente colocar a las *lecitinas*. Las lecitinas son esencialmente *grasas fosforadas*.

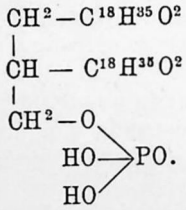
El ácido fosfórico triatómico puede formar con la glicerina tres fosfinas, según que uno, dos o tres oxhidrilos de la glicerina sean reemplazados por el residuo del ácido fosfórico.

Consideremos la *monofosfina*: como la glicerina y el ácido fosfórico son triatómicos, la monofosfina es una vez éter, dos veces alcohol por los oxhidrilos glicéricos no substituídos y dos veces ácido por los dos hidrógenos fosfóricos no substituídos:

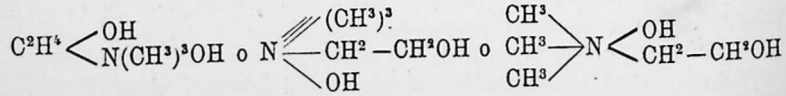


Este compuesto se llama también *ácido fosfoglicérico*.

Imaginemos que los dos oxhidrilos alcohólicos sean reemplazados por dos restos de ácidos grasos, por ejemplo, por dos restos de ácido esteárico llamados estearilos; se obtendrá un compuesto que será dos veces éter y dos veces ácido, el *ácido diestearilfosfoglicérico*:

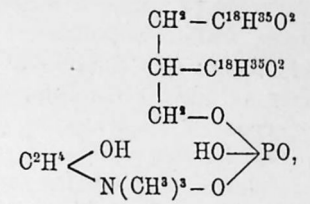


Consideremos, por otra parte, un alcaloide, la *colina*, cuya fórmula (1) puede escribirse indistintamente de cualquiera de las tres siguientes maneras:



(1) La colina es el hidrato de trimetiloxetilamonio.

e imaginemos que el oxhidrilo de esta base sea reemplazado por el resto del ácido diestearilfosfoglicérico, y obtendremos el compuesto:



la lecitina, o, más exactamente, una lecitina, la *lecitina diesteárica*.

En efecto, hay lecitinas en las que los dos restos estearilos son reemplazados por dos restos palmitilos u oleílos, una lecitina *dipalmítica*, una lecitina *dioleica*; y se puede concebir la existencia de lecitinas mixtas, una lecitina *palmitilesteárica*; pero estos cuerpos mixtos no han sido preparados. Las lecitinas de los tejidos animales son generalmente lecitinas diesteáricas.

Las lecitinas son, según su constitución, cuatro veces éter y una vez ácido.

Las lecitinas son insolubles en el agua (se hinchan simplemente en contacto con el agua); son solubles en el alcohol absoluto y también en el alcohol al 90 por 100; el agua añadida en gran cantidad a su solución alcohólica las precipita en forma de emulsión muy estable; solubles en el éter y sobre todo solubles en una mezcla de alcohol absoluto y éter en partes iguales. Son solubles en el cloroformo, sulfuro de carbono, bencina, aceites o grasas. Son insolubles en la acetona y precipitadas por ésta de su solución alcoholetérea; tratando por la acetona una masa que contenga grasas neutras y lecitinas, se disuelven las primeras y no las segundas, lo que constituye un procedimiento de separación de los cuerpos pertinentes a estos dos grupos.

Cuando se evaporan lentamente sus soluciones alcoholetéreas, se posan bajo la forma de masas resinosas pegajosas. Si únicamente se evapora en parte el disolvente, de manera que se determine la precipitación de una parte de la lecitina disuelta, ésta se posa bajo la forma de pequeños glóbulos esféricos que, examinados al microscopio polarizador, presentan el fenómeno de la *cruz de polarización*, o sea, según la posición de los nicoles polarizador y analizador, una cruz negra sobre fondo blanco o una cruz blanca sobre fondo negro.

Por la carbonización de las lecitinas, el fósforo de sus mo-

léculas pasa al estado de ácido fosfórico; las lecitinas forman, pues, un residuo carbónico ácido. Si se añade salitre y potasa cáustica a la lecitina, y se calcina, se forma, a expensas del fósforo de las lecitinas, fosfato tripotásico.

Solubilidad en el alcohol-éter (mezcla a partes iguales de alcohol absoluto y éter anhidro) *e insolubilidad en la acetona, cruz de polarización de los glóbulos y acidez del residuo de carbonización* son las tres propiedades *características de las lecitinas*. Cuando un tejido contenga una substancia soluble en el alcohol-éter (e insoluble en la acetona), substancia que se posa por evaporación del disolvente en glóbulos que presentan el fenómeno de la cruz de polarización, y por la carbonización forman un carbón ácido, se puede afirmar la presencia de una lecitina en este tejido.

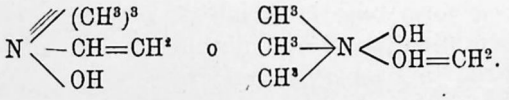


Fig. 19. — Granos de lecitina examinados a la luz polarizada (según Dastre y Morat).

Las lecitinas, cuatro veces éter, son descompuestas por los álcalis cáusticos, sosa o potasa cáustica, o por las tierras alcalinas cáusticas, muy especialmente por la barita cáustica, como lo son todos los éteres: los alcoholes son regenerados, los ácidos se combinan con el álcali o la tierra alcalina, para formar una sal del álcali o de la tierra alcalina.

Tratando las lecitinas, o bien, para fijar mejor las ideas, la lecitina diesteárica, por la sosa cáustica en caliente, se formarán glicerina (1), colina, fosfato trisódico y estearato sódico, o sea un jabón. La sosa saponifica las lecitinas, según se dice.

Cuando se saponifican las lecitinas por los álcalis cáusticos, y mejor aun por la barita cáustica, la colina desprendida no queda totalmente inalterada: una parte es transformada, por la eliminación de una molécula de agua, en un nuevo alcaloide, la *neurina*, que es el hidrato de trimetilvinilamonio:



(1) La lecitina, como todos los derivados de la glicerina, da la reacción de la acroleína, pág. 61.

Esta misma neurina se produce en la putrefacción de las materias que contienen lecitinas, y particularmente en la putrefacción del cerebro. Está dotada de propiedades tóxicas enérgicas, mientras que la colina no es tóxica.

Si se quiere obtener lecitina para estudiar sus propiedades, se mezclan yemas de huevo con un peso igual de acetona, se separa la acetona del residuo por decantación, y se repite esta operación hasta que la acetona ya no se colora.

La acetona ha separado las grasas neutras; la lecitina queda en el residuo. Se la obtiene tratando este residuo desecado mediante el cloroformo.

Hay dos procedimientos para dosificar las lecitinas extraídas de un tejido: el *procedimiento de saponificación* y el *procedimiento de incineración*.

Supongamos una lecitina sin mezcla de grasas neutras o de ácidos grasos libres (por ejemplo, una lecitina cuyas grasas neutras y ácidos grasos se han separado por tratamientos repetidos con acetona); saponificándola por la sosa, y separando y dosificando los jabones formados, podremos calcular fácilmente la cantidad de lecitinas que los han producido.

Supongamos una lecitina sin mezcla de fosfatos (por ejemplo, una lecitina disuelta en alcohol-éter, que no disuelve los fosfatos metálicos); añadiéndole nitrato de potasa y potasa, calcinando la mezcla, y, en el residuo de la calcinación, dosificando los fosfatos, podremos calcular fácilmente la cantidad de lecitinas que los ha producido.

IV.—LIPOCROMAS Y LIPOIDES

a) *Lipocromas*

Las grasas neutras puras, los ácidos grasos y los jabones alcalinos o alcalinotérreos que de ellas se derivan, son incoloros. Las grasas naturales son en general más o menos coloridas. Deben esta coloración a la presencia de substancias llamadas *lipocromas* o *luteínas*. Estos lipocromas, amarillos (aceites) o rojizos (amarillo del huevo de las aves), son cuerpos no azoados, cuya composición es desconocida.

Se los puede separar de las materias grasas: se prepara en caliente una solución de la materia grasa en alcohol absoluto (1), y se saponifica por medio de una solución alcohólica de sosa cáustica caliente; se separa el alcohol por el calor; se trata la masa resultante por el agua, y se precipitan los jabones, o bien por un exceso de cloruro de sodio, al estado de jabones alcalinos, o bien por un cloruro alcalinotérreo al estado de jabón alcalinotérreo. Los jabones

(1) Véase pág. 59 para las solubilidades de las grasas en el alcohol.

arrastran a los lipocromas, los que se separan tratando la masa desecada con el éter de petróleo: éste disuelve los lipocromas fijados

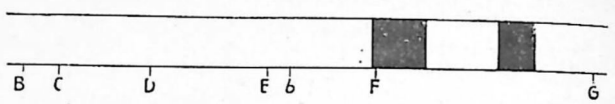


Fig. 20. — Espectro de absorción de un lipocroma, según Hammarsten.

por los jabones insolubles, transformando éstos en ácidos grasos mediante la adición de un ácido mineral.

Los lipocromas presentan un espectro de absorción de dos bandas comprendidas entre las líneas F y G del espectro solar.

b) *Lipoides*

Algunos biólogos reúnen en un grupo común todas las substancias protoplasmáticas solubles en el éter y las designan con el nombre general de *lipoides*. Hay autores que sostienen que es conveniente, por lo menos desde el punto de vista fisiológico, agruparlas en esta forma: es posible, aunque no es evidente; pero desde el punto de vista químico, esta agrupación es artificial y en resumen inadmisible. Las grasas neutras y los ácidos grasos son lipoides, las lecitinas son lipoides, la colesterina es un lipoide; evidentemente, la colesterina no presenta el menor parentesco químico con las grasas neutras o fosforadas. En una obra de química fisiológica es conveniente eliminar los lipoides.

Notemos únicamente, para marcar mejor el carácter heterogéneo de este grupo, que hay lipoides fosforados o fosfatidas (por ejemplo, las lecitinas), lipoides no fosforados (estos son generalmente cuerpos glicosídicos), lipoides sin fósforo y sin nitrógeno (como la colesterina) y, por último, diversos lipoides de naturaleza química desconocida.

CAPÍTULO IV

HIDROCARBONOS O HIDRATOS DE CARBONO

GLICOSAS, SACAROSAS, AMILOSAS

SUMARIO.—¿Qué es un hidrato de carbono? Tres clases de hidratos de carbono interesan al fisiólogo: glicosas, sacarosas, amilosas.—Glicósidos.

I. *Las* GLICOSAS.—Tres glicosas interesantes: glicosa, levulosa, galactosa. *a*. Estudio de la glicosa tomada como tipo de su clase. Solubilidad. Tres propiedades de la glicosa: una propiedad física: poder rotatorio; una propiedad química: poder reductor; una propiedad biológica: fermentabilidad. Estas tres propiedades permiten reconocer y dosificar la glicosa. *b*. Levulosa. *c*. Galactosa.—Aldosas y cetosas. Reacción de la fenilhidracina.

II. *Las* SACAROSAS.—Tres sacarosas interesantes: sacarosa, lactosa, maltosa. *a*. Estudio de la sacarosa tomada como tipo de su clase. Acción de los ácidos diluídos por la ebullición. La sacarosa es una substancia dextrógira, no reductora y no fermentable directamente. Azúcar invertido. *b*. Lactosa. Substancia dextrógira, reductora, no fermentable. *c*. Maltosa. Substancia dextrógira, reductora, fermentable. Distinción de la maltosa y de la glicosa.

III. *Las* AMILOSAS.—Tres amilosas interesantes: almidón, glicógeno, dextrinas. *a*. Almidón. Granos de almidón. Engrudo de almidón. Algunas propiedades del almidón. Reacción del yodo sobre el almidón. Inulina. *b*. Glicógeno. *c*. Dextrinas.

IV. Cuatro palabras sobre la *glicosamina* y sobre el *ácido glicurónico*.

Los *hidratos de carbono* o *hidrocarbonos* se pueden definir de una manera general: substancias compuestas de carbono, hidrógeno y oxígeno, en las que la proporción de las cantidades del hidrógeno y oxígeno es la misma que la proporción de las cantidades del hidrógeno y del oxígeno en el agua, es decir, su peso 16 partes de oxígeno para 2 partes de hidrógeno, o, para hablar el lenguaje químico, p átomos de oxígeno por $2p$

átomos de hidrógeno. Estas substancias tienen, por consiguiente, una fórmula del tipo

$$C^n(H^2O)^p.$$

Cuando sufren la combustión completa, sea fuera del organismo, sea dentro de él, dan exclusivamente ácido carbónico y agua; se puede concebir que están compuestas de carbono y de agua, su combustión es equivalente a la del carbono que ellas contienen. Ahora bien, el carbono desprende por la combustión un volumen de ácido carbónico igual al del oxígeno empleando para dicha combustión, pues, los hidrocarbonos desprenden por la combustión un volumen de ácido carbónico igual al del oxígeno empleado para dicha combustión.

(1) $$C^n(H^2O)^p + nO^2 = nCO^2 + pH^2O.$$

Se designa en fisiología con el nombre de *cociente respiratorio* de una substancia dada, a la relación del volumen de ácido carbónico producido en su combustión, con el volumen de oxígeno necesario para asegurar dicha combustión, medidos los gases en seco, a la misma temperatura (0°, por ejemplo) y a la misma presión (760 milímetros de mercurio, por ejemplo). Para todos los hidrocarbonos, esta relación es igual a la unidad, tal como resulta en la ecuación química (1).

Se comprueba, en efecto, en el examen de esta ecuación que nO^2, o sea n moléculas de oxígeno (la molécula de oxígeno está representada por O^2), dan nCO^2, o sea n moléculas de ácido carbónico (por estar representada la molécula de ácido carbónico por CO^2), y como los volúmenes de todas las moléculas gaseosas son los mismos, se puede expresar:

$$C.R. = \frac{CO^2}{O^2} = 1.$$

Todos los hidrocarbonos responden a la fórmula $C^n(H^2O)^p$, pero toda substancia orgánica que responda a dicha fórmula general no es necesariamente un hidrato de carbono: el ácido acético $C^2H^4O^2$ o $C^2(H^2O)^2$ y el ácido láctico $C^3H^6O^3$ o $C^3(H^2O)^3$ no son hidratos de carbono.

Los hidratos de carbono son derivados aldehídicos o cetónicos de alcoholes poliatómicos: la glicosa es un derivado aldehídico de la sorbita, alcohol hexatómico; la levulosa es un derivado cetónico de la manita, alcohol hexatómico.

Los hidratos de carbono más simples son una vez aldehido, o una vez acetona, y n veces alcoholes. Estos son los *monosacáridos*. Su fórmula general es $C^n(H^2O)^n$. Los hay en los que n es igual a 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9; en este caso se les da el nombre genérico de triosas, tetrosas, pentosas, hexosas, heptosas, octosas y nonosas.

Hidratos de carbono más complicados resultan de la unión de dos moléculas (semejantes o desemejantes) de monosacáridos, con la eliminación de una molécula de agua; son los anhídridos de los monosacáridos. Se les designa con el nombre de *disacáridos*. Responden a la fórmula $C^{2n}(H^2O)^{2n-1}$.

Por último, hay los *polisacáridos*, que se les puede considerar como resultado de la unión de muchas moléculas de monosacáridos, con eliminación de agua: responden a la fórmula $x[C^n(H^2O)^{n-1}]$.

Notemos, finalmente, que se ha señalado, muy excepcionalmente, por lo demás, la presencia en la orina de *pentosas*, es decir, de hidratos de carbono que contienen 5 átomos de carbono que corresponden a la fórmula $C^5(H^2O)^5$. Se encuentran pentosas entre los productos de descomposición de algunos núcleoproteídos, especialmente de aquellos que se extraen del páncreas y del hígado.

Los hidratos de carbono, importantes de conocer para el fisiólogo, pueden ser incluídos en tres clases, caracterizados, respectivamente, por su composición centesimal. Estas clases son:

La clase de las *glicosas*.	$C^6(H^2O)^6$
» *sacarosas*.	$C^6(H^2O)^5\ ^1/_2$ ó $C^{12}(H^2O)^{11}$
» *amilosas*	$C^6(H^2O)^5$.

Los cuerpos de las dos primeras clases, glicosas y sacarosas, se llaman *azúcares* (1).

A las glicosas hay que añadir los *glicósidos*; son éstos, substancias muy extendidas en el reino vegetal, que resultan de la unión de una glicosa con una substancia orgánica oxhidrílica, alcohol o fenol, con eliminación de agua. Bajo la influencia de los ácidos o de diastasas convenientes, estos glicósidos se descomponen, regenerando la glicosa y la substancia orgánica conjugada, o los productos de descomposición de esta última.

La salicina que se puede extraer de la corteza del sauce, se desdobla de esta manera en glicosa y alcohol salicílico (o saligenina) según al fórmula siguiente:

$$C^6H^4\begin{cases} O-C^6H^{11}O^5 \\ CH^2-OH \end{cases} + H^2O = C^6H^{12}O^6 + C^6H^4\begin{cases} OH \\ CH^2OH. \end{cases}$$

salicina — glicosa — saligenina

(1) Los químicos definen los azúcares: cuerpos de sabor dulce que poseen varias funciones alcohólicas.

La amigdalina, que se puede extraer de las almendras amargas, se desdobla en glicosa, aldehido benzoico y ácido cianhídrico según la fórmula

$$\underset{\text{amigdalina}}{C^{20}H^{27}NO^{11}} + 2H^2O = \underset{\text{glicosa}}{2C^6H^{12}O^6} + \underset{\substack{\text{ald.}\\\text{benzoico}}}{C^7H^6O} + \underset{\substack{\text{ácido}\\\text{cianhídrico}}}{CNH}$$

I. — GLICOSAS o MONOSACARIDOS (1) $C^6(H^2O)^6$.

Entre las *glicosas*, debemos considerar tres:

La *glicosa* (o *glucosa*),
La *levulosa*,
La *galactosa*.

Las glicosas poseen, o bien una función aldehídica, o bien una función acetónica: se las divide por esta razón de orden químico, en *aldosas* y *cetosas*: la glicosa y la galactosa son aldosas; la levulosa es una cestosa. Esta distinción tiene importancia principalmente desde el punto de vista químico: nos limitamos a señalarla, sin insistir en ella.

a) *Glicosa*

La **glicosa** (2), o **glucosa**, o **azúcar de uva**, es soluble en el agua, soluble en el alcohol fuerte y en el alcohol absoluto. Es insoluble en el éter; éste la precipita de las soluciones alcohólicas. El agua a 15° disuelve el 80 por 100. El alcohol absoluto a 15° disuelve el 2 por 100; el alcohol absoluto hirviendo disuelve el 30 por 100; el alcohol diluído la disuelve tanto más cuanta más agua contiene.

En solución acuosa, puede ser hervida con los ácidos minerales diluídos, con el ácido clorhídrico al 5 por 100, por ejemplo, sin sufrir modificaciones; pero es alterada por la ebullición en presencia de los álcalis cáusticos (potasa o sosa al 5 por 100).

La glicosa posee tres propiedades importantes de conocer

(1) Monosacáridos, es decir, que no son descomponibles en moléculas azucaradas más pequeñas.

(2) Los fisiólogos y los médicos deben adoptar el término glicosa y no emplear el de glucosa, puesto que existe en el organismo una substancia llamada por todos glicógeno, de la que deriva la glicosa; es evidentemente inadmisible decir que el glicógeno forma la glucosa.

para el fisiólogo: una propiedad física, una propiedad química y una propiedad biológica; *propiedad física*: gira hacia la derecha el plano de polarización de la luz; *propiedad química*: en presencia de los álcalis cáusticos, reduce ciertas sales metálicas; *propiedad biológica*: fermenta bajo la influencia de la levadura de cerveza.

Es sabido que la luz es considerada actualmente por los físicos, como un movimiento vibratorio que se verifica perpendicularmente a la dirección de propagación. Pero como en un punto cualquiera de una línea recta en el espacio se pueden trazar infinidad de perpendiculares a esta recta, una cualquiera de estas perpendiculares representa indiferentemente la dirección de la *vibración luminosa natural*. La vibración luminosa es, pues, únicamente perpendicular a la dirección de propagación; no está contenida en el mismo plano que pasa por la dirección de propagación luminosa. Pero es posible, mediante diversos artificios, que no describiremos aquí, obtener una luz tal, que la vibración luminosa se verifique únicamente en un solo plano que pase por la dirección de propagación y siempre perpendicularmente a esta dirección: una *luz* tal se llama *polarizada*. Hay unos aparatos, llamados *polarizadores*, con los que se obtiene una luz polarizada, y otros, llamados *analizadores*, que permiten conocer la dirección de la vibración luminosa.

Cuando se hace atravesar una solución de glicosa por un rayo de luz polarizada, se comprueba mediante el analizador que la dirección vibratoria de la luz emergente no es la misma que la de la luz incidente: esta dirección ha sido desviada. Se dice que la glicosa desvía el plano de polarización de la luz, que posee un *poder rotatorio*. La vibración luminosa es desviada hacia la derecha (1) por la glicosa: por ello se llama a la glicosa substancia *dextrógira*. Debido a esta propiedad, alguna vez se designa a la glicosa con el nombre de *dextrosa*.

En una solución de glicosa, la desviación observada es proporcional al espesor de la solución atravesada por la luz polarizada; en dos soluciones de glicosa de diferente concentración, el fisiólogo puede admitir, sabiendo, sin embargo, que con ello

(1) Se supone al observador mirando hacia el rayo luminoso y recibiendo en el ojo la polarización después de atravesar la solución de glicosa, tal como ocurre en un examen polarimétrico. Se dice que hay rotación del plano de polarización a la derecha, cuando en estas condiciones la vibración luminosa es desviada en el sentido del movimiento normal de las agujas de un reloj mirando a la esfera, y rotación del plano de polarización hacia la izquierda cuando, en las mismas condiciones, la vibración luminosa es desviada en sentido inverso al movimiento normal de las agujas de un reloj mirando a la esfera.

comete un ligero error, que la desviación observada es proporcional a la glicosa en solución.

El *poder rotatorio específico* de la glicosa anhidra $C^6H^{12}O^6$ por la luz monocromática que dan las sales de sodio, es de 52,6° a la derecha:

$$[\alpha]_D = +52{,}6° \text{ (1)}.$$

Lo que significa que si se hace atravesar una solución de glicosa del espesor de un decímetro, que contenga un gramo de glicosa por centímetro cúbico, por un rayo de luz (monocromática, obtenida por la llama de sodio) polarizada, se comprobará una rotación del plano de polarización hacia la derecha, equivalente a 52,6° (2).

Supongamos que un líquido que contenga glicosa en solución y que no contenga ninguna otra substancia capaz de hacer girar el plano de polarización de la luz, examinado bajo el espesor de un decímetro, haga girar el plano de polarización de un ángulo β. Siendo x la cantidad de glicosa contenida en un centímetro cúbico de este líquido, podremos escribir la proporción:

$$\frac{1 \text{ gr.}}{x} = [\alpha]_D$$

de donde:

$$x = \frac{\beta}{[\alpha]_D} \text{ gramos.}$$

Para fijar mejor las ideas, supongamos que β sea igual a 5,26°.

$$x = \frac{5{,}26}{52{,}6} = 0{,}1 \text{ gr.}$$

La glicosa goza de *propiedades reductoras*: cuando son hervidas soluciones de glicosa en presencia de álcalis cáusticos, con sales de bismuto, de oro, de mercurio o de plata, estas

(1) $[\alpha]_D$ representa el poder rotatorio de una luz que ocupe en el espectro el lugar de la raya D del espectro solar. El signo+indica que la rotación se verifica hacia la derecha. Las rotaciones que se verifican hacia la izquierda llevan el signo —.

(2) Este número se aplica a las soluciones de glicosa que contienen alrededor de un 10 por 100 de glicosa a la temperatura de 20°. El poder rotatorio específico de la glicosa es modificado por la concentración de la solución: aumenta cuando aumenta aquélla. La temperatura modifica también, pero muy débilmente, el poder rotatorio específico de la glicosa. Resulta de estos datos que la determinación polarimétrica del azúcar, para ser rigurosa, debe ser hecha en condiciones precisas de concentración y de temperatura.

sales quedan reducidas: el metal es precipitado. La misma reducción se verifica igualmente a la temperatura ordinaria; pero para verificarse se necesita generalmente mucho tiempo.

Si en una solución de glicosa adicionada de fuerte proporción de sosa cáustica (20 por 100, por ejemplo, y para ello se añaden a 1 volumen del líquido azucarado 2 volúmenes de sosa cáustica al 30 por 100), se añade en suspensión subnitrato de bismuto o hidrato de bismuto recientemente precipitado, y se la hace hervir, se verá que el compuesto de bismuto pasa de blanco a negro: ha sido reducido al estado de bismuto metálico pulverulento negro (*reacción de Böttger*) (1). (L. col. III, figs. D^1, D^2.)

Las sales cúpricas, en presencia de álcalis cáusticos, son reducidas por la glicosa, principalmente a la temperatura de ebullición, al estado de óxido de cobre (oxídulo de cobre), precipitado rojizo, insoluble en los álcalis cáusticos fijos (potasa y sosa cáusticas). Por consiguiente, cuando se hace hervir una solución alcalina de una sal de cobre, solución transparente de un hermoso color azul, después de adicionarle glicosa, se ve al líquido tomar un color rojizo y opaco debido a la reducción de la sal de cobre y a la formación de un precipitado de óxido de cobre. Cuando se deja en reposo este líquido reducido, el precipitado de cobre se posa al fondo de un líquido transparente, descolorado (2) si la reducción ha sido total, o sea si la cantidad de glicosa añadida ha sido importante; azul, si la reducción ha sido parcial, o sea si la cantidad de glicosa añadida ha sido pequeña (*reacción de Trommer*). (L. col. III, figuras C^1, C^2.)

La solución de cobre generalmente empleada por los fisiólogos es el *licor de Fehling*: es esencialmente una solución acuosa de tartrato de cobre y de tartrato potásico, fuertemente alcalinizada por la sosa cáustica: alguna vez se la llama licor cupropotásico (3) o licor azul.

(1) Se utiliza a menudo para esta reacción el reactivo de Nylander. (Véase *Orinas azucaradas*, cap. XXIII, V, *b*.)

(2) Cuando hay un gran exceso de azúcar, el líquido que sobrenada al precipitado de óxido de cobre es amarillo. Esta coloración es debida a la acción ejercida, a la temperatura de ebullición, sobre el azúcar por el álcali cáustico.

La *reacción de Moore*, que se emplea frecuentemente para poner de manifiesto el azúcar, está fundada en la misma acción química: si se calienta una solución de azúcar mezclada con una solución de un álcali cáustico, el líquido toma una coloración morena. (L. col. III, fig. D_3.)

(3) Para preparar este licor de Fehling se disuelven 34,65 gms. de sulfato de cobre cristalizado puro en 200 c. c. de agua, por una parte; se disuelven 173 gms.

Para una misma solución de glicosa, la cantidad de licor de Fehling reducida es proporcional a la cantidad de la solución de glicosa añadida. En dos soluciones que contengan proporciones diferentes de glicosa, el fisiólogo puede admitir, sabiendo, no obstante, que comete un ligero error, que la cantidad de licor de Fehling reducida es proporcional a la cantidad de glicosa añadida. Inversamente, el fisiólogo puede admitir, sabiendo también que comete un ligero error, que para reducir la misma cantidad de licor de Fehling es necesario añadir volúmenes de dos soluciones de glicosa que contengan la misma cantidad de glicosa.

Estos hechos permiten dosificar la cantidad de glicosa contenida, en un líquido, con tal de que este líquido no contenga otras substancias, a más de la glicosa, capaces de reducir al licor de Fehling.

En un volumen determinado de licor de Fehling en ebullición, se echa gota a gota la solución de glicosa, hasta que el licor, en el que fluctúa el precipitado de óxido de cobre formado, sea completamente descolorado. La cantidad de solución de glicosa añadida contiene una cantidad de glicosa suficiente para reducir el volumen de licor de Fehling empleado. Si previamente hemos determinado la titulación de este licor de Fehling, o sea, si hemos determinado la cantidad de glicosa pura que es necesario añadir a un volumen dado de este licor de Fehling para producir su reducción total, podremos saber cuál es la cantidad de glicosa que se halla contenida en el líquido analizado.

Supongamos, por ejemplo, que 10 c. c. de licor de Fehling sean totalmente reducidos por 0,05 gr. de glicosa pura (1). Supongamos,

de tartrato de sodio y de potasio (sal de Seignette) en 480 c. c. de lejía de sosa de 1,14 de densidad (conteniendo 12 por 100 de sosa cáustica), por otra parte. Se mezclan las dos soluciones, y se añade agua hasta llegar a un litro, a la temperatura de 15°. Alterándose el licor de Fehling, principalmente bajo la influencia del calor, del aire y de la luz, se recomienda conservarlo en frascos completamente llenos, negros y colocados en la obscuridad en un sitio fresco. Es mejor aún preparar las dos soluciones, la solución cúprica y la solución de tartrato alcalino, que no se alteran espontáneamente, y no mezclarlas hasta el momento de utilizar el licor de Fehling.

(1) Es siempre necesario titular el licor de Fehling que se emplea para determinar las cantidades absolutas de glicosa, por medio de glicosa pura anhidra. Para ello, se puede preparar la glicosa cristalizada anhidra de la manera siguiente: a 1.500 c. c. de alcohol de 90°, se añaden 60 c. c. de ácido clorhídrico fumante, y, después de poner esta mezcla a 45°, se añaden, por pequeñas porciones, agitando constantemente, 500 gms. de azúcar de caña puro (azúcar cande absolutamente blanco, por ejemplo). Se mantiene esta mezcla a 45° durante dos horas, después se deja durante seis a ocho días en un sitio fresco: la cristalización no tarda en producirse. Los cristales se escurren y se lavan con alcohol de 90 por 100, hasta que no contengan indicios de ácido clorhídrico. Para purificarlos se les puede volver a disolver en alcohol metílico puro, de 0,80 de densidad, hirviendo, y enfriar rápidamente el líquido filtrado: los cristales quedan muy puros.

por otra parte, que para reducir totalmente estos 10 c. c. es necesario añadir 20 c. c. de una solución de glicosa analizada: estos 20 c. c. contienen 0,05 gr. de glicosa; 100 centímetros cúbicos contienen 0,05 gr. $\times \frac{100}{20}$, o sea 0,25 gramos de glicosa; la solución contiene, pues, 0,25 gramos por 100 de glicosa.

Pero es difícil determinar rigurosamente la cantidad exacta de la solución de glicosa que es preciso añadir a un volumen dado de licor de Fehling para producir su reducción total; el precipitado rojo de óxido de cobre oculta la coloración azul del líquido donde se forma: es preciso, por consiguiente, dejar posar el precipitado, evitando la ebullición del líquido, pero manteniéndolo a una temperatura próxima a los 100°, para poder observar la coloración; hacerlo hervir de nuevo, añadirle una pequeña cantidad de la solución de glicosa, dejarlo posar, etc., hasta la decoloración completa (1).

Se simplifica esta maniobra empleando el *licor de Fhling al ferrocianuro*, que se obtiene haciendo disolver en 100 c. c. de licor de Fehling 2 gramos de ferrocianuro de potasio. Cuando se hace hervir este líquido, adicionado de un exceso de glicosa, se observa la decoloración del licor; pero no se produce el precipitado de óxido de cobre: el licor queda siempre perfectamente transparente. Es, por consiguiente, fácil de escoger exactamente el momento en el cual, por la adición gota a gota de una solución de glicosa, un volumen dado del licor azul titulado es exactamente descolorado. Obrando así, la dosificación de la glicosa de un líquido gana en rapidez y exactitud. La reacción debe verificarse al abrigo del aire, porque el aire ennegrece el licor azul ferrocianurado reducido por la glicosa. Es conveniente, pues, hacer caer la solución de glicosa dentro de un matraz donde el líquido azul al ferrocianuro está continuamente en ebullición (2) (fig. 21).

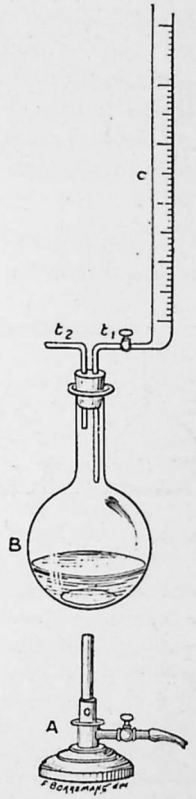


Fig. 21. — Aparato para la dosificación del azúcar por el método del ferrocianuro. — A, mechero de Bunsen.—B, matraz que contiene el licor azul al ferrocianuro. — c, bureta graduada. — t_1, tubo que trae la solución azucarada. — t_2, tubo de salida del vapor.

(1) Para asegurarse de que la totalidad de la sal de cobre ha sido bien precipitada se pueden filtrar algunas gotas del líquido, acidularlo y añadirle ferrocianuro de potasio. Si al líquido le quedan indicios de la sal de cobre, se colora en rojo (ferrocianuro de cobre).

(2) Es conveniente titular el líquido de Fehling ferrocianurado ya, porque la adición de ferrocianuro al licor de Fehling modifica considerablemente su titulación.

La glicosa *fermenta bajo la influencia de la levadura de cerveza.*

Si se pone levadura de cerveza dentro de una solución de glicosa, pronto se ven desprender burbujas de gas carbónico; bajo la influencia de esta levadura, la glicosa es descompuesta, produciendo esencialmente, pero no exclusivamente, *alcohol etílico* y *gas carbónico* (bebidas fermentadas, por ejemplo):

$$C^6(H^2O)^6 = 2(C^2H^6O) + 2CO^2.$$

Se puede poner de manifiesto muy fácilmente la naturaleza del gas desprendido en la fermentación alcohólica. Dentro de un matraz de fondo plano, provisto de un tubo de salida, se colocan el líquido azucarado y la levadura; el tubo de salida está sumergido en un vaso que contiene agua de cal o de barita (fig. 22). Se comprueba que las burbujas de gas que se desprenden provocan la formación de una obscura turbiedad, de precipitado blanco, que presenta las propiedades generales del carbonato de cal o de barita. Por lo tanto, el gas desprendido es ácido carbónico. Muchas reacciones han sido propuestas para poner de manifiesto el alcohol en el licor de fermentación. Expondremos solamente las dos siguientes, no porque sean las mejores, sino por la sencillez de su ejecución. Se fundan: la primera en la propiedad que posee el alcohol de ser fácilmente expulsado de los líquidos que lo contienen por el calor y de dar vapores inflamables; la segunda, por la propiedad que posee el alcohol de dar con el yodo, en los líquidos alcalinos, yodoformo fácilmente reconocible por su olor y la forma de los cristales.

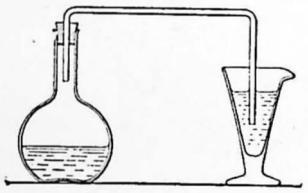


Fig. 22

a. Dentro de un matraz provisto de un largo tubo de salida afilado por su extremidad libre, se introduce el líquido que hay que examinar. Se calienta progresivamente hasta la ebullición. La presencia del alcohol, o más exactamente, de una substancia volátil distinta del agua, se manifiesta por la aparición en las paredes del tubo de salida, de pequeñas gotitas de apariencia aceitosa, que se mueven lentamente hacia la extremidad del tubo. Cuando llegan a dicha extremidad se las puede inflamar mediante un fósforo (fig. 23). Este experimento demuestra que el líquido contiene una substancia volátil y combustible, que puede ser alcohol, pero que no es necesariamente alcohol.

b. En una cápsula de porcelana, un matraz o en un tubo de ensayo, se coloca el líquido que hay que examinar, 10 c. c., por ejemplo,

al que se añaden algunos cristales de yoduro de potasio y sosa cáustica al 30 por 100 (5 a 10 gotas, por ejemplo). Calentando progresivamente esta mezcla a 45-50°, hasta que el líquido sea francamente amarillo, se reconoce por su olor característico la formación del yodoformo, si la solución contenía alcohol. Dejándola enfriar después de estas manipulaciones, la solución deja precipitar cristales amarillos y brillantes de yodoformo, reconocibles por su simetría hexagonal. Esta reacción, lo mismo que la precedente, no es característica del alcohol; se produce del mismo modo con algunas otras substancias, especialmente con la acetona, aldehido, etc.

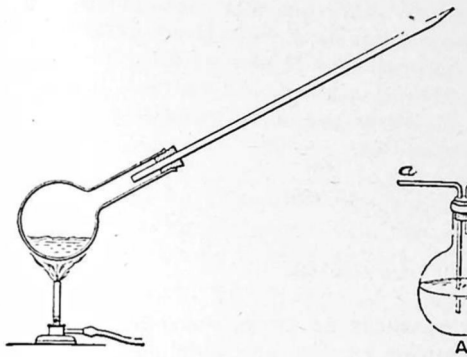


Fig. 23

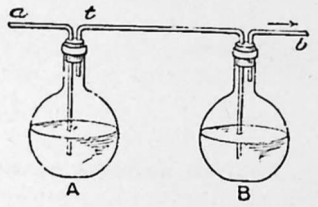


Fig. 24

La descomposición de la glicosa prosigue hasta su desaparición completa: si se conoce, pues, la cantidad de alcohol o la cantidad de gas carbónico producida cuando la descomposición está terminada, se puede calcular la cantidad de glicosa contenida en el líquido examinado: efectivamente, 100 gr. de glicosa producen teóricamente 50,111 gr. de alcohol y 48,888 gramos de gas carbónico (1).

Prácticamente se emplea un aparato dispuesto como indica la figura 24, compuesto de dos matraces: el uno A contiene la solución de glicosa y la levadura previamente lavada con agua (para quitarle el azúcar que pueda contener), el otro B contiene ácido sulfúrico concentrado. En el momento en que se mezclan la levadura y la solu-

(1) Estos datos no son más que aproximados, porque el alcohol y el gas carbónico no son los únicos productos que derivan de la transformación de la glicosa. Se producen especialmente pequeñas cantidades de glicerina, de ácido succínico, etc. Según Pasteur, 100 gms. de glicosa dan en la fermentación alcohólica 48,3 de alcohol, 46,4 de ácido carbónico, 2,5 a 3,6 de glicerina, 0,4 a 0,7 de ácido succínico, etc.

ción de glicosa, se pesa el aparato. Se cierra el tubo *a*, se deja fermentar; el gas carbónico sale por el tubo *t*, borbolla dentro del ácido sulfúrico B, que retiene el vapor de agua arrastrado, y sale por *b*. Cuando la fermentación ha terminado, se hace entrar por *a* una corriente de aire seco que recorre todo el aparato; esta corriente de aire arrastra todo el gas carbónico que está contenido aún dentro de los matraces y dentro del líquido A. Se vuelve a pesar el aparato: la pérdida de peso *p* corresponde a la pérdida del gas carbónico producido por la fermentación de la glicosa. La cantidad de glicosa contenida en el líquido A se calcula por la expresión:

$$P = a \times \frac{100}{48{,}888}.$$

b) *Levulosa*

La **levulosa, fructosa** o **azúcar de fruta**, como la glicosa, es soluble en el agua, casi insoluble en el alcohol absoluto frío, soluble en el alcohol absoluto hirviente, algo soluble en la mezcla de alcohol y éter, insoluble en el éter puro. Es un azúcar dotado de *poder rotatorio*, un azúcar *reductor*, un azúcar *fermentable*.

Obra sobre la luz polarizada; gira el plano de polarización de la luz hacia la izquierda, es una substancia *levógira*, de donde el nombre de *levulosa*. Su *poder rotatorio específico* es:

$$[\alpha]_D = -89{,}9^\circ.$$

La levulosa reduce el licor de Fehling, pero su *poder reductor* es inferior al de la glicosa. Si por difinición, se representa por 100 el poder reductor de la glicosa, el poder reductor de la levulosa está representado por 96. Esto significa que si un peso dado de glicosa puede reducir totalmente 100 c. c. de licor de Fehling, el mismo peso de levulosa no puede reducir más que 96 c. c. de dicho licor.

Por último, la levulosa *fermenta por la levadura de cerveza*, produciendo *alcohol* y *gas carbónico*, como la glicosa.

c) *Galactosa*

La **galactosa** es un azúcar soluble en el agua, algo soluble en el alcohol fuerte, muy poco soluble en el alcohol absoluto, insoluble en el éter. Es un azúcar *dextrógiro*, *reductor*, *fermentable*.

Su *poder rotatorio específico* es:

$$[\alpha]_D = +83^\circ.$$

Su *poder reductor* es igual a 93, suponiendo el de la glicosa igual a 100.

Fermenta por la levadura de cerveza, produciendo *alcohol* y *gas carbónico*. Es conveniente, sin embargo, hacer notar que la fermentación no se produce realmente bien más que con las levaduras que se han acostumbrado progresivamente a vivir en medios galactosados.

Las reacciones de la *fenilhidracina* sobre las glicosas son importantes de conocer. En efecto, ellas permiten aislar las glicosas de los líquidos complejos en que pueden encontrarse, bajo la forma de una combinación definida, insoluble en el agua, cristalizada, de donde se puede, por reacciones químicas relativamente sencillas, regenerar la glicosa generadora.

Como todos los aldehidos y acetonas, las glicosas en solución acética se unen a las hidracinas. Esta reacción es particularmente interesante en el caso de la fenilhidracina.

$$\underset{\text{glicosa}}{C^6H^{12}O^6} + \underset{\text{fenilhidracina}}{NH^2NH\text{-}C^6H^5} = \underset{\text{glicosa-fenilhidrazona}}{C^6H^{12}O^5\text{-}N\text{-}NH\text{-}C^6H^5} + HO$$

Las fenilhidrazonas son generalmente solubles en el agua; no presentan interés en química fisiológica. Pero si se añade a la solución acuosa acética de una glicosa-fenilhidrazona un exceso de fenilhidracina, y se mantiene esta mezcla a la temperatura del baño de María hirviente durante un tiempo suficientemente largo, se forma un sedimento cristalino amarillo de una substancia insoluble o, a lo más, poco soluble en el agua, soluble en el alcohol, una fenilglicosazona, resultado de la fijación de una molécula de fenilhidracina sobre unas moléculas de glicosa-fenilhidrazona, con formación de una molécula de agua y una molécula de hidrógeno (1).

$$\underset{\text{glicosa-fenilhidrazona}}{C^6H^{12}O^5\text{-}N\text{-}NHC^6H^5} + \underset{\text{fenilhidracina.}}{NH^2\text{-}NHC^6H^5}$$

$$= \underset{\text{fenilglicosazona.}}{C^6H^{10}O^4 \begin{cases} N\text{-}NHC^6H^5 \\ N\text{-}NHC^6H^5 \end{cases}} + H^2O + H^2$$

Tratando una fenilglicosazona por el ácido clorhídrico fumante, se la descompone en clorhidrato de fenilhidracina y en un cuerpo llamado *osona*, que se diferencia del azúcar primitivo en que la función, o una de las funciones del alcohol primario de este último, se transforma en una función aldehídica. Estas osonas, tratadas por el hidrógeno naciente (polvo de cinc y ácido acético, por ejemplo), reforman el azúcar generador.

Prácticamente, para obtener la fenilglicosazona, que de esta serie de cuerpos es el más interesante para la química fisiológica, se toman

(1) Este hidrógeno, por otra parte, no se desprende: obra sobre el exceso de fenilhidracina que vuelve al estado de anilina.

una parte de glicosa, 2 de clorhidrato de fenilhidracina, 3 de acetato de sosa y 20 partes de agua: se mantiene una hora al baño de María en ebullición, y se retienen en el filtro los cristales de fenilglicosazona.

La glicosa (1) y la levulosa producen la misma y única fenilglicosazona que se funde (2) a 230-232°.

La galactosa produce una fenilgalactosazona que se funde a 214°.

II.—SACAROSAS O DISACARIDOS

$C^6(H^2O)^{5\,1/2}$ ó $C^{12}(H^2O)^{11}$.

Se ha propuesto algunas veces considerar a los azúcares del grupo de las sacarosas como glicósidos: de la misma manera que los glicósidos están formados por la unión química de un azúcar del grupo de las glicosas con otro elemento químico, las sacarosas están formadas por la unión química de un azúcar del grupo de las glicosas con un elemento químico que en este caso es otra glicosa. Es conveniente recordar esta semejanza, porque las glicosas y las sacarosas se desdoblan en sus componentes por la influencia de iguales agentes de hidrólisis, los ácidos minerales y las diastasas.

Entre las *sacarosas*, tomaremos tres en consideración:

La *sacarosa* o *azúcar de caña*,
La *lactosa* o *azúcar de leche*,
La *maltosa*.

Cuando se hace hervir una solución de uno cualquiera de estos azúcares en presencia de un *ácido mineral diluído*, de ácido clorhídrico al 1 ó 2 por 100 o de ácido sulfúrico, por ejemplo, la molécula de azúcar se *desdobla*, fijando una molécula de agua (fenómenos de *hidrólisis*): se producen dos moléculas de azúcares pertenecientes a la clase de las glicosas:

$$C^{12}(H^2O)^{11} + H^2O = C^6(H^2O)^6 + C^6(H^2O)^6.$$

La *sacarosa* se desdobla en *glicosa* y *levulosa*.
La *lactosa* » en *glicosa* y *galactosa*.
La *maltosa* » en *glicosa* y *glicosa*.

(1) La glicosamina, derivado amidado de la glicosa, produce la misma osazona que la glicosa.

(2) Las osazonas se descomponen fácilmente cuando están próximas a su punto de fusión. Es conveniente, pues, para determinar esta temperatura de fusión, proceder del modo siguiente: la substancia bien desecada se pulveriza y se proyecta en el bloque de Maquenne (figs. 28 y 29). Si este bloque está a la temperatura de fusión, la substancia se funde *instantáneamente*. Si no se funde instantáneamente, se eleva lentamente la temperatura del bloque y se proyecta de vez en cuando alguna partícula de la substancia. Después de 3 ó 4 pruebas, se llega a conocer la temperatura más baja en la que la substancia se funde instantáneamente. Es su temperatura de fusión.

a) *Sacarosa*

La **sacarosa** es soluble en el agua en todas proporciones, pero es insoluble en el alcohol absoluto.

La sacarosa es un azúcar *dextrógiro*; su *poder rotatorio* es:

$$[\alpha]_D = +66{,}5°,$$

suponiendo la sacarosa anhidra.

Cuando se hace hervir la sacarosa con un ácido mineral diluído, 5 c. c. de una solución de sacarosa al 1 por 100 por ejemplo y 1 c. c. de ácido sulfúrico al 10 por 100, se obtiene, como acabamos de indicar, una mezcla de glicosa y levulosa en pesos iguales de las dos substancias, la una dextrógira, con un poder rotatorio igual a + 52,6°; y la otra, levógira, con un poder rotatorio igual a — 89,9°. La mezcla en pesos iguales de estos dos azúcares tiene, pues, un poder rotatorio hacia la izquierda. Por consiguiente, cuando se hace hervir con un ácido mineral diluído una solución de sacarosa, *solución dextrógira*, se obtiene una *solución levógira*. El *sentido de la rotación* de la luz polarizada ha sido *invertido*. Por ello se dice que la sacarosa, sometida a la temperatura de ebullición, a la acción de los ácidos minerales diluídos, es *invertida*, y aun se dice también que se transforma en *azúcar invertido*. El azúcar invertido, es conveniente insistir en ello, no es una substancia químicamente única: es una *mezcla de iguales pesos de glicosa y de levulosa*.

Las soluciones acuosas de sacarosa pueden ser hervidas con el licor de Fehling, o con los líquidos bismúticos alcalinos, o con las mezclas de álcalis y subnitrato de bismuto, sin reducirlos: *la sacarosa no es un azúcar reductor*. Como el *azúcar invertido*, que resulta de la acción de los ácidos minerales diluídos en ebullición sobre la sacarosa, es una mezcla de azúcares reductores, *reduce el licor de Fehling* y los *líquidos bis-*

múticos. Si se quiere, pues, dosificar la sacarosa en un líquido, hay que empezar por hacer la inversión y luego se dosifica por la reducción del licor de Fehling. Para calcular la cantidad de sacarosa, basta saber que 100 partes de sacarosa, después de invertida, tienen un poder reductor igual a 95, siendo el de la glicosa igual a 100, o sea, que 100 partes de sacarosa invertida reducen la misma cantidad de licor de Fehling que 95 partes de glicosa.

La sacarosa, por último, *no es un azúcar directamente fermentable*. Cuando se echa levadura de cerveza dentro de una solución de sacarosa (de 5 a 10 centímetros cúbicos de una solución de sacarosa al 2 por 100 y un gramo de levadura de cerveza húmeda puesta en suspensión en el líquido azucarado) es evidente que se desarrolla una fermentación, dando lugar a la formación de alcohol y gas carbónico; pero esta fermentación comprende *dos fases sucesivas*: 1.°, un *desdoblamiento*, con fijación de agua, de la sacarosa en glicosa y levulosa, una inversión de la sacarosa, por consiguiente, producida por una *diastasa* (1) engendrada por la levadura de cerveza, diastasa a la que se ha llamado *invertina*, porque posee la propiedad de invertir la sacarosa; 2.°, una *fermentación* de la glicosa y de la levulosa engendradas, producida por el fermento figurado. La sacarosa no produce, pues, directamente alcohol y ácido carbónico; para ello debe ser previamente invertida.

La reacción de la fenilhidracina, practicada como acaba de indicarse más arriba (pág. 83), da lugar a la producción de fenilglicosazona, fusible a 230-232°, idéntica a la formada por la acción de la fenilhidracina sobre la glicosa o sobre la levulosa.

La *dosificación de la sacarosa* puede hacerse: 1.°, por la *determinación de su poder rotatorio* en los líquidos que no contengan otras substancias que la sacarosa capaces de obrar sobre la luz polarizada; 2.°, por la *reducción del licor de Fehling*, después de invertida la sacarosa por un ácido diluído, en los líquidos que no contengan otras substancias reductoras (para ello, a 10 gr. de sacarosa disuelta en agua se pueden añadir 20 c. c. de una solución normal de ácido sulfúrico [solución que contiene 49 gr. de SO^4H^2 por litro], completar con agua hasta llegar a 1 litro y someterlo al baño de María hirviente durante media hora); 3.°, por último, en los líquidos que no contengan otras substancias fermentables, por *la determinación de la cantidad de gas carbónico producido por la fermentación de la levadura de cerveza*, porque si no se tiene en cuenta la inversión producida por el fermento inversivo, la reacción puede estar representada aproximadamente por la fórmula:

$$C^{12}(H^2O)^{11} + H^2O = 4(C^3H^6O) + 4CO^2.$$

A 100 partes de sacarosa corresponden 51,45 partes de gas carbónico.

(1) Véase Cap. VI, pág. 147.

b) *Lactosa*

La **lactosa** es soluble en el agua, insoluble en el alcohol absoluto e insoluble en el éter. Es un azúcar *dextrógiro*, *reductor*, pero *no fermentable*.

Su *poder rotatorio* es:

$$[\alpha]_D = + 55{,}2°,$$

suponiendo la lactosa anhidra.

Su *poder reductor*, suponiendo el de la glicosa igual a 100, es igual a 70.

La invertina de la levadura no obra sobre la lactosa; la levadura no hace fermentar la lactosa *ni directa ni indirectamente*. Para obtener una fermentación alcohólica de la lactosa, es necesario, o bien emplear ciertas levaduras distintas de las especies vulgares de la levadura de cerveza, capaces de secretar una diastasa, la *lactasa*, que pueda desdoblar la lactosa en glicosa y galactosa, o bien desdoblar previamente la lactosa en glicosa y galactosa por la ebullición en presencia de ácidos minerales diluídos. En el desdoblamiento de la lactosa por hidrólisis, hay aumento del poder reductor y del poder rotatorio.

Bajo la influencia de diversos microorganismos llamados *fermentos lácticos*, la lactosa (1) se transforma: produce *ácido láctico de fermentación*:

$$C^{12}(H^2O)^{11} + H^2O = 4(C^3H^6O^3).$$

El ácido láctico formado por esta fermentación es llamado generalmente ácido láctico de fermentación. Este ácido es inac-

(1) Las fermentaciones láctica y butírica no se producen solamente con la lactosa; los fermentos lácticos y el fermento butírico las producen igualmente obrando sobre la glicosa, sobre la levulosa, sobre la sacarosa, etc.

tivo sobre la luz polarizada. Su fórmula de constitución es CH^3-CHOH-COOH: es, pues, alcohol secundario.

La lactosa puede sufrir aún otras fermentaciones; citaremos únicamente su fermentación butírica: por la influencia del vibrión butírico, anaerobio, es transformada (si está disuelta en un líquido que no contenga vestigios de oxígeno disuelto), en ácido butírico, ácido carbónico e hidrógeno, según la fórmula

$$C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O = 2CH^3\text{-}CH^2\text{-}CH^1\text{-}COOH + 4CO^1 + 4H^1.$$

El *ácido butírico* puro es un líquido que ya es volátil a la temperatura ordinaria, de un olor acre que permite reconocerlo fácilmente; es miscible con agua en todas proporciones.

En la reacción por la fenilhidracina, la lactosa da unos cristales amarillos, fusibles alrededor de los 200°, insolubles en el agua fría, pero solubles en el agua hirviendo.

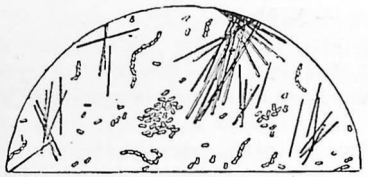


Fig. 25. — Fermento láctico y cristales de lactato de cal.

La *dosificación de la lactosa* se puede hacer: 1.°, en los líquidos que no contengan otras substancias activas sobre la luz polarizada, por *determinación polarimétrica*; 2.°, en los líquidos que no contengan otras substancias reductoras que la lactosa, por la *reducción del licor de Fehling*.

c) *Maltosa*

La **maltosa** es soluble en el agua, soluble en el alcohol absoluto. Es un azúcar *dextrógiro, reductor* y *fermentable*.

A la temperatura de ebullición, la maltosa se transforma en glicosa por los ácidos minerales diluídos. La misma transformación puede ser obtenida por la acción de una diastasa que produce principalmente la levadura de cerveza y que se llama *maltasa*.

La maltosa posee, por lo menos *cualitativamente, todas las reacciones principales de la glicosa*: es dextrógira, reductora y fermentable. La separación y hasta la determinación de estos dos azúcares presenta, por este motivo, muchas dificultades.

La maltosa puede ser *distinguida de la glicosa por su poder rotatorio y por su poder reductor.*

La maltosa, azúcar dextrógiro, tiene un *poder rotatorio*:

$$[\alpha]_D = +144°,$$

suponiendo la maltosa anhidra.

Supongamos que se haga hervir la maltosa con un ácido mineral diluído, de manera que se desdoble con fijación de agua en dos moléculas de glicosa:

$$C^{12}(H^1O)^{11} + H^2O = C^6(H^2O)^6 + C^6(H^2O)^6$$
$$342 \text{ gr.} + 18 \text{ gr.} = 180 \text{ gr.} + 180 \text{ gr.}$$

342 gr. de maltosa producen 360 gr. de glicosa; por consiguiente, 100 gr. de maltosa producen 105,26 gr. de glicosa. Puesto que el poder rotatorio de la glicosa es +52,6°, después del desdoblamiento de la maltosa su poder rotatorio será:

$$144 \times \frac{105.26}{100} \times \frac{52,6}{144}$$

o bien:

$$\frac{105,26}{100} \times 52,6, \text{ o sea } 53,8.$$

Cuando se somete a ebullición, en presencia de ácidos minerales diluídos, una solución de maltosa, el poder rotatorio de la solución queda reducido en la proporción de 144 a 53,8, o sea, muy aproximadamente, del triple al sencillo:

La maltosa, azúcar reductor, tiene un *poder reductor* igual a 66, si el poder reductor de la glicosa es igual a 100. Después de la ebullición en presencia de ácidos minerales diluídos, 100 gr. de maltosa son transformados en 105,26 gr. de glicosa; el poder reductor pasa de 66 a 105,26. Cuando se somete, pues, a la ebullición, en presencia de ácidos minerales diluídos, una solución de maltosa, el poder reductor de la solución aumenta en la proporción de 66 a 105, o sea, aproximadamente del simple al doble.

Aplicaciones de las precedentes nociones.—Una solución que contenga un solo azúcar es dextrógira, reductora y fermentable, ¿contendrá esta solución, glicosa o maltosa?

Si, después de ebullición de la solución con un ácido mineral diluído, el poder rotatorio y el poder reductor no son modificados, el azúcar es glicosa. Si, después de la ebullición con un acido mineral diluído, el poder rotatorio es disminuído del triple al sencillo y el poder reductor aumentado del simple al doble, el azúcar es maltosa.

Se comprende fácilmente que sea posible, fundándose en estas

modificaciones del poder rotatorio y del poder reductor, reconocer en un líquido, que no contenga otras substancias reductoras o dota-

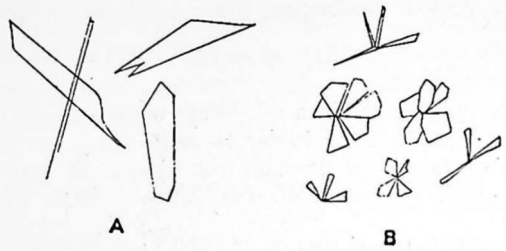


Fig. 26. — Cristales microscópicos de glicosazona (según Grimbert): A, cristalizada en presencia de fenilhidracina. — B, cristalizada en el agua.

das de poder rotatorio, la presencia simultánea de glicosa y de maltosa, y dosificar estos dos azúcares.

La reacción de la fenilhidracina, practicada como ha sido descrita más arriba (pág. 83), da lugar a la formación de una fenilmaltosazona, cuyos cristales funden a 206° (1).

En un líquido que contenga a la vez glicosa y maltosa, se pue-

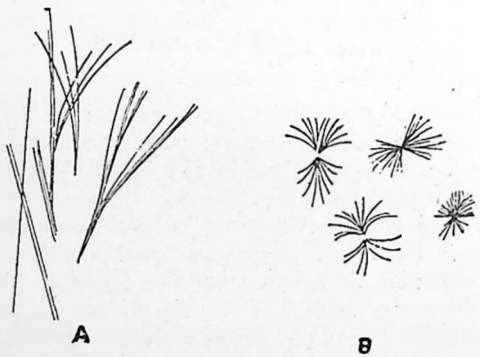


Fig. 27. — Cristales microscópicos de maltosazona (según Grimbert): A, en soluciones que contengan más de 1/5 por 1.000 de glicosa. — B, en las soluciones al 1/10 por 1.000 ó al 1/20 por 1.000.

den descubrir y aislar estos azúcares, apoyándose en las diferentes propiedades de sus osazonas, en particular en sus solubilidades,

(1) Para determinar la temperatura de fusión de una substancia, se emplean bloques metálicos, que se pueden calentar progresivamente mediante el gas o la electricidad, y en los que se puede conocer muy exactamente la temperatura por un termómetro de mercurio. La superficie de estos bloques lleva varias depresiones en forma de cúpula invertida, en las que se coloca, o en las que se echa, una pequeña cantidad del cuerpo cuya temperatura de fusión se quiere conocer (figs. 28 y 29).

sus formas cristalinas y sus puntos de fusión. La fenilglicosazona es insoluble en el agua fría, en el agua hirviendo, en la bencina, en el éter, en el alcohol metílico y en la acetona diluída con su volumen de agua; la fenilmaltosazona es insoluble en el agua fría, pero

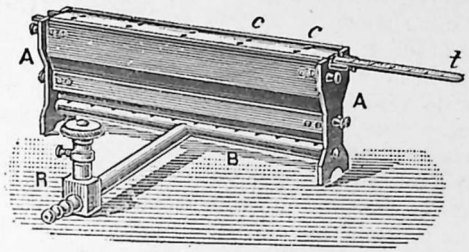


Fig. 28

soluble en el agua hirviendo; insoluble en la bencina y en el éter, pero soluble en el alcohol metílico y en la acetona diluída de su volumen de agua. Los cristales de fenilglicosazona se presentan al examen microscópico en largas agujas agrupadas en ramas de reta-

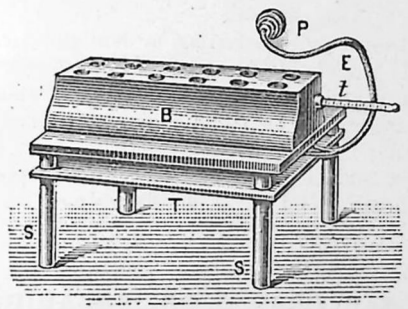


Fig. 29

ma o (cuando provienen de líquidos pobres en glicosa) en pequeños haces, fusibles a 230-232°. La fenilmaltosazona cristalizada se presenta al examen microscópico en anchos cristales tubulares alargados (tanto más largos cuanto más rica en maltosa es la solución en que se forman), pudiendo estar aislados (cuando provienen direc-

Para obtener resultados exactos, cuando se opera con las osazonas, se debe calentar lo bastante el bloque para que se eleve su temperatura de 3 a 5° por minuto: cada minuto se echa una partícula de la osazona previamente desecada, y se anota la temperatura en la que se observa la fusión instantánea. Se deja entonces enfriar el bloque algunos grados, y se repite la prueba cada minuto, mientras se vuelve a calentar el bloque muy lentamente, para obtener la mayor precisión posible.

tamente de la preparación), o agrupados en rosetones (cuando han sido purificados por disolución en agua hirviendo y enfriamiento), fusibles a 196-198°.

Estos datos permiten caracterizar y separar la glicosa y la maltosa contenidas en la misma solución.

Al licor glicomaltosado se añaden, por 20 c. c., 1 c. c. de fenilhidracina purificada y 1 c. c. de ácido acético; se somete durante una hora al baño de María hirviente y se deja enfriar. Las osazonas son separadas del líquido por filtración, lavadas en el filtro con agua fría, desecadas a 100°, lavadas con bencina hasta que ésta quede incolora y desecadas de nuevo a 100°.

Las osazonas así aisladas y desecadas pueden ser separadas por uno de los dos siguientes procedimientos: 1.°, se pulverizan las osazonas en un mortero con un poco de acetona adicionada de su volumen de agua, y se echa la masa sobre un filtro: el licor acetónico arrastra la fenilmaltosazona; librada por evaporación de una parte, por lo menos, de la acetona que contiene, deja posar los cristales de fenilmaltosazona que se reconocerán por su forma, su punto de fusión y su solubilidad; 2.°, se añade a las osazonas una pequeña cantidad de agua destilada y se llevan a la ebullición; filtrado el líquido hirviente, arrastra a la fenilmaltosazona, que cristaliza por enfriamiento, y que se reconoce como ya hemos tenido ocasión de exponer.

Si se quiere buscar y caracterizar la fenilglicosazona, será conveniente agotar la mezcla de las osazonas, o bien con la acetona, adicionada de su volumen de agua, o bien con agua hirviendo, y en el residuo, caracterizar la fenilglicosazona buscando sus propiedades fundamentales.

Se obtienen ya buenos resultados en líquidos que contengan el 1 por 1.000 de glicosa y el 1 por 1.000 de maltosa.

III.—AMILOSAS O POLISACARIDOS

Entre las *amilosas* estudiaremos tres:

El *almidón*,
El *glicógeno*,
Las *dextrinas*.

Estos hidratos de carbono, bajo la influencia de los *ácidos minerales diluídos*, el ácido clorhídrico al 5 por 100, por ejemglo, a la temperatura de ebullición, fijan el agua, y después de una serie de transformaciones, dan finalmente un azúcar perteneciente al grupo de las glicosas.

Las amilosas pueden, en general (1), ser disueltas por el agua. No dializan; éste es un carácter que las diferencia de los azúcares, los que dializan muy fácilmente; las amilosas son *substancias coloides*, pudiendo ser su estado coloidal acentuado o disminuído según las substancias consideradas (véase en la página 110 qué es una substancia coloide).

a) *Almidón*

El **almidón** existe en los vegetales bajo la forma de granos microscópicos, formados de capas concéntricas, dispuestas al-

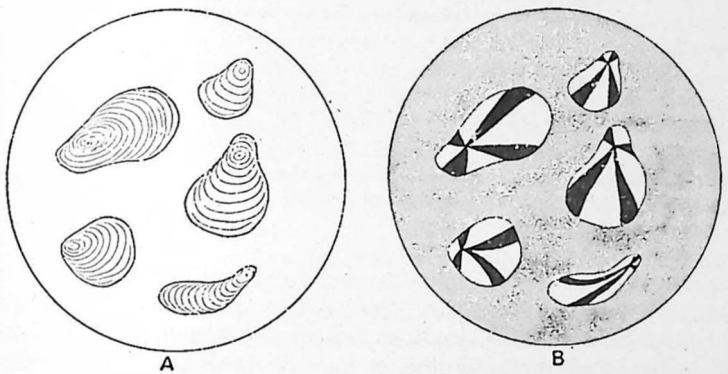


Fig. 30

rededor de uno o más nódulos (fig. 30, A). Estos *granos*, examinados al microscopio con luz polarizada, presentan el *fenómeno de la cruz de polarización*, que es una cruz negra sobre fondo blanco, o una cruz blanca sobre fondo negro, según la posición relativa del aparato polarizador con el aparato analizador (fig. 30, B).

La forma, la estructura y el grosor de los granos de almidón, varían según su origen botánico; son generalmente característicos de la especie de que proceden (fig. 31).

El almidón es insoluble en el agua; pero calentado con ella a una temperatura de 70 a 80°, por lo menos, o, mejor aún, hervido con el agua, se hincha y se transforma en *engrudo de almidón*, algo soluble en el agua. Las soluciones obtenidas

(1) El almidón no es soluble en el agua; el glicógeno y las dextrinas, sí.

son viscosas, opalinas; atraviesan muy difícilmente y sólo parcialmente los filtros de papel y las bujías de porcelana tibia; no dializan a través de las hojas de papel pergamino o de colodión. Estas soluciones son precipitadas por el alcohol; el almidón y el engrudo de almidón son insolubles en el alcohol.

Las soluciones de engrudo de almidón *no reducen* el licor de Fehling, *no fermentan* por la levadura de cerveza y no dan reacción alguna con la fenilhidracina. Hervidas con ácidos mi-



Fig. 31. — Granos de almidón: *a*, patata. — *b*, trigo. — *c*, centeno. — *d*, cebada. — *e*, cúrcuma leucorriza (arrow-root de las Antillas). — *f*, fécula de sagú. — *g*, avena. — *h*, maíz. — *i*, arroz.

nerales diluídos, con el ácido clorhídrico al 1 por 100, por ejemplo, dan una serie de productos de transformación y de hidratación, dextrinas, maltosa, glicosa (fenómeno de la *sacarificación*). Cuando la ebullición ha sido prolongada suficientemente, no queda en el líquido más que glicosa, habiéndose transformado la dextrina y la maltosa por la acción de los ácidos minerales diluídos a la temperatura de ebullición.

Si se añade a una solución de engrudo de almidón una *solución acuosa de yodo* o una *solución de yodo con yoduro potásico* (1), se obtiene una coloración azul intensa (2) (*yoduro de almidón*) (3). Si se somete este líquido azul a una tempera-

(1) Para obtener la solución acuosa de yodo, se ponen en el fondo de un frasco algunas escamas de yodo sólido y se llena de agua: el yodo se disuelve lentamente en el agua, a la que colora de un moreno poco intenso. La solución de yodo en el yoduro de potasio se obtiene disolviendo en 200 gms. de agua destilada 2 gms. de yoduro de potasio y 1 gm. de yodo (*solución yodoyodurada*).

(2) Es mejor emplear en este caso la solución acuosa de yodo: la reacción que engendra con el almidón forma una verdadera coloración azul. El licor yodoyodurado no da la coloración azul si no es añadido en una cantidad extremadamente mínima; si hay un pequeño exceso de reactivo, el color azul es tan intenso que parece negro. Por lo tanto, con la solución yodoyodurada, y aun con la solución acuosa de yodo, hay que echar el reactivo a gotas y saber detenerse a tiempo.

(3) Esto no quiere decir que la coloración azul sea una combinación de almidón y yodo comparable a los yoduros, y tampoco indica que haya combinación química

tura de 70°, la coloración azul desaparece y el líquido queda incoloro; al enfriarse, la coloración reaparece, para desaparecer de nuevo a 70°, y así siempre. De la misma manera, cuando se trata el almidón sólido por el agua yodada, y hasta sobre los granos naturales de almidón, se obtiene una coloración azul de yoduro de almidón. (L. col. III, fig. E_1.)

El almidón, bajo la influencia de una diastasa secretada por la cebada en germinación (amilasa), sufre una transformación química: produce dextrinas y maltosa. La misma transformación se produce bajo la influencia de la tialina de la saliva y de la amilopsina del jugo pancrático de los animales.

¿El almidón es una entidad química? Es dudoso. Muy probablemente es una mezcla de varias substancias que poseen propiedades y reacciones más o menos semejantes. Hay la tendencia a agrupar estas substancias en dos grupos: las amilocelulosas y las amilopectinas; las *amilocelulosas* poseen la reacción yodada, se transforman en maltosa por la acción de la amilasa de la cebada en germinación y no tienen ningún carácter mucilaginoso; las *amilopectinas*, mucilaginosas, que producen la gelatinización del engrudo, no dan la reacción yodada y no producen maltosa por la acción de la amilasa de la cebada en germinación.

Al lado del almidón hay que señalar la *inulina*, que se encuentra en los tubérculos de muchas plantas en lugar del almidón. La inulina se disuelve con bastante facilidad en el agua hirviendo, sin formar engrudo. La solución es precipitada por el alcohol; no da la reacción del yoduro de almidón; el yodo la colora de amarillo. Las distasas amilolíticas en general, y las diastasas amilolíticas de los jugos digestivos en particular, no tienen ninguna acción sobre la inulina. Los ácidos minerales diluídos hirviendo transforman la inulina en levulosa y no en glicosa.

b) *Glicógeno*

El **glicógeno** o **almidón animal** es una substancia que posee propiedades coloides, soluble en el agua, insoluble en el alcohol (el alcohol, añadido hasta que el líquido contenga el 66 por 100, precipita totalmente el glicógeno) (1), insoluble

entre el yodo y el almidón, sino sencillamente que se obtiene la coloración azul por la acción del yodo sobre el almidón.

(1) Sin embargo, el alcohol no precipita al glicógeno más que en el caso de que el líquido contenga sales minerales; las soluciones acuosas de glicógeno, libradas de sales por diálisis prolongadas en presencia de agua destilada, no precipitan por el alcohol.

en el éter y no dializable. Las soluciones acuosas de glicógeno son líquidos fuertemente opalescentes. El glicógeno *no reduce* el licor de Fehling y *no fermenta* por la levadura de cerveza.

Hervido o mejor llevado al autoclave a 120° con los ácidos minerales diluídos, con el ácido clorhídrico al 5 por 100, por ejemplo, el glicógeno sufre análogas transformaciones a las que sufre el almidón en las mismas condiciones: la solución pierde en seguida su opalescencia; prodúcense dextrinas y maltosas, y después glicosa (1).

Hervido con los álcalis cáusticos, el glicógeno no sufre ninguna transformación.

El glicógeno en solución es dextrógiro:

$$[\alpha]^{D} = + 200^{\circ} \text{ aproximadamente.}$$

Cuando se añade a una solución de glicógeno un poco de solución yodoyodurada (v. pág. 94, nota 1), la solución toma una coloración *pardocaoba*. El glicógeno en polvo o las porciones de él que hay en los tejidos se coloran también con esta solución. Esta coloración morena de caoba desaparece hacia los 70°, reapareciendo por enfriamiento. El agua yodada no da claramente esta reacción de coloración, por lo menos con las soluciones de glicógeno. (L. col. III figs. E_2, E_3.)

c) *Dextrinas*

Se obtienen dextrinas partiendo del almidón y del glicógeno tratados por agentes sacarificantes no llevando la sacarificación a fondo. Se llevará, por ejemplo, a 200° en tubo cerrado a la lámpara una emulsión de engrudo de almidón; o bien se harán obrar sobre el engrudo de almidón los ácidos minerales diluídos o las diastasas amilolíticas durante un tiempo limitado.

Las **dextrinas** son solubles en el agua, insolubles en el alcohol absoluto y sus soluciones acuosas no son opalescentes; son insolubles en el alcohol absoluto y en el alcohol fuerte a 95 por 100, por ejemplo, y son precipitadas de su solución acuosa por adición de 2 a 3 volúmenes de alcohol fuerte.

Hay quien sostiene que las dextrinas están dotadas de un *poder reductor*, aunque débil. Es verosímil que las dextrinas reductoras sean dextrinas mezcladas con impurezas reductoras: efectivamente,

(1) La sacarificación del glicógeno por los ácidos minerales diluídos, por ejemplo por el ácido clorhídrico al 5 por 100 a la temperatura de 100° y mejor a 120° al autoclave exige muchas horas para ser total.

a medida que se van preparando más puras, se comprueba una disminución, y a veces una supresión total, de este poder reductor. Se puede admitir, pues, que las dextrinas no son reductoras.

Las dextrinas *no fermentan* por la levadura de cerveza; solamente fermentan después de haber sido sacarificadas.

Los ácidos minerales diluídos (ácido clorhídrico al 5 por 100, por ejemplo), por la ebullición, las transforman. Se producen nuevas dextrinas y maltosa; y finalmente glicosa, y nada más que glicosa, pues todos los productos intermedios son transformables en glicosa en estas condiciones (sacarificación).

Entre las dextrinas, unas se coloran en rosa por el agua yodada o por la solución yodoyodurada: se las llama *eritrodextrinas*; y otras no se coloran por este reactivo: se las llama *acrodextrinas* (L. col. III, figura E_4).

Las dextrinas representan una serie de *substancias de propiedades progresivamente variables*, que pasan por grados insensibles de las propiedades del almidón o del glicógeno a las propiedades de los azúcares. Es decir que las dextrinas sobre las que se pueden hacer prácticamente ensayos no son cuerpos químicamente puros, sino mezclas de cuerpos en número y proporciones indeterminados.

IV. — GLICOSAMINA Y ACIDO GLICURONICO

Con el grupo de los hidrocarbonos se relacionan dos substancias que presentan un interés fisiológico, la glicosamina y el ácido glicurónico.

La glicosamina es un derivado monoamidado de la glicosa. La glicosa responde a la fórmula

$$CH^2OH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHO,$$

y la glicosamina, a la constitución

$$CH^2OH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHNH^2\text{-}CHO.$$

No se la conoce en estado de libertad química en el organismo; pero forma parte de combinaciones, entre las que la más importante para nosotros es la mucina. Bajo la acción de los agentes de hidrólisis, y particularmente de los ácidos minerales diluídos hirvientes, las mucinas son desdobladas en substancia proteica y glicosamina. La glicosamina aparece aquí en forma hidrocarbonada, formando parte de las combinaciones glicoproteicas.

El *ácido glicurónico* puede ser considerado como producto de oxidación de la glicosa. La glicosa tiene por fórmula

$$CH^2OH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHO;$$

y el ácido glicurónico, a la constitución

$$COOH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CHO.$$

No se le conoce en estado de libertad química en el organismo; se le encuentra en la orina bajo la forma de combinaciones fenólicas, equivalentes a los fenilsulfatos, ácidos fenilglicurónico, indoxilglicurónico, etc. Sometido a la acción de agentes hidrolizantes, y particularmente a la de los ácidos minerales diluídos hirvientes, los compuestos glicurónicos conjugados con los fenoles son desdoblados en fenoles y ácido glicurónico.

El ácido glicurónico no fermenta por la levadura de cerveza. En la fermentación pútrida produce un azúcar C^5 o pentosa, la xilosa.

El ácido glicurónico es precisamente muy interesante en cuanto representa un término de paso entre la glicosa y la xilosa, o sea entre una hexosa y una pentosa. Partiendo de la glicosa.

$$COH\text{-}(CHOH)^4\text{-}CH^2OH$$

se puede, por oxidación a propósito, obtener el ácido glicurónico

$$COH\text{-}(CHOH)^4\text{-}COOH \text{ y } H^2O,$$

y por oxidación del ácido glicurónico, xilosa y ácido carbónico

$$COH\text{-}(CHOH)^4\text{-}H \text{ y } CO^2$$

que también se puede expresar con la fórmula

$$COH\text{-}(CHOH)^3\text{-}CH^2OH \text{ y } CO^2.$$

CAPÍTULO V

SUBSTANCIAS PROTEICAS O PROTEINAS

SUMARIO.—I. Substancias albuminosas.—¿Qué es una substancia albuminosa? Homogeneidad del grupo albuminoso: constitución y reacciones de coloración.—*a. Reacciones de coloración.* Algunas reacciones de coloración de las substancias albuminosas: reacción xantoproteica; reacción del biuret; reacción de Millon; reacción glioxílica.—b. *Acidos aminados* o *aminoácidos.* Nociones generales sobre la *constitución química* de las substancias albuminosas. Aminoácidos acíclicos, aromáticos y heterocíclicos.—*c.* Protaminas.—d. *Estado coloidal de las substancias coloides.* ¿Qué es una substancia coloide? Coloides minerales y coloides albuminosos; atenuación del carácter coloidal.—e. *Clasificación fisiológica de las substancias albuminosas.* Substancias albuminosas naturales, substancias albuminosas de transformación.—1. *Substancias albuminosas naturales.*—α. *Reacciones de precipitación,* ácidos minerales, sales neutras, ferrocianuro de potasio acético, alcohol, tanino acético, ácidos fosfomolíbdico y fosfotúngstico, licor de Brücke clorhídrico, reactivo de Tanret, ácido pícrico, ácido tricloracético. Elección del reactivo de precipitación. Las substancias albuminosas naturales son coagulables. ¿Qué es una *coagulación?* Precipitación y coagulación. β. *Coagulación de las substancias albuminosas.*—Caracteres distintivos de las *albúminas* y de las *globulinas.* Valor de estos caracteres. Aplicaciones: ¿una substancia albuminosa natural es una albúmina o una globulina? ¿Cómo se puede separar una albúmina de una globulina?—2. *Substancias albuminosas de transformación.* Cuatro grupos interesantes: α. Substancias albuminosas coaguladas. β. Alcalialbuminoides y ácidoalbuminoides. γ. *Proteosas.* Propiedades de las proteosas: solubilidades y precipitaciones. Propeptonas y peptonas. Las tres reacciones propeptónicas. Proteosas verdaderas y peptona verdadera. Las bases de la peptonización. δ. Polipéptidos.

II. Proteidos o *proteínas conjugadas.*—¿Qué es un proteido? Cuatro grupos interesantes: Hemoglobina, glicoproteidos, núcleoproteidos, paranúcleoproteidos.—*a.* Glicoproteidos. ¿Qué es un *glicoproteido?* Mucinas y mucoides. Propiedades principales de las mucinas.—*b.* Núcleoproteidos. ¿Qué es un *núcleoproteido?* Sus principales propiedades. 1. ¿Qué es una nucleína? 2. Acidos nucleicos, bases nucleínicas o xánticas, bases pirimídicas. 3. Núcleoprotaminas y núcleohistonas.—*c.* Paranúcleoproteidos.

III. Albuminoides o *escleroproteínas* o *proteoides.*—Gelatina; elastina.

Se designan con el nombre de *substancias proteicas* o *proteínas* un gran número de cuerpos esencialmente compuestos de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre, que entran en la composición de los organismos vivientes. No es posible dar una definición precisa del grupo proteico, dado el estado actual de la ciencia. Pero podemos admitir que constituyen una familia natural: fisiológicamente, porque derivan unos de otros en el organismo; químicamente, porque se encuentran las mismas substancias en sus productos de descomposición.

Estudiaremos primeramente, como tipo de este grupo de substancias, las *substancias albuminosas* o *albuminoides*, que constituyen una clase natural, y en seguida indicaremos las principales propiedades de las otras proteínas, comparándolas a las de las substancias albuminosas.

I.—SUBSTANCIAS ALBUMINOSAS O ALBUMINOIDES (1)

1. Son substancias *esencialmente compuestas de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre* (2). La proporción de estos diferentes elementos varía de una substancia albuminosa a otra, pero dentro de ciertos límites muy reducidos (3):

C, de 50,6 a 54,5 p. 100
H, de 6,5 a 7,3 —
N, de 15,0 a 17,6 —
O, de 21,5 a 23,5 —
S, de 0,3 a 2,2 — (4).

(1) Habiendo sido la palabra albuminoide empleada en distintos sentidos por diversos autores (los alemanes llaman albuminoides a las substancias que en Francia llaman albumoides), se ha propuesto abandonarla. Pero no se ha propuesto ninguna palabra para reemplazarla; únicamente se ha propuesto el grupo de las albúminas y el grupo de las globulinas; mas como hay que designar el grupo resultante de la unión muy natural de estos dos grupos, nosotros conservaríamos con mucho gusto el nombre de grupo albuminoide. Sin embargo, como que este nombre se puede prestar a confusiones, estamos prestos a designarlo por otro nombre, el de albuminosos, por ejemplo, o cualquier otro que se proponga.

(2) Hemos indicado en el Cap. I, págs. 2 y 3, los procedimientos a emplear para reconocer si una substancia orgánica es nitrogenada o sulfurosa.

(3) El análisis elemental de las substancias albuminosas no es importante desde el punto de vista del conocimiento de su constitución molecular, de su clasificación y de sus relaciones recíprocas. Lo que es importante es el conocimiento de los principales agrupamientos atómicos que entran en la constitución de la molécula: trataremos de ello mas adelante (véanse págs. 107 y siguientes).

(4) La molécula de substancia albuminosa contiene, por lo menos, dos átomos de azufre; efectivamente, una parte de azufre, pero solamente una parte, pasa al estado de sulfuro alcalino cuando se trata la substancia albuminosa por una lejía alcalina. El resto no se puede separar más que por la acción combinada de un álcali cáustico y de salitre a la temperatura de fusión.

Se puede demostrar muy sencillamente la existencia de estos cinco elementos en la molécula de proteína. Un fragmento de albúmina (1 decigramo, por ejemplo), previamente desecado a la estufa a 110°, se introduce en un tubo de ensayo y se calienta progresivamente a la llama de un mechero de Bunsen. Se pone encima del orificio del tubo un pedazo de papel de tornasol encarnado, y después un pedazo de papel impregnado de acetato de plomo (papel glaseado). El papel plúmbico se ennegrece por la formación de sulfuro de plomo negro (presencia de azufre). El papel de tornasol se vuelve azul por la acción de los vapores amoniacales (presencia de ázoe); los vapores desprendidos huelen a amoníaco y a cuerno quemado (presencia de ázoe). En las paredes del tubo se forman pequeñas gotas de agua (presencia de oxígeno y de hidrógeno), y en el fondo del tubo queda un residuo negro hinchado (presencia de carbono).

Las substancias albuminosas poseen poder rotatorio a la izquierda.

2. Las diferentes substancias albuminosas dan, bajo la influencia de ciertos agentes destructores, *los mismos productos de descomposición.*

Así es que el vapor de agua bajo presión y a alta temperatura, los álcalis y los ácidos minerales diluídos (10 por 100, por ejemplo), a la temperatura de ebullición, descomponen todas las substancias albuminosas y producen amoníaco, hidrógeno sulfurado y aminoácidos, que son la leucina (o ácido aminocaproico), la tirosina (o ácido paraoxifenilaminopropiónico), el ácido aspártico (o ácido aminosuccínico), etc. De esta manera la barita cáustica a elevada temperatura, 150° a 250°, en un vaso cerrado, descompone todas las substancias albuminosas en amoníaco, gas carbónico, ácido acético, ácido oxálico, leucinas (ácidos de la fórmula $C^nH^{2n+1}NO^2$), leuceínas (ácidos de la fórmula $C^nH^{2n-1}NO^2$), tirosina, etc. Así es como los álcalis cáusticos (potasa, por ejemplo) destruyen todas las substancias albuminosas, produciendo amoníaco, gas carbónico, ácido acético, ácido oxálico, fenol, indol, escatol, etc. De esta manera, por putrefacción, todas las substancias albuminosas se descomponen formando amoníaco, gas carbónico, hidrógeno sulfurado, tirosina, indol, escatol, etc. Así también, por último, bajo la influencia de las diastasas proteolíticas, las substancias albuminosas producen diversos productos, análogos,

si no idénticos, para las diversas substancias albuminosas, variables, por otra parte, según la naturaleza de la diastasa productora.

3. Por último, todas las substancias llamadas albuminosas, sea en solución, sea en estado sólido, presentan una misma serie de *reacciones de coloración*. Entre estas reacciones de coloración indicaremos solamente las siguientes, que son las que se emplean con más frecuencia por los fisiólogos.

a) *Reacciones de coloración*

α. **Reacción xantoproteica.** — Bajo la influencia del ácido nítrico, en frío ya, pero mejor en ebullición, las substancias albuminosas o sus soluciones se coloran en amarillo de canario muy claro. Bajo la influencia de los álcalis cáusticos, añadidos hasta que la reacción sea alcalina, las substancias albuminosas vueltas amarillas por el ácido nítrico o sus soluciones amarillentas por el ácido nítrico toman una coloración anaranjada obscura, a la temperatura ordinaria o a la de ebullición.

Con el amoníaco la coloración anaranjada es débil; se obscurece con los álcalis fijos (sosa o potasa cáusticas). (L. col. IV, figs. F_1, F_2, F_3.)

La reacción xantoproteica está en relación con las agrupaciones aromática (tirosina) e indólica (triptófano) contenidas en la molécula albuminosa; estas agrupaciones, bajo la influencia del ácido nítrico, forman derivados nitrados amarillos.

Suponiendo una substancia albuminosa en estado sólido; colocándola en suspensión en el agua; añadiendo a esa agua algunas centésimas de ácido nítrico fuerte (1), 5 c. c. de agua y 20 a 30 gotas de ácido nítrico fuerte, por ejemplo, y llevándola a la ebullición, los copos albuminosos toman rápidamente la coloración amarilla. Dejándola enfriar y dejando deslizar por las paredes del tubo en que se ha producido la reacción una solución de amoníaco cáustico, veremos a los copos albuminosos que flotan por las capas superiores del líquido, alcalinizadas por la solución de amoníaco (2), tomar la coloración amarilla anaranjada, mientras que los copos que hay en las capas inferiores conservan su coloración amarilla de canario muy clara.

(1) Se empleará, por ejemplo, el ácido nítrico de 36° Baumé, o sea un ácido de densidad 1,33. En 100 gms. de este líquido ácido hay 52,8 gms. de ácido nítrico puro; en 100 c. c. de este líquido hay 70,4 gms. de ácido nítrico puro.

(2) La solución de amoníaco que contiene 20 gms. de amoníaco puro en 100 c. c. tiene una densidad de 0,92. La solución de amoníaco que contiene 30 gms. de amoníaco puro en 100 c. c. tiene una densidad de 0,88. Empleando esta última no se tendrá ninguna dificultad en mantenerla a la superficie del líquido ácido, de manera que se formen dos capas distintas, una inferior ácida y una superior alcalina.

Suponiendo una solución de una substancia albuminosa y añadiendo a 5 c. c. de esta solución de 20 a 30 gotas de ácido nítrico fuerte (1), unas veces se produce un precipitado, otras no; ello no importa. Se lleva a la ebullición; unas veces se disuelve el precipitado formado en frío, otras no; tampoco importa. Así que la ebullición ha durado algunos segundos, los copos albuminosos en suspensión, o el líquido albuminoso, toman una coloración amarilla de canario. Después de enfriamiento, la adición de álcalis cáusticos, de amoníaco cáustico, por ejemplo, determina la producción de una coloración anaranjada de los copos o del líquido. Echando amoníaco con precaución dentro del tubo de ensayo, únicamente las partes superiores se vuelven alcalinas, porque la solución de amoníaco muy ligera (1) no se mezcla sino muy lenta y difícilmente con el líquido subyacente: las partes inferiores continúan siendo ácidas, y se observan muy claramente en las capas superiores copos o un líquido amarillo anaranjado obscuro, y en las capas inferiores, copos o un líquido amarillo de canario pálido.

β. **Reacción del biuret** (2).—Cuando se tratan las substancias albuminosas o sus soluciones por un gran exceso de lejía concentrada de álcali cáustico fijo (potasa o sosa) y por una cantidad muy diluída de sulfato de cobre, la substancia albuminosa o la solución albuminosa se coloran en azul viola-

(1) Véase nota 1, pág. 102.

(2) El biuret es una substancia que se puede obtener partiendo de la urea: bajo la influencia de agentes convenientes, dos moléculas de urea se juntan perdiendo una molécula de amoníaco y forman biuret.

$$CO\langle^{NH^2}_{NH^2} \quad CO\langle^{NH^2}_{NH^2} \quad \text{dan} \quad CO\langle^{NH^2}_{CO\langle NH^2}{}^{NH} \quad \text{y} \quad NH^2$$

urea + urea biuret amoníaco.

El biuret, tratado por la solución diluída de sulfato de cobre, da un líquido rosado o violado, muy parecido al líquido obtenido en la reacción llamada del biuret, partiendo de un líquido albuminoso que se trata por la sosa cáustica y el sulfato de cobre. El biuret no es la substancia rosada, sino el precursor de la substancia rosada.

Con las albúminas naturales, la coloración es menos intensa que con las proteosas y peptonas (L. col. III, fig. G_2). Algunos autores creían antes que esta reacción era la característica de las proteosas y peptonas, con exclusión de las proteínas naturales. Es inexacto: todas las proteínas dan la reacción del biuret.

do o rosado. Esta reacción permite descubrir la presencia de substancias albuminosas en los líquidos que no contienen más que el 1 por 10.000 (1). (L. col. III, fig. G_1.)

Supongamos una substancia albuminosa sólida; se sumerge durante unos momentos en una gran cantidad de solución de sulfato de cobre al 1 por 100: toma una coloración muy ligera de azul puro (sin mezcla de rosa ni de violeta). Se retira esta substancia de la solución cúprica y se sumerge en una gran cantidad de lejía de sosa cáustica al 30 por 100: veremos la coloración azul pura pasar al azul violado o rosado, aumentando de intensidad.

Supongamos una solución albuminosa; añadamos a esta solución un volumen igual por lo menos, o mejor aún 4 ó 5 volúmenes, de lejía de sosa cáustica al 30 por 100, y algunas gotas de solución de sulfato de cobre al 1 por 100: veremos al líquido tomar una coloración azul violada. Se puede proceder aún de otra manera: En un tubo de ensayo se añaden, a algunos centímetros cúbicos (5, por ejemplo) de lejía de sosa cáustica al 30 por 100, algunas gotas de solución de sulfato de cobre al 1 por 100: se obtiene un líquido muy denso (2) de color azul puro. Si se echa por encima de este líquido una pequeña cantidad (1 c. c., por ejemplo) de la solución albuminosa, ésta, mucho menos densa en general, no se mezcla con el líquido azul. Después de algunos instantes de contacto se ve, a nivel de la separación de los dos líquidos, una zona de azul violado o rosado, más fácil de reconocer porque está en contacto con un líquido de un azul puro. Se acelera la reacción imprimiendo al tubo ligeras sacudidas.

γ. **Reacción de Millon.** — El *reactivo de Millon* (solución de nitrato de mercurio en ácido nítrico nitroso) determina en las soluciones de substancias albuminosas la formación de un precipitado blanco. (Se pondrán, por ejemplo, 5 c. c. del reactivo de Millon en 10 c. c. del líquido albuminoso.) El precipitado dejado en el líquido donde se ha formado toma una coloración roja de ladrillo, lentamente a la temperatura ordinaria y rápidamente a la de ebullición. Las substancias albuminosas en estado sólido, sumergidas en el reactivo de Millon, se coloran de moreno rojizo o moreno violáceo, lentamente a la temperatura ordinaria y rápidamente a la ebullición. La reacción de coloración de Millon se manifiesta ya en los líquidos que contengan desde el 1 por 2.500 de substancias albuminosas. La reacción de coloración de Millon está en relación con el agrupamiento tirosina contenido en la molécula albuminosa: efectivamente, se produce cuando se hace obrar el reactivo sobre la misma tirosina, y no se produce con las proteínas en cuya molécula no entra el agrupamiento tirosina (1) (la gelatina, que no contiene el agrupamiento tirosina, no da la reacción de Millon). (Lám. col. IV, figs. H_1, H_2.)

Para obtener el reactivo de Millon, se disuelve una parte de mercurio, en peso, en dos partes de ácido nítrico de 1,42 de densidad (10 c. c. de mercurio en 200 c. c. de ácido nítrico, por ejemplo), primero en frío y después elevando ligeramente la temperatura. Después de la disolución total del mercurio, se añaden a 1 volumen de esta solución 2 volúmenes de agua; se deja en reposo durante algunas horas y se separa por decantación el líquido del precipitado, si se ha producido por la adición de agua.

El reactivo de Millon no debe emplearse más que con los líquidos que no precipitan las sales de mercuriio. Si, por ejemplo, se tratase por el reactivo de Millon una solución albuminosa que contuviera una fuerte proporción de una sal de las que, como el fosfato de sosa o el cloruro de sodio, forman con las sales de mercurio un precipitado insoluble o poco soluble, la reacción no se producirá con verdadera claridad.

δ. **Reacción glioxílica.** — Si se lleva a la ebullición durante unos instantes una mezcla formada de 1 volumen de una solución albuminosa, 1 volumen de una solución acuosa diluída de ácido glioxílico (al 2 por 100) y 1 volumen de ácido sulfúrico concentrado, se produce una coloración violada. (La reacción se produce a la temperatura ordinaria, pero lentamente.) El líquido violado, convenientemente diluído, tiene un espectro caracterizado por una ancha banda de absorción situada entre las rayas C y F del espectro solar. La reacción glioxílica está en relación con el agrupamiento triptófano (generador del indol y del escatol, que se producen, por ejemplo, en la putrefacción de las substancias albuminosas) contenido en la molécula albuminosa. (L. col. IV, fig. I.) Se produce, por otra parte, cuando se trata el triptófano mismo como se han tratado las

(1) Con las sales de níquel se obtiene una reacción comparable a la reacción del biuret. En las mismas condiciones de medio que las sales de cobre, las sales de níquel producen una coloración amarilla rojiza o anaranjada rojiza. Las sales de cobre y las sales de níquel son, por otra parte, las únicas que en estas condiciones dan las reacciones de coloración.

(2) La densidad de la lejía de sosa al 30 por 100 es de 1,265.

(1) Se obtiene de una manera general una reacción de Millon positiva con todos los derivados monohidroxilados del benzol. Si, por ejemplo, se echan algunas gotas del reactivo de Millon en agua fenicada (agua saturada de fenol, C^6H^5OH), el líquido se colora de rojo a la ebullición.

substancias albuminosas. La gelatina, cuya molécula no contiene núcleo indólico, no da esta reacción.

Antes se practicaba esta reacción en la forma llamada *reacción* de *Adamkiewicz*: en lugar de emplear dos volúmenes de ácido glioxílico diluído, se empleaban dos volúmenes de ácido acético glacial. Se ha demostrado que el ácido acético no interviene en la reacción más que por las impurezas glioxílicas que contiene generalmente, y solamente interviene cuando contiene estas impurezas.

Ninguna de estas reacciones, tomada aislamente, es característica de las substancias albuminosas; por consiguiente, es necesario, para establecer por medio de las reacciones de coloración la naturaleza albuminosa de una substancia dada, obtener un resultado positivo con los diversos reactivos colorantes, o por lo menos con los cuatro (1) que acabamos de indicar.

Estas cuatro reacciones de coloración no son las únicas que presentan las proteínas, pero son las únicas que emplean los fisiólogos, a causa de la facilidad de su ejecución y de la claridad de sus resultados.

Citaremos, pues, sencillamente para recordarlas y porque ellas revelan la presencia de un agrupamiento hidrocarbonado dentro de la molécula proteica, las reacciones de Liebermann y de Molisch.

Reacción de Liebermann. Coagulado por el calor el líquido albuminoso examinado, y separado el coágulo del líquido en que se ha producido, es tratado por un gran exceso de ácido clorhídrico concentrado fumante, a la temperatura de ebullición, durante cuatro o cinco minutos. El coágulo se disuelve poco a poco en el líquido clorhídrico, que toma una coloración violada que pasa poco a poco a parda. En esta reacción se ha producido furfurol a expensas del hidrato de carbono contenido en la molécula proteica, furfurol que en presencia de los núcleos fenólicos de la misma molécula da la coloración violada.

Reacción de Molisch.—A una solución proteica se añaden algunas gotas de una solución alcohólica de naftol-α y se echa este líquido en un tubo de ensayo, encima de ácido sulfúrico concentrado. A nivel de la superficie de separación de los líquidos se forma un anillo violado; la coloración violada invade todo el líquido cuando se agita para mezclarlo. Si se substituye el naftol-α por el timol, se obtiene en las mismas condiciones una coloración rojo carmín. Como la precedente, esta reacción, en esta forma o en la de las variantes, es

(1) Todas las substancias albuminosas presentan estas cuatro reacciones colorantes, pero algunas substancias proteicas del grupo de los albuminoïdes no las presentan todas: la gelatina, por ejemplo, que no contiene el núcleo tirosina, no presenta la reacción de Millon.

la consecuencia de reacciones que se producen entre los agrupamientos aromáticos (juntados en este caso bajo la forma de naftol-α o de timol) y el furfurol producido por la acción de los ácidos minerales concentrados sobre los agrupamientos hidrocarbonados contenidos en la molécula proteica.

b) *Acidos amidados o amidoácidos*

Actualmente no es posible dar una fórmula de constitución de las substancias albuminosas; efectivamente, aún no se conocen todos los agrupamientos atómicos que entran en la composición de su molécula, en extremo compleja; tampoco se conocen las proporciones relativas de los agrupamientos actualmente aislados, y menos aún se conocen las relaciones químicas de estos agrupamientos. Sin embargo, se han podido separar de la molécula albuminosa, por medios apropiados, cierto número de cuerpos de composición simple y conocida, cuerpos que presentan evidentes relaciones con los productos de desasimilación de las substancias albuminosas del organismo, y que por esta razón interesan la atención del fisiólogo.

Estudiando los productos de desdoblamiento de las substancias albuminosas, y más en general de las proteínas, por el vapor de agua sobrecalentado, por los álcalis cáusticos o por los ácidos minerales hirvientes (1), por la tripsina pancreática y otras diastasas proteolíticas, y por los agentes de la putrefacción, se ha descubierto la existencia de muchas substancias, entre las que las más importantes (2) desde el punto de vista

(1) Los químicos emplean principalmente, para aislar los diversos agrupamientos constitutivos de las proteínas, la hidrólisis por los ácidos minerales hirvientes, que da mejores resultados que los otros procedimientos. Emplean principalmente el ácido sulfúrico al 30 por 100 o el ácido clorhídrico al 40 por 100; recientemente se ha recomendado hidrolizar las proteínas mediante el ácido fluorhídrico al 20 ó 25 por 100, verificándose la transformación en un vaso de plomo sumergido al baño de María hirviente: el ácido fluorhídrico tiene la ventaja, sobre los ácidos sulfúrico y clorhídrico, de respetar mejor que ellos los agrupamientos derivados de las proteínas. La hidrólisis fluorhídrica no va acompañada de un desprendimiento considerable de amoníaco y de la producción de cuerpos alquitranados, que son indicio de una alteración profunda en las hidrólisis sulfúrica y clorhídrica. No destruye los ácidos monoamidados y diamidados; respeta mejor los hidrocarbonos y las bases púricas, guanina y adenina, que no son destruídas ni oxidadas como con el ácido sulfúrico.

(2) En la hidrólisis de las proteínas por los ácidos o por los álcalis se produce amoníaco; en la hidrólisis de las proteínas por las diastasas digestivas no se produce amoníaco; en la desintegración de las proteínas en el organismo viviente se produce muy verosímilmente amoníaco: efectivamente, en la orina se encuentran sales amoniacales y urea, proveniendo una parte de ésta de la transformación intrahepática de los compuestos amoniacales de la sangre.

fisiológico (pero no las únicas, pues sólo representan el 80 por 100 del peso de la materia descompuesta) son los aminoácidos, o sea substancias que poseen la función aminada y la función ácida (1).

Estos aminoácidos pertenecen, unos a la serie acíclica, otros a la serie aromática y otros a series heterocíclicas.

Todos aquellos cuya fórmula de constitución ha podido establecerse responden al esquema general.

$$R—CH(NH^2)—COOH,$$

estando el agrupamiento NH^2 fijo en el eslabón preterminal de la cadena o, si se prefiere de otro modo, estando fijo el grupo NH^2 sobre el carbono adyacente al grupo carbonilo; R es un radical acíclico aromático o heterocíclico.

1. — Aminoácidos acíclicos

Estos aminoácidos son: unos monoaminoácidos, otros diaminoácidos y otros aminoácidos sulfurados.

a) *Monoaminoácidos*

La naturaleza y las proporciones de estos cuerpos varían según la naturaleza de la substancia albuminosa considerada. Las principales son: la *glicocola*, la *alanina*, la *valina*, la *leucina*, la *isoleucina*, la *serina*, el *ácido aspártico* y el *ácido glutámico*.

Estos compuestos se reúnen a veces en dos grupos según sean ácidos monobásicos o bibásicos. El primer grupo, que se denomina *grupo de la leucina*, comprende los seis primeros ácidos aminados; el segundo grupo, que se denomina *grupo del ácido aspártico*, comprende los dos últimos.

La *glicocola* (o la *glicina*) ha sido obtenida entre los productos de hidrólisis de la gelatina y de la mayor parte de las proteínas. Es particularmente abundante en la gelatina; no se la encuentra en las albúminas ni en la caseína.

La glicocola es una substancia cristalizable, muy soluble

(1) Se les puede considerar como *anfóteros*, habiéndose empleado esta palabra para designar las substancias que obran sobre un reactivo indicador, y en particular sobre el tornasol, a la vez como ácidos débiles y como bases débiles, que enrojecen débilmente el papel de tornasol y azulan ligeramente el papel rojo de tornasol.

en el agua (se disuelve en 4 ó 5 partes de agua), insoluble en el alcohol absoluto y en el éter seco, muy débilmente soluble en el espíritu de vino hirviente.

Es el ácido α aminoacético.

$$CH^2(NH^2)—COOH.$$

Si se expresa la fórmula de la glicocola en la forma siguiente

$$H\text{-}CH(NH^2)\text{-}COOH,$$

se ve que la glicocola representa el más sencillo de todos los ácidos aminados posibles, en el que la radical R de la fórmula general ha sido reemplazada por H.

Lo que equivale a decir que todos los ácidos aminados derivados de las proteínas son glicocolas substituídas.

La *alanina* existe en la mayoría de las proteínas. Es el ácido α aminopropiónico:

$$CH^3—CH(NH^2)—COOH.$$

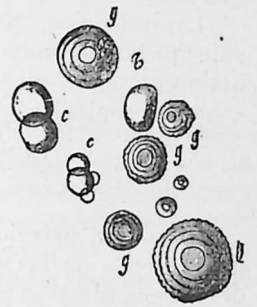


Fig. 32. — Leucina.

Es una substancia cristalizable, fácilmente soluble en el agua, insoluble en el alcohol absoluto. La solución acuosa presenta el poder rotatorio derecho; por esto se la designa a veces como d-alanina.

Muchas substancias de las que se engendran por hidrólisis de las proteínas pueden ser consideradas como derivadas de la alanina: la serina es una oxialanina; la cisteína es una tioalanina; la fenilalanina es una fenilalanina; la tirosina es una paraoxifenilalanina; el triptófano es una indolalanina; la histidina es una imidazolalanina.

La *valina*, menos importante que los precedentes aminoácidos, ha sido extraída de los productos de hidrólisis de la gelatina, de la caseína, de la queratina, etc. Es el ácido α aminoisovaleriánico.

$$(CH^3)^2=CH—CH(NH^2)—COOH.$$

Es una substancia ligeramente soluble en el agua, que posee un poder rotatorio derecho, digamos una d-valina.

La *leucina*, producto de desdoblamiento de la mayoría de

las substancias albuminosas, es un ácido aminocaproico; es, si se tiene en cuenta su constitución, el ácido α aminoisobutil-acético o α aminoisocaproico.

$$(CH^3)^2=CH—CH^2—CH(NH^2)—COOH.$$

La leucina cristaliza cuando se prepara pura, pero tal como se obtiene en las proteólisis, se presenta generalmente en forma de nódulos o de bolas formadas de hojas dispuestas en capas concéntricas. La leucina es bastante soluble en el agua y en el alcohol. Sus soluciones acuosas tienen un poder rotatorio izquierdo.

La *isoleucina*, producto de desdoblamiento de numerosas substancias albuminosas por el páncreas, es también un ácido aminocaproico; es, según su constitución, el ácido $\beta\beta$ metiletil α aminopropiónico

$$\begin{matrix} C^2H^5 \\ CH^3 \end{matrix}\!\!>\!CH - CH(NH^2) - COOH.$$

La *serina*, extraída primeramente de los productos de desdoblamiento de las proteínas de la seda, ha sido encontrada después en diversas proteínas. Es interesante principalmente por sus relaciones químicas con la alanina y con la cistina (véase más adelante, pág. 113). Es un cuerpo que a la vez es ácido, amina y alcohol; es un ácido oxaminado: es el ácido α amido β oxipropiónico.

$$CH^2OH-CH(NH^2)-COOH$$

No se diferencia de la alanina o ácido α aminopropiónico

$$CH^3-CH(NH^2)-COOH$$

más que por la substitución de H por OH en el grupo CH^3.

El *ácido aspártico* (1), que existe entre los productos de hidrólisis de las proteínas por los ácidos o por el páncreas, es un ácido aminosuccínico. Deriva de un ácido bibásico, el ácido succínico. Su fórmula de constitución es

$$COOH—CH^2—CH(NH^2)—COOH$$

(1) La glicocola, la alanina, la valina, la leucina, la isoleucina y la serina no tienen los caracteres de ácidos; los ácidos aspártico y glutámico tienen, por el contrario, estos caracteres de un modo evidente: los nombres que llevan estas substancias indican bien esta diferencia.

El *ácido glutámico*, que también se encuentra entre los productos derivados de las proteínas, es igualmente un ácido bibásico: es el ácido α aminoglutárico

$$COOH-CH^2-CH^2-CH(NH^2)-COOH.$$

b) *Diaminoácidos*

Los principales ácidos diaminados derivados de las proteínas son el *ácido diaminoacético*, la *lisina*, la *ornitina* y la *arginina*.

Estos diversos cuerpos constituyen el *grupo de la arginina*.

El *ácido diaminoacético* (1).

$$\begin{matrix} NH^2 \\ NH^3 \end{matrix}\!\!>\!CH-CO^2H$$

encontrado entre los productos de desdoblamiento de la caseína, es interesante a causa de sus relaciones posibles con la alantoína. Experimentos fisiológicos demuestran que diversos aminoácidos introducidos en el organismo se transforman, por la adición del ácido ciánico CONH, en compuestos llamados ácidos uraminados; si se admite tal transformación por el ácido diaminoacético, este último daría el ácido alantoico

$$\begin{matrix} NH — CO — NH^3 \\ | \\ CH — COOH \\ | \\ NH — CO — NH^3 \end{matrix}$$

del que la alantoína es un anhídrido

$$\begin{matrix} NH — CO — NH \\ | \quad\quad | \\ CH \quad — \quad CO \\ | \\ NH — CO — NH^2 \end{matrix}$$

La *lisina* es un ácido 1-5 diaminocaproico

$$CH^2(NH^2)-CH^2-CH^2-CH^2-CH(NH^2)-CO^2H.$$

Se la encuentra entre los productos de transformación de la caseína por el ácido clorhídrico. Presenta gran interés a causa

(1) El ácido diamidoacético no tiene los caracteres de un ácido; sería, por lo tanto, conveniente que poseyera otro nombre que el que se le ha dado, el cual indica su estructura, pero no su carácter.

de sus relaciones con una tomaína bien conocida, la cadaverina o pentametilenodiamina

$$CH^2NH^2\text{-}(GH^2)^3\text{-}CH^2NH^2.$$

Sometiendo la lisina a la acción de los agentes de la putrefacción, se produce la cadaverina; ahora bien, esta tomaína se forma en la putrefacción de las substancias albuminosas, lo que confirma la existencia del grupo lisina en su molécula.

La *ornitina* es un ácido 1-4 diaminovaleriánico

$$CH^2NH^2\text{-}CH^2\text{-}CH^2\text{-}CHNH^2\text{-}CO^2H.$$

No se la ha obtenido *in vitro* por desdoblamiento de las substancias albuminosas, pero se la puede obtener *in vivo* combinada con el ácido benzoico. Cuando se inyecta a los mamíferos ácido benzoico, aparece en la orina bajo la forma de ácido hipúrico o benzoato de glicocola, arrastrando así, y preservándola de las transformaciones que sufre normalmente en el organismo, a la glicocola, que hemos visto derivar *in vitro* de las substancias albuminosas. Cuando se inyecta a los pájaros el ácido benzoico, se encuentra en la orina el ácido ornitúrico o benzoato de ornitina; se puede, pues, admitir por analogía que en los pájaros el ácido benzoico ha preservado de la destrucción a un eslabón desprendido de la molécula albuminosa, la ornitina.

La *arginina* $C^6H^{14}N^4O^2$ es uno de los productos más interesantes entre las substancias derivadas de la hidrólisis de las proteínas. Esta arginina, tratada por el hidrato de barita en ebullición, se transforma en urea y en ornitina, por fijación de los elementos de una molécula de agua; esta misma transformación se produce bajo la influencia de la arginasa, diastasa que existe en los diversos tejidos del organismo. Se puede considerar a la arginina como resultante de la unión de la ornitina y la cianamida $CN\text{-}NH^2$, con las cuales se ha realizado su síntesis. Su constitución es, pues,

$$\begin{matrix} NH^2 \\ NH \end{matrix} \Big\rangle C\text{-}NH\text{-}(CH^2)^3\ CH(NH^2)\text{-}CO^2H.$$

La existencia en la molécula de arginina del agrupamiento $C \left\langle \begin{matrix} NH^2 \\ NH \end{matrix} \right.$, que se diferencia poco de la urea $CO \left\langle \begin{matrix} NH^2 \\ NH^2 \end{matrix} \right.$, y su naturaleza de ácido aminado, que la une a los cuerpos precedentemente indicados, dan a comprender la extrema importancia de este cuerpo.

c) *Aminoácidos sulfurados*

El que mejor se conoce de estos cuerpos es la *cistina*, que se encuentra entre los productos derivados de las proteínas y, excepcionalmente, en la orina.

La alanina o ácido α aminopropiónico

$$CH^3\text{-}CH(NH^2)\text{-}COOH$$

y la serina que resulta de la substitución de H por OH en CH^3, o sea

$$CH^2OH\text{-}CH(NH^2)\text{-}COOH$$

existen, como hemos visto, entre los productos de destrucción de las proteínas. Si en el agrupamiento alcohólico de la serina se substituye O por S, se obtiene la *cisteína*

$$CH^2SH\text{-}CH(NH^2)\text{-}COOH.$$

Este compuesto no existe entre los derivados de las proteínas. La cistina que se encuentra entre ellos puede ser considerada como resultado de la unión de dos moléculas de cisteína. Su fórmula de constitución es

$$\begin{matrix} S - CH^2 - CH(NH^2) - COOH \\ | \\ S - CH^2 - CH(NH^2) - COOH \end{matrix}$$

Esta cistina es, pues, un ácido bibásico diaminado.

2. — Aminoácidos aromáticos

Los dos aminoácidos aromáticos más interesantes que se encuentran entre los productos de hidrólisis de las proteínas son la *fenilalanina* y la *tirosina*.

La *fenilalanina* es el ácido β fenil α aminopropiónico

$$C^6H^5\text{-}CH^2\text{-}CH(NH^2)\text{-}COOH.$$

Contiene, como aparece claramente en esta fórmula, un núcleo fenílico C^6H^5. Resulta de la substitución de H por el

agrupamiento fenil C^6H^5 en el grupo CH^3 de la alanina o ácido α aminopropiónico

$$CH^3\text{-}CH(NH^2)\text{-}COOH.$$

La *tirosina*, uno de los cuerpos más antiguamente conocidos entre los productos de desdoblamiento de las proteínas,

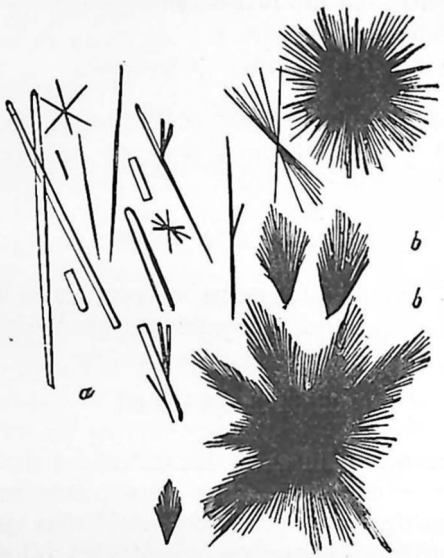


Fig. 33. — Tirosina.

que se encuentra como producto de desdoblamiento de la mayoría de las proteínas (pero no de la gelatina) y que se reconoce fácilmente por el aspecto de sus brillantes agujas cristalinas, agrupadas en fascículos, es un ácido paraoxifenil α aminopropiónico

$$C^6H^4(OH)\text{-}CH^2\text{-}CH(NH^2)\text{-}COOH.$$

Contiene, como indica la fórmula, un núcleo fenólico C^6H^4OH.

Como se ve, resulta de la substitución de H por OH en el agrupamiento aromático de la fenilalanina (1).

(1) Entre los productos de la putrefacción de las substancias albuminosas se encuentran, algunas veces por lo menos, el ácido paraoxifenilacético y el ácido

Como se ha dicho precedentemente, a la presencia del agrupamiento tirosina en la molécula de las substancias proteicas es a la que éstas deben su propiedad de dar la reacción de Millon (pág. 104). La tirosina en estado de libertad química da una reacción de Millon muy clara. (L. col. IV, fig. H_2.)

La tirosina es poco soluble en el agua, y por esto se precipita, generalmente, en forma cristalina en los líquidos acuosos en que es engendrada por la proteólisis.

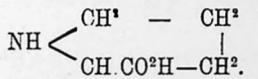
3. — Aminoácidos heterocíclicos

Los aminoácidos heterocíclicos están representados, entre los productos de hidrólisis de las proteínas, por la *prolina* y la *oxiprolina*, por el *triptófano* y por la *histidina*.

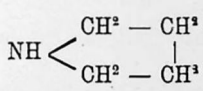
La *prolina* se encuentra en los productos de hidrólisis de todas las proteínas. Responde a la fórmula

$$C^5H^9NO^2$$

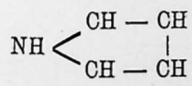
o a la fórmula de constitución:



Puede ser considerada como un ácido pirrolidincarbónico, derivado de la pirrolidina:

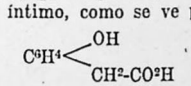


agrupamiento atómico importante, vecino del grupo pirrol:



que encontraremos en la constitución de la hemoglobina.

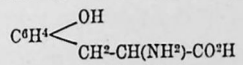
fenilacético, que dependen, respectivamente, de la tirosina y de la fenilalanina de un modo íntimo, como se ve por la comparación de sus fórmulas de constitución:



Ac. paraoxifenilacético

$C^6H^5\text{-}CH^2\text{-}CO^2H$

Ac. fenilacético



tirosina

$C^6H^5\text{-}CH^2\text{-}CH(NH^2)\text{-}CO^2H$

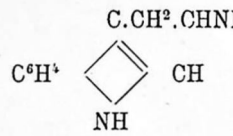
fenilalanina

La *oxiprolina* se diferencia únicamente por O de más. Su fórmula es:

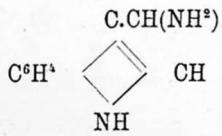
$$C^5H^9NO^3$$

Es el ácido oxipirrolidincarbónico. Su fórmula de constitución no está aún definitivamente establecida.

El *triptófano* o *proteínocromógeno*, que se encuentra entre los productos de la digestión tríptica de las substancias albuminosas, es interesante a causa de sus relaciones químicas con el escatol y el indol (1), cuyos derivados se encuentran entre los productos de putrefacción de las substancias albuminosas y en la orina normal: entre los productos de putrefacción se encuentran el ácido escatolacético y, al menos alguna vez, el ácido escatolcarbónico y el ácido indolcarbónico; en la orina se encuentra el ácido indoxilsulfúrico. Las recientes investigaciones químicas conducen a dar al triptófano una de las fórmulas constitutivas siguientes:

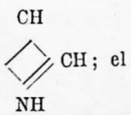
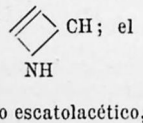
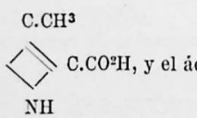
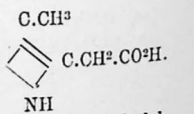


o



por lo que es un ácido indolaminopropiónico, o una indolalanina.

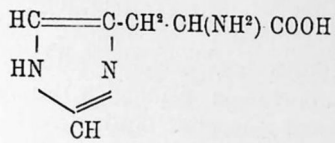
Como ya se ha dicho, a la presencia del agrupamiento triptófano en la molécula de las substancias proteicas deben

(1) El indol responde a la constitución  el escatol o metilindol, a la constitución  el ácido escatolcarbónico, a la constitución  y el ácido escatolacético, a la constitución 

Bajo la influencia de las bacterias intestinales, se pasa del triptófano al indol por las substancias siguientes: triptófano, ácido indolacético, escatol, ácido indolcarbónico, indol.

éstas su propiedad de dar la reacción glioxílica (pág. 105). La gelatina y las protaminas, que no contienen triptófano, no dan esta reacción. El triptófano aislado da la reacción glioxílica.

La *histidina*, por último, según recientes investigaciones, tiene la fórmula de constitución siguiente:



Es una iminazolalanina; y así se manifiesta el parentesco químico de esta histidina con las purinas, por lo que se las puede considerar también como derivadas del imidazol (véase página 151).

El cuadro siguiente contiene los datos numéricos relativos a la proporción de los diferentes aminoácidos que entran en la constitución de algunas proteínas:

100 gramos de proteína contienen:

	Suero-albúmina	Suero-globulina	Caseína	Gelatina	Queratina	Elastina
Glicocola. . . .	0,00	3,52	0,00	16,50	0,34	25,75
Alanina	2,68	2,22	0,90	0,80	1,20	6,58
Leucina	20,00	18,70	10,50	2,10	18,30	21,38
Prolina	1,04	2,76	3,10	5,20	3,60	1,74
Fenilalanina . .	3,08	3,84	3,20	0,40	3,00	3,89
Ac. glutámico . .	1,52	2,20	10,70	0,88	3,00	0,76
Ac. aspártico . .	3,12	2,54	1,20	0,56	2,50	—
Cistina	2,30	0,67	0,06	—	—	—
Serina	0,60	—	0,25	—	5,70	—
Oxiprolina . . .	—	—	0,25	3,00	—	—
Tirosina. . . .	—	—	4,50	—	0,68	0,34
Lisina	—	—	5,80	2,75	—	—
Histidina. . . .	—	—	2,59	0,40	—	—
Arginina. . . .	—	—	4,84	7,62	2,25	0,30
Triptófano . . .	indicios	indicios	1,50	—	—	—

Se han obtenido, por último, de algunas substancias albuminosas (ovalbúmina y ovoglobulina, por ejemplo), pero no de todas (la miosina y el fibrinógeno no las contienen), substancias reductoras pertenecientes al grupo de los azúcares en cantidades variables de 1 a 10 por 100. Pero el estudio

de estos productos hidrocarbonados del desdoblamiento de la molécula albuminosa está aún poco adelantado: sólo se ha podido caracterizar la glicosamina (denominada en otro tiempo quitosamina). Bástenos, pues, el haber indicado su existencia y el recordar que es a su presencia a lo que las substancias albuminosas deben el poder de presentar las reacciones de Liebermann y de Molisch (v. pág. 99).

Existen en la molécula albuminosa otros agrupamientos más o menos importantes, pero su estudio está únicamente esbozado y su importancia fisiológica solamente sospechada. Por esto no trataremos de ellos aquí.

c) *Protaminas*

Se ha estudiado un grupo importante de substancias, llamadas *protaminas*, que se han considerado, y con fundamento, como substancias albuminosas reducidas a la estructura más sencilla posible, de las que las substancias albuminosas naturales ordinarias podrían ser consideradas como derivadas por asociación de los agrupamientos atómicos suplementarios. Las protaminas son substancias que se extraen de la lechecilla de los pescados (1); los principales representantes de esta clase de cuerpos son: la salmina (del salmón), la esturina (del esturión), la clupeína (del arenque), la ciclopterina (del ciclóptero), la escombrina (de la caballa), la ciprinina (de la carpa), la crenilabrina (del crenilabrus), etc.

Son substancias ricas en ázoe (encierran un 30 por 100), desprovistas de azufre, solubles en el agua, insolubles en el alcohol, insolubles en el éter, no coagulables y no difusibles. Todas ellas dan la reacción del biuret, pero no dan las otras reacciones colorantes de las proteínas (únicamente la ciclopterina da la reacción de Millon; efectivamente, contiene el agrupamiento tirosina).

Si se someten a la acción de los agentes hidrolizantes la clupeína, la salmina y la ciclopterina, que son las más sencillas de las protaminas conocidas, se obtienen esencialmente la arginina y el ácido monoaminovaleriánico, y accesoriamente algún otro ácido monoaminado. Cuando se hidroliza la crenilabrina se obtienen esencialmente la arginina y la lisina, y accesoriamente algunos ácidos monoaminados. Cuando se hidroliza la esturina se obtienen esencialmente el ácido monoaminovaleriánico y tres bases, la arginina, la lisina y la histidina.

(1) Las protaminas no están siempre en estado de libertad química en la lechecilla de los pescados. Existen casi siempre, o por lo menos muchas veces, en estado de combinación con las substancias proteicas, teniendo los caracteres generales de la histona (véase pág. 152).

Estas tres bases contienen lo que ordinariamente se llama el grupo de las *bases hexónicas*, así denominadas porque contienen seis átomos de carbono en su molécula:

arginina $C^6H^{14}N^4O^2$, *lisina* $C^6H^{14}N^2O^2$, *histidina* $C^6H^9N^3O^2$.

Las protaminas producen, bajo la influencia de los jugos digestivos, y en particular de los líquidos trípticos, unos cuerpos llamados *protonas*, que se diferencian de las protaminas por algunas propiedades de precipitación en menos y que son a las protaminas lo que las proteosas son a las substancias albuminosas. Estas protonas producen por hidrólisis los mismos productos que las protaminas.

Como los mismos productos de hidrólisis se encuentran, por una parte, en las protonas, que resultan de la acción de los fermentos digestivos sobre las protaminas, y, por otra parte, acompañados de otras substancias albuminosas, se puede admitir que las protaminas resultan de la unión de varias moléculas de protonas, formadas por la unión de uno o varios ácidos monoaminados con una o varias bases hexónicas, y que, por otra parte, las substancias albuminosas pueden ser consideradas como formadas de un núcleo protamínico, en el que se han injertado cierto número de los agrupamientos señalados precedentemente.

d) *Estado coloidal de las substancias albuminosas*

Las substancias albuminosas son *substancias coloides*. ¿Qué es una substancia coloide?

Algunas substancias, tales como las sales metálicas, el cloruro de sodio, por ejemplo; tales como los azúcares, la glicosa, por ejemplo, etc., poseen la propiedad de atravesar las membranas de papel pergamino (1), de *dializar*: supongamos separados por una membrana de papel pergamino agua destilada, por una parte, y una solución de sal o de azúcar, por otra; la sal o el azúcar no tardan en atravesar el pergamino para extenderse por el agua destilada. Debido a que las substancias que poseen la propiedad de dializarse pueden,

(1) Se obtiene el papel pergamino tomando un buen papel de filtro bien homogéneo y sumergiéndolo durante algunos minutos en una mezcla enfriada de dos partes de ácido sulfúrico concentrado y una parte de agua; se lava en seguida en mucha cantidad de agua y se deja secar.

Es conveniente, antes de emplearlo, comprobar que este papel pergamino no presenta fisuras ni agujeros. Una esponja mojada debe poderse pasar por una de las caras sin que las gotitas líquidas aparezcan por la otra cara. Si se emplea el intestino dializador (fig. 35), se debe poder llenar de agua, estando suspendido en el aire con las dos aberturas en alto, sin que las gotitas líquidas aparezcan en la superficie externa del intestino.

en general, obtenerse fácilmente bajo la forma cristalina, se las llama *cristaloides*.

Otras substancias, como el engrudo de almidón, el glicógeno, las substancias albuminosas, etc., *no dializan*: no pueden atravesar una membrana de papel pergamino para disolverse en un líquido que baña la otra cara de esta membrana. Estas substancias, que, contrariamente a las precedentes, no pueden, en general, obtenerse en forma cristalina (1), se llaman *substancias coloides*. Esta palabra indica que son pare-

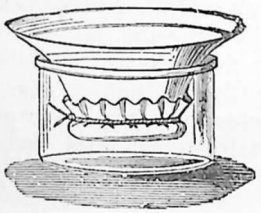


Fig. 34. — Dializador de Graham. Hoja de papel pergamino atada con un bramante a un vaso cónico truncado de cristal.

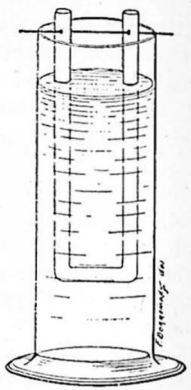


Fig. 35. — Intestino dializador Tubo de papel pergamino.

cidas a la cola (o gelatina), que en un principio se tomaba como tipo para su estudio.

Si en un vaso se pone una solución salina y más generalmente una solución de una substancia cristaloide y se hace llegar por encima agua destilada, empleando artificios que eviten la mezcla de los dos líquidos, la substancia cristaloide difunde rápidamente de su solución al agua superpuesta de modo que no tarda en encontrarse en las mismas proporciones en todas las partes del medio. En una solución de albúmina, por el contrario, y más generalmente en una solución de coloides, la difusión se efectúa con gran lentitud.

Las substancias coloides dan, en general, soluciones opalescentes: tales son las soluciones de glicógeno, de engrudo de almidón y de algunas substancias albuminosas.

(1) Hay excepciones a esta regla: los pigmentos de la sangre (hemoglobina y oxihemoglobina) no son dializables; pueden, no obstante, obtenerse en forma cristalina, y, por lo menos en ciertas especies animales, con la mayor facilidad. Se han podido obtener también albúminas vegetales, que poseen propiedades coloides típicas, en una forma cristalina muy clara y muy regular (fig. 36).

Las soluciones acuosas de las substancias coloides son generalmente precipitadas por las sales (por sales y cantidades de sales variables según la naturaleza de estas substancias); en este caso se presentan bajo la forma de un precipitado en copos, ligero, amorfo.

En la química mineral se ven casos de soluciones coloides: tales son las soluciones de sílice soluble, de aluminio soluble, de hidrato de hierro soluble. Si, por ejemplo, se echa en un

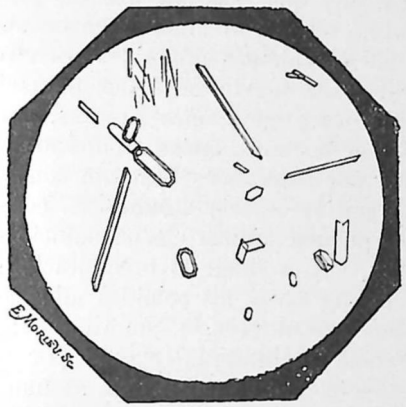


Fig. 36. — Cristales de sueroalbúmina (según Gruzewska).

exceso de ácido clorhídrico una solución diluída de un silicato alcalino, la sílice separada no precipita y queda en solución, aunque desaparezca la totalidad del ácido clorhídrico por la diálisis: se obtiene así un líquido ligeramente opalescente, que presenta cierto número de propiedades que se encuentran en las soluciones de substancias albuminosas y en las soluciones coloides en general. Estas soluciones, que se mantienen límpidas durante semanas y meses cuando no contienen impurezas salinas, precipitan la sílice en forma amorfa, gelatinosa, cuando se les añade una pequeña cantidad en solución; para una misma sal, la precipitación de la sílice es tanto más rápida cuanto mayor es la cantidad de sal; para sales distintas, y considerando únicamente las sales alcalinas y las alcalinotérreas, estas últimas, en iguales proporciones, tienen un poder precipitante más enérgico que las primeras.

Se puede admitir que las soluciones de alúmina soluble y

de hidrato férrico soluble presentan las mismas propiedades generales que las soluciones de sílice.

Opalescencia de la solución, no diálisis de la substancia disuelta, precipitación en copos o gelatinosa de esta substancia por adición de sales neutras, más fácil y más rápida, en iguales proporciones, por las sales alcalinotérreas que por las sales de los álcalis, he aquí las propiedades comunes a las soluciones de los coloides orgánicos, en particular a las soluciones de las substancias albuminosas.

Sin embargo, hay que recordar que las propiedades coloidales en general no son tan manifiestas en las substancias albuminosas como en los coloides minerales. Efectivamente, si los coloides minerales son precipitados por todas las sales minerales, aun en débiles proporciones de ellas, los coloides orgánicos, en particular las substancias albuminosas, no son precipitados más que por cantidades bastante considerables de sales, variables según la especie albuminosa considerada, hasta tal punto que se pueden saturar ciertas soluciones albuminosas con algunas sales, sin producir la precipitación.

Por ello se ve que entre los coloides minerales y los coloides orgánicos hay una diferencia cuantitativa; pero hay también una diferencia cualitativa. Cuando por adición de una cantidad conveniente de una sal neutra se han precipitado de su solución acuosa la sílice, la alúmina, el hidrato férrico, no se les puede volver a disolver directamente en el agua quitándoles el líquido salino precipitante: la reacción, se dice, es *irreversible*; cuando, por el contrario, se ha precipitado, por adición de una cantidad conveniente de una sal neutra, una solución coloide albuminosa, basta quitar del precipitado el liquido salino que lo impregna para volverlo directamente soluble en el agua destilada o en el agua débilmente salada, según la naturaleza de la substancia: la reacción, se dice, es *reversible*. Por lo tanto, no estaría apropiado aplicar a los coloides orgánicos, sin comprobación, las conclusiones sacadas de estudios hechos sobre coloides minerales, e inversamente. Aproximar las dos categorías de coloides es conveniente; confundirlas sería un grave error.

¿Las substancias coloides están verdaderamente disueltas en el agua como el cloruro de sodio está disuelto en una solución salina? ¿No están más bien en estado de suspensión homogénea, y su precipitación por las sales no es más bien una simple aglutinación de partículas existentes ya en estado sólido?

Antes de dar una respuesta definitiva a estas preguntas, señalemos los hechos siguientes: Si se filtra mediante porcelana una substancia coloide, una porción considerable de esta substancia es retenida por el filtro (1), como si estuviese formada por partículas de tamaño demasiado grande para pasar a través de sus poros. Si se agita o se revuelve con agua destilada una cantidad de arcilla muy fina, y luego se deja en reposo para separar las partes pesadas, se obtiene un líquido lechoso, formado por pequeñísimas partículas de arcilla en suspensión; ahora bien, este líquido, que no contiene en absoluto arcilla disuelta, presenta las propiedades de las soluciones coloides; en particular es rápidamente aglutinado por la adición de pequeñas cantidades de sales neutras de álcalis o por pequeñísimas cantidades de sales neutras alcalinotérreas. Si se disuelve en cloroformo palmitato de miricilo, extraído de la cera de abejas, y se mezcla esta solución clorofórmica con varios volúmenes de alcohol absoluto caliente, se obtiene un líquido que, mantenido a 45° y dejado caer gota a gota en un exceso de agua hirviente, da lugar a la formación de una emulsión homogénea, estable, de la que se pueden separar fácilmente el alcohol y el cloroformo mediante el calor. Ahora bien, esta emulsión estable presenta las propiedades de la emulsión de arcilla y, como ella, es opalescente y aglutinable por muy pequeñas cantidades de cloruro de sodio o de calcio.

Estos hechos tienden evidentemente a apoyar la hipótesis de un estado de suspensión fina y homogénea de las substancias en solución coloidal. Pero sería imprudente tal vez sacar la conclusión, de una manera cierta, de que las substancias albuminosas están en sus soluciones, siempre y únicamente, en estado de suspensión. Efectivamente, al lado de las substancias albuminosas que dan soluciones coloides típicas, como las globulinas de la sangre, hay otras que dan soluciones que presentan poco más o menos los caracteres de las soluciones alcalinas, como los polipéptidos; éstos producen, en efecto, soluciones no opalescentes, dializables y no precipitables por la mayoría de las sales neutras de álcalis o alcalinotérreas. Ahora bien, entre las globulinas de la sangre y los polipéptidos hay una serie ininterrumpida de substancias que forman

(1) Las soluciones de las substancias proteicas atraviesan íntegramente los filtros de papel; no atraviesan los filtros de porcelana más que abandonando una parte de la substancia disuelta, más o menos considerable según la composición del filtro; no atraviesan absolutamente la membrana de pergamino artificial.

soluciones en las cuales el carácter coloide disminuye de la una a la siguiente, sin que sea posible discernir en esta serie ninguna discontinuidad.

Hay que recordar el hecho, en extremo importante, de la *atenuación mayor o menor del carácter coloidal* en algunas especies albuminosas. Basándose en esta atenuación del carácter coloidal, y en particular en la precipitabilidad mayor o menor de las diversas substancias albuminosas por las sales neutras de álcalis o alcalinotérreas, se ha establecido la separación de estas substancias.

Las *soluciones coloidales* se nos presentan como términos de tránsito entre las *suspensiones verdaderas* y las *soluciones verdaderas*.

Si se agitan en el agua polvos muy finos, de arcilla, de negro de humo, caolín, etc., se obtienen suspensiones bastante estables que un examen superficial confundiría con sistemas homogéneos, es decir, con aquellos en los cuales no existen elementos distintos unos de otros. Pero el examen microscópico revela partículas en suspensión en un líquido y el filtro retiene estas partículas en suspensión.

Las soluciones verdaderas (solución de sal, de azúcar, etc.) son, por el contrario, sistemas homogéneos; el examen microscópico no revela nada que esté en suspensión en un líquido y la filtración no separa ningún elemento.

En cuanto a los líquidos coloidales, conviene hacer de ellos dos grupos, *los coloides de suspensión* (que se denominan también *suspensoides* o *coloides hidrófobos*) y los *coloides de emulsión* (que también se denominan *emulsoides* o *coloides hidrófilos*).

Los coloides de suspensión son los coloides minerales. Son, en verdad, suspensiones que sólo difieren de las suspensiones verdaderas por la pequeñez de las partículas en suspensión. Estas partículas están claramente separadas del líquido que las embebe. Estos coloides son eminentemente instables: cantidades muy pequeñas de sal los precipitan y esta precipitación es irreversible, es decir, que el precipitado engendrado no se vuelve a poner en suspensión coloidal cuando se diluye el líquido por adición de agua destilada.

Los coloides de emulsión son los coloides orgánicos y, por ejemplo, las soluciones de substancias proteicas. Representan sistemas menos heterogéneos que los precedentes: las partículas no son rigurosamente distintas del líquido que las embebe más o menos abundantemente. Esta hinchazón de las partículas por el líquido confiere a este último una viscosidad muy manifiesta que destaca violentamente de la licuación de los coloides de suspensión. Esta imbibición de las partículas por el agua hace que estos coloides se parezcan menos a una

suspensión de un sólido en un líquido que a una suspensión de un líquido dividido al extremo en otro líquido, es decir, a una emulsión. Sin embargo, no asemejemos esta emulsión a las emulsiones grasosas, pues en éstas las partículas de grasas son claramente distintas del líquido, mientras que los coloides de emulsión se confunden en la periferia de sus partículas más o menos íntimamente con el líquido.

Estos coloides de emulsión son mucho más estables que los coloides de suspensión; cuando por adición de fuertes proporciones de sales se les precipita, las partículas precipitadas arrastran mucho líquido con ellas; la precipitación es reversible, desapareciendo el precipitado cuando se añade agua destilada en abundancia.

Notemos, por último, que los coloides de emulsión disminuyen fuertemente la tensión superficial del agua, mientras que los coloides de suspensión no la modifican.

En algunas soluciones coloidales (coloides de suspensión) el microscopio ordinario (cuyo límite de visibilidad corresponde a 100 μμ ó sea 100 millonésimas de milímetro) permite reconocer partículas en suspensión (emulsiones de sulfuro de arsénico, de oro reducido). En otras soluciones coloidales (coloides de suspensión también) el microscopio no revela ninguna partícula, pero el ultramicroscopio (en este aparato la preparación es iluminada lateralmente por rayos luminosos dirigidos perpendicularmente al eje de visión: las partículas en suspensión aparecen en forma de puntos luminosos sobre un fondo obscuro) hace aparecer partículas cuyo diámetro está comprendido entre 100 μμ, límite inferior de visibilidad al microscopio, y 1 a 3 μμ, límite inferior de visibilidad al ultramicroscopio. Estas partículas se designan entonces con el nombre de *submicrones*. Notemos que los coloides de emulsión cuyas partículas están hinchadas de líquido no son visibles al ultramicroscopio, sino en diámetros de 30 a 40 μμ por lo menos. En otras soluciones coloidales, por último, el ultramicroscopio no manifiesta más partículas que el microscopio; se admite que estas soluciones contienen, sin embargo, tales partículas, pero extremadamente tenues, de diámetro inferior al límite de visibilidad del ultramicroscopio; estas partículas se denominan *amicrones*.

La diferencia de tamaño de las partículas en suspensión en los coloides se evidencia también por la *ultrafiltración*. Se preparan membranas de colodión de poros más o menos tenues,

que desempeñan, respecto a estos coloides, el papel de tamiz más o menos fino y gracias a las cuales se pueden separar las partículas de diversos tamaños en una misma solución coloidal.

e) *Clasificación fisiológica de las substancias albuminosas*

Se han propuesto numerosas *clasificaciones de las substancias albuminosas*: ninguna de ellas es una clasificación natural; ninguna se apoya sobre el estudio de la constitución molecular de estas subsancias y de sus afinidades químicas.

El *fisiólogo* puede, *a priori*, establecer *dos grupos* de substancias albuminosas: las *substancias albuminosas naturales* y las *substancias albuminosas desnaturalizadas* o *de transformación*. Las substancias albuminosas naturales se encuentran en los tejidos y en los líquidos de los organismos vivos. Las substancias albuminosas de transformación son los productos de transformación de las substancias albuminosas naturales bajo la influencia de diferentes agentes: ácidos, álcalis, diastasas digestivas, etc.

1. — Substancias albuminosas naturales

Las substancias albuminosas naturales presentan cierto número de reacciones comunes: son las *reacciones de precipitación*. Supongamos disuelta en un líquido convenientemente escogido una substancia albuminosa natural. La solución es precipitada por los *ácidos minerales*, por algunas *sales de los metales pesados*, por el *ferrocianuro de potasio acético*, por el *sulfato amónico* disuelto *a saturación*, por el *alcohol*, por el *tanino acético*, por los *ácidos fosfomolíbdico* y *fosfotúngstico*, por el *licor de Brücke clorhídrico* o por el *reactivo de Tanret*, por el *ácido pícrico*, por el *ácido tricloracético*.

α) *Reacciones de precipitación*

Si se echa gota a gota en una solución de una substancia albuminosa natural un *ácido mineral* (1), ácido clorhídrico, por ejemplo, se ve producir un precipitado blanco, en copos, al

(1) Se pueden emplear los ácidos clorhídrico, sulfúrico, nítrico y metafosfórico. El ácido ortofosfórico no precipita las substancias albuminosas.

contacto de las gotas del ácido: el precipitado producido por las primeras gotas se redisuelve por agitación, pero si se continúa añadiendo ácido, no tarda en producirse un precipitado persistente cada vez más abundante. Si se continúa añadiendo ácido, el precipitado se redisuelve poco a poco, y añadiendo la cantidad suficiente de ácido, la redisolución es total. Los ácidos minerales determinan, pues, en las soluciones de substancias albuminosas naturales, la producción de un *precipitado, soluble en un exceso de ácido* (1).

Se emplea frecuentemente el ácido nítrico fuerte, y en general se procede de la manera siguiente: en un vaso de reacciones se echa cierta cantidad de ácido nítrico concentrado; por encima de esta capa ácida se hace llegar la solución albuminosa, derramándola lentamente en las paredes del vaso, de manera que la solución albuminosa se extienda por la superficie de la solución ácida sin mezclarse con ella. A nivel de la separación de los dos líquidos se forma una nube albuminosa.

Se puede también echar la solución albuminosa en un vaso de reacciones y añadir lentamente el ácido nítrico, sea derramándolo por las paredes del vaso inclinado, sea haciéndolo llegar al fondo del vaso por medio de un tubo en embudo (figs. 37 y 38). En ambos casos el ácido se acumula en el fondo del vaso, sin mezclarse con la solución albuminosa; la nube se forma a nivel de la separación de ambos líquidos.

Algunas *sales minerales* en solución acuosa precipitan las substancias albuminosas naturales de sus soluciones: las más general y ventajosamente empleadas son las soluciones acuosas de *sulfato de cobre*, de *acetatos neutro y básico de plomo*, de *cloruro mercúrico*, de *acetato de hierro* (2), etc. El precipitado producido es un compuesto metaloorgánico, resultado de la combinación de la sal metálica con la substancia albuminosa. Si la cantidad de sal mineral es suficiente, la precipitación puede ser total.

Cuando se añade a una solución de substancias albuminosas naturales cierta proporción (10 por 100 de su volumen, por

(1) El ácido acético no precipita todas las substancias albuminosas (v. pág. 133), pero con las que precipita se comporta igual que los ácidos minerales; el precipitado formado por una pequeña cantidad de ácido se redisuelve en un gran exceso del mismo; el precipitado formado por el ácido acético muy diluído (1 a 5 por 1.000, por ejemplo) se redisuelve en el ácido acético glacial.

(2) Es preferible a menudo recurrir al acetato de hierro; porque a la ebullición, el exceso de acetato de hierro es descompuesto en ácido acético volátil y subacetato de hierro insoluble, de manera que el líquido hervido no contiene ya exceso de reactivo. En lugar de emplear el acetato directamente, se añade, y da el mismo resultado, cloruro de hierro y un exceso de acetato sódico.

ejemplo) de una solución acuosa diluída de *ferrocianuro de potasio* (al 5 por 100, por ejemplo) y algunas gotas de *ácido acético glacial*, se determina la producción de un precipitado.

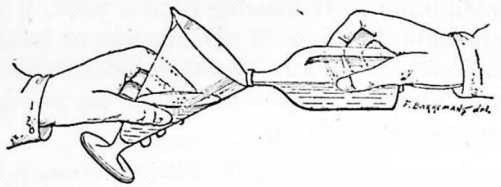


Fig. 37

Hay que notar que la adición de ferrocianuro solo no determina la precipitación, y que la adición de ácido acético solo no produce siempre una precipitación de las soluciones de las substancias albuminosas naturales (las globulinas son precipitadas parcialmente por el ácido acético; las albúminas no son precipitadas por este ácido).

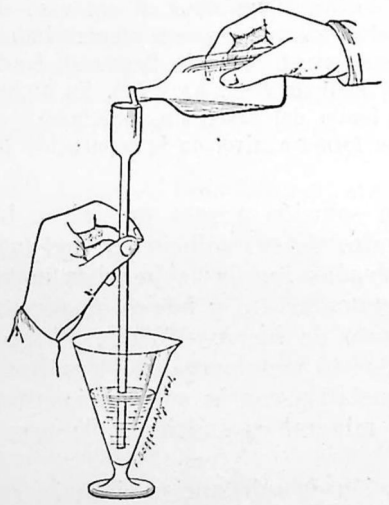


Fig. 38

El precipitado obtenido por el ferrocianuro potásico y el ácido acético cuando se juntan a una solución albuminosa, puede, una vez separado el líquido en que se ha formado y después de lavado con agua, dar las reacciones de coloración generales de las substancias albuminosas, o sea la reacción xantoproteica, la reacción del biuret, la reacción de Millon y la reacción glioxílica. Por lo tanto, puede asegurarse que el precipitado formado por el ferrocianuro potásico y el ácido acético es realmente el precipitado de una substancia albuminosa.

Cuando se disuelve a la temperatura ordinaria, en una solución de una substancia albuminosa natural, *sulfato amónico* hasta que no admita más, o, como generalmente se dice, *a saturación*, la substancia albuminosa natural es precipitada de

su solución y *totalmente precipitada:* el líquido separado por filtración del precipitado no da ya la reacción del biuret. Se puede substituir el sulfato amónico por el *sulfato sódico*, pero es necesario operar a 30° y saturar el líquido de sulfato de sosa a esta temperatura.

El *alcohol* precipita las substancias albuminosas naturales de sus soluciones: las precipita principalmente en los líquidos de reacción neutra o ligeramente ácida que contengan en disolución una débil proporción de sales neutras. La cantidad de alcohol necesaria para precipitar totalmente la substancia albuminosa disuelta varía según la naturaleza de esta substancia, pero siempre es considerable.

Para precipitar por el *tanino* las substancias albuminosas naturales de sus soluciones, es conveniente emplear una solución que se obtiene disolviendo 4 gramos de tanino en 190 centímetros cúbicos de alcohol de 45° y añadiendo a dicho solución 2 centímetros cúbicos de ácido acético glacial: *reactivo de Almen* o *tanino de Almen*. Si se emplea suficiente cantidad de la solución de tanino, la precipitación albuminosa es total; por ejemplo, mezclando volúmenes iguales de una solución albuminosa y de la solución de tanino acético, se obtiene, en general, una precipitación total. Esta precipitación de las substancias albuminosas por el tanino se cumple principalmente en los líquidos que contienen en solución una pequeña cantidad de sales neutras.

Las *soluciones sulfúricas de los ácidos fosfomolíbdico y fosfotúngstico*, y en general las soluciones de estos ácidos en presencia de ácidos minerales fuertes, precipitan las substancias albuminosas naturales, y con una cantidad conveniente de reactivo las precipitan totalmente. Se emplea generalmente una solución obtenida disolviendo una parte de ácido fosfomolíbdico o fosfotúngstico cristalizado en cinco partes de agua, y añadiendo a esta solución 2 por 100 de ácido sulfúrico concentrado.

El *licor de Brücke* es una solución acuosa de yoduro doble de mercurio y de potasio. Se puede preparar este líquido de la manera siguiente: se disuelve en agua destilada cloruro mercúrico a saturación (sublimado) y se echa en esta solución una solución saturada de yoduro potásico: primeramente se forma un precipitado de yoduro mercúrico rojo, soluble en un exceso de yoduro potásico; se añade la solución de yoduro potásico gota a gota, hasta la disolución total del precipitado

rojo de yoduro mercúrico. Se puede preparar también este licor de la manera siguiente: en un litro de agua se disuelven 100 gramos de yoduro potásico; se calienta al baño de María y se le añade el yoduro de mercurio hasta saturarlo; se deja enfriar, se pone sobre el filtro para separar el precipitado rojo de yoduro mercúrico formado durante el enfriamiento y se añade al líquido claro un poco (2 a 5 gramos) de yoduro potásico. El licor de Brücke añadido a las soluciones albuminosas no las precipita mientras las soluciones son neutras; por el contrario, las precipita cuando han sido acidificadas por el *ácido clorhídrico*, y, mediante proporciones convenientes de licor de Brücke y de ácido clorhídrico, la precipitación puede ser total. Se obtiene esta precipitación total añadiendo primeramente una pequeña cantidad de licor de Brücke; después, gota a gota, el ácido clorhídrico concentrado mientras se forme precipitado; después, gota a gota, licor de Brücke mientras forme precipitado; después ácido clorhídrico, etc., alternando los dos reactivos hasta que ni uno ni otro formen precipitado.

Para preparar el *reactivo de Tanret* se añaden a 20 centímetros cúbicos de ácido acético cristalizable 5,53 gramos de yoduro potásico puro y 2,25 gramos de bicloruro de mercurio; finalmente se añade agua destilada para completar los 100 centímetros cúbicos. Este reactivo precipita las substancias albuminosas de sus soluciones, y el precipitado es insoluble en frío y en caliente en un exceso de reactivo, insoluble en el alcohol e insoluble en el éter; estos caracteres permiten distinguirlo de los precipitados producidos por el mismo reactivo en los líquidos que contengan ciertas substancias albuminosas de transformación o ciertos alcaloides.

El *yoduro doble de bismuto y de potasio* precipita las soluciones albuminosas acidificadas por el ácido clorhídrico o por el ácido acético, lo mismo que pasa, en idénticas condiciones, con el licor de Brücke y con el reactivo de Tanret.

Las *soluciones acuosas concentradas* (1) *de ácido pícrico* precipitan igualmente las soluciones de substancias albuminosas naturales, principalmente después de la acidulación por el ácido acético o por el ácido cítrico. Se emplea muchas veces una solución acuosa de ácido pícrico al 1 por 100 y de ácido cítrico al 2 por 100: *reactivo de Esbach.*

(1) Se emplean generalmente las soluciones de ácido pícrico al 1 por 100, que no son a saturación, porque el ácido pícrico se disuelve en 6 partes de agua.

Por último, el *ácido tricloracético* en solución acuosa al 2,5 y 10 por 100, precipita las substancias albuminosas; y en ciertas circunstancias, pero no siempre, puede precipitarlas totalmente.

Pero si estos diferentes reactivos precipitan las substancias albuminosas naturales de sus soluciones, no por esto se podrá considerar como demostrada la presencia de substancias albuminosas en un líquido cuando uno cualquiera de estos reactivos precipita este líquido. Efectivamente, las substancias albuminosas no son las únicas substancias que estos distintos reactivos pueden precipitar. En otras palabras, estos diferentes reactivos no son aplicables indiferentemente a todos los líquidos: no se puede emplear el alcohol cuando la solución contenga substancias precipitables por el alcohol, como los sulfatos de álcalis, el sulfato amónico, por ejemplo; no se pueden emplear los ácidos fosfomolíbdico y fosfotúngstico en los líquidos que contengan sales amoniacales, porque se formarían fosfomolibdato y fosfotungstato amónicos insolubles; no se puede emplear el ácido pícrico en los líquidos que contengan sales amoniacales, o creatinina, o ácido úrico cuerpos precipitables todos ellos por el ácido pícrico, etc.

β. — *Coagulación de las substancias albuminosas*

¿Son coagulables *las substancias albuminosas naturales?* ¿Qué es, pues, una *substancia albuminosa coagulable?* ¿Qué es la *coagulación?* ¿Qué diferencia hay entre la *coagulación* y la *precipitación* de las substancias albuminosas?

Algunos ejemplos nos permitirán responder a estas preguntas.

Supongamos preparada una solución de clara de huevo en agua. Añadamos a un volumen de esta solución varios volúmenes, diez, por ejemplo, de una solución saturada de sulfato amónico, y produciremos la aparición de copos albuminosos. Estos copos, separados por filtración del líquido en que se han producido, pueden redisolverse en el agua de la misma manera que se ha disuelto la clara de huevo, y esta solución presenta todas las propiedades primitivas de la solución de clara de huevo. Se dice que la clara de huevo ha sido precipitada de su solución por el sulfato amónico.

Supongamos que se calienta esta misma solución de clara de huevo a una temperatura de 80 a 100°: se formará un poso en copos, albuminoso; pero estos copos separados del líquido en que se han producido no pueden ser disueltos en el agua. La clara de huevo ha sido coagulada por el calor.

La *precipitación* es un *simple cambio de estado físico:* la

substancia precipitada pasa del estado de disolución al estado sólido. La *coagulación* es a la vez un *cambio de estado* y un *cambio de propiedades*, y probablemente un *cambio de constitución química*. Sin embargo, nos guardaremos de afirmar que en una coagulación haya modificación química de la molécula, puesto que no ha podido demostrarse. Admitimos, sí, que esta transformación química es posible; pero también reconocemos que tal vez se trata solamente de modificaciones de orden físico, comparables a las que presenta la sílice soluble al transformarse en sílice gelatinosa (véase pág. 121).

Si se añade a una solución de clara de huevo una cantidad suficiente de alcohol se provoca la aparición de copos albuminosos. Si luego de su aparición se separan por filtración los copos del líquido en que se han formado, y si, por expresión entre dos láminas de papel de filtro, se les quita la mayor parte del alcohol que retienen, se les puede redisolver en el agua y obtener una solución análoga, en cuanto a sus propiedades, a la primitiva solución de clara de huevo. El alcohol, según nuestras definiciones, ha precipitado la clara de huevo de su solución. Pero si después de haber producido los flocos albuminosos por la adición del alcohol se dejan durante varios días, o mejor durante varias semanas, estos flocos en contacto con alcohol fuerte, se vuelven absolutamente insolubles en el agua. El alcohol, según nuestras definiciones, debido al contacto prolongado con la clara de huevo, la coagula.

Las substancias albuminosas naturales son coagulables por el calor; cuando se eleva progresivamente la temperatura de sus soluciones, se ve a partir de cierta temperatura que varía según la substancia considerada, producirse una *turbiedad*, después *copos* que van siendo muy abundantes y más voluminosos a medida que se eleva la temperatura (1). Si el líquido tiene reacción neutra, la coagulación no es total, aunque se llegue a los 100°. Para que la coagulación sea total, es necesario acidular ligeramente (a 1 ó 2 por 100, en general) el líquido mediante el ácido acético.

γ. — *Albúminas y globulinas*

Se distinguen dos grupos de substancias albuminosas naturales: las *albúminas* y las *globulinas*.

(1) Cuando por una diálisis prolongada en presencia de agua destilada se separan de una solución albuminosa las sales minerales que contiene, se le hace perder la propiedad de coagularse por el calor. Recobra esta propiedad por la adición de pequeñas cantidades de materias salinas. Cuando se añaden a una cantidad de suero sanguíneo tres o cuatro volúmenes de agua destilada, se obtiene una mezcla pobre en sales, que se puede calentar hasta la ebullición sin producir la coagulación.

(1) Por último, se admite, pero será tal vez mejor hacer alguna reserva a este respecto, que las globulinas son totalmente precipitadas por semisaturación del sulfato amónico (volúmenes iguales del líquido albuminoso y de la solución saturada de sulfato amónico), y que las albúminas no son precipitadas en las mismas condiciones. Las albúminas y las globulinas son, por otra parte, unas y otras totalmente precipitadas de sus soluciones por el sulfato amónico disuelto a saturación en frío.

Las albúminas se distinguen de las globulinas por los siguientes caracteres:

Las *albúminas* son solubles en el agua destilada, en las soluciones diluídas (al 1 por 100, por ejemplo) de sales neutras de álcalis o de tierras alcalinas (cloruro de sodio, sulfato sódico, sulfato de magnesia, etc.); en las soluciones diluídas de los álcalis cáusticos (al 1 por 1.000, por ejemplo). Sus soluciones salinas pueden ser diluídas o sometidas a una diálisis prolongada, sin precipitar; sus soluciones en los álcalis pueden ser diluídas y saturadas de gas carbónico, sin precipitar. Las soluciones de las albúminas no son precipitadas por el cloruro sódico, ni por el sulfato de magnesia disueltos a saturación a la temperatura ordinaria, 15 a 20°; y, por el contrario, son precipitadas por estas sales cuando han sido aciduladas por el ácido acético (aciduladas al 1 por 100, por ejemplo).

Las *globulinas* son insolubles en el agua destilada; son solubles en las soluciones diluídas (al 1 por 100, por ejemplo) de sales neutras, de álcalis o de tierras alcalinas (cloruro sódico, sulfato sódico, sulfato de magnesia, etc.); son solubles en las soluciones muy diluídas de álcalis cáusticos (de 1 por 1.000 a 1 por 100, por ejemplo). Sus soluciones salinas son precipitadas parcialmente por disolución mediante el agua destilada, o por diálisis en presencia del agua destilada: puesto que la dilución disminuye la proporción de la sal disolvente y la diálisis elimina esta sal. Sus soluciones en los álcalis son precipitadas parcialmente cuando, después de diluirlas, son saturadas de gas carbónico. Las soluciones de globulinas son precipitadas, unas parcialmente y otras totalmente, por el cloruro de sodio disuelto a saturación a la temperatura ordinaria; son precipitadas, *totalmente precipitadas, por el sulfato de magnesia disuelto a saturación* a la temperatura ordinaria y mejor todavía a la de 30° (1), sin necesidad de acidularlas.

Dentro del grupo de las globulinas hay que distinguir la familia de las *vitelinas*, que se diferencian de las globulinas típicas por un solo carácter: su no precipitabilidad por el cloruro de sodio disuelto a saturación a la temperatura ordinaria. ¿Es esto una razón suficiente para hacer de las vitelinas un grupo diferente de las globulinas y para oponer estos dos grupos como se ha propuesto? Nosotros creemos que no; las vitelinas son globulinas.

¿Qué valor se debe, pues, atribuir a los caracteres diferenciales de los dos grupos, albúminas y globulinas? ¿Son sencillamente superficiales? Las diferencias de orden físico (solubilidad y precipitabilidad), ¿son suficientes para establecer dos grandes grupos? Decimos que las albúminas y las globulinas forman dos grupos naturales distintos, porque jamás se ha podido, partiendo de una albúmina, obtener una substancia que presente las propiedades de una globulina; ni tampoco, partiendo de una globulina, se ha podido obtener una substancia que presente los caracteres de una albúmina. Se puede transformar una albúmina o una globulina en algo que no es ni albúmina ni globulina (substancia coguladá, acidalbuminoide, álcalialbuminoide, proteosa); no se puede transformar una albúmina en globulina, o una globulina en albúmina. Notemos también que las albúminas (por lo menos la sueroalbúmina y la ovalbúmina) no contienen la glicocola entre sus productos de hidrólisis. Por el contrario, todas las globulinas producen glicocola bajo la influencia de los agentes hidrolizantes (véase pág. 117).

Aplicaciones.—1. Una substancia albuminosa natural coagulable ¿es una albúmina o una globulina?

Si la solución no precipita por dilución ni por diálisis, por acidificación acética ni por saturación por el sulfato de magnesia, la substancia en disolución es una albúmina. Si la solución precipita por dilución, por diálisis, por acidificación acética y por saturación por el sulfato de magnesia, la substancia en disolución es una globulina.

2. De una solución que contenga una mezcla de albúmina y de globulina, ¿cómo puede separarse albúmina pura y globulina pura?

Sometiendo esta mezcla a la diálisis, o diluyéndola mediante 10 ó 12 volúmenes de agua destilada, o acidificándola por el ácido acético, o saturándola de sulfato de magnesia, el precipitado es de globulina sin albúmina. Saturando la mezcla de sulfato de magnesia para precipitar la totalidad de las globulinas, poniéndola sobre un filtro para retener el precipitado formado y acidulando el líquido por el ácido acético se produce un precipitado de albúmina.

3. En una solución que contenga una mezcla de albúminas y de globulinas, ¿cómo se pueden separar las albúminas de las globulinas y dosificarlas?

Se satura el líquido de sulfato de magnesia. Se deja sobre un filtro para retener el precipitado de las globulinas. Se lava este precipitado sobre el mismo filtro con una solución saturada de sulfato de magnesia, para que esta solución arrastre las substancias albuminosas; se somete en seguida el filtro y el precipitado que contiene a 100°, para coagular las globulinas retenidas, y se lava con agua destilada para quitar el sulfato de magnesia. Las globulinas quedan de esta manera aisladas en estado de coagulación. El líquido saturado de sulfato de magnesia y las aguas magnesianas del lavado se juntan y se someten a la ebullición: las albúminas son coaguladas, y en presencia de este exceso de sulfato de magnesia, totalmente coaguladas. Basta entonces ponerlo sobre el filtro y lavarlo con agua destilada para quitar el sulfato de magnesia: las albúminas quedan aisladas en estado de coagulación.

Estudiando el huevo, la leche, la sangre, el músculo, conoceremos mejor y de un modo especial algunas albúminas y globulinas: entre las albúminas, la ovoalbúmina, la lactalbúmina y la seroalbúmina; entre las globulinas, la lactoglobulina, la seroglobulina, el fibrinógeno, la fibrina, la miosina y la ovovitelina.

2. — Substancias albuminosas desnaturalizadas o de transformación

Estas substancias presentan las reacciones de coloración de las substancias albuminosas naturales. Son substancias coloides, que dan, bajo la influencia de los mismos reactivos, los mismos productos de descomposición que las substancias albuminosas naturales.

Estudiaremos cuatro grupos de substancias albuminosas de transformación:

Substancias albuminosas coaguladas,
Alcalialbuminoides y ácidoalbuminoides,
Proteosas,
Polipéptidos.

α. — *Substancias albuminosas coaguladas*

Las substancias albuminosas naturales coaguladas (albúminas y globulinas) bajo la influencia del calor, o por la acción

del alcohol, son cuerpos insolubles en el agua, insolubles en los álcalis muy diluídos, insolubles en las soluciones de las sales neutras. Estos productos conservan aún su naturaleza albuminosa porque presentan todas las reacciones de coloración de las substancias albuminosas, en particular las que hemos descrito, la reacción xantoproteica, la reacción del biuret, la reacción de Millon y la reacción glioxílica.

β. — *Alcalialbuminoides y ácidoalbuminoides*

Cuando se tratan las albúminas y las globulinas por un ácido o un álcali cáustico, se transforma en seguida la substancia albuminosa natural en *ácidoalbuminoide* o *álcalialbuminoide*, substancias no definidas químicamente.

Estas substancias son insolubles en el agua y en las soluciones salinas neutras. Son solubles en los álcalis y en los ácidos; son precipitadas en estas soluciones alcalinas o ácidas por neutralización de la solución. Sus soluciones no son precipitadas por el calor ni a la temperatura de ebullición. Son precipitadas por el sulfato de magnesia disuelto a saturación en frío.

γ. — *Proteosas*

Cuando se tratan las substancias albuminosas naturales o coaguladas por el jugo gástrico o pancreático a una temperatura conveniente, 40° por ejemplo, o por el vapor de agua sobrecalentado, o por los ácidos y los álcalis diluídos (al 10 por 100, por ejemplo) a la temperatura de ebullición, se obtienen una serie de *productos* que se designan con el nombre general de *proteosas*. Según la substancia albuminosa que ha servido de primera materia sea una albúmina o una globulina (miosina, vitelina, por ejemplo), se da a la proteosa el nombre de *albumosa* o de *globulosa* (*miosinosa*, *vitelosa*, por ejemplo).

Las proteosas son substancias no coagulables.

La mayoría de los proteosas son solubles en el agua destilada (únicamente las que veremos con el nombre de heteroproteosas no son solubles en el agua destilada, pero sí en el agua ligeramente salada); todas son solubles en las soluciones salinas neutras diluídas (cloruro de sodio, sulfato sódico, sulfato de magnesia, etc., al 1 por 100, por ejemplo). Sus soluciones acuosas o débilmente saladas pueden ser hervidas sin precipitar.

Todas son precipitadas, pero no totalmente, de sus soluciones por los reactivos siguientes:

Alcohol,
Solución acuosa de sublimado,
Solución de tanino acético,
Solución sulfúrica de ácido fosfomolíbdico,
Solución sulfúrica de ácido fosfotúngstico.

No son precipitadas por los ácidos minerales, como el ácido clorhídrico, el ácido sulfúrico, ni en frío ni a la temperatura de ebullición.

Antes se dividían las proteosas en dos grupos de substancias:

Las *propeptonas*,
Las *peptonas*.

Las propeptonas estaban caracterizadas por tres reacciones llamadas *reacciones propeptónicas:*

α. Las soluciones de propeptonas adicionadas de ácido nítrico en frío dan un precipitado; este precipitado desaparece por el calor, para volverse a formar por enfriamiento.

β. Las soluciones de propeptonas dan en frío un precipitado por el *ferrocianuro potásico* y el *ácido acético;* este precipitado desaparece por el calor y se vuelve a formar por enfriamiento.

γ. Acidulando en una fuerte proporción y en frío por el *ácido acético* una mezcla en iguales volúmenes de una solución de propeptonas y una solución saturada de *cloruro de sodio*, se determina la formación de un precipitado, soluble en caliente, que reaparece por enfriamiento.

Las peptonas no dan ninguna de estas reacciones.

Actualmente se ha propuesto dividir las proteosas en dos grupos de substancias:

Las *proteosas verdaderas*,
Las *peptonas verdaderas*.

Las *proteosas* verdaderas son precipitadas, y totalmente precipitadas, de sus soluciones por saturación de estas soluciones a la temperatura de ebullición por el sulfato amónico, primeramente en reacción neutra, después en reacción alcalina y, finalmente, en reacción ácida: éste es su carácter específico.

Las *peptonas verdaderas* (1) no son precipitadas de sus soluciones por el sulfato amónico disuelto a saturación a la temperatura de ebullición, cualquiera que sea la reacción del medio: éste es su carácter específico. Solamente precipitan por el alcohol, el tanino acético, el sublimado y los ácidos fosfomolíbdico y fosfotúngstico.

Las proteosas verdaderas dan un precipitado por el ácido pícrico, por el licor de Brücke clorhídrico y por el ácido tricloracético. Las peptonas verdaderas no precipitan ni por el ácido pícrico, ni por el licor de Brücke clorhídrico, ni por el ácido tricloracético.

Las proteosas verdaderas comprenden tres grupos de substancias:

Las *heteroproteosas*,
Las *protoproteosas*,
Las *deuteroproteosas*.

Las heteroproteosas y las protoproteosas forman el grupo de las *proteosas primarias*, grupo que corresponde poco más o menos al antiguo grupo de las propeptonas; las deuteroproteosas forman el grupo de las *proteosas secundarias*.

Las *proteosas primarias* presentan muy claramente las tres reacciones propeptónicas. Las *heteroproteosas* son insolubles en el agua, solubles en las soluciones salinas neutras diluídas; sus soluciones salinas son precipitadas por el cloruro sódico disuelto a saturación en frío. Las *protoproteosas* son solubles en el agua destilada, parcialmente precipitadas de su solución por el cloruro de sodio disuelto a saturación en frío, totalmente precipitadas por saturación por el cloruro de sodio y acidificación al 30 por 100 por el ácido acético.

Las *proteosas secundarias* o *deuteroproteosas* no presentan, por lo menos de un modo claro, las reacciones propeptónicas. Son solubles en el agua. No son precipitadas de sus soluciones por el cloruro sódico disuelto a saturación; son parcialmente precipitadas por el cloruro sódico disuelto a saturación añadiendo ácido acético a razón de un 30 por 100.

(1) La idea de los autores que han establecido esta distinción entre proteosas verdaderas y peptonas verdaderas, es de que la peptona verdadera es el último término de la proteólisis fisiológica, tal como se produce en los procesos de la digestión; por otra parte, representa un individuo químico bien definido.

Esta opinión es inexacta: 1.°, la peptona verdadera no es un individuo químico, sino una mezcla de diferentes cuerpos que se han podido reconocer precipitando parcialmente sus soluciones por diversas sales; 2.°, la peptona verdadera no es el último término de la proteólisis fisiológica, porque la tripsina pancreática y la erepsina intestinal descomponen las substancias albuminosas hasta formar, parcialmente por la tripsina y totalmente por la erepsina, aminoácidos, entre los cuales y la peptona verdadera se escalona una larga serie de substancias conocidas con el nombre de polipéptidos, que pasan por grados insensibles de las propiedades y de la constitución de la peptona verdadera a las propiedades y constitución de los aminoácidos.

La división de las proteosas en proteosas verdaderas y peptonas verdaderas no tiene, pues, mayor valor que la división más antigua en propeptonas y peptonas.

No hay que considerar los diversos grupos de proteosas como individuos químicos bien definidos. Son mezclas complejas. Los caracteres indicados son simples puntos de mira que nos permiten juzgar a qué fase de transformación ha llegado la materia albuminosa en su evolución de la forma albuminosa natural a la forma de peptona.

Aplicaciones. — ¿Un líquido dado contiene potasa? ¿Son proteosas verdaderas o peptonas?

La solución albuminosa que suponemos neutra es acidulada por el ácido acético y llevada a la ebullición: las substancias albuminosas naturales (albúminas y globulinas) son coaguladas. El líquido filtrado contiene proteosas. Neutralizando el líquido y saturándolo de sulfato amónico a la temperatura de ebullición (1), si se produce un precipitado, el líquido contiene proteosas. El líquido saturado de sulfato amónico, separado del precipitado de proteosas verdaderas, si hay lugar a ello, se puede saber si contiene peptonas por dos reacciones: la presencia de peptona verdadera está indicada por la reacción del biuret o por la precipitación por el tanino acético; la reacción del biuret se puede practicar directamente con el líquido saturado de sulfato amónico; el tanino no debe añadírsele sino después de la dilución de la solución saturada de sulfato amónico con un volumen igual de agua.

Las substancias albuminosas están constituídas, como ya hemos dicho, por la unión de gran número de ácidos aminados unidos con eliminación de agua. Sean, por ejemplo, dos ácidos aminados.

$$R—CH(NH^2)—COOH \text{ y } R'—CH(NH^2)—COOH.$$

R y R′ representan dos agrupamientos atómicos diversos. Estos dos cuerpos están unidos dentro de la molécula albuminosa según la fórmula

$$\begin{array}{l} R — CH — COOH \\ \qquad\quad | \\ \qquad\quad NH \qquad\quad + H^2O \\ \qquad\quad | \\ R'—CH(NH^2)—CO \end{array}$$

(1) La saturación se hace primeramente en un medio neutro; después de enfriado el líquido y de quitarle el precipitado de sulfato amónico y las proteosas, es alcalinizado con amoníaco y carbonato amónico, después saturado nuevamente de sulfato amónico a la temperatura de ebullición; se deja enfriar por segunda vez, se separa por filtración el poso que se ha formado y, finalmente, se acidula por el ácido acético y se satura por última vez de sulfato amónico a la temperatura de ebullición.

y si para simplificar se representan por A y B, respectivamente, los radicales R — CH — COOH y R′ — CH (NH^2), la molécula albuminosa responderá a la fórmula

A—NH—CO—B.

Bajo la influencia de agentes proteolíticos se fija una molécula de agua y se rompe la unión del agrupamiento NH—CO; el grupo NH^2 y el grupo COOH quedan formados; aparecen dos cuerpos nuevos que responden a las fórmulas

A—NH^2 y B—COOH.

El cuerpo del cual se ha partido era neutro (suponiendo que A y B encierran únicamente funciones neutras); los cuerpos engendrados son el uno básico, A—NH^2, y el otro ácido, B—COOH. Pero su mezcla se comporta con los reactivos indicadores como un cuerpo neutro, porque la alcalinidad del primero neutraliza la acidez del segundo. De manera que en la proteólisis la reacción del líquido no cambia.

Supongamos que tratamos este líquido por el formol; este cuerpo obra sobre el compuesto básico A—NH^2 y forma con el una combinación neutra.

$$A—NH^2 + CH^2O = A—N—CH^2 + H^2O$$

de tal manera que el líquido se vuelve ácido, porque la acidez del cuerpo B—COOH no queda compensada por la alcalinidad de A—NH^2.

Se comprenderá fácilmente que cuanto más adelantada esté la proteólisis de una substancia albuminosa, mayor será el número de agrupamientos neutros rotos como A—NH—CO—B, y mayor será también, después de la adición de formol neutro, la acidez del líquido.

Determinando por los procedimientos acidimétricos muy conocidos el grado de acidez de los líquidos de proteólisis formolados, se podrá fijar el grado actual de la proteólisis, o, dicho en otras palabras, el trabajo proteolítico cumplido, puesto que el grado de acidez es proporcional al número de roturas de la cadena o al número de moléculas de agua fijadas. Las proteosas y las peptonas son mezclas formadas de partes iguales de cuerpos A—NH^2 y B—COOH, y que se prestan al análisis acidimétrico, cuyo valor acabamos de explicar.

Utilizaremos esta propiedad en el análisis de la acción proteolítica de los líquidos digestivos.

3. — *Polipéptidos*

Con el nombre de *péptido* se designa a uno cualquiera de los ácidos aminados que entran en la composición de las proteínas y que se hacen aparecer en estado de libertad química en la proteólisis llevada al extremo por la acción de los ácidos minerales de temperatura elevada: la glicocola es un péptido; la leucina, la tirosina, etc., son también péptidos.

Se designan con el nombre de *polipéptidos* los productos de síntesis química obtenidos combinando, mediante procedimientos pertinentes a la química general, dos o más moléculas de ácidos aminados, idénticos o diferentes: por ejemplo, la glicilglicina resulta de la unión de dos moléculas de glicocola, pues un agrupamiento aminado se une a un agrupamiento ácido, con eliminación de una molécula de agua:

$$\underset{\text{glicocola}}{2\ CH^2(NH^2)—COOH} = \underset{\text{glicilglicina}}{CH^2(NH^2)—CO—NH—CH^2—COOH} + H^2O$$

la glicilalanina, la leucilglicilglicina, la dialanilcistina, la tetraglicina, etc. De esta manera se obtienen los *dipéptidos* como resultado de la unión de dos moléculas de amidoácidos; los *tripéptidos*, resultado de la unión de tres moléculas de amidoácidos, etc.; los *polipéptidos*, resultado de la unión de *n* moléculas de amidoácidos.

El polipéptido más complejo hoy conocido es un octodecapéptido, el leuciltriglicilleucilltriglicileuciloctoglicilglicina constituído por la unión de 15 moléculas de glicocola y 3 moléculas de leucina.

Estos cuerpos son interesantes porque representan los intermediarios entre las peptonas y los aminoácidos. Como las peptonas, presentan en general (por lo menos los más complejos, a partir de los tetrapéptidos) la reacción del biuret; como las peptonas, son precipitados por el ácido fosfomolíbdico; como las peptonas (por lo menos algunos de ellos), son desdoblados por los líquidos pancreáticos en aminoácidos.

Las peptonas no son, en resumidas cuentas, según las ideas generalmente admitidas hoy, más que polipéptidos de molécula compleja: y es imposible establecer una línea divisoria entre el grupo de las peptonas y el de los polipéptidos.

Los polipéptidos presentan la reacción del formol que hemos estudiado ya (pág. 14), como, por otra parte, todos los derivados de las substancias albuminosas por hidrólisis, comprendidos también los ácidos aminados, tal como resulta de un modo evidente de las explicaciones que acabamos de dar.

II. — PROTEIDOS O PROTEINAS CONJUGADAS

Se designan con el nombre de *proteidos* o *proteínas conjugadas* unas substancias que, bajo débiles influencias, se

descomponen en una substancia albuminosa y otra substancia de naturaleza variable, pero no albuminosa, constituyendo el *grupo prostético* del proteido. Los proteidos pueden ser considerados, pues, como resultado de la combinación de una substancia albuminosa y un grupo prostético.

Unas veces esta última substancia es una materia ferruginosa, la hematina; otras es un hidrato de carbono típico o substituído; otras es una nucleína o una paranucleína, etc.

Nosotros consideramos cuatro grupos principales de proteidos interesantes para el fisiólogo:

1. La *hemoglobina*, resultado de la combinación de una substancia albuminosa y la hematina, substancia colorante metalorgánica ferruginosa, lo que conduce a aplicar a la hemoglobina la denominación de *cromoproteido*.

2. Los *glicoproteidos*, resultado de la combinación de substancias albuminosas y substancias de composición compleja, de los que se puede obtener por una prolongada ebullición con ácido clorhídrico diluído, entre otros productos de descomposición, una substancia reductora perteneciente al grupo de los hidratos de carbono, típicos o substituídos.

3. Los *núcleoproteidos*, resultado de la combinación de substancias albuminosas y substancias de composición compleja, las nucleínas, que producen, entre otros productos de descomposición, el ácido fosfórico y bases nucleínicas y pirimídicas.

4. Los *paranúcleoproteidos*, que presentan indiscutibles analogías con los núcleoproteidos, y que justa o injustamente se han considerado como resultado de la combinación de substancias albuminosas y de substancias poco conocidas aún, las paranucleínas, fosforadas como las nucleínas, pero sin poseer los núcleos de bases nucleínicas y pirimídicas.

La hemoglobina será estudiada con la sangre. Nos limitaremos aquí a trazar rápidamente la historia de los glicoproteidos, de los núcleoproteidos y de los paranúcleoproteidos.

a) *Glicoproteidos*

Los *glicoproteidos* son substancias coloides, cuyas soluciones son fluentes y espumosas. Sometidos a la acción del vapor de agua sobrecalentado y bajo presión, los glicoproteidos se desdoblan en substancias albuminosas transformadas (proteosas) y en diversos productos, entre los cuales se encuentra

siempre una substancia reductora, perteneciente al tipo de los hidratos de carbono. La misma transformación se produce por la acción de los ácidos minerales diluídos a la temperatura de ebullición.

Las reacciones de Liebermann y de Molisch, indicadas ya (página 106), aplicadas a los glicoproteidos revelan la existencia de un agrupamiento hidrocarbonado dentro de su molécula.

Se distinguen dos grupos principales de glicoproteidos:

(Las *mucinas*,
(Los *mucoides*.

1. — Mucinas

Las *mucinas* mejor estudiadas son: la mucina del caracol, la mucina de la glándula y de la saliva submaxilares, la mucina de los tendones, la mucina de los cartílagos, la mucina de las secreciones bronquiales.

Su composición centesimal (1) se diferencia notablemente de la de las substancias albuminosas, como se puede prever dada su constitución. Investigaciones recientes enseñan que una por lo menos de las substancias que se pueden extraer de las mucinas, por la acción prolongada del vapor de agua sobrecalentado o de los ácidos minerales diluídos a la temperatura de ebullición, es una glicosamina $C^6H^{11}O^5NH^2$; o

$$CH^2OH—(CHOH)^3—CH(NH^2)—CHO.$$

Esta glicosamina, por otra parte, no constituye el grupo prostético de la mucina, sino solamente uno de los últimos términos de la transformación de este grupo prostético por los agentes de desdoblamiento empleados.

Estas mucinas presentan las siguientes propiedades:

Dan las reacciones de coloración de las substancias albuminosas: reacción xantoproteica, reacción del biuret, reacción de Millon, reacción glioxílica, etc.

Son insolubles en el agua; pero pueden disolverse en las soluciones alcalinas muy diluídas, por ejemplo, en una solución de carbonato de sosa al 1 por 1.000, en el agua de cal

(1) He aquí un análisis de mucina: C=50,30; H=6,84; N=13,62; S=1,71, y O=27,53 por 100.

saturada, formando líquidos de reacción neutra. Estas soluciones neutras de mucina no son coaguladas por la ebullición. Son precipitadas por el alcohol.

El ácido acético precipita (1) las mucinas de sus soluciones neutras (2), y las precipita completamente. El precipitado es insoluble en un exceso de ácido acético y también en el ácido acético glacial. El ácido clorhídrico y el ácido nítrico añadidos en pequeña cantidad precipitan las mucinas, pero el precipitado es soluble en un pequeño exceso del ácido precipitante.

El cloruro sódico, el sulfato de magnesia, el sulfato amónico disueltos a saturación precipitan las mucinas de sus soluciones neutras. Ocurre lo mismo si se emplean las sales de los metales pesados y, en particular, el sulfato de cobre, el sublimado, el tanino acético, el licor de Brücke clorhídrico, y en general los reactivos precipitantes de las substancias albuminosas.

Estas nociones permiten caracterizar una mucina contenida en un líquido.

1.° El líquido es *fluente* y *viscoso*.

2.° El líquido es *precipitado por el alcohol;* el precipitado obtenido, lavado, es insoluble en el ácido acético, soluble en el ácido clorhídrico, soluble en las soluciones diluídas (1 por 1.000) de álcalis y de carbonatos alcalinos y en las soluciones de tierras alcalinas.

3.° El líquido es *precipitado por el ácido acético*; el precipitado es *insoluble en el ácido acético* añadido *en exceso*, pero soluble en el ácido clorhídrico, en los álcalis diluídos.

4.° El precipitado obtenido por el alcohol o por el ácido acético, o las soluciones de mucinas en los álcalis o en los ácidos, dan las *reacciones de coloración de las substancias albuminosas.*

(1) La palabra precipita no da exacta cuenta del fenómeno: sería más exacto decir gelatiniza. Así la saliva submaxilar—la cual, como es sabido, es muy rica en mucina—es un líquido algo espeso y viscoso; pero es indiscutiblemente un líquido. Añadamos en el tubo en que se ha recogido ácido acético para acidificarla al 1 por 100, por ejemplo, o más, y agitemos para mezclar; comprobaremos que la saliva se ha transformado en una especie de gelatina transparente, que tiembla, derramándose difícilmente por las paredes del tubo inclinado, como ocurriría con una masa gelatinosa; la mucina, hablando con propiedad, no ha sido precipitada; ha sido gelatinizada.

(2) Sin embargo, en presencia de sales neutras el ácido acético no precipita las mucinas; si, por ejemplo, se mezcla con un cuarto de volumen de una solución saturada de cloruro sódico, no se puede precipitar por el ácido acético. Del mismo modo el ferrocianuro potásico acético y el sublimado no precipitan las soluciones de mucina más que si no contienen un exceso de sal neutra.

5.° Las soluciones de este precipitado en los ácidos minerales son descompuestas por la ebullición prolongada; en este caso contienen una substancia del tipo de los hidratos de carbono, capaz de reducir el licor de Fehling.

2. — Mucoides

Los *mucoides* o *mucinoides*, entre los cuales los más estudiados son el mucoide del contenido de los quistes del ovario (metalbúmina o seudomucina), el ovomucoide del huevo de las aves y el condromucoide del tejido cartilaginoso, se diferencian de las mucinas por su composición elemental, sus solubilidades y sus precipitabilidades. Estas substancias son, en particular, solubles en el agua y no precipitables por el ácido acético. Pero, como las mucinas, forman soluciones viscosas y fluentes; como las mucinas, son desdobladas por el vapor de agua sobrecalentado, o por los ácidos minerales diluídos a la temperatura de ebullición, en substancias albuminosas transformadas y substancias del tipo de los hidratos de carbono, entre las que se ha podido reconocer la glicosamina; como las mucinas, por último, no contienen esta glicosamina en estado de grupo prostético: éste es infinitamente más complejo, y la glicosamina no representa más que uno de los términos de transformación de este grupo prostético por los agentes empleados.

b) *Núcleoproteidos*

Los núcleoproteidos, constituyentes esenciales del protoplasma, pueden ser considerados como resultado de la combinación de una *substancia proteica* con un grupo prostetico fosforado denominado *nucleína*.

Es posible distinguir tres categorías según el grupo prostético esté ligado a proteínas verdaderas (*núcleoproteidos*), a protaminas (*núcleoprotaminas*) o a histonas (*núcleohistonas*).

1. — Caracteres de los núcleoproteidos

Para obtener núcleoproteidos y estudiar sus propiedades se toma un tejido cualquiera, se le pica, se le tritura y se le añaden 5 volúmenes de agua, aproximadamente. Después de una maceración de algunas horas, se exprime la masa en un lienzo fino. A 20 centímetros cúbicos de líquido se añade medio centímetro cúbico de ácido acético al 10 por 100; se forma un voluminoso precipitado de núcleoproteido que se recoge en un filtro.

A este precipitado, bien lavado con agua, se añade poco a poco

sosa cáustica al 1 por 100 hasta que la reacción sea muy débilmente alcalina; el precipitado se redisuelve; se neutraliza exactamente con el ácido acético.

Los *núcleoproteidos* son insolubles en el agua; son solubles en las soluciones diluídas de álcalis o de carbonatos alcalinos (solución al 1 ó 2 por 1.000 de amoníaco; solución al 4 ó 5 por 1.000 de bicarbonato de sosa o de carbonato de sosa, por ejemplo), formando líquidos de reacción neutra (1) (mientras no se haya empleado un exceso de álcali); estas soluciones neutras más o menos viscosas de núcleoproteidos no se coagulan por el calor a la temperatura de ebullición. Son insolubles o muy poco solubles en las soluciones de cloruro sódico diluídas (al 1 por 100); pero se disuelven bien en las soluciones concentradas de cloruro sódico (al 10 por 100), y estas soluciones son coaguladas a la temperatura de ebullición. Notemos que los núcleoproteidos, tal como existen en los tejidos, son coagulables por el calor de ebullición, comportándose así como sus soluciones cloruradosódicas y no como sus soluciones en los álcalis o carbonatos de álcalis.

Los núcleoploteidos presentan las reacciones de coloración de las substancias albuminosas; son precipitados por el ácido acético, el tanino acético, el ácido fosfomolíbdico, el ácido pícrico, el licor de Brücke clorhídrico, el reactivo de Tanret, etc.

Los núcleoproteidos son precipitados por pequeñas cantidades de ácido clorhídrico o de ácido acético; pero el precipitado así formado es soluble en un pequeñísimo exceso de ácido clorhídrico o en un grande exceso de ácido acético. Si a una solución clorhídrica perfectamente límpida de núcleoproteidos se añade pepsina, se puede comprobar como se verifica un desdoblamiento de la substancia disuelta. Se forman, a expensas de la substancia albuminosa que entra en la constitución de su molécula, proteosas solubles; y se deposita un ligerísimo precipitado constituído por una substancia fosforada, insoluble en el jugo gástrico: una *nucleína*.

Las *nucleínas* son insolubles en el agua, en el alcohol, en el éter y en los ácidos diluídos. Se disuelven muy fácilmente en las soluciones diluídas de álcalis cáusticos, en la sosa cáustica al 1 por 1.000, por ejemplo, y algo en las soluciones diluídas de carbonatos alcalinos. (De este modo se conducen como ácidos, siendo su carácter ácido más acentuado que el de los

(1) Se pueden considerar, pues, las núcleoproteínas como cuerpos de función ácida.

núcleoproteidos.) Los ácidos acético y clorhídrico añadidos en pequeña cantidad las precipitan de sus soluciones; un exceso, pero únicamente un gran exceso de ácido clorhídrico concentrado o de ácido acético concentrado pueden redisolver este precipitado.

Las nucleínas no son atacadas por el jugo gástrico o por la pepsina en licor clorhídrico; pero son desdobladas por la tripsina en *proteosas* y *ácidos nucleicos* (1).

Las nucleínas presentan las reacciones de coloración de las substancias albuminosas.

Las nucleínas no son estables en presencia de los álcalis. Sus soluciones en los álcalis diluídos son desdobladas en substancia albuminosa (2) (álcalialbuminoide), por una parte, y *ácidos nucleicos*, por otra parte. Las nucleínas son, pues, proteidos, ya que están formadas por la unión de una molécula albuminosa y un grupo prostético, el grupo nucleico. Los núcleoproteidos son, pues, *diproteidos*, o sea que resultan de la unión de dos moléculas albuminosas y de un grupo prostético. Estas dos moléculas albuminosas no están igualmente fijadas dentro de la molécula: una es débilmente fijada, es la que se separa, en el primer desdoblamiento, por el jugo gástrico; la otra está fijada más fuertemente, es la que se separa, en el segundo desdoblamiento, por los álcalis diluídos.

2. — Acidos nucleicos

Los *ácidos nucleicos* son compuestos fosforados, pero no sulfurados. Las nucleínas y los núcleoproteidos, por el contrario, son a la vez fosforados y sulfurados, formando parte el azufre que contienen del núcleo o núcleos albuminosos que entran en la constitución de su molécula. Contienen de 9 a 10 por 100 de fósforo (las nucleínas no contienen más que de 4 a 7 por 100, y los núcleoproteidos, de 0,3 a 3 por 100). Los ácidos nucleicos son insolubles en el agua, insolubles en el

(1) En diversos tejidos (por ejemplo, en el tejido pancreático o en el del timo) se encuentran diastasas, a las que se da el nombre general de *nucleasas*, que descomponen a las nucleínas en ácidos nucleicos primeramente, y después, obrando sobre éstos, en ácido fosfórico y bases xánticas, resultando así los mismos productos de descomposición que los que se obtienen tratando por los ácidos minerales diluídos en ebullición las nucleínas o los ácidos nucleicos.

(2) A la presencia de este núcleo albuminoso en la molécula de nucleína debe ésta la propiedad de dar las reacciones de coloración de las substancias albuminosas.

alcohol. Son fácilmente solubles en los álcalis diluídos (los nucleatos (1) de álcalis son solubles en el agua; los nucleatos alcalinotérreos y los nucleatos de meetales pesados son insolubles en el agua). Los ácidos nucleicos no son precipitados de estas soluciones por el ácido acético, como lo son las nucleínas; son precipitados solamente por los ácidos minerales diluídos, por el ácido clorhídrico al 5 por 100, por ejemplo, disolviendo de nuevo el precipitado un exceso de ácido mineral (2).

Los ácidos nucleicos en solución ácida poseen la especial propiedad de precipitar las substancias albuminosas de sus soluciones, en forma compuesta tal, que las podemos considerar como nucleínas regeneradas, ya que recuerdan las nucleínas por todas sus propiedades.

Los ácidos nucleicos son cuerpos de estructura extremadamente compleja, que deberían ser francamente separados del grupo de las substancias albuminosas, porque no dan la reacción del biuret, ni en general las otras reacciones de coloración de las substancias albuminosas. No se conocen aún de una manera precisa más que algunos de los productos de su descomposición. Sometidos a la acción de los ácidos minerales diluídos (ácido sulfúrico al 10 por 100, por ejemplo) a la temperatura de ebullición, los ácidos nucleicos son descompuestos, y entre los productos de su descomposición llevada hasta la hidrólisis total se encuentran el *ácido fosfórico*, *bases nucleínicas*, *bases pirimídicas*, grupos de hidratos de carbono diversos (hexosas o pentosas) (3), etc. Abandonados a la putrefacción, los ácidos nucleicos son descompuestos, y entre los productos de su descomposición se encuentran el ácido fosfórico, bases nucleínicas, etc.

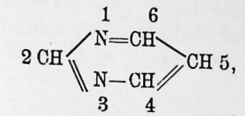
(1) Los ácidos nucleicos son verdaderos ácidos que dan sales como los ácidos propiamente dichos.

(2) Estas propiedades permiten preparar fácilmente los ácidos nucleicos. De una solución de nucleínas en los álcalis, se precipita por adición de ácido acético el álcalialbuminoide formado; se separa el precipitado por filtración, y del líquido filtrado se precipitan los ácidos nucleicos por adición de un 3 por 100 de ácido clorhídrico y de un 50 por 100 de alcohol.

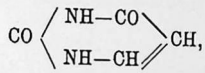
(3) Las pentosas son azúcares en C_5; responden a la fórmula $C_4H_{10}O_5$ o $C_5(H_2O)_5$. No existen en estado de libertad química en el organismo animal; se encuentran siempre en las moléculas nucleicas. Sin embargo, se han encontrado pentosas libres en la orina de algunos enfermos: en este caso hay pentosuria; el hecho es raro, pero es cierto. Se encuentran igualmente pentosas en los vegetales: en este caso están, como en los animales, englobadas en complejas combinaciones. Ya hemos señalado en la pág. 98 el paso posible de la molécula de glicosa (hexosa) a la molécula de xilosa (pentosa) sirviéndose del ácido glicurónico como intermediario.

Las *bases pirimídicas* (1), que se encuentran entre los productos de hidrólisis de los ácidos nucleicos, son el *uracilo*, la *timina* y la *citosina*.

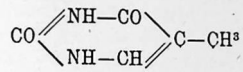
Siendo la pirimidina



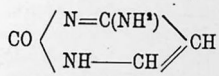
el uracilo es una 2.6. dioxipirimidina



la timina es una 5. metil 2.6. dioxipirimidina; es el 5. metiluracilo

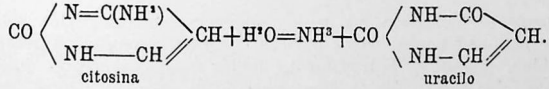


y la citosina es una 6. amido 2. oxipirimidina



Cuando se hidrolizan los ácidos nucleicos por los ácidos minerales, se obtienen las tres bases pirimídicas, uracilo, timina y citosina.

Cuando se hidrolizan los ácidos nucleicos por la nucleasa de los tejidos, se obtienen solamente dos bases pirimídicas, timina y citosina. Estas dos bases se han considerado por esto como bases pirimídicas primarias; y el uracilo representa una base pirimídica secundaria. Por otra parte, se puede pasar fácilmente de la citosina al uracilo por hidratación y desamidación, según la fórmula siguiente:

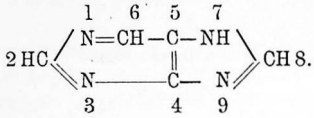


Las *bases nucleínicas*, o *bases xánticas*, o *bases púricas*, son la *xantina* y la *guanina*, la *hipoxantina* (o *sarcina*) y la *adenina*.

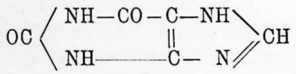
(1) Por otra parte, no se podría determinar actualmente si estas bases pirimídicas representan los núcleos pirimídicos existentes en la molécula de los ácidos nucleicos, o si provienen de la descomposición parcial de las bases xánticas que las acompañan en la masa de los productos derivados de los ácidos nucleicos por hidrólisis.

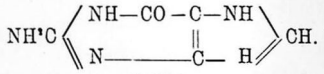
Las bases nucleínicas presentan gran interés para el fisiólogo, debido al parentesco químico que presentan con el ácido úrico.

Actualmente se admite, por razones de orden químico, que no son propias de este lugar, que las bases nucleínicas y el ácido úrico pueden ser considerados como derivados de la *purina*, substancia que responde a la fórmula de constitución

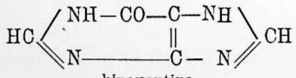


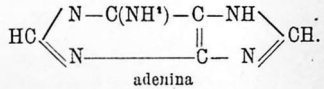
La xantina es una 2.6. dioxipurina, y la guanina una 2. amido-6. oxipurina



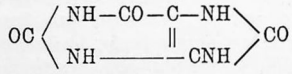


La hipoxantina es una 6. oxipurina y la adenina es una 6. amidopurina

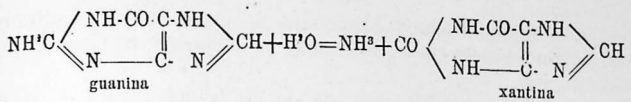




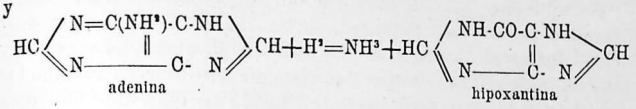
El ácido úrico es una 2.6.8. trioxipurina



Cuando se hidrolizan los ácidos nucleicos por los ácidos minerales, se obtienen cuatro bases púricas, xantina, guanina, hipoxantina y adenina. Cuando se hidrolizan los ácidos nucleicos por las diastasas llamadas nucleasas, que se han descrito en diversos tejidos, se obtienen dos bases púricas, guanina y adenina; esto conduce a considerar bases púricas primarias, guanina y adenina, y bases púricas secundarias, xantina e hipoxantina. Por otra parte, existen en los tejidos del organismo diastasas, guanasa y adenasa, capaces de transformar las bases primarias en bases secundarias por hidrólisis, con liberación de amoníaco, correspondiendo la reacción a las fórmulas siguientes:



y



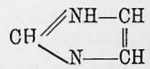
Por último, se han descrito en los tejidos del organismo diastasas capaces, una de oxidar la hipoxantina y formar a expensas suyas la xantina, y la otra de oxidar la xantina y formar a sus expensas ácido úrico.

Estos dos grupos de reacciones, reacciones de desamidación y reacciones de oxidación, son importantes: las primeras nos hacen comprender como una parte del amoníaco urinario y una parte de la urea urinaria (resultante de la transformación intrahepática del amoníaco) pueden derivar de las nucleínas de los tejidos; las segundas nos hacen comprender asimismo como la mayor parte de los núcleos púricos son eliminados en forma de ácido úrico, siendo así que este ácido no se encuentra entre los productos de hidrólisis de las nucleínas.

Si se comparan las fórmulas de constitución de la purina y de la pirimidina, se comprueba fácilmente que la purina contiene el núcleo pirimidina, y se comprende que las purinas pueden ser consideradas como constituídas por un núcleo pirimídico complicado por la asociación de un agrupamiento carbonitrogenado, que en el caso del ácido úrico es CO $(NH)^2$, o sea un resto de urea CO $(NH^2)^2$.

Y de esto resulta necesariamente la extraordinaria importancia fisiológica del núcleo pirimídico.

Por otra parte, las purinas pueden ser consideradas, como se puede ver por sus fórmulas de composición, como derivados del imidazol.



al que se asocia un agrupamiento carbonitrogenado, que en el caso del ácido úrico es CO(NH)—NH—CO, en el que se ve la presencia del núcleo $CO(NH)^2$ generador de la urea.

Recordemos que la arginina, que hemos señalado precedentemente entre los productos de hidrólisis de las albúminas, es también un derivado del imidazol.

Si en lugar de llevar a fondo, como se ha supuesto antes, la hidrólisis de los ácidos nucleicos, se les somete tan sólo a

una acción moderada y progresiva de los agentes hidrolizantes, se puede llegar a conocer más exactamente su fórmula de constitución.

Se sabe hoy que la mayoría de los ácidos nucleicos están formados por el agrupamiento de las moléculas de ácido fosfórico, formando cada una de estas moléculas una combinación de naturaleza etérea con un núcleo hidrocarbonado y uniéndose éste, por otra parte, en forma de glicósido, con una base púrica (guanina o adenina) o con una base pirimídica (timina o citosina).

El ácido nucleico de la levadura de cerveza podría representarse del modo siguiente:

Acido fosfórico — pentosa — adenina.
|
Acido fosfórico — pentosa — guanina.
|
Acido fosfórico — pentosa — citosina.
|
Acido fosfórico — pentosa — uracilo.

Cada uno de estos cuatro grupos es un *nucleótido* o, para precisar, un *mononucleótido*; el ácido nucleico es un *polinucleótido* (tetranucleótido en el caso del ácido nucleico de la levadura de cerveza).

Estos mononucleótidos no son simplemente seres químicos hipotéticos; es posible obtenerlos. Así es que una hidrólisis muy cuidadosa de los ácidos nucleicos los suministra; así también se encuentra uno en el hígado (mononucleótido de guanina o ácido guanílico) y otro en el músculo (mononucleótido de hipoxantina o ácido inósico).

Insistiendo en la acción hidrolizante, los mononuclótidos se descomponen. Según las condiciones de la hidrólisis, la descomposición se efectúa siguiendo dos modos: unas veces se produce ácido fosfórico y un glicósido formado por la unión del grupo hidrocarbonado y la base, glicósido que se denomina *nucleósido*; otras veces la base es liberada y queda un éter fosfórico ácido del núcleo hidrocarbonado.

Así, el ácido inósico del músculo (mononucleótido de hipoxantina) puede suministrar, ora ácido fosfórico e inosina (nucleósido formado de pentosa e hipoxantina), ora ácido pentoso-fosfórico e hipoxantina.

Por último, haciendo obrar más enérgicamente los agentes de hidrólisis, se descomponen los *nucleósidos*, engendrando a sus costas una base púrica y un cuerpo azucarado.

3. — Núcleoprotaminas y núcleohistona

Entre los núcleoproteidos hay que colocar un gran número de substancias, la mayor parte de las cuales son aún mal conocidas, que entran en la constitución del protoplasma.

Las células, por lo menos algunas de entre ellas, contienen, además de los núcleoproteidos, que están principalmente en el protoplasma, nucleínas, que se encuentran más comúnmente en el núcleo. Se admite también que se puede encontrar en estas células el ácido nucleico libre (1). Por esto se creía que la esperma de ciertos pescados contenía este ácido nucleico. Actualmente no se creía así: en esta esperma el ácido nucleico está combinado a las *protaminas*. Hemos visto que actualmente se tiende a admitir que estas protaminas son substancias albuminosas elementales, y que las substancias albuminosas verdaderas están constituídas por núcleos protamínicos, alrededor de los cuales se agruparían los núcleos de los ácidos aminados. Estas *núcleoprotaminas* serían, pues, los núcleoproteidos más sencillos.

Se puede hacer depender del grupo de los núcleoproteidos la *núcleohistona*, que se extrae de las glándulas linfáticas. Triturando glándulas linfáticas y sometiendo a centrifugación el jugo turbio que se obtiene, se separa una masa de leucocitos. Tratando esta masa por el agua, se disuelve y se obtiene un líquido que contiene muchas proteínas. Mediante el sulfato de magnesia disuelto a saturación se separan las globulinas; queda en solución un proteido, la núcleohistona. Para obtenerla, a la solución acuosa no magnésica de los leucocitos se añade ácido acético diluído, que la precipita casi pura, dejando la mayor parte de las globulinas en solución.

La núcleohistona es soluble en el agua, soluble en los álcalis diluídos, pero insoluble en los ácidos diluídos.

Tratada por los agentes hidrolizantes (ácidos minerales diluídos hirvientes, vapor de agua sobrecalentado, álcalis diluídos hirvientes), se desdobla en una substancia que presenta las propiedades generales de las proteosas, la *histona*, y una substancia que presenta las propiedades generales de las nucleínas, la *leuconucleína*.

La *histona* es una proteína, soluble en el ácido clorhídrico, pero (y es una propiedad que la distingue de las demás substancias albuminosas) insoluble en un exceso de amoníaco (2).

(1) Impropiamente se han designado con el nombre de *nucleínas* cuerpos muy diferentes. Esta palabra se aplica a los núcleoproteidos, a las nucleínas y aun al ácido nucleico. Este último cuerpo es el primero de esta serie que ha sido preparado y estudiado y que se había llamado *nucleína*.

(2) La histona representa el tipo mejor estudiado de una categoría de substancias, probablemente derivadas de los elementos proteicos de los núcleos celulares, conocidas con el nombre genérico de *histonas*, caracterizadas: 1.°, por la

La *leuconucleína*, que contiene alrededor de un 5 por 100 de fósforo, es desdoblada por la acción de una solución alcohólica de álcali fijo, en una substancia albuminosa y un ácido nucleico, el *ácido timonucleico*. Este último, que contiene aproximadamente un 10 por 100 de fósforo, es descompuesto por los ácidos minerales hirvientes en diversos productos, entre los cuales se encuentran las bases xánticas, principalmente la adenina y la guanina, las bases pirimídicas, timina, etc., los hidratos de carbono, el ácido fosfórico, etc.

c) *Paranúcleoproteidos*

Los paranúcleoproteidos presentan analogías con los núcleoproteidos; pero su diferente constitución química nos obliga a formar de ellos un grupo claramente distinto.

Son fosforados como los núcleoproteidos.

Como los núcleoproteidos, son insolubles en el agua pura, solubles en los álcalis diluídos, produciendo líquidos cuya reacción puede ser neutra. Sus soluciones en los álcalis son, en general, mucho menos viscosas que las soluciones correspondientes de los núcleoproteidos; pero, como estas últimas, son incoagulables por el calor.

Los paranúcleoproteidos, como los núcleoproteidos, presentan las reacciones de coloración de las substancias albuminosas y son precipitados por el ácido acético, el tanino acético, el ácido fosfomolíbdico, el ácido pícrico, el licor de Brücke clorhídrico, el reactivo de Tanret, etc.

Los paranúcleoproteidos, como los núcleoproteidos, son precipitados de sus soluciones en los álcalis por pequeñas cantidades de ácido clorhídrico o de ácido acético; el precipitado así formado es soluble en un pequeño exceso de ácido clorhídrico o en un gran exceso de ácido acético.

Si a una solución clorhídrica de paranúcleoproteidos se añade pepsina, se comprueba que se produce un desdoblamiento: se forman, a expensas de la albúmina de la molécula paranúcleoproteica, proteosas solubles, y se posan finos copos de una

precipitabilidad de sus soluciones cloruradosódicas por el amoníaco, siendo insoluble el precipitado con un exceso de amoníaco; 2.°, por la precipitabilidad en frío de su solución por el ácido nítrico fuerte, disolviéndose el precipitado en caliente (reacción propeptónica); 3.°, por su precipitación (o coagulación) a la ebullición, distinguiéndose el precipitado de los verdaderos coágulos albuminosos por su fácil solubilidad en los ácidos. El estudio de las histonas tiene necesidad de ser precisado y completado.

substancia fosforada insoluble en el ácido clorhídrico, una *paranucleína* (1).

Como las nucleínas, las paranucleínas son insolubles en el agua, en el alcohol, en el éter y en los ácidos diluídos; no son transformadas ni por el jugo gástrico, ni por el jugo pancreático. Se disuelven muy fácilmente en las soluciones diluídas de álcalis cáusticos, en la sosa cáustica al 1 por 1.000, por ejemplo. Los ácidos acético y clorhídrico, añadidos en pequeña cantidad, las precipitan de sus soluciones; un exceso muy grande de ácido clorhídrico concentrado o de ácido acético glacial puede disolver este precipitado.

Las paranucleínas, como las nucleínas, presentan las reacciones de coloración de las substancias albuminosas.

Como las nucleínas, las paranucleínas no son estables en presencia de los álcalis. Sus soluciones en los álcalis diluídos (sosa cáustica al 10 por 100, por ejemplo) son desdobladas en substancia albuminosa (álcalialbuminoide), por una parte, y *ácido paranucleico* (2), por otra parte. Como las nucleínas, las paranucleínas son, pues, proteidos, puesto que están formadas por la unión de una molécula albuminosa y un grupo prostético, el grupo paranucleico.

Los ácidos paranucleicos, como los ácidos nucleicos, son compuestos ricos en fósforo: contienen alrededor de un 8 por 100, mientras que las paranucleínas no tienen más que de 2 a 3 por 100.

He aquí las semejanzas entre los cuerpos del grupo nucleico y los del grupo paranucleico. Son seguramente interesantes y a ciertos autores ha parecido legítimo conservar las dos expresiones semejantes, nucleínas y paranucleínas, con el fin de recordar todas las semejanzas que acabamos de citar.

Sometiendo los ácidos nucleicos a la hidrólisis ácida, se obtienen, como ya se ha dicho, entre los productos de descomposición, ácido fosfórico, bases nucleínicas y bases pirimídicas.

(1) Notemos, sin embargo, que esta paranucleína no tiene tan claramente como las nucleínas derivadas de los núcleoproteidos el carácter de individuo químico. Notemos también que esta paranucleína no contiene la totalidad del fósforo contenido en el paranúcleoproteido del que deriva, mientras que la nucleína contenía la totalidad del fósforo contenido en el núcleoproteido del que ha nacido. La analogía no es, pues, ni absoluta ni rigurosa entre las nucleínas y la paranucleína.

(2) Conviene recordar aquí lo que se ha dicho en la pág. 154 a propósito de la paranucleína. El ácido paranucleico es químicamente mal definido y no podríamos afirmar sus caracteres de individuo químico.

El paralelo entre los derivados de los núcleoproteidos y los derivados de los paranúcleoproteidos no es riguroso y sólo debe admitirse con ciertas salvedades.

Sometiendo a esta misma hidrólisis lo ácidos paranucleicos, se obtienen, entre otros productos, ácido fosfórico y aminoácidos (si se trata de la caseína de la leche de vaca, estos aminoácidos son la lisina, la arginina, la histidina, la leucina, la isoleucina, la valina, el ácido glutámico, la alanina, la fenilalanina, la tirosina, o sea los aminoácidos que entran en la constitución de las substancias albuminosas), pero no se obtienen ni indicios de bases nucleínicas, ni de bases pirimídicas. Se pueden, pues, considerar, por lo menos provisionalmente, los ácidos paranucleicos como polipéptidos fosfóricos.

En resumen, por el conjunto de sus propiedades de precipitación y de disolución, los paranúcleoproteidos se asemejan a los núcleoproteidos; se aproximan más aún por las primeras fases de su hidrólisis. Pero desde el punto de vista de su íntima estructura química, se separan claramente para aproximarse a las substancias albuminosas propiamente dichas, de las que casi sólo se diferencian por la presencia del fósforo en sus moléculas. Desde el punto de vista de sus propiedades, son *paranúcleoproteidos;* atendiendo su constitución, son *substancias fosfoalbuminosas*, o si se quiere *fosfoproteínas*.

III. — SUBSTANCIAS ALBUMINOIDES O ESCLEROPROTEINAS O PROTEOIDES

Se colocan en este grupo de los albuminoides o escleroproteínas o proteoides, todas las substancias proteicas que no pertenecen ni al grupo de las substancias albuminosas, ni al grupo de los proteidos.

Entre los albuminoides, los fisiólogos consideran tres grupos de substancias:

1.° Las *gelatinas*,
2.° Las *elastinas*,
3.° Las *queratinas*.

a) *Gelatina*

La *gelatina* (cola o glutina) y la *substancia colágena*, su *generadora*, están compuestas de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre. Como las substancias albuminosas, por la influencia de los ácidos o de los álcalis en ebullición, o por la putrefacción, dan diferentes productos de descomposición, entre los cuales hay que señalar el agua, el amoníaco, el gas

carbónico y los aminoácidos, glicocola, alanina, leucina, ácidos aspártico y glutámico, valina, serina, fenilalanina, etc.; pero no se encuentran ni la tirosina ni el triptófano. La gelatina se diferencia de las substancias albuminosas por la ausencia de estos dos aminoácidos; se diferencia también por su riqueza en glicocola; la gelatina contiene alrededor de un 16 por 100 de glicocola; las globulinas contienen de 3 a 4 por 100; las albúminas no contienen glicocola.

Las gelatinas dan la reacción del biuret; dan, pero muy débilmente, la reacción xantoproteica; no dan la reacción de Millon (no contienen tirosina), ni la reacción glioxílica (no contienen triptófano).

La gelatina es un producto artificial, resultante de una transformación de la substancia colágena: esta última es la que se encuentra en los tejidos conjuntivo, cartilaginoso, óseo, etc. La substancia colágena se transforma en gelatina por la acción del agua sobrecalentada en el autoclave.

La gelatina es insoluble en el agua fría; únicamente se hincha y se reblandece. Se disuelve muy bien en el agua caliente, dando una solución viscosa y fluente y gelatinizándose por enfriamiento.

La gelatina pierde fácilmente esta propiedad de gelatinizarse por enfriamiento: sometidas sus soluciones a la acción de ácidos o álcalis muy diluídos a la temperatura de ebullición, y también sus soluciones acuosas neutras, mantenidas durante algún tiempo a 110-120°, quedan perfectamente líquidas después del enfriamiento.

Las soluciones de gelatina no son dializables. No son coagulables por la ebullición. No son precipitadas ni por el ácido acético, ni por los ácidos minerales, ni por el ferrocianuro potásico en líquido acético; pero son precipitadas por el alcohol, por el tanino acético, por el cloruro sódico y el sulfato de magnesia disueltos a saturación, por el ácido pícrico, por el licor de Brücke y el ácido clorhídrico, por el ácido fosfomolíbdico y por el ácido fosfotúngstico.

La gelatina es insoluble en el alcohol, el éter y el cloroformo; el alcohol la precipita de sus soluciones acuosas.

b) *Elastina*

La *elastina* forma la substancia más abundante de las fibras elásticas. Es insoluble en el agua e insoluble en los ácidos minerales

diluídos; insoluble también en el alcohol, el éter y el cloroformo. Solamente se la puede disolver tratándola por el vapor de agua sobrecalentado en un vaso cerrado, o por los ácidos minerales concentrados. Por la influencia de los agentes de desdoblamiento e hidrolizantes produce los mismos productos de descomposición que las substancias albuminosas, menos el ácido espártico y el ácido glutámico: se encuentran la leucina, la tirosina, la arginina, la lisina y algo de glicocola. Da la reacción del biuret y la reacción de Millon.

Para la *queratina*, véase Cap. XIII.

CAPITULO VI

DIASTASAS O ENCIMOS

SUMARIO.—I. *Fermentaciones vitales y fermentaciones químicas o diastásicas.* Fermentación y propiedad fermento. Fermentación alcohólica de la glicosa y de la sacarosa. Fermento soluble, diastasa o encimo. Separación práctica de los fenómenos diastásicos y los fenómenos vitales.

II. *Propiedades de las diastasas.* Acción del calor sobre las transformaciones diastásicas; temperatura óptima de actividad de las diastasas. Una cantidad infinitamente pequeña de diastasa puede producir transformaciones infinitamente grandes. Una solución diastásica no se agota obrando. Limitación de las transformaciones diastásicas por los productos engendrados. Reversibilidad de las acciones diastásicas. Agentes catalíticos. Destrucción de las diastasas por el calor. Solubilidad en el agua y en la glicerina. Precipitación por el alcohol fuerte. Arrastre por los precipitados. Difusibilidad débil.

III. *Diastasas exocelulares y diastasas endocelulares.* La fermentación vital alcohólica es una fermentación diastásica. Alcoholasa.

IV. Profermentos o prodiastasas.

I. — FERMENTACIONES VITALES Y FERMENTACIONES QUIMICAS O DIASTASICAS

Todos los seres vivientes toman su materia y su energía del mundo exterior. Los seres provistos de clorofila toman la mayor parte de la energía que les es necesaria de las radiaciones solares; los seres desprovistos de clorofila la sacan de los compuestos químicos, provocando su descomposición exotérmica. Según que esta descomposición vaya acompañada de una grande o pequeña liberación de energía, la cantidad de substancia descompuesta por el ser viviente es, en igualdad de circunstancias, pequeña o grande. Cuando la cantidad de substancia descompuesta para satisfacer las necesidades energéticas de un ser es muy grande; cuando, en particular, la relación de la cantidad de substancia materialmente fijada por el ser vivien-

te con la cantidad por él descompuesta es muy pequeña, se dice que se produce una *fermentación*, y que el ser viviente posee la *propiedad fermento*, ejerce la *función fermento*, o más sencillamente, es un *fermento*. Se dice también, precisando más las cosas que el fenómeno de descomposición es una *fermentación vital*, y que el ser que la provoca es un *fermento figurado*.

Para fijar mejor las ideas, supongamos que en una solución conveniente de glicosa se siembran estos seres unicelulares conocidos con el nombre de *levadura de cerveza*, y que se somete el líquido a una aireación fuerte: una parte del azúcar en disolución es utilizada por la levadura para la fabricación de los compuestos ternarios de su protoplasma y para la producción de reservas; otra parte es quemada por el oxígeno atmosférico, y la energía liberada en esta combustión es utilizada por el ser viviente. En este caso, la cantidad de substancia quemada es pequeña y la cantidad de substancia fijada es grande. Supongamos ahora que esta misma levadura sea sembrada en la misma solución de glicosa, pero que el líquido no sea convenientemente aireado, que el oxígeno sea escaso; una parte del azúcar sirve también para la constitución de los tejidos, pero esta parte es relativamente pequeña; el crecimiento de la levadura es lento; otra parte del azúcar es desdoblada en alcohol y ácido carbónico, porque la escasez de oxígeno no permite a la glicosa oxidarse completamente, y como que este desdoblamiento no deja en libertad más que una cantidad de energía menor que la que proviene de la oxidación total, la cantidad de azúcar desdoblado es necesariamente muy grande. En estas condiciones se dice que la levadura se comporta como un fermento; la descomposición alcohólica de la glicosa es un fenómeno de fermentación vital.

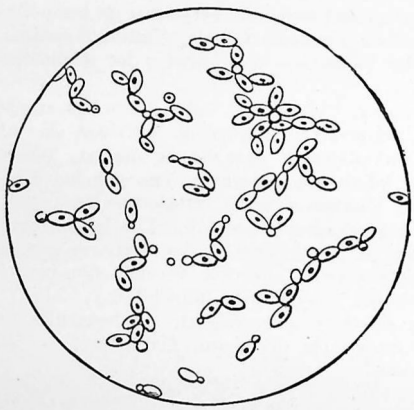


Fig. 39. — Levadura de cerveza.

Hasta hace poco, se admitía que estos fenómenos de fermentación vital eran una manifestación directa, inmediata, de la actividad vital de seres organizados: entre el ser viviente y la substancia a descomponer no se colocaba ninguna substancia intermediaria, secretada por el ser viviente y capaz, por su composición y propiedades químicas, de provocar el desdoblamiento. La fermentación no era un fenómeno químico, sino un fenómeno vital. Se demostraba por la acción de los antisépticos sobre los fermentos: todos los agentes capaces de matar o de desorganizar la levadura, como el fenol, el timol, el fluoruro sódico, el ácido prúsico, detienen la transformación de la glicosa. Al final de este capítulo indicaremos las salvedades que hay que hacer con motivo de esta proposición.

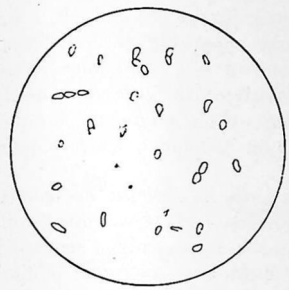


Fig. 40. — Fermento láctico.

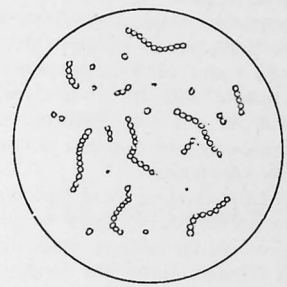


Fig. 41. — Fermento acético.

Esta transformación de la glicosa por la levadura de cervez es el tipo de toda una serie de transformaciones químicas producidas por los seres vivientes, levaduras, bacterias, bacilos; es el tipo de las fermentaciones por fermentos figurados: es el tipo de las fermentaciones vitales: citemos, entre otros ejemplos, la transformación del azúcar de leche en ácido láctico por el *fermento láctico*, la transformación del alcohol en ácido acético por el *mycoderma aceti*, etc.

Cuando se introduce levadura de cerveza en una solución de sacarosa insuficientemente aireada, se comprueba, como con la glicosa, una producción de alcohol y un desprendimiento de gas carbónico a expensas de la sacarosa. Pero esta transformación se verifica en dos tiempos: en el primero la sa-

carosa es transformada en azúcar invertido, y en el segundo el azúcar es transformado en alcohol y gas carbónico. Si se añade a la solución de sacarosa un antiséptico, fenol, timol, fluoruro sódico, ácido prúsico, etc., la levadura añadida es capaz aún de invertir la sacarosa; pero es incapaz de producir la transformación del azúcar invertido en alcohol y gas carbónico. Por consiguiente, la inversión de la sacarosa por la levadura de cerveza no es una manifestación de la actividad vital de la levadura, puesto que se produce aun después de la muerte de esta levadura; no es un fenómeno de fermentación vital. Esta inversión está producida por algo engendrado por la levadura de cerveza, separable de dicha levadura y que obra independientemente de ella. *Este algo es un fermento soluble*, o *diastasa*, o *encimo;* la inversión de la sacarosa por este fermento soluble es un fenómeno de *fermentación por diastasa* o *encimo*, un fenómeno de *fermentación diastásica.*

Esta diastasa es el tipo de una serie de agentes de la misma naturaleza, capaces de producir las mismas acciones químicas, en las mismas condiciones que la diastasa que acabamos de señalar. Entre los fermentos solubles, o encimos, o diastasas, se colocan la tialina de la saliva, la pepsina del jugo intestinal, etc.

Esta fermentación es el tipo de una serie de fermentaciones de la misma naturaleza, de fermentaciones diastásicas, de fermentaciones por fermentos solubles. Tales son la sacarificación del almidón por la saliva, la peptonización de las substancias albuminosas por la pepsina y por la tripsina, la inversión de la sacarosa por el jugo intestinal, etc.

Estas diastasas, estas fermentaciones diastásicas, presentan para el fisiólogo un interés principal porque permiten explicar por fenómenos puramente químicos algunos fenómenos íntimos de la vida.

Varios procedimientos han sido propuestos por los fisiólogos para distinguir, entre los fenómenos que se producen en los tejidos, los que indican una actividad diastásica de los que indican una actividad protoplasmática, o, como generalmente se dice, vital. Esta distinción, que resulta de los hechos que acabamos de señalar, es artificial, por lo menos hasta cierto punto; pero ha prestado demasiados servicios prácticos en fisiología para olvidarla completamente.

He aquí expuestos sumariamente los tres principales procedimientos que se han empleado para distinguir los hechos diastásicos o químicos de los hechos protoplasmáticos o vitales.

1. *Procedimiento de P. Bert.* — El oxígeno, por la presión mínima de cinco atmósferas, mata a los seres organizados y respeta las diastasas. Por consiguiente, las transformaciones diastásicas continúan produciéndose, mientras que las transformaciones protoplasmáticas dejan de producirse en los medios sometidos a la acción del oxígeno bajo la presión de cinco atmósferas por lo menos.

2. *Procedimiento de Salkowski.*—Los anestésicos, y en particular el cloroformo, suprimen la actividad del protoplasma viviente, pero respetan la actividad de las diastasas. Por consiguiente, las transformaciones diastásicas continúan produciéndose, mientras que las transformaciones protoplasmáticas dejan de producirse en los medios saturados de cloroformo.

3. *Procedimiento de Arthus.*—El fluoruro sódico al 1 por 100 suprime la actividad del protoplasma viviente, pero respeta la actividad de las diastasas. Por consiguiente, las transformaciones diastásicas continuarán produciéndose, mientras que las transformaciones protoplasmáticas dejarán de producirse en los medios fluorurados al 1 por 100.

II. — PROPIEDADES DE LAS DIASTASAS

Las *diastasas*, *fermentos solubles* o *encimos*, son muy mal conocidas en cuanto a su naturaleza; se admite generalmente que son substancias químicamente definibles por su composición y sus propiedades, pero que no se han podido preparar en estado de pureza suficiente y en bastante cantidad para proceder a su análisis.

Las fermentaciones diastásicas, nulas en las temperaturas próximas a 0°, lentas a verificarse en las bajas temperaturas de 10 a 15°, por ejemplo, van siendo cada vez más activas a medida que se eleva la *temperatura*, hasta un límite *óptimo*, variable según la fermentación que se considere, pero generalmente próximo a los 40°; más allá de la temperatura óptima, la fermentación diastásica va siendo rápidamente cada vez menos activa, a medida que aumenta la temperatura, hasta un límite siempre notablemente inferior a 100°, a partir del cual la fermentación es detenida definitivamente, aun cuando se volviera a la temperatura óptima. Se interpretan generalmente estos hechos con las fórmulas siguientes: las *diastasas no obran alrededor de 0°; su actividad* no se manifiesta más que entre límites de temperatura poco extensos, y *presenta un máximo a una temperatura alrededor de 40°; son destruídas* por el calor *a una temperatura elevada, siempre inferior a la*

temperatura de ebullición del agua. Por el contrario, el frío, que les impide obrar, no las destruye; se han podido enfriar líquidos diastásicos o soluciones de diastasas llamadas puras, a —190°, por medio del aire líquido, sin observar alteración sensible de sus propiedades diastásicas.

Admitiendo que las diastasas sean substancias ponderables (1), *la cantidad de substancia activa podría ser infinitamente pequeña con relación a la cantidad de substancia transformada:* efectivamente, se han podido preparar líquidos diastásicos que no contenían más que pequeñísimas cantidades de substancias disueltas y capaces, no obstante, de producir transformaciones químicas muy grandes; el peso de la diastasa es, en algunos casos, 1.000 veces, 10.000 veces, 100.000 veces, un millón de veces y más, más pequeño que el peso de la substancia transformada en un tiempo relativamente corto, algunas horas, para fijar las ideas. Se puede, pues, enunciar la siguiente proposición: *una cantidad infinitamente pequeña de diastasa puede determinar transformaciones químicas infinitamente grandes.*

Las diastasas presentan aún otro carácter fundamental: *no se destruyen obrando.* Esta proposición no es evidente *a priori:* efectivamente, cuando se estudia la velocidad de las transformaciones diastásicas, se comprueba que esta velocidad disminuye rápidamente a medida que progresa la transformación; cuando se estudia la composición final del líquido transformado, se comprueba que la transformación no es nunca total y que el líquido contiene siempre, además de los productos de transformación, una porción de la substancia primitiva, más o menos considerable según la cantidad de la diastasa empleada, según la composición del medio, según la temperatura, etcétera. Aparentemente pasan los hechos como si la diastasa se destruyese a medida que obra. Pero esto no es más que una apariencia: efectivamente, si por un procedimiento conveniente se consiguen eliminar los productos de transformación diastásica, se comprueba que el líquido posee sus propiedades diastásicas primitivas inalteradas cualitativa y cuantitativamente. Estos hechos nos llevan por otro camino a la conclusión enunciada ya: *una cantidad infinitamente pequeña de diastasa puede, en condiciones experimentales convenientes, determinar transformaciones químicas infinitamente grandes.*

(1) Esta salvedad se explica por la imposibilidad que se tiene de aislar los encimos de las impurezas de que van acompañados.

Pero es importante no olvidar que los *productos de la transformación diastásica* ejercen sobre la fermentación diastásica una *acción de suspensión*, creciendo con la cantidad de los productos de transformación y conduciendo a una *suspensión definitiva* de las transformaciones, cuando se ha realizado cierto equilibrio entre los productos de transformación y la substancia transformable, equilibrio dependiente de la cantidad absoluta de la substancia transformable, de la cantidad de diastasa y de las condiciones físicas y químicas del experimento.

Actualmente cabe preguntar si las diastasas ejercen sencillamente, como se ha creído durante mucho tiempo, una acción hidrolítica sobre las moléculas, desdoblándolas y produciendo a sus expensas compuestos de peso molecular menos elevado, o sea compuestos más sencillos; o si las diastasas ejercen más bien una acción en dos sentidos opuestos, pudiendo manifestarse, según la constitución del medio, por descomposiciones o por síntesis, y conduciendo precisamente a establecer cierto equilibrio químico entre un cuerpo y sus productos de desdoblamiento o entre los cuerpos y su producto de síntesis, equilibrio dependiente de las condiciones de medio.

Efectivamente, se ha demostrado que ciertas diastasas por lo menos pueden provocar ora un desdoblamiento, ora una combinación. Tratando la maltosa por una diastasa de la levadura, llamada maltasa, se descompone, por lo menos parcialmente, la maltosa en dos moléculas de glicosa con hidratación. Haciendo obrar, por otra parte, la maltasa sobre la glicosa, se forma, por lo menos en pequeña cantidad (pero, sin embargo, medible), maltosa.

Se ha reconocido que diversas diastasas vegetales, capaces de desdoblar los glicósidos en sus constituyentes, provocan la síntesis de los glicósidos correspondientes, por lo menos en pequeña cantidad, cuando son puestos en presencia de sus constituyentes.

Esto es lo que se llama la reversibilidad de las acciones diastásicas.

¿Es general esta propiedad? Actualmente no sería posible afirmarlo. No se ha podido comprobar con todas las diastasas; pero tal vez el porvenir nos permitirá encontrar las condiciones de medio necesarias por su reconocimiento general (1).

(1) Sin embargo, hay que hacer algunas salvedades con motivo de esta reversibilidad de las acciones diastásicas. Si, a no dudarlo, se ha podido establecer que

La inalterabilidad de las diastasas en el curso de las fermentaciones diastásicas y su propiedad de producir transformaciones químicas infinitamente grandes, nos conduce a llamarlas *agentes catalíticos* y a considerar los fenómenos de las fermentaciones diastásicas como *fenómenos de catálisis*. Es sabido que los químicos llaman *agentes catalíticos* a substancias que intervienen en las reacciones químicas para provocarlas o acelerarlas, sin aparecer ellas entre los productos finales de la reacción y sin desaparecer de la reacción. La esponja de platino, que a la temperatura ordinaria provoca la combinación del oxígeno con el hidrógeno, es un agente catalítico; el ácido clorhídrico diluído, que a la temperatura de ebullición provoca el desdoblamiento con hidratación de la sacarosa, encontrándose en su totalidad al fin de la reacción, es un agente catalítico; el cloruro de aluminio, que permite la unión de la bencina con el cloruro de etilo con eliminación de una molécula de ácido clorhídrico, encontrándose al final de la reacción inalterado cuantitativamente, es un agente catalítico. Estamos, pues, autorizados para considerar las *diastasas* como *agentes catalíticos*.

Los diferentes caracteres de las diastasas que acabamos de mencionar: su *destrucción por el calor* a una temperatura elevada, pero inferior a la de ebullición, cuando se opera con soluciones o con productos húmedos (1); su *actividad que aumenta con la temperatura hasta una temperatura óptima*; su *conservación indefinida* en los líquidos diastásicos, por grande que sea la transformación química que hayan producido; su propiedad de *determinar con un peso infinitamente pequeño transformaciones infinitamente grandes*, estas propiedades de las diastasas son *características*.

Además de estas propiedades características, hay que señalar las siguientes:

Si se pone en maceración en *agua* o en *glicerina* una glándula submaxilar picada, se obtiene un líquido que posee las

algunos líquidos diastásicos son aptos para realizar a la vez descomposiciones y las síntesis correspondientes, no se ha demostrado que estas dos transformaciones sean producidas por un solo y único agente: los líquidos diastásicos son eminentemente complejos y podría ser que contuvieran un agente de síntesis y un agente de descomposición distintos. Por esta razón hacemos algunas salvedades sobre la reversibilidad de las acciones diastásicas.

(1) Los polvos diastásicos completamente desecados a poca temperatura, suponiendo que no sea superior a 40°, para fijar mejor las ideas, soportan, sin perder su propiedad diastásica, temperaturas iguales y aun superiores a 100°.

propiedades diastásicas de la saliva; la diastasa de la glándula submaxilar es soluble en el agua y en la glicerina. De una manera general, *todas las diastasas son solubles en el agua y en la glicerina:* esto significa que si se ponen en maceración en el agua o en la glicerina un tejido o una substancia dotados de propiedades diastásicas, este tejido o esta substancia comunican al líquido acuoso o a la glicerina sus propiedades diastásicas.

Si se trata por el *alcohol fuerte* un líquido dotado de propiedades diastásicas, sea un líquido natural como la saliva, sea artificial como una maceración de glándulas salivales, se determina la formación de un precipitado. Si se separa este precipitado por filtración, si se lava con alcohol fuerte y con éter, si se deseca en el vacío sobre ácido sulfúrico a una temperatura poco elevada, 15 a 20°, por ejemplo, y si se tritura este residuo seco en el agua, se comunican a esta agua las propiedades diastásicas que poseían el líquido o la maceración originarios. Se dice que *las diastasas son precipitadas por el alcohol fuerte, son insolubles en este mismo alcohol fuerte y solubles en el agua después de tratadas por el alcohol.* Lo que sencillamente significa que los precipitados producidos por el alcohol en los líquidos diastásicos poseen la propiedad, después de sufrir los tratamientos que hemos indicado, de comunicar a la solución con la que están en contacto las propiedades diastásicas.

Si en un líquido dotado de propiedades diastásicas se determina la producción de ciertos precipitados, principalmente la producción de precipitados gelatinosos o en copos, como los precipitados de jabones de cal, de fosfatos de cal, de substancias proteicas, de colesterina, etc., y si se redisuelve este precipitado en un líquido convenientemente escogido, en agua ligeramente acidulada, por ejemplo, en el caso del fosfato de cal, se comunica a este líquido la propiedad diastásica. Se dice que las diastasas *son mecánicamente arrastradas y fijadas por los precipitados en copos.* Lo que significa que los precipitados en copos producidos en un líquido diastásico y librados por lavados del líquido que los enturbia, comunican a los líquidos en que se disuelven la propiedad diastásica.

Por último, las diastasas *son poco dializables.* Si en un dializador se coloca una solución diastásica y se introduce este dializador en el agua, se encuentran en ésta, al cabo de cierto tiempo, indicios de diastasa; pero esta diálisis, cuya existen-

cia no se puede discutir, no se verifica ni rápidamente ni en abundancia. Generalmente hasta las veinticuatro horas no se puede manifestar, mediante procedimientos muy delicados, la existencia de indicios de diastasa en el líquido exterior, aun en los casos en que el líquido diastásico sometido a la diálisis es rico en diastasa. Es más aún: después de ocho o diez días de diálisis no interrumpida, la cantidad de diastasa contenida en el líquido exterior es siempre infinitamente más pequeña que la contenida en el líquido interior. Esta propiedad de las diastasas es de importancia señalarla, porque permite afirmar que estas diastasas, aunque estén dotadas de propiedades coloides, no son coloides típicos, y en particular que no son de la misma naturaleza que las substancias albuminosas naturales.

III. — DIASTASAS EXOCELULARES Y DIASTASAS ENDOCELULARES

La distinción que hemos admitido entre los fermentos figurados y las diastasas no es tan clara como se había supuesto. Efectivamente, se ha demostrado que el desdoblamiento de la glicosa en alcohol y gas carbónico, que hemos citado como tipo de las fermentaciones vitales, es en realidad una fermentación diastásica. Triturando levadura de cerveza con arena de infusorios para desorganizarla y destruirla, y sometiéndola a una presión de 500 atmósferas en un aparato especialmente construído a este objeto para obtener el jugo, se ha podido obtener un líquido que no contiene células vivientes y que puede provocar el desdoblamiento de la glicosa en alcohol y gas carbónico. El jugo de la levadura así preparado se puede precipitar por el alcohol fuerte, separar el precipitado, desecarlo en el vacío y machacarlo con agua; se obtiene así un líquido acuoso capaz de provocar el desdoblamiento alcohólico de la glicosa. Según esto, hay que atribuir la fermentación alcohólica a la acción de una diastasa secretada por la levadura, pero que no se difunde por el medio ambiente.

Esta nueva diastasa, esta *alcoholasa*, no se diferencia de las diastasas conocidas y descritas más que por la unión más íntima con el protoplasma de la célula: las diastasas que conocemos se extienden más o menos fácilmente en el medio exterior; la alcoholasa no se extiende; pero esto no es un carácter

diferencial absoluto, porque entre la invertina, tipo de las *diastasas extracelulares* o *exocelulares*, y la alcoholasa, tipo de las *diastasas intracelulares* o *endocelulares*, hay una serie de diastasas intermedias más o menos fijas y retenidas en el protoplasma.

Los antisépticos, como ya hemos dicho, suprimen las fermentaciones vitales y permiten las fermentaciones diastásicas. Pero debemos insistir en que si las fermentaciones diastásicas se producen en presencia de los antisépticos, son más o menos retardadas y disminuídas por ellos. Entre las diastasas, cuya acción es poco modificada por los antisépticos, y la alcoholasa, cuya acción es suspendida por ellos, por lo menos cuando está fija en el protoplasma, hay todos los grados intermedios, de manera que aún no podemos señalar una separación clara entre los dos grupos de fenómenos.

Una última analogía debemos indicar entre los fermentos figurados y las diastasas. Es sabido que las condiciones físicas y químicas del medio ambiente tienen importancia principal en las fermentaciones francas y activas más que en condiciones muy limitadas de temperatura, de humedad y de composición química del medio. Del mismo modo, las diastasas, o por lo menos algunas de ellas, no manifiestan bien su actividad más que en condiciones muy limitadas de temperatura y de composición química, o por lo menos de composición salina y de reacción del medio. Esta necesidad de que existan ciertas condiciones físicas o químicas para permitir a las diastasas obrar con eficacia, es un hecho de principal importancia, sobre el cual nunca se insistirá demasiado.

En tiempo no lejano, tal vez, gran número de fenómenos químicos del organismo, considerados como esencialmente vitales, serán explicados por fenómenos diastásicos.

Los trabajos recientes han puesto en evidencia de un modo admirable la influencia de la composición salina y de la reacción del medio que acabamos de indicar sobre las acciones diastásicas.

Si se hace obrar sobre almidón, completamente libre de materias minerales, como puede prepararse actualmente, una diastasa amilolítica igualmente desmineralizada por diálisis en presencia de agua destilada (o más exactamente de agua bidestilada en un aparato de plata), se comprueba que el almidón no se ha transformado. La sacarificación del almidón se producirá, por el contrario, si a esta mezcla inerte se añaden 2 centigramos de cloruro sódico por 100 centigramos cúbicos: el cloruro sódico a la dosis indicada ha activado, pues, la diastasa; casi se podría decir que el cloruro sódico

ha resucitado a la diastasa puesta en estado de muerte aparente por la desmineralización.

De un modo muy distinto se comportan los fosfatos: ni el fosfato monosódico ni el fosfato disódico activan la mezcla de almidón y diastasa desmineralizados; cada una de estas sales tomada por separado vuelve inactiva la mezcla activada por el cloruro sódico: los fosfatos tomados aisladamente se denominan por esto impedientes. Sin embargo, se vuelven indiferentes frente a la reacción de sacarificación, cuando son empleados al mismo tiempo y en proporciones convenientes para dar a la mezcla una reacción anfótera (o sea enrojeciendo el papel azul de tornasol o volviendo azul el papel rojo de tornasol; o también dando una reacción ácida con la fenolftaleína y neutra con el anaranjado de metilo).

Por este solo ejemplo se puede juzgar la delicadeza de las reacciones diastásicas y la dificultad de su estudio.

IV. — PROFERMENTOS O PRODIASTASAS

Las diastasas o encimos no son reveladas por su acción química. Ahora bien, existen líquidos o tejidos orgánicos que no presentan ninguna actividad diastásica, pero que pueden adquirirlas bajo determinadas acciones químicas. Se dice de estos líquidos o de estos tejidos orgánicos que contienen *profermentos* o *prodiastasas*, o *proencimos*, transformables en diastasas por determinados agentes químicos. Si, por ejemplo, se hace una maceración acuosa de páncreas de un animal en ayunas, y si después de algunas horas se separa el líquido del tejido por filtración, este líquido posee un poder tríptico nulo o muy débil. Pero si antes de hacer la maceración del páncreas se ha tratado el tejido por un ácido muy diluído, por el ácido salicílico al 1 por 1.000, por ejemplo, se obtiene un líquido de maceración que posee un enérgico poder tríptico, aun después de haberlo separado del agente transformador. El ácido salicílico ha engendrado, pues, la tripsina a expensas de una substancia contenida en el jugo pancreático, substancia que no contenía ninguna actividad tríptica; esta substancia es llamada protripsina o tripsinógeno: es un profermento.

Si se hace una maceración acuosa de la mucosa gástrica de un mamífero adulto, el líquido obtenido no puede provocar la caseificación de la leche; no contiene, por lo tanto, el fermento lab (diastasa del cuajo); pero si se acidula ligeramente este líquido por el ácido clorhídrico, se comprueba, después de algunos minutos, que el líquido neutralizado puede provocar la

coagulación de la leche. El líquido de maceración que no contenía el fermento lab contenía, no obstante, una substancia capaz de engendrar el fermento lab bajo la influencia del ácido clorhídrico diluído; contenía, pues, una prodiastasa, un prolabfermento.

Pero se podría objetar que es inútil admitir la existencia de prodiatasas al lado de las diastasas, y los fenómenos observados pueden interpretarse de una manera mucho más sencilla. La maceración acuosa de mucosa gástrica de mamífero adulto no coagula la leche porque las condiciones químicas del medio necesarias a la acción del fermento lab no son realizadas; añadiéndole ácido clorhídrico y neutralizándolo en seguida por la sosa, se han añadido al líquido elementos químicos nuevos, principalmente el cloruro sódico, y de esta manera se ha puesto al medio en condiciones favorables a la acción del fermento lab preexistente. Esta concepción no puede sostenerse. Efectivamente, supongamos que se ha preparado una maceración acuosa de mucosa gástrica de mamífero adulto, inactiva en absoluto sobre la leche, y de la que se forman tres partes: a la primera se añade el 1 por 1.000 de ácido clorhídrico, se deja una hora en reposo y se neutraliza por la sosa; a la segunda se añade el 1 por 1.000 de ácido clorhídrico y se neutraliza por la sosa inmediatamente; a la tercera, por último, se añade una mezcla neutra de ácido clorhídrico y sosa; estos tres líquidos contienen los mismos elementos químicos, pero únicamente el primero, en el que el líquido ha sido sometido durante una hora a la acción del ácido clorhídrico, posee el poder caseificante. Las diferencias observadas no influyen, pues, en la modificación de la composición del medio, sino, como ya hemos dicho, en la transformación del profermento en fermento.

Supongamos que se recoge una cantidad de sangre al salir de los vasos en una solución de oxalato sódico, de manera que esta mezcla contenga el 1 por 1.000 de oxalato, y que se ha separado el plasma oxalatado de los glóbulos. Este plasma oxalatado no se coagula espontáneamente, y no hace coagular las soluciones cloruradosódicas de fibrinógeno; pero si se añade a este plasma el 1 por 1.000 de cloruro cálcico, el plasma se coagula y el suero que se separe es capaz de provocar la coagulación de una solución cloruradosódica de fibrinógeno. Se interpretan estos hechos diciendo que el plasma oxalatado no contiene el fibrinofermento, sino un profibrinofer-

mento transformable en fibrinofermento por la acción de las sales de cal.

¿Hay que suponer que la introducción de las sales de cal en el líquido ha modificado sencillamente la composición química del medio, volviéndola apta para permitir a un fibrinofermento preexistente manifestar su acción? Esta hipótesis no se puede sostener: efectivamente, supongamos que después de haber hecho coagular el plasma oxalatado por la adición de cloruro cálcico, se separa el suero, y que se separan de éste las sales disueltas por una diálisis prolongada en presencia de agua cloruradosódica renovada muchas veces: se obtendrá un líquido capaz de hacer coagular las soluciones cloruradosódicas de fibrinógeno. En cambio, el plasma oxalatado primitivo, separadas las sales en disolución por una diálisis prolongada en presencia de agua cloruradosódica muchas veces renovada, es inepto para hacer coagular las soluciones cloruradosódicas de fibrinógeno. Por lo tanto, ha habido realmente transformación de profibrinofermento en fibrinofermento por la acción de las sales de cal, y no únicamente modificación del medio, haciendo posible la acción de un fibrinofermento preexistente.

Estos hechos son interesantes en varios conceptos, y en particular porque nos enseñan que la transformación de las prodiastasas en diastasas se verifica por diferentes influencias para las diversas diastasas; el prolabfermento es transformado en labfermento por los ácidos diluídos; no lo es por las sales de cal; el profibrinofermento es transformado en fibrinofermento por las sales de cal; no lo es por los ácidos diluídos.

CAPITULO VII

ENCIMOIDES

SUMARIO.—Encimos y encimoides.

I. *Toxinas y antitoxinas.*—Toxinas en general; toxina diftérica, toxina tetánica. Toxinas y diastasas. Ponzoñas de las serpientes. Semejanzas y diferencias con las toxinas. Antitoxinas y diastasas.

II. *Aglutininas y precipitinas.*—Aglutinación de los microbios por los sueros de animales inmunizados; aglutininas; especificidad de las aglutinaciones; aglutinación de los hematíes.—Sueros precipitantes; condiciones necesarias y suficientes para la producción de estos sueros y para la precipitación; doble especificidad de los sueros precipitantes, especificidad química y especificidad zoológica; excepciones y aplicaciones. Precipitinas.

III. *Bacteriolisinas y hemolisinas.* — Fenómeno de Pfeiffer, bacteriólisis y bacteriolisinas o lisinas. Los dos tiempos de la bacteriólisis y sus dos agentes: inmunisina y alexina. Hemólisis y hemolisinas. Bacteriolisinas y hemolisinas naturales.

Estudiando las diastasas o encimos, hemos visto que estas substancias son destruídas por el calor a una temperatura inferior a 100°; que provocan transformaciones químicas de orden catalítico, y que, por consiguiente, se encuentran inalteradas cuantitativa y cualitativamente al final de la operación, y por tanto son capaces de provocar transformaciones infinitamente grandes en cantidades infinitamente pequeñas. Hemos comprobado que estas diastasas o encimos son solubles en el agua y en la glicerina, insolubles en el alcohol, precipitadas por el alcohol de sus soluciones acuosas o glicerinadas, y solubles en el agua después de tratadas por el alcohol y desecación a baja temperatura; que están dotadas de propiedades coloides, y en particular que no dializan sino muy lenta e imperfectamente, y se dejan arrastrar y englobar por los precipitados en copos que se producen en los líquidos en que se hallan.

Se han comprobado con las diastasas, durante estos últimos años, cierto número de substancias contenidas ya en los cultivos microbianos, ya en los líquidos del organismo, y en particular en el suero sanguíneo de los animales normales y de los animales vacunados contra ciertos microbios o contra sus cultivos filtrados, substancias que presentan con las diastasas cierto número de propiedades comunes. Tales son algunas toxinas microbianas y las ponzoñas de las serpientes; tales son las antitoxinas; tales son las aglutininas y las precipitinas; tales son, por último, las bacteriolisinas, las hemolisinas, etc.

Para recordar las analogías de estas substancias con los encimos, sin confundirlas con ellos, los reuniremos con la denominación común de *encimoides*. En efecto, es conveniente separarlas de un modo claro de los encimos verdaderos, que producen transformaciones químicas indiscutibles, mientras que la naturaleza de los fenómenos producidos por los encimoides es imperfectamente conocida o completamente desconocida.

Una rápida exposición de los diversos grupos de encimoides nos permitirá conocer sus principales propiedades y sus analogías y diferencias con los encimos.

I. — TOXINAS Y ANTITOXINAS

Se designan con el nombre genérico de *toxinas* los venenos no alcaloides (1), producidos por los microbios o secretados por las células de los animales y de los vegetales.

No entraremos en el estudio detallado de estas toxinas, que pertenece a la microbiología más que a la fisiología; nos limitaremos a examinar sus relaciones con las diastasas.

La toxina mejor estudiada es la *toxina diftérica*. Los caldos de cultivo del bacilo de la difteria, separados de los bacilos por filtración en porcelana, poseen propiedades tóxicas marcadas y provocan en el animal vivo los mismos accidentes que los cultivos totales (caldo y microbios). Se demuestra que la substancia activa de estos caldos es destruída por el calor a

(1) Los químicos reúnen muchas veces dentro del grupo de las toxinas las toxinas propiamente dichas, de afinidades diastásicas, y los *alcaloides tóxicos*, comprendiendo estos últimos las *leucomaínas*, producidas en el organismo animal, y las *tomaínas*, producidas en medios de cultivo microbiano. El estudio de las leucomaínas y de las tomaínas no es de este lugar.

una temperatura inferior a 100°; que es precipitada por el alcohol y puede ser extraída por el agua del precipitado alcohólico desecado a baja temperatura; que es arrastrada por los precipitados en copos producidos en el caldo, y en particular por el precipitado de fosfato de cal; que dializa con gran lentitud.

La *toxina tetánica* presenta las propiedades generales de la toxina diftérica: su destrucción por el calor, su precipitación por el alcohol y los precipitados en copos, su débil diálisis, etc.

Al lado de las *toxinas microbianas* hay que colocar algunas *toxinas vegetales*, como la abrina que se extrae de los granos de jequiriti, la ricina que se extrae de los granos del ricino, la rubina que se extrae de la corteza de acacia, etc.; poseen las propiedades generales de las toxinas microbianas: solubilidad en la glicerina, destrucción por el calor húmedo a temperaturas inferiores a 100° y, en general, a una temperatura poco elevada, débil diálisis, precipitabilidad por el alcohol, arrastre por los precipitados en copos, como los de fosfato de cal o de substancias proteicas.

Sin duda alguna, éstas son las propiedades de los encimos; pero hay que señalar los hechos siguientes: cualquiera que sea la dosis de toxina inyectada, los accidentes patológicos no aparecen jamás inmediatamente: siempre hay un período de incubación, más o menos largo, según la dosis de toxina inyectada, pero siempre de larga duración y superior a veinticuatro horas. Por otra parte, los fenómenos provocados por las toxinas son fenómenos fisiológicos, e ignoramos en absoluto si estos fenómenos fisiológicos son las consecuencias de fenómenos químicos producidos por la toxina. Aun suponiendo que la toxina obrara químicamente, ignoraríamos la naturaleza y la cantidad de la substancia transformada por ella dentro del organismo, y por consiguiente no podríamos aplicar a las toxinas la ley fundamental de la acción de las diastasas, a saber, que obran en cantidad infinitamente pequeña para producir transformaciones químicas infinitamente grandes. Sin duda, aunque sean conceptos completamente distintos, las toxinas obran en cantidades infinitamente pequeñas para provocar fenómenos fisiológicos infinitamente grandes (1); pero esto es ya del dominio fisiológico y no del de la química.

(1) Las toxinas diftérica y tetánica pueden producir la muerte de 20 a 100 millones de veces su peso de materia viva.

Hay que separar de un modo claro de las toxinas propiamente dichas, o toxinas encimoides, diversos productos microbianos, como la tuberculina, extraída de los cultivos del bacilo de la tuberculosis, y la maleína, extraída de los cultivos del bacilo del muermo, que resisten la acción prolongada de una temperatura de 100° sin alterarse.

Al lado de las toxinas microbianas colocamos las *ponzoñas* en general y las *ponzoñas de las serpientes* en particular.

La substancia activa de las ponzoñas es destruída en general por el calor a una temperatura inferior a los 100°; pero en general también esta destrucción necesita una acción prolongada del calor para verificarse y una temperatura más elevada que la temperatura de destrucción de las toxinas microbianas. Por otra parte, como las toxinas microbianas, las ponzoñas de las serpientes son precipitadas por el alcohol, arrastradas por los precipitados en copos minerales o proteicos, muy fácilmente dializables y, por último, capaces de producir accidentes graves a dosis extremadamente débiles.

Los dos caracteres que las separan de las toxinas son, primeramente, su mayor resistencia al calor; luego, y ésta es la diferencia fundamental, la supresión del período de incubación cuando la dosis inyectada es suficiente.

Las toxinas y las ponzoñas presentan, por otra parte, caracteres biológicos comunes muy importantes. Es posible, mediante inyecciones repetidas, suficientemente distanciadas, de ponzoñas o de toxinas (empezando con dosis extremadamente débiles de toxinas o de ponzoñas modificadas por el calor o por diversos agentes químicos y continuando con dosis progresivamente crecientes de toxinas o de ponzoñas no modificadas), inmunizar a los animales contra la acción tóxica de cantidades diez, cien, mil veces mortales de la toxina o de la ponzoña; los animales inmunizados tienen el suero sanguíneo antitóxico, o sea que, mezclado a la toxina correspondiente (en proporciones convenientes *in vitro*), la vuelve inactiva para un animal sensible a su acción; o también que, inyectado a dosis conveniente en el organismo de un animal, lo inmuniza temporalmente contra una dosis de la toxina o de la ponzoña correspondientes capaz de producir accidentes, tanto si ha sido inyectada independientemente del suero como si lo ha sido antes, al mismo tiempo o después del suero.

Las toxinas y las ponzoñas presentan también un carácter biológico común, importante de conocer. Inyectadas bajo la

piel o dentro de las venas a dosis conveniente, provocan accidentes característicos; introducidas en el tubo digestivo a dosis muchas veces mortal, son absolutamente inofensivas.

Los animales inmunizados contra las toxinas y contra las ponzoñas producen el suero antitóxico o antiponzoñoso como acabamos de decir (1); se atribuye esta importante propiedad

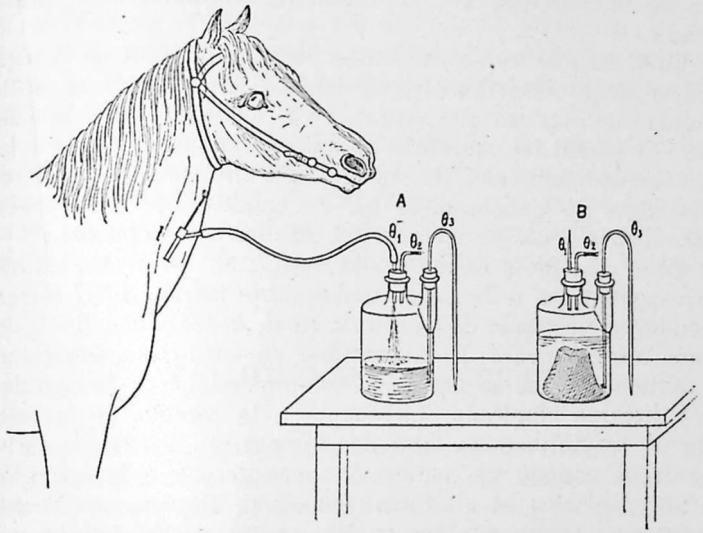


Fig. 42. — Preparación del suero antitóxico aséptico (suero antidiftérico, por ejemplo). El trocar *t* es introducido en la yugular; la sangre se derrama en el frasco A por el tubo Θ_1; el tubo Θ_2 lleva un tapón de algodón y está abierto; el tubo Θ_3 está cerrado a la lámpara. Dentro del frasco B se verifican la coagulación y la retracción del coágulo; el tubo Θ_1 ha sido cerrado; el tubo Θ_2 ha sido abierto; basta comprimir el aire por Θ_2 mediante una pera de goma para cebar el sifón Θ_3 y recoger el suero.

que poseen a la presencia de una substancia llamada *antitoxina*, que se aproxima también a las diastasas. Efectivamente, como las diastasas y como las toxinas, es destruída por el calor a una temperatura relativamente baja comprendida entre 60 y 70°; es precipitada por el alcohol, arrastrada por los

(1) Es muy conveniente tener presente que los sueros antiponzoñosos y los sueros antitóxicos son específicos, o sea que no neutralizan más que la toxina con que se ha preparado al caballo productor del suero. El suero antiponzoñoso que proporciona un caballo inmunizado contra la ponzoña de la serpiente cobra, neutraliza la ponzoña de la cobra, pero no neutraliza las ponzoñas de las otras serpientes, y en particular la de la víbora. Para obtener un suero antiponzoñoso antagonista de la ponzoña de la víbora sería necesario inmunizar al caballo productor del suero mediante la ponzoña de la víbora.

precipitados en copos, minerales o proteicos (fosfato de cal, globulinas, etc.); es difícilmente dializable.

¿Son diastasas las antitoxinas? No. Veamos por qué.

En toda acción diastásica verdadera, como en toda acción de la antitoxina sobre la toxina correspondiente *in vitro*, se pueden considerar dos elementos fundamentales: 1.°, la rapidez de la reacción; 2.°, el estado de equilibrio final de la mezcla.

En el caso de las acciones diastásicas, la rapidez de la reacción depende esencialmente, en igualdad de condiciones, de la cantidad de diastasa que actúa: crece con la cantidad de diastasa; el estado de equilibrio químico terminal, o sea la relación de las cantidades de substancia transformada con la de substancia no transformada es, en igualdad de condiciones, casi independiente de la cantidad de diastasa empleada.

En el caso de la acción de las antitoxinas sobre las toxinas correspondientes, o de antiponzoñas sobre las ponzoñas correspondientes, el estado de equilibrio final, la toxicidad final, depende esencialmente de la cantidad de antitoxina empleada: la cantidad de toxina destruída es proporcional a la cantidad de antitoxina empleada. En cuanto a la rapidez de la reacción de las antitoxinas sobre las toxinas, es difícil conocerla, debido al período de incubación que precede a la aparición de los accidentes en el animal inoculado. De que una mezcla de toxina y antitoxina sea inofensiva, se puede deducir que la neutralización de la toxina por la antitoxina se realiza en el momento en que habrían debido manifestarse los accidentes; pero en qué momento exacto y según qué ley se hace la neutralización durante este período, siempre muy largo, es lo que no sabemos.

En el caso de las ponzoñas y de las antiponzoñas, por el contrario, y debido a la ausencia del período de incubación (por lo menos en ciertas ponzoñas y en ciertas dosis de estas ponzoñas), se puede demostrar que el estado de equilibrio final, la toxicidad final, se consigue instantáneamente (1).

(1) Lo instantáneo de la reacción de las antitoxinas sobre las toxinas se demuestra muy claramente en el caso de las antiponzoñas y de las ponzoñas. Si se practica en un conejo una inyección intravenosa de 2 miligramos de ponzoña de la cobra, de crótalo o de botrops, se produce, antes de treinta segundos después de la inyección, un descenso considerable de la presión arterial. Ahora bien, si se inyecta en el mismo conejo la misma dosis de la ponzoña al momento de haberle añadido una cantidad conveniente del suero antiponzoñoso correspondiente, anticobroso, anticrotálico o antibotrópico, no se produce modificación alguna en la presión arterial. Por lo tanto, la neutralización de la ponzoña por la antiponzoña se ha verificado en menos de treinta segundos. Si se añade una cantidad muy pequeña de ponzoña de botrops o de crótalo a una cantidad de sangre que no sea espontáneamente coagulable (sangre oxalatada, o citratada, o fluorurada), o a una solución cloruradosódica de fibrinógeno, se provoca la coagulación fibrinosa, y, en proporciones convenientes, la coagulación es terminada en veinte a treinta segundos. Ahora bien, en las mismas proporciones de ponzoña la coagulación no se produce si se añade al líquido fibrinogenado una cantidad de suero antibotrópico o de suero anticrotálico suficiente para neutralizar la ponzoña empleada. Por lo tanto, la neutralización de la ponzoña por la antiponzoña se ha verificado en menos de veinte a treinta segundos.

(1) No conocemos la antitoxina pura, aislada de las impurezas que la acompañan en el suero antitóxico; no conocemos, pues, la cantidad ponderal que obra; y, por consiguiente, no sabemos si una cantidad infinitamente pequeña de antitoxina transforma una cantidad de toxina infinitamente grande.

Esquematizando estos hechos, diremos: 1.°, en lo concerniente a la acción de las diastasas, la rapidez de la reacción depende esencialmente de la cantidad de diastasas; el estado final es casi independiente de la cantidad de diastasa; 2.°, en lo concerniente a la acción de las antitoxinas y de las antiponzoñas, el estado de equilibrio final depende esencialmente de la cantidad de antitoxina o de antipozoña empleada; la rapidez de la reacción, por lo menos en el caso de las antiponzoñas, es tan notable, que se puede considerar la neutralización como instantánea.

Esta rápida revista de las propiedades de las antitoxinas nos enseña claramente que no es conveniente colocarlas en el grupo de las diastasas verdaderas; las antitoxinas son, sin duda, encimoides, o sea que poseen las solubilidades, las precipitabilidades, la alibilidad de los encimos; pero, no obstante, no son encimos (1).

II. — AGLUTININAS Y PRECIPITINAS

Estudiaremos rápidamente en último lugar, dentro de este grupo esencialmente heterogéneo de los encimoides, cierto número de substancias ideadas por los biólogos para darse cuenta de ciertas interesantes propiedades de los sueros sanguíneos, las aglutininas y las precipitinas, las bacteriolisinas y las hemolisinas, etc. No pretendemos, por otra parte, que estas substancias sean encimos, porque nada prueba que no sean pura y simplemente las substancias proteicas del suero; colocándolas entre los encimoides, entendemos únicamente que son substancias coloides, destruídas por el calor a temperaturas

inferiores a 100° y de naturaleza esencialmente desconocida en la actualidad.

Supongamos que se ha cultivado sobre gelosa un vibrión colérico determinado y que al cabo de veinticuatro horas se diluye el cultivo en agua salada al 1 por 100; se obtiene una emulsión homogénea y estable, en la cual los vibriones conservan su movilidad. Si a esta emulsión se añade una pequeña

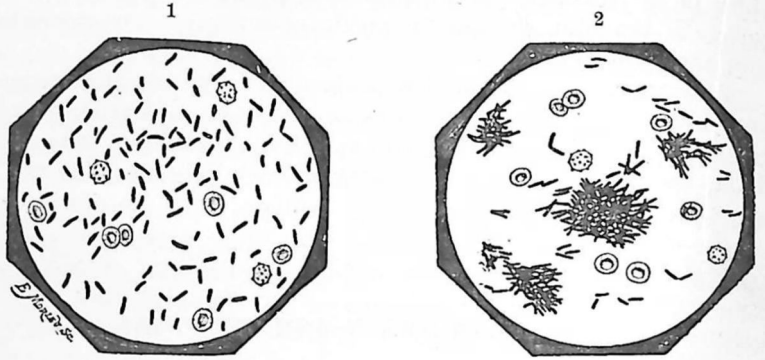


Fig. 43. — Reacción de Widal (según J. Courmont). — 1. Preparación de un cultivo de veinticuatro horas de bacilo de Eberth, adicionado de 1/10 de sangre atífica (suerorreacción negativa). — 2. Preparación de un cultivo de veinticuatro horas de bacilo de Eberth aglutinado por 1/10 de sangre tífica (suerorreacción positiva).

cantidad de suero sanguíneo de un animal (conejo, cobayo, por ejemplo) fuertemente inmunizado contra la inyección peritoneal del vibrión que se ha empleado para hacer la emulsión, al microscopio se comprueba que muy rápidamente estos vibriones pierden su movilidad y después se reúnen en montones más o menos grandes, se aglutinan, como se ha convenido en decir. Esta *aglutinación* aumenta de tal modo, las masas se vuelven tan voluminosas, que rápidamente se puede prescindir del microscopio para descubrirlas, ya que a simple vista y sin dificultad alguna se distinguen en el líquido grandes copos nadando en un líquido perfectamente claro, copos formados por los vibriones aglutinados.

Esta aglutinación no tiene como condición necesaria la vitalidad de los vibriones; se produce del mismo modo con emulsiones de estos mismos vibriones muertos por el calor moderado o por un antiséptico conveniente.

El suero aglutinante obra más rápida y más enérgicamente, para una misma dosis, cuanto más elevada es la temperatura

hasta 55 ó 60°; más allá de esta temperatura no tarda en perder su poder aglutinante. La substancia activa de este suero es precipitada por el alcohol y arrastrada por los precipitados de fosfato de cal, de proteínas, etc.; no es destruída por desecación a baja temperatura y se disuelve en el agua y en la glicerina. Estas son las propiedades de los encimos; pero ¿hay que considerar como encimo a cualquier substancia que posea estas propiedades? Según esto, las mismas substancias albuminosas serían encimos.

La substancia activa de estos sueros aglutinantes se llama *aglutinina*. El punto más importante de la historia de las aglutininas es su especificidad con respecto a un microbio determinado. Así es que el suero de un animal inmunizado contra el vibrión colérico no posee generalmente la acción aglutinante para las otras bacterias, para el bacilo tífico, por ejemplo, e inversamente. Se ha pretendido también que la propiedad aglutinante no se aplica más que a la variedad microbiana contra la cual el animal estaba inmunizado. Pero esto es ir demasiado lejos. Si de una manera general los sueros aglutinantes son específicos para una especie microbiana determinada, esta regla, no obstante, tiene sus excepciones. El suero que aglutina una variedad de vibrión colérico aglutina generalmente las otras variedades, aunque en menor grado. El suero que aglutina al bacilo tífico puede, cuando es empleado a dosis suficientes, aglutinar al bacterium coli (siempre menos, por otra parte, que al bacilo tífico), e inversamente.

Podemos, pues, admitir de una manera general la especificidad de los sueros aglutinantes, pero sin olvidar que esta especificidad no es siempre absoluta.

Esta propiedad aglutinante, prácticamente específica, es utilizada por los bacteriólogos en dos circunstancias principales: 1.°, cuando se trata de identificar un microbio dado con una especie microbiana determinada (hay que asegurarse de que el microbio dado es aglutinable con un suero aglutinante de la especie de que se trata); 2.°, cuando se trata de determinar el agente microbiano causa de trastornos patológicos, en el hombre o en los animales (el poder aglutinante del suero, máximo en el animal fuertemente inmunizado contra el microbio considerado, se observa igualmente, aunque en menor grado, en el animal infectado por el microbio); esta reacción constituye el suerodiagnóstico tífico, por ejemplo: el enfermo afecto de fiebre tifoidea verdadera da un suero que aglutina

más particularmente (si no siempre exclusivamente) los cultivos homogéneos de bacilos tíficos.

La propiedad aglutinante de los sueros no se manifiesta únicamente para los microbios; se puede observar para los hematíes. Si, por ejemplo, se inyecta bajo la piel o en el peritoneo de un animal de una especie dada A (conejo, por ejemplo) sangre desfibrinada o glóbulos rojos separados del suero por centrifugación y lavados con agua salada (5 a 10 centímetros cúbicos, por ejemplo), repitiendo esta inyección tres o cuatro veces, con seis a ocho días de intervalo, el suero del animal A adquiere la propiedad de aglutinar *in vitro* los hematíes de la sangre de un animal B. Como en la aglutinación de los microbios, se pueden observar al microscopio las primeras fases de esta aglutinación, que no tarda en ser tal que se manifieste a simple vista con gran claridad, condensándose los glóbulos en grandes copos que se reúnen al fondo del vaso, recubiertos por el suero claro que no contiene hematíes. Como en la aglutinación de los microbios, la propiedad aglutinante es específica solamente para los hematíes que provienen de un animal de la especie B, del cual el animal A ha recibido los hematíes en inyección.

Hay que observar que la propiedad aglutinante, que siempre se puede hace aparecer en el suero de un animal dado para una especie microbiana dada o para una especie dada de hematíes, existe a veces en el suero normal de los individuos de ciertas especies animales para ciertos microbios y para ciertos hematíes.

¿Son encimos las aglutininas? ¿Obran químicamente? Y suponiendo que obren químicamente, ¿provocan acciones de orden catalítico, provocan acciones infinitamente grandes, estando ellas en cantidad infinitamente pequeña, y quedan inalteradas al final de su acción? Nada sabemos en absoluto.

Cuando se inyecta bajo la piel o en el peritoneo de un animal *a* de la especie A, suero sanguíneo de animales de la especie B (algunos centímetros cúbicos, por ejemplo), repitiendo esta inyección cuatro o cinco veces, distanciadas de cinco a seis días, se comprueba que el suero sanguíneo del animal *a* posee la propiedad, mezclado al suero de un animal de la especie B, de formar primeramente una obscuridad, un enturbiamiento, un fino precipitado en suspensión y, por último, copos que se condensan al fondo de la mezcla.

Si, en lugar de las inyecciones de suero sanguíneo se practican en las mismas condiciones inyecciones de substancias albuminosas del suero separadas por procedimientos adecuados (precipitación por el sulfato amónico, por ejemplo) y disueltas en un líquido conveniente (agua salada al 1 por 100, por ejemplo), se comprueba que el suero de *a* adquiere la propiedad de precipitar los sueros de los animales de la especie B, como en el caso precedente.

Si se separan por procedimientos apropiados las albúminas y las globulinas de un suero (precipitación de las globulinas por el sulfato de magnesia a saturación, precipitación de las albúminas por saturación de sulfato amónico del suero magnésico libre de las globulinas) y se inyectan las albúminas disueltas en agua salada al 1 por 100 a un animal *a* de la especie A, y las globulinas disueltas en agua salada al 1 por 100 a un animal *a'* de la especie A, habiendo sido preparadas las substancias albuminosas partiendo del suero de un animal de la especie B, se comprueba que el suero de *a* no adquiere ninguna propiedad precipitante, y sí las adquiere el suero de *a'*. Por consiguiente, la aparición del poder precipitante en el suero de un animal *a* de la especie A tiene como condición necesaria y suficiente la presencia en el líquido inyectado de globulinas procedentes de la sangre de un animal de la especie B.

Si en lugar de tratar el suero total de la sangre de un animal de la especie B por el suero llamado precipitante, se tratan las albúminas o las globulinas extraídas de aquel suero por los procedimientos indicados más arriba, se comprueba que hay precipitación en la solución de las globulinas, pero que no la hay en la solución de las albúminas. La precipitación producida, pues, en la mezcla del suero llamado precipitante procedente de un animal *a* de la especie A y el suero de un animal de la especie B, exige como condición necesaria y suficiente la presencia de las globulinas en este último suero.

Se pueden observar hechos casi iguales inyectando bajo la piel o en el peritoneo de un animal *a* de la especie A líquidos albuminosos procedentes de un animal de la especie B. El suero del animal *a* adquiere, después de varias inyecciones repetidas a intervalos de algunos días, la propiedad de precipitar el líquido que ha servido para las inyecciones. Estos experimentos han dado buen resultado con la leche y con la clara de huevo. En cuanto a la leche, se demuestra que dos de

las substancias albuminosas de este líquido poseen la propiedad de hacer aparecer un poder precipitante, y son la caseína y la lactoglobulina; y que el suero precipitante obtenido mediante las inyecciones de leche precipita la caseína y la lactoglobulina de la leche de un animal de la especie B. En cuanto a la clara de huevo, se demuestra que la propiedad precipitante se forma gracias a las inyecciones de las substancias de la clara de huevo precipitables por el cloruro de sodio o por el sulfato de magnesia, en particular las globulinas; y que el suero precipitante obtenido por medio de las inyecciones de clara de huevo precipita las globulinas de la clara de huevo de un animal de la especie B.

Los sueros precipitantes poseen una doble especificidad, que se puede considerar como química y como zoológica. Poseen una especificidad química, o sea que el suero precipitante obtenido después de inyecciones repetidas de una substancia proteica dada, no precipita más que esta substancia proteica y no las substancias proteicas de especie química diferente. Así, el suero precipitante del conejo preparado mediante inyecciones repetidas de suero de buey, precipita las globulinas del suero de buey y las globulinas de la leche de vaca, pero no precipita la caseína de la leche de vaca; el suero precipitante de conejo obtenido mediante inyecciones repetidas de caseína pura de vaca, precipita la leche de vaca y las soluciones de caseína de vaca, pero no precipita el suero sanguíneo ni las soluciones de sueroglobulina de buey. Poseen una especificidad zoológica, o sea que un suero precipitante de un animal *a* de la especie A, preparado mediante inyecciones repetidas de un líquido albuminoso procedente de un animal de la especie B, precipita este líquido albuminoso procedente de animales de la especie B y no precipita los mismos líquidos albuminosos, o las soluciones de substancias albuminosas puras que de ellos se pueden extraer, cuando proceden de animales de otra especie que la B. Hay que hacer notar, aunque sea accidentalmente, que jamás se determina la aparición del poder precipitante en el suero de un animal de la especie A inyectándole un líquido albuminoso cualquiera procedente de animales de la misma especie A.

Sin embargo, esta doble especificidad no es absoluta; se han señalado algunas excepciones. Así, el suero que precipita la caseína de la leche, precipita igualmente las soluciones de cáseum (producto de transformación de la caseína por el fermento lab), e inversamente, no obstante diferenciarse el cáseum y la caseína por muchas propiedades, y en particular por la intensidad de su poder rotatorio específico. Así, también, el suero que precipita la sueroglobulina de la sangre de caballo (suero de un animal preparado por repetidas inyecciones de suero equino), precipita también, aunque menos intensamente, el suero de asno, e inversamente. Sin embargo, apresurémonos a consignarlo, estos casos no son más que excepciones interesantes, pero en realidad de poca importancia. Prácticamente se puede admitir la doble especificidad que acabamos de señalar.

De la especificidad zoológica se sacan importantes aplicaciones: inyectando leche de vaca, de cabra o de yegua, a conejos o perros, se obtienen sueros precipitantes que permiten reconocer el origen de una leche dada y descubrir las mezclas de otras leches en una leche dada. Inyectando suero de sangre humana o líquido de ascitis humana a conejos o perros, se obtienen sueros precipitantes para el suero humano únicamente (exceptuando el suero de ciertos monos, que también precipita, aunque menos intensamente), y que permiten caracterizar, desde el punto de vista médicolegal, la sangre humana, aun en las manchas antiguas de sangre desecada al aire (se machaca el polvo con agua y se filtra).

Se atribuye la propiedad precipitante a la presencia en el suero de una *precipitina* cuya naturaleza nos es absolutamente desconocida y que tal vez se confunde con una de las globulinas del suero precipitante.

Esta precipitina es destruída por el calor a menos de 100°; no es destruída por desecación a baja temperatura; es soluble en el agua; es precipitada por el alcohol y por las sales que precipitan las globulinas. Estas son propiedades de encimo; pero no son suficientes para permitirnos considerar las precipitinas como verdaderos encimos.

Sin duda alguna, la precipitación se produce tanto mejor, en igualdad de condiciones, cuanto más elevada es la temperatura, hasta un grado óptimo que está comprendido entre los 40 y los 50°. Pero ignoramos si esta precipitación es la consecuencia de una transformación química previa; y si lo fuese, ignoraríamos si la relación del peso de la substancia transformada y de la precipitina es infinitamente grande. Por último, también ignoramos la naturaleza exacta de la substancia precipitada; está formada, por lo menos por una parte,

por la substancia proteica de la especie B, pero no sabemos si las globulinas del animal *a* no forman parte de su constitución. Colocamos, pues, las precipitinas en el grupo general de los encimoides, sin que ello signifique en manera alguna que las consideramos como encimos.

III. — BACTERIOLISINAS Y HEMOLISINAS

Si se introduce en la cavidad peritoneal de un cobayo fuertemente inmunizado contra un vibrión colérico (1), una emulsión de este vibrión, obtenida poniendo en suspensión en agua salada al 1 por 100 un cultivo de veinticuatro horas de vibrión colérico sobre gelosa, separando al cabo de media hora un poco del líquido peritoneal, se comprueba que los vibriones inyectados han sido inmovilizados, transformados en bolas y disociados en gránulos. Esto es lo que se llama *fenómeno de Pfeiffer*. Se puede repetir el experimento *in vitro:* si se mezcla la emulsión de vibrión colérico con suero de cobayo fuertemente inmunizado contra el mismo vibrión, se produce la *bacteriólisis*. Este fenómeno es específico, o sea que no se produce más que con la especie microbiana contra la cual el animal ha sido vacunado (vibrión colérico, bacilo tífico), y, por lo menos en el caso del vibrión colérico, se produce con una intensidad máxima con la variedad del vibrión contra la cual el animal ha sido vacunado. Se atribuye esta propiedad del suero de los animales vacunados a la presencia de substancias llamadas *bacteriolisinas* o sencillamente *lisinas*.

Estudiando este fenómeno, se ha comprobado que la bacteriólisis comprende dos tiempos distintos y que las bacteriolisinas representan dos substancias distintas. Efectivamente, supongamos que se caliente durante un cuarto de hora a 60° el suero de un animal inmunizado contra el vibrión colérico—para simplificar se dice cólerasuero—y que se haga obrar sobre una emulsión de vibriones coléricos: la bacteriólisis no se produce. Pero supongamos que se añade a este cólerasuero, inactivado por el calor a 60°, el suero de un animal nuevo no vacunado, suero inactivo en absoluto sobre el vibrión colérico: comprobaremos que esta mezcla posee un enérgico

(1) Se inmuniza al cobayo contra el vibrión colérico sometiéndolo a inyecciones previamente repetidas de cultivos coléricos atenuados.

poder bacteriolítico. Estos hechos demuestran que el cólerasuero bacteriolítico contiene dos substancias distintas, que intervienen una y otra en la bacteriólisis: una substancia destruída por debajo de los 60° y que existe en el suero normal y en el cólerasuero, y una substancia que resiste la acción de una temperatura de 60° y existe solamente en el cólerasuero.

La bacteriólisis no es la resultante de la acción simultánea de estas dos substancias, sino de su acción sucesiva. Efectivamente, supongamos que se sumergen vibriones coléricos en cólerasuero previamente calentado a 60°, y que después se separan de este cólerasuero por centrifugación; estos vibriones, inalterados después de este tratamiento, sufren la bacteriólisis cuando se los sumerge en un suero normal no calentado.

El cólerasuero no calentado no produce la bacteriólisis más que con los vibriones coléricos; el tifosuero no calentado no la produce más que con los bacilos tíficos, etc.; el suero normal no calentado produce, por el contrario, la bacteriólisis del bacilo tífico, del vibrión colérico, etc., indistintamente, si estos diferentes microbios han sido de antemano sumergidos respectivamente en el suero de animales inmunizados contra ellos calentado a 60°. Por consiguiente, la especificidad bacteriolítica de los sueros de animales inmunizados reside en la substancia que resiste a los 60° y no en la substancia contenida en un suero normal.

La substancia específica ha sido llamada substancia termostábil, porque resiste el calor a 60°; sensibilizatriz, porque vuelve el microbio sensible a la acción del suero normal; substancia inmunizante o *inmunisina*, porque existe en los sueros de los animales inmunizados contra el microbio.

La substancia común contenida en el suero normal ha sido llamada substancia termolábil, porque es destruída a 60°; substancia complementaria, complemento, aditamento, porque completa la acción de la inmunisina, o, por último, *alexina*.

¿Qué son estas substancias? No lo sabemos. Como todos los agentes que hemos estudiado en este capítulo, son solubles en el agua, por lo menos en el agua salada al 1 por 100, precipitadas por el alcohol, arrastradas por los precipitados en copos, poco dializables, destruídas por el calor a menos de 100°. Son encimoides. Pero no son encimos. Ignoramos si se trata de una acción de orden químico; y si lo fuese, ignoraríamos si hay, como en toda acción diastásica verdadera, desproporción entre la cantidad de substancia transformada y

la cantidad del agente de transformación. No son encimos porque desaparecen cuando obran. Supongamos que en un cólera-suero calentado a 60°, sumergimos los vibriones coléricos y que los separamos por centrifugación; el líquido que queda es, o por lo menos puede ser en determinadas circunstancias, ineficaz para sensibilizar de nuevo a otros vibriones coléricos: la inmunisina se fija sobre el microbio que ella sensibiliza; desaparece obrando.

Un fenómeno análogo a la bacteriólisis se puede observar con los hematíes, la *hemólisis* o, mejor dicho, la hematólisis. Hemos visto precedentemente que inyectando a un animal *a* de la especie A hematíes procedentes de un animal de otra especie B, aparece en el suero del animal *a* una aglutinina específica. De la misma manera puede aparecer una *hemolisina*. Efectivamente, después de haber aglutinado los hematíes de un animal de la especie B, el suero del animal *a* los disuelve, o, para hablar con más propiedad, rompe la unión de su estroma con su hemoglobina y hace pasar ésta en solución al líquido ambiente.

Se considera que la hemolisina es específica y que no obra más que sobre los hematíes de la especie B, cuya sangre ha servido para las inyecciones preparatorias. Se considera que la hemólisis, como la bacteriólisis, se verifica en dos tiempos y que las hemolisinas, como las bacteriolisinas, están formadas por dos substancias, una sensibilizatriz o inmunisina y un complemento o alexina. Se considera que la especificidad de la hemólisis es debida a la especificidad de la hemoinmunisina, y que la alexina es la misma alexina común que obra ya sobre las diversas bacterias sensibilizadas. Se considera, por último, que la hemoinmunisina es fijada por los hematíes en el fenómeno de la sensibilización preparatoria para la hemólisis propiamente dicha, y por consiguiente desaparece obrando. La historia de la hemólisis está calcada sobre la historia de la bacteriólisis.

Hay que fijarse en el hecho interesante de que ciertos sueros de determinadas especies animales poseen un poder bacteriolítico natural con relación a ciertas especies microbianas, o un poder hemolítico natural con relación a los hematíes de ciertas especies animales. Estos poderes bacteriolíticos y hemolíticos naturales pueden atribuirse a la acción de inmunisinas naturales, completada por la acción de la alexina contenida en todo suero sanguíneo.

CAPITULO VIII

SANGRE

Sumario.—Plasma y glóbulos. Suero y coágulo.

I. Plasma sanguíneo.—a) *Preparación del plasma*: Diversos procedimientos: yugular, vasos parafinados, enfriamiento, sangre de los ovíparos, sales neutras, descalcificantes, extractos de sanguijuelas, proteosas.—b) *Substancias proteicas del plasma*: sueroalbúmina, sueroglobulina, fibrinógeno.

II. Coagulación de la sangre.—¿Por qué la sangre se coagula fuera de los vasos? Enfriamiento, reposo, contacto con el aire, supresión del contacto vascular. ¿Cómo se coagula la sangre fuera de los vasos? Fibrina de batido: propiedades de la fibrina. Substancias albuminosas del suero. La fibrina no preexiste en el plasma. Se forma a expensas del fibrinógeno del plasma. Relaciones entre el fibrinógeno y la fibrina. La coagulación de la sangre es un fenómeno de fermentación diastásica. Origen del fibrinofermento. Papel de las sales de cal en la coagulación de la sangre. Los reactivos del fibrinofermento.

III. Azúcar de la sangre.—La sangre contiene una substancia dextrógira reductora, fermentable. Dosificación del azúcar de la sangre: preparación del extracto de sangre; titulación de este extracto. Glicólisis en la sangre.—El glicógeno de la sangre.

IV. Diastasis de la sangre.

V. Glóbulos rojos de la sangre.—Constitución y volumen.

VI. Pigmentos de la sangre.—a) *Hemoglobina* y *oxihemoglobina*. Lacado de la sangre o hemólisis. 1. Oxihemoglobina. Las oxihemoglobinas de la sangre de los diferentes animales no son idénticas, pero no se diferencian profundamente. Espectros de absorción de la oxihemoglobina. 2. Hemoglobina. 3. *Dosificación de las materias colorantes de la sangre*: método colorimétrico, métodos espectrofotométrico y hematoscópico, método físicoquímico fundado en la disociación de la oxihemoglobina, método químico fundado en la presencia de hierro en las materias colorantes de la sangre. 4. Metahemoglobina. 5. Hemoglobinas oxicarbonada y oxinitrogenada.—b) *Productos de descomposición de las materias colorantes de la sangre*: 1. Hematina y hemina. 2. Hematoporfirina.

La sangre que circula por los vasos está constituída por un líquido, el plasma sanguíneo, que tiene en suspensión elementos figurados de tres clases: los *glóbulos rojos*, los *glóbulos blancos* y los *globulinos* o plaquetas.

Fuera de los vasos y dejada en reposo, la sangre continúa líquida durante un tiempo variable, según la especie animal, según las condiciones fisiológicas, etc., de cinco a diez minutos, en general, en los mamíferos; luego se *coagula* con bastante rapidez, es decir, se transforma en una gelatina coherente, disgregándose con bastante facilidad en fragmentos irregulares por la presión del dedo. En el momento de la coagulación toda la masa es gelatinizada, pero luego y espontáneamente esta masa se retrae y expulsa un líquido claro, de manera que al cabo de algunas horas la gelatina sanguínea es substituída por un bloque encarnado, bastante firme, retraído (1), el *coágulo*, rodeado de un líquido transparente, muy ligeramente amarillo, el *suero*. En algunas sangres cuya coagulación se verifica lentamente y cuyos glóbulos tienen una densidad notablemente mayor que el plasma (por ejemplo, la sangre de caballo), el depósito de los glóbulos existe ya par-

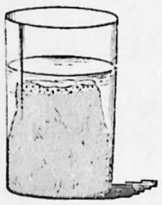


Fig. 44 — Suero y coágulo.

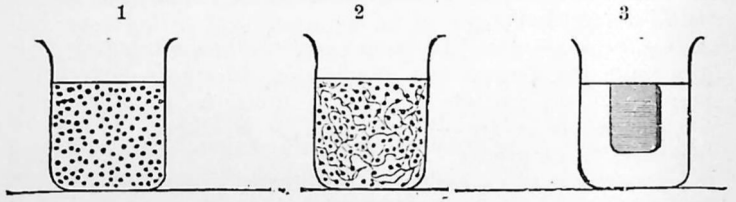


Fig. 45. — Esquema de la coagulación (según Waller). — 1, sangre fresca (corpúsculos y plasma). — 2, cuando empieza la coagulación (aparición de la fibrina. — 3, la coagulación terminada (coágulo y suero).

cialmente en el momento en que se produce la coagulación: las capas superiores del coágulo contienen muy pocos glóbulos rojos, son blancas o amarillentas y constituyen lo que se llama la *corteza* del coágulo.

(1) La retracción del coágulo sanguíneo está íntimamente ligada a la presencia de los globulillos o plaquetas sanguíneas en el medio coagulable. El coágulo de la sangre que contiene plaquetas se retrae; el coágulo del plasma sanguíneo libre por una enérgica centrifugación de los elementos en suspensión no se retrae; el coágulo de una solución de fibrinógeno puro no se retrae; pero estos dos últimos coágulos se retraen, y muy enérgicamente, cuando se añade a los líquidos generadores un poco de esta masa blanquecina que se forma entre los glóbulos y el plasma de la sangre centrifugada, masa que está compuesta por glóbulos blancos y plaquetas más o menos alteradas. Por otra parte, ignoramos en absoluto cómo provocan las plaquetas la retracción del coágulo.

El *coágulo* está formado por los glóbulos sanguíneos englobados en las mallas de un retículo cuyos filamentos están constituídos por una substancia que conoceremos con el nombre de *fibrina*, substancia que no existía en suspensión en la sangre en circulación.

El *suero* se diferencia, pues, del plasma por faltarle la fibrina. Más adelante veremos que es necesario modificar este concepto para estar más en lo cierto.

SANGRE DENTRO DE LOS VASOS	SANGRE COAGULADA	
Plasma.	Suero.	Suero.
Glóbulos	Glóbulos. + Fibrina.	Coágulo.

No hay que olvidar que *suero* y *plasma* no son expresiones sinónimas: dentro de los vasos hay plasma, pero no suero.

I. — PLASMA SANGUINEO

a) *Preparación del plasma*

Para *obtener el plasma sanguíneo* se han de realizar dos condiciones: hay que impedir la coagulación de la sangre: hay que verificar la separación de los elementos figurados y del plasma en que están en suspensión.

Diferentes procedimientos permiten obtener sangre no coagulable espontáneamente:

1.° Procedimiento de la *yugular*.
2.° » de los *vasos parafinados*.
3.° » del *enfriamiento*.
4.° » de la *sangre de los ovíparos*.
5.° » de las *sales neutras*.
6.° » de los *descalcificantes*.
7.° » de los *extractos de sanguijuelas*.
8.° » de las *proteosas* y de las *proteínas tóxicas*.

1.° La sangre es flúida y continúa siéndolo dentro de los vasos. Si se aísla, pues, entre dos ligaduras, en el animal viviente, un segmento de vaso lleno de sangre, se podrá conservar esta sangre líquida. El experimento se realiza prácticamente en la *yugular* de un caballo (1).

(1) Se puede preparar muy fácilmente la yugular externa de un conejo, como se prepara la yugular del caballo, aislarla después de haber limitado un segmento

El caballo posee la yugular de un gran calibre y muy larga, pudiendo contener, por consiguiente, una gran cantidad de sangre, y en la cual se abren solamente dos o tres pequeñas venas, disposición anatómica que facilita la preparación y el aislamiento de la yugular. Los glóbulos de la sangre de caballo son, por otra parte, muy pesados, y se depositan espontánea y rápidamente, separándose así perfectamente del plasma o del suero en el que estaban en suspensión. Si se suspende, pues, verticalmente una yugular de caballo aislada, los glóbulos se posan en la mitad inferior de dicha yugular, ocupando el plasma la mitad superior.



Fig. 46. — Conservación de la sangre líquida dentro de una vena escindida.

Mediante una incisión cutánea se pone de manifiesto la yugular, se ligan las pequeñas venas que en ella se abren, se aísla la yugular, disecándola de los tejidos vecinos, y se practican dos ligaduras en el vaso: una en la base del cuello, y luego, después que la vena se ha hinchado de sangre, otra cerca de la cabeza. Se secciona más allá de las ligaduras y se suspende la vena verticalmente por uno de sus extremos. Los glóbulos se posan rápidamente, y después de algunos minutos se ven por transparencia, a través de las paredes vasculares, las dos quintas partes o la mitad inferiores del vaso ocupadas por los glóbulos rojos y una pequeña zona de glóbulos blancos sobrepuesta; las tres quintas partes o la mitad superiores del vaso, ocupadas por un líquido translúcido fuertemente colorado de amarillo, el plasma. Ligando el vaso a nivel de las capas inferiores del plasma, se puede aislar un segmento de yugular lleno de plasma. Este plasma así obtenido es puro, pero instable: si se extrae del vaso no tarda en coagular.

2.° Si por medio de una cánula parafinada o vaselinada interiormente, introducida en una arteria, y un tubo de caucho parafinado o vaselinado interiormente se hace llegar la sangre a un vaso cuyas paredes están recubiertas de una capa de parafina o de vaselina, se comprueba que la sangre se conserva durante mucho tiempo sin coagularse; si se centrifuga esta sangre, llamada *sangre parafinada* para abreviar, se separan los glóbulos y el plasma, llamado *plasma parafinado*. Este plasma, colocado por medio de una pipeta interiormente parafinada o vaselinada en un tubo parafinado, se conserva sin coagular. Este procedimiento proporciona, pues, un plasma normal y no coagulable espontáneamente a la temperatura ordinaria, por lo menos mientras esté dentro de un vaso parafinado. Si en él se introduce un cuerpo no parafinado, o si se coloca en un vaso no parafinado, se coagula rápidamente. Este procedimiento no proporciona siempre buenos resultados: técnicamente es muy difícil.

entre dos ligaduras, y conservar así la sangre líquida: pero los glóbulos no se posan espontáneamente como ocurre en la yugular del caballo, y por otra parte la cantidad de sangre contenida en la yugular del conejo es insignificante para que se pueda sacar algún partido de ella.

3.° Si se *enfría* rápidamente la sangre en el momento que se extrae del vaso, hasta una temperatura próxima a 0°, se la puede mantener líquida. Si la sangre enfriada es de caballo, los glóbulos se posan rápidamente; el plasma enfriado sobrenada. Se obtienen buenos resultados empleando tres vasos metálicos cilíndricos de paredes delgadas, de diámetro creciente, introducidos uno dentro de otro. El vaso interior se llena de hielo; el espacio anular que existe entre el vaso interior y el medio, espacio que debe ser muy reducido, se deja vacío; el espacio anular que existe entre el vaso medio y el exterior, se llena de hielo. Se coloca la sangre en el espacio anular comprendido entre los dos cercos de hielo. Si este espacio es lo suficientemente estrecho, la sangre puede quedar muy rápidamente enfriada e impedida la coagulación. Con la sangre de caballo, los glóbulos se posan; el plasma ocupa las capas superiores. Así preparado, este plasma, como el precedente, es puro, pero instable; si se calienta, se coagula hacia los 10 a 12°. Sin embargo, se puede modificar ligeramente este procedimiento y obtener un plasma estable. La sangre de caballo enfriada muy rápidamente se deja en reposo algunos instantes para permitir que se posen la mayor parte de los glóbulos, y el plasma que sobrenada se extrae y se pone en un triple filtro de papel que está colocado en un embudo de paredes dobles, que contiene hielo, de manera que la temperatura del líquido no pase de 0 a 0,5°. El filtro retiene las células en suspensión, y el plasma que pasa es, en general, no coagulable aun a la temperatura ordinaria. Como se comprende, esta manipulación es muy delicada.

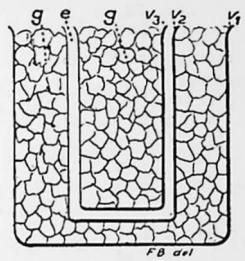


Fig. 47. — Aparato para recibir la sangre a 0°. — v_1, v_2, v_3, los tres vasos metálicos. — g, hielo. — e, espacio comprendido entre v_2 y v_3, para recibir la sangre.

4.° Si se practica una sangría en un pájaro, un reptil o un batracio, cortando los tejidos, la sangre que mana babeando se coagula en la herida, como la sangre de los mamíferos, completa y rápidamente. Pero si se recoge la sangre por medio de una cánula introdu

cida en la arteria, si se tiene cuidado de que la sangre no se ponga en contacto con la superficie de la herida y si se dejan perder las primeras porciones que se derraman, la sangre obtenida no se coagula durante mucho tiempo (ocho días y más) a la temperatura ordinaria. Si se cuenta con un procedimiento para separar los glóbulos del plasma (reposo o centrifugación), se obtiene un *plasma puro y estable* a la temperatura ordinaria.

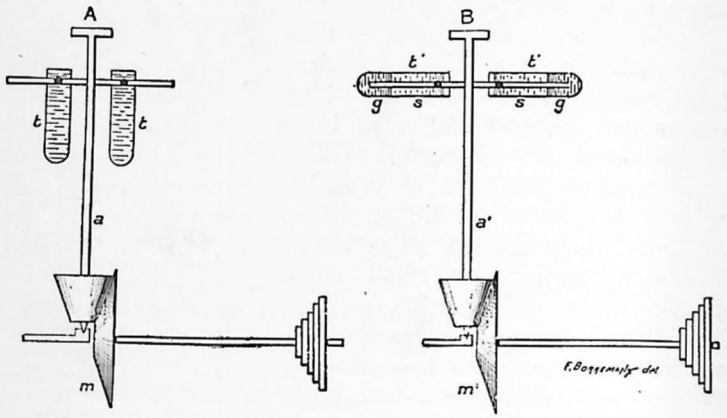


Fig. 48. — Esquema de un centrifugador. — A, el aparato en reposo. — B, el aparato en movimiento. — *a*, *a'*, ejes de rotación. — *m*, *m'*, transmisiones del movimiento. — *t*, *t*, los tubos en posición vertical durante el reposo. — *t'*, *t'*, los tubos en posición horizontal durante el movimiento. — Los glóbulos *g* están acumulados hacia el fondo de los tubos. — El suero *s*, en la porción próxima al eje de rotación.

Los procedimientos que nos faltan describir proporcionan el plasma impuro, pero estable.

5.° Cuando se recibe la sangre al salir del vaso en una solución de *sal neutra* (*cloruro sódico*, *sulfato sódico*, *sulfato de magnesia*, etc.), suficientemente abundante y suficientemente concentrada, se obtienen mezclas saladas, sangres saladas, no coagulables espontáneamente.

Se recogerá, por ejemplo, la sangre en un volumen igual de una solución al 10 por 100 de cloruro sódico, o en el tercio o la mitad de su volumen de una solución al 30 por 100 de sulfato de magnesia. En la sangre de caballo salada de este modo, los glóbulos se posan con bastante rapidez, pero más lentamente que en la sangre enfriada; se comprende muy fácilmente, ya que la adición de una importante cantidad de sal ha aumentado notablemente la densidad del plasma.

En la sangre salada de perro, dejada en reposo, los glóbulos no se posan ya de una manera sensible: al cabo de lar-

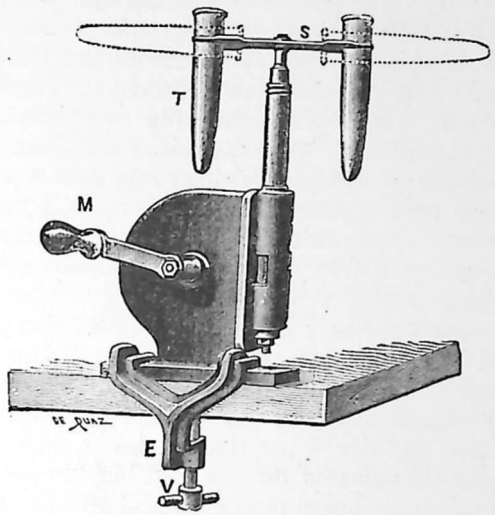


Fig. 49. — Centrifugador de mano.

go tiempo no hay más que una capa muy pequeña de plasma.

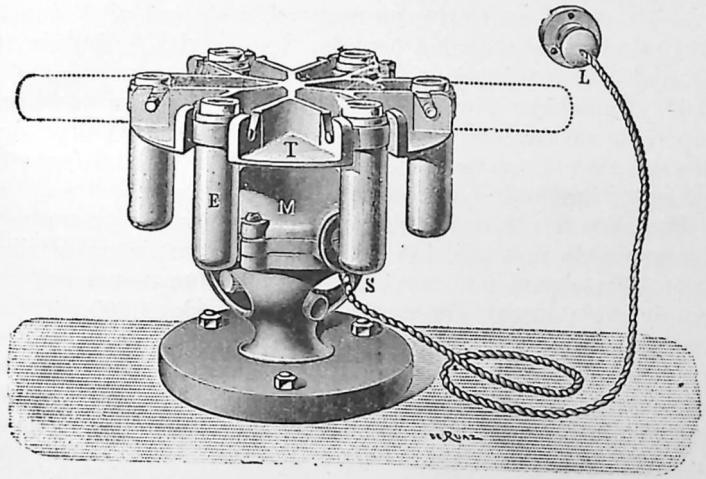


Fig. 50. — Centrifugador con motor eléctrico.

Entonces hay que someter esta sangre salada a la acción de

la *fuerza centrífuga*. Cuando se somete a una rápida rotación alrededor de un eje un líquido que tenga en suspensión elementos figurados algo más densos que el líquido, estos elementos son rechazados hacia la parte del vaso más distante del eje de rotación. Si se coloca, pues, la sangre en un tubo dispuesto en el plano de rotación, como un radio del círculo de rotación, por esta rotación los glóbulos quedarán en el fondo del tubo, separándose del plasma. Hay *máquinas* llamadas *centrífugas* que permiten obtener fácil y rápidamente esta separación (1).

Dejando en reposo sangre de caballo salada, o centrifugando otra sangre salada, se obtienen *plasmas salados estables, pero impuros*, y muy impuros, porque la proporción de sales añadidas es muy grande.

Los plasmas salados pueden dividirse en dos grupos: los *plasmas débilmente salados*, que tienen por tipo el plasma de la sangre adicionado de un volumen igual de cloruro sódico al 10 por 100 (sangre salada al 5 por 100), y los *plasmas fuertemente salados*, que tienen por tipo el plasma de la sangre adicionado de medio volumen de una solución de sulfato de magnesia al 30 por 100 (sangre magnesiada al 10 por 100). Los primeros se coagulan cuando se les añade una cantidad de agua destilada suficiente para convertir su proporción de sal al 1 ó al 2 por 100; los segundos no se coagulan aunque su dilución acuosa convierta su proporción de sal al 1 ó al 2 por 100; pero se coagulan cuando, después de la dilución, se les añade suero sanguíneo.

6.° Cuando se añade a la sangre que sale de los vasos una proporción de *oxalato neutro de un álcali* capaz de precipitar sus sales de cal, se vuelve esta sangre no coagulable espontáneamente, llamándose *descalcificada* u *oxalatada*.

Poniendo 9 volúmenes de sangre en un vaso que contenga 1 volumen de una solución de oxalato neutro de un álcali al 1 por 100; o poniendo en un vaso que contenga una parte en peso de oxalato neutro de un álcali pulverizado, 1.000 partes de sangre al salir del vaso, y agitando vigorosamente para disolver rápidamente la sal, obtendremos sangres no coaguladas; las sangres oxalatadas al 1 por 1.000 no se coagulan espontáneamente. Los jabones de álcalis, que, como los oxalatos,

(1) Las centrífugas deben tener por lo menos 40 centímetros de diámetro y poder dar sobre unas 2.000 revoluciones por minuto, para prestar al fisiólogo los servicios que él desea, o sea para poder separar los glóbulos del plasma en 10 minutos poco más o menos.

precipitan las sales de cal, permitirían del mismo modo obtener sangres no coagulables espontáneamente, pero la cantidad de jabón que se tendría que añadir sería grande, siempre demasiado grande, porque volvería la sangre viscosa. No se los emplea nunca para obtener el plasma.

En la categoría de sales descalcificantes que impiden la coagulación de la sangre se pueden colocar los *citratos neutros alcalinos*. No hay duda de que la adición de un citrato neutro alcalino a la sangre o al suero no determina en ellos ninguna precipitación cálcica, y la sangre citratada no es descalcificada con la misma intensidad que la sangre oxalatada; pero tenemos el derecho de considerar los citratos como descalcificantes, porque se pueden, por medio de ellos, obtener plasmas que posean las propiedades de los plasmas oxalatados, y en particular que puedan, como éstos, coagularse por la adición de una cal disuelta. Para impedir por los citratos que la sangre se coagule, es conveniente emplear el 2 ó el 3 por 1.000 de dichas sales.

Las sangres descalcificadas (oxalatadas o citratadas) se coagulan, sea por la adición de sales de cal, sea por adición de suero sanguíneo normal u oxalatado o citratado.

Las sangres descalcificadas, dejadas en reposo, dejan posar sus glóbulos. En la sangre de caballo, la separación se efectúa en un cuarto de hora o media hora; en la sangre de perro, la separación se verifica a veces también con rapidez; no obstante, generalmente es necesario favorecer la separación por centrifugación; con la sangre de buey es siempre necesario recurrir a la centrifugación. Se obtiene de esta manera un *plasma descalcificado* (oxalatado o citratado) impuro, pero estable. Este plasma tiene sobre el plasma salado la doble ventaja de estar poco cargado de impurezas, puesto que es suficiente el 1 por 1.000 de oxalato o el 3 por 1.000 de citrato, y el tener una densidad sensiblemente igual a la densidad normal, lo que facilita el que los glóbulos se posen rápidamente.

Cuando se añade a la sangre que sale de los vasos el 2 ó 3 por 1.000 de fluoruro sódico (1 volumen de una solución de fuoruro sódico al 3 por 100 y 9 volúmenes de sangre, por ejemplo, se convierte la sangre en no coagulable espontáneamente (1). De esta sangre fluorada se separa el *plasma fluorado*

(1) El fluoruro sódico forma con las sales solubles de calcio un precipitado de fluoruro de calcio insoluble en el agua; el fluoruro sódico es, pues, una sal descalci-

por el reposo o por la centrifugación. Es conveniente separar el plasma fluorado de los plasmas descalcificados (oxalatado o citratado), porque no se coagula por adición de sales de cal. El plasma de la sangre fluorada coagula por adición de suero normal (o de suero fluorado al 2 ó 3 por 1.000).

7.° Se pueden obtener, por medio de las *cabezas de sanguijuelas*, extractos acuosos capaces de impedir la coagulación de la sangre. Las cabezas de sanguijuelas medicinales se sumergen durante algún tiempo en alcohol fuerte, se desecan y pulverizan; se machaca este polvo con agua salada al 1 por 100, hervida; el líquido filtrado añadido a la sangre al momento de salir de los vasos impide la coagulación. Es conveniente emplear, para 100 centímetros cúbicos de sangre, una cantidad de extracto correspondiente a dos cabezas de sanguijuela (1).

8.° Cuando se inyecta dentro del sistema venoso de un perro una solución de proteosas (2) (por ejemplo, el producto obtenido por digestión péptica de la fibrina, particularmente el producto comercial conocido con el nombre de peptona de Witte), se convierte la sangre en no coagulable espontáneamente.

Se inyectan generalmente 3 decigramos (3) de proteosas, pesadas en seco, por kilogramo de perro, disueltas estas proteosas en una solución de cloruro sódico al 7 por 1.000, a razón de una parte de proteosas por 10 partes de solución; se practica la inyección en la vena yugular o en la vena pedia hacia el corazón, de una sola vez, y en dos o tres minutos. Un minuto después de la inyección, y durante una o dos horas, para las dosis indicadas, se recoge sangre que no es espontáneamente coagulable. Sometiendo esta sangre a centrifugación, se separan los glóbulos y el *plasma peptonado*.

Se obtienen resultados rigurosamente equivalentes inyectando en las venas de un perro una proteína tóxica. Si en las venas de un perro se inyectan de 0,02 a 0,05 centímetros cúbicos de suero de sangre

ficante en el sentido exacto de la palabra, y descalcificante como lo son los oxalatos alcalinos.

(1) Actualmente se encuentra en el comercio un extracto de cabezas de sanguijuela conocido con el nombre de *hirudina*, que disuelto en el agua salada y mezclado con la sangre al momento de salir de los vasos, impide su coagulación.

Los extractos de cabezas de sanguijuela o hirudina inyectados dentro de los vasos de un animal convierten también la sangre incoagulable por algunas horas como máximo.

(2) La inyección debe practicarse en el perro y no en el conejo; inyectando en el conejo dosis de proteosas no mortales inmediatamente, se obtienen sangres no coagulables espontáneamente. Entre las proteosas, las heteroproteosas son las únicas activas; las deuteroproteosas y las peptonas no tienen acción sobre la coagulación de la sangre. Las proteosas derivadas de la fibrina pueden ser reemplazadas por las caseosas o por las gelatosas; sin embargo, estas últimas deben ser empleadas, en particular las gelatosas, a una dosis notablemente superior.

(3) Esta cantidad se refiere a la peptona de Witte.

de anguila por kilogramo, se vuelve la sangre no coagulable por algunas horas.

Estos dos agentes, peptona y suero de anguila, deben, por otra parte, ser inyectados dentro de las venas del perro: si se recoge sangre del perro directamente de la arteria, en un vaso que contenga uno u otro de los agentes indicados, la sangre se coagula normalmente. Se ha podido demostrar que estas substancias no son de por sí anticoagulantes, sino que obran sobre la coagulación de la sangre *in vivo* por medio de una substancia cuya producción en el organismo es provocada por ellas.

Se obtienen también los mismos resultados cuando se inyecta suero de caballo en las venas de un perro sueroanafilactizado. Para anafilactizar un perro con este objeto, conviene inyectarle debajo de la piel en 4 ó 5 ocasiones, con 5 ó 6 días de intervalo, 10 centímetros cúbicos de suero de caballo. Una semana después de la última inyección preparatoria se inyectan en una vena 10 centímetros cúbicos de suero de caballo. La sangre extraída de los vasos algunos minutos (5 minutos por ejemplo) más tarde no es espontáneamente coagulable y tiene todas las propiedades de la sangre peptonada preparada como se ha dicho antes.

b) *Substancias proteicas del plasma*

El plasma sanguíneo suministra por la desecación un abundante residuo cuyo peso llega a 90 ó 95 por 1.000 del peso del plasma.

Este residuo contiene *substancias salinas* (materias minerales), *substancias proteicas* coagulables (*nitrógeno coagulable*, dícese a veces), pequeñas cantidades de substancias nitrogenadas no proteicas (*nitrógeno restante* o *nitrógeno no coagulable*) y *cuerpos no nitrogenados* diversos.

Las substancias orgánicas no nitrogenadas del plasma están representadas esencialmente por el azúcar. Las substancias nitrogenadas no proteicas son la urea, compuestos amoniacales, ácidos aminados, etc.

Las materias salinas representan en este residuo seco un 10 por 1.000 aproximadamente del peso del plasma. Están constituídas principalmente por el cloruro sódico; accesoriamente se encuentran fosfatos, compuestos cálcicos, etc.

El punto de congelación del plasma es notablemente constante: es de —0,55 a —0,56°, lo mismo que una solución de cloruro sódico a 0,94 por 100.

El plasma tiene una reacción netamente alcalina con el pa-

pel de tornasol; corresponde aproximadamente al 3 por 1.000 de sosa.

El plasma tiene en solución una fuerte proporción de substancias proteicas: 70 a 80 por 1.000 en el hombre, el caballo, el buey, etc.

El plasma contiene tres substancias albuminosas y un proteido (este último en pequeña cantidad).

1.°	Albúmina. . . .	La *sueroalbúmina.*
2.°	Globulinas . . .	La *sueroglobulina.*
		La *substancia fibrinógena.*
3.°	Proteido. . . .	El *núcleoproteido del plasma*

En el plasma humano la proporción de las substancias albuminosas oscila alrededor de las cifras siguientes:

45 partes de sueroalbúmina
50 — de sueroglobulina } por 1.000 de plasma.
4 — de fibrinógeno

y como se puede admitir que, por lo menos de una manera sensiblemente exacta, la sangre humana contiene normalmente, por un volumen de plasma, un volumen de glóbulos, puede decirse que hay

22 partes de sueroalbúmina
15 — de sueroglobulina } por 1.000 de sangre.
2 — de fibrinógeno

La *sueroalbúmina* (1) presenta las propiedades generales de las albúminas (v. Cap. V, pág. 132). Basta añadir que la sueroalbúmina se coagula a una tempertura próxima a los 75° y presenta un poder rotatorio izquierdo:

$$[\alpha]_D = -63°.$$

Las globulinas del plasma que se pueden separar de las albúminas, ya sea saturando el plasma de sulfato de magnesia, ya sea semisaturándolo de sulfato amónico (adición de un volumen igual de una solución acuosa saturada de sulfato amónico), son la sueroalbúmina y el fibrinógeno. Presentan las

(1) Nada prueba que la sueroalbúmina sea una individualidad química. Es muy posible, y aun muy probable, que sea una mezcla de albúminas. Algunos autores distinguen tres, que se caracterizan por su temperatura de coagulación: sueroalbúminas α, β y γ.

propiedades generales de las globulinas (v. cap. V, pág. 133). Se distinguen la una de la otra por los siguientes caracteres:

La *sueroglobulina* (1) (llamada también alguna vez *paraglobulina, substancia fibrinoplástica*) se coagula a una temperatura comprendida entre los 68 y 75°: si se eleva progresivamente la temperatura de una solución de sueroglobulina, se comprueba que esta solución es transparente hasta 68°; a esta temperatura aparece un enturbiamiento que aumenta con la temperatura hasta los 75°, transformándose en copos; el líquido libre de estos copos producidos a 75° se puede hervir sin precipitar ni enturbiarse. Se resumen estos hechos diciendo que la sueroglobulina se coagula a los 68-75°.

A las soluciones de sueroglobulina se puede añadir sal marina a la temperatura ordinaria, hasta que contengan el 15 por 100 sin que precipiten. Cuando están saturadas de sal marina a la temperatura ordinaria, precipitan una parte, pero solamente una parte, de sueroglobulina.

El *fibrinógeno* se coagula a los 56°. Si se eleva progresivamente la temperatura de una solución de fibrinógeno hasta los 55°, el líquido continúa claro; se ve aparecer un enturbiamiento hacia los 55° y aumentar rápidamente por la elevación de la temperatura de unas décimas de grado. A los 56° se forman voluminosos copos: si se separan por filtración estos copos del líquido en el cual se han formado, y se continúa elevando la temperatura del líquido más arriba de los 56°, el líquido continúa claro hasta los 64°; a los 64° aparece una nueva turbiedad, que aumenta hasta los alrededores de 72°. Se resumen estos hechos diciendo que el fibrinógeno es desdoblado a 56° en dos substancias: una coagulada a esta temperatura y otra coagulable a 64-72° (2).

(1) La sueroglobulina no es tal vez más que una mezcla de globulinas. Algunos autores distinguen particularmente una *euglobulina* y una *seudoglobulina*. La euglobulina es una globulina típica insoluble en el agua destilada, precipitando, por consiguiente, totalmente por diálisis en presencia de agua destilada renovada; la seudoglobulina es un producto intermediario entre las albúminas y las globulinas típicas: soluble en el agua destilada, y, por consiguiente, como las albúminas, no precipita por diálisis; insoluble como las globulinas en los líquidos saturados de sulfato de magnesia o semisaturados de sulfato amónico.

(2) Hay dos explicaciones posibles: o bien las soluciones de fibrinógeno contienen una sola substancia desdoblada a 56°, o bien contienen dos substancias que ponen en evidencia sus temperaturas de coagulación. Hay que atenerse a la primera explicación, porque la cantidad de coágulo a 64-72° no es nunca igual ni superior a la del coágulo a 56°, y la relación de estas dos cantidades no varía considerablemente. ¿Ocurrirían así las cosas si se tratase de una mezcla? Sin duda

Las soluciones de fibrinógeno son precipitadas, pero solamente en parte, cuando a la temperatura ordinaria se les añade el 15 por 100 de cloruro sódico. Por el contrario, son totalmente precipitadas por el cloruro sódico disuelto a saturación en frío.

Si un líquido contiene a la vez fibrinógeno y sueroglobulina, se pueden separar de él fácilmente fibrinógeno puro y sueroglobulina pura. Añadiendo el 15 por 100 de cloruro sódico al líquido se produce un precipitado compuesto únicamente de fibrinógeno. Saturándolo de cloruro sódico, se produce un precipitado que contiene la totalidad restante de fibrinógeno y una parte de la sueroglobulina; el líquido libre de este precipitado no contiene más que sueroglobulina, que se puede precipitar por el sulfato de magnesia disuelto a saturación en frío, por ejemplo.

Puede ocurrir que haya interés en saber si un líquido contiene fibrinógeno, o si este fibrinógeno es puro o mezclado con sueroglobulina.

Un líquido que contenga fibrinógeno se coagula en general (1) a 56°. Supongamos que se trata de un líquido de esta naturaleza; saturémoslo de cloruro sódico; separemos el precipitado por filtración: si el líquido filtrado precipita por saturación con el sulfato de magnesia, contiene sueroglobulina (no precipitada totalmente, como hemos dicho, por el cloruro sódico a saturación); si no precipita por saturación con el sulfato de magnesia, no contiene más que fibrinógeno (totalmente precipitado, como hemos dicho, por el cloruro sódico a saturación).

Se puede demostrar la presencia del fibrinógeno en el plasma sanguíneo contenido en los vasos. Si una yugular de caballo aislada, llena de sangre, se suspende verticalmente, y si después de posarse los glóbulos se calienta a 56°, se ve producirse un precipitado en copos en el plasma, precipitado que demuestra la existencia de fibrinógeno en este plasma.

El plasma sanguíneo, o por lo menos el plasma sanguíneo fuera de los vasos, contiene un *núcleoproteido* en pequeña cantidad. Supongamos que a un plasma oxalatado, libre por centrifugación de los elementos figurados que tenía en suspensión, se añaden dos volúmenes de agua y una cantidad de ácido acético suficiente para darle una reacción muy ligeramente ácida; supongamos que se deja así este líquido durante algunas horas, a una temperatura próxima a los 0°; se verá posarse un precipitado poco abundante. Este precipitado puede ser disuelto bien por una solución alcalina diluída, o bien por una solución clorhídrica muy diluída. La solución clorhídrica, perfectamente clara y transparente, adicionada de pepsina, se enturbia ligeramente al cabo de cierto tiempo, y el precipitado así formado es un precipitado fosforado que presenta las propiedades de las nucleínas: proviene de un núcleoproteido contenido en el líquido sometido a la acción de la pepsina.

El carácter más interesante de este núcleoproteido y al mismo tiempo más importante, es el de precipitar en frío los líquidos muy ligeramente acéticos, mucho mejor que a la temperatura del laboratorio, y de disolverse, por lo menos parcialmente, cuando la temperatura es de 15°.

alguna esta relación varía según la naturaleza y la composición del líquido disolvente; pero estas variaciones son hechos constantes, cuando se trata de la coagulación de substancias albuminosas.

(1) Hay que decir en general, y no siempre, porque algunos líquidos que contienen fibrinógeno no coagulan a una temperatura inferior a 60-61°. Tales son la mayoría de los líquidos de los trasudados. Se ha demostrado que esto depende de la presencia en estos líquidos de ciertas substancias mal definidas, que tienen la propiedad de elevar la temperatura de coagulación del fibrinógeno. El fibrinógeno, que se puede extraer y preparar puro partiendo de estos líquidos, se coagula, en efecto, como el fibrinógeno normal, a 56°

II. — COAGULACION DE LA SANGRE

El estudio de la coagulación de la sangre es uno de los más complejos y más delicados que se encuentran en química fisiológica. El resumen que aquí damos es lo más sencillo y claro que hemos podido: algunos reprocharán, sin duda, esta sencillez y claridad; porque hoy quien cree que la sencillez y la claridad no son propias de este lugar. No podemos compartir esta opinión; nos bastará con haber prevenido al lector de que hay aún en la cuestión de coagulación de la sangre muchas dificultades por descifrar, muchas obscuridades que esclarecer, muchas objeciones por contestar; no hablaremos aquí, para no desanimar al principiante, de todas estas dificultades, obscuridades y objeciones.

1. La sangre extraída de los vasos se coagula. ¿Por qué se coagula?

Antes se buscaba la causa de la coagulación de la sangre en las nuevas condiciones en que la sangre se encuentra:

Enfriamiento.
Reposo.
Contacto del aire.
Supresión del contacto vascular.

α, El *enfriamiento* no puede explicar la coagulación de la sangre. Efectivamente, si se mantiene la sangre a la temperatura del cuerpo, la coagulación se produce, y se produce más rápidamente que en la sangre abandonada al enfriamiento natural. Si, por el contrario,

se enfría rápidamente la sangre a una temperatura próxima a los 0°, no se coagula mientras está a esta temperatura.

β. El *reposo* no puede explicar la coagulación de la sangre. No hay duda de que si se bate la sangre vigorosamente durante algunos minutos después de su extracción, se puede conservar líquida; sin embargo, la fibrina que constituye las mallas del coágulo, la fibrina cuya producción es el fenómeno característico de la coagulación, se ha producido. Pero bajo la influencia del batido, en lugar de precipitar en filamentos finos, cortos, extendidos en todas direcciones, se acumula en filamentos gruesos y largos, formando grandes masas fibrosas.

γ. El *contacto del aire* no puede explicar la coagulación de la sangre, porque si se hace llegar la sangre directamente de los vasos al vacío barométrico sin que haya contacto con el aire, también se coagula.

δ. La sangre se coagula fuera de los vasos porque *deja de estar en contacto con la pared vascular normal sana.* Siempre que la sangre esté en contacto con esta pared sana se mantiene líquida (1); desde que deja de estar en contacto con ella se coagula. ¿Por qué? Se ha comprobado que si se derrama la sangre dentro de un vaso bien parafinado interiormente, siendo tomada esta sangre directamente de una arteria mediante una cánula parafinada interiormente, esta sangre no se coagula: se la puede agitar mediante varillas parafinadas, o transvasarla con una pipeta parafinada, sin determinar la formación de la fibrina. Pero si se derrama esta sangre en un vaso no parafinado, o si se sumergen en esta sangre varillas de cristal no parafinado, la coagulación se produce (2). Algunos autores han supuesto que la pared de los vasos tal vez no se deja mojar por la sangre como las paredes parafinadas (y también enceradas o vaselinadas); esta hipótesis es insostenible, porque no se comprendería cómo se podrían verificar los cambios materiales (y es evidentísimo que se verifican) entre la sangre y los líquidos de los tejidos, si la sangre no mojara las paredes.

(1) Esta proposición tiene sus excepciones; efectivamente, se puede provocar en el perro y en el conejo la coagulación intravascular de la sangre, siendo normales las paredes vasculares, inyectando dentro de la circulación una pequeña cantidad de un líquido de maceración de un tejido cualquiera (músculo, hígado, riñón, etc.), descuartizado y puesto a macerar a la temperatura ordinaria en dos veces su peso de agua salada al 1 por 100, durante veinticuatro horas. El animal muere en algunos segundos, y la autopsia hecha inmediatamente revela la presencia de voluminosos coágulos, particularmente en la vena porta y en sus ramas, en las venas cavas y en el corazón derecho. Se determinan también coagulaciones intravasculares masivas y casi instantáneamente mortales, inyectando en las venas del perro o del conejo algunas ponzoñas de serpiente (ponzoña de botrops, daboia, seudequis, etc.).

(2) Se puede reemplazar en estos experimentos la parafina por la cera de abejas, por la vaselina y por todas las substancias que no se dejan mojar por la sangre o por el plasma.

Podemos hasta reconocer fácilmente que el batido de la sangre activa la formación de la fibrina. Recibamos, por ejemplo, sangre arterial de perro en dos vasos a los que llega por un tubo de goma ajustado a una cánula arterial; dejemos una muestra a la coagulación espontánea y batamos vigorosamente la otra: la primera se coagulará en 5 a 6 minutos, por ejemplo; en la segunda muestra los filamentos de fibrina se aglomerarán en las varillas de batir en 2 ó 3 minutos como máximo.

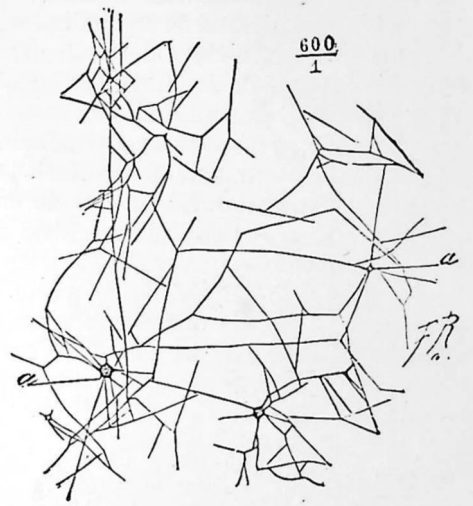


Fig. 51. — Retículo fibrinoso de la sangre humana, después de colorado con el sulfato de rosanilina. — *a*, granulación libre formando el centro de un sistema del retículo (según Ranvier).

Hay que hacer constar pura y sencillamente que la sangre dentro de los vasos normales no se coagula; actualmente no conocemos la razón de ello.

No nos detendremos en buscar la causa de la coagulación de la sangre: diremos que la sangre tiene la propiedad de coagularse cuando está fuera de los vasos. *No investiguemos por qué se coagula, busquemos cómo se coagula.*

2. Hemos dicho precedentemente que la sangre abandonada dentro de un vaso se coagula en una masa gelatinosa que, retrayéndose, no tarda en exudar un líquido claro: el suero. La masa retraída está constituída por una fina red fibrilar que engloba dentro de sus mallas los elementos figurados de la sangre. La substancia que forma esta redecilla se llama *fibrina.*

Hemos dicho también que por el batido de la sangre extraída de los vasos, mediante varillas o ramitas, se obtiene una masa filamentosa blanquecina, adherente a las ramitas, opaca y elástica (1). Esta masa es la misma substancia que la

(1) La fibrina así preparada, aun cuando se lave abundantemente, no es pura: a sus fibrillas adhieren también leucocitos y estromas de hematíes.

que forma los filamentos constitutivos de la trama del coágulo: por el batido, estos filamentos se sueldan y se aglomeran. La identidad de la fibrina del coágulo y la fibrina del batido no es fácil de determinar a primera vista. Se pone de manifiesto si se considera la fibrina del coágulo del plasma libre de los glóbulos rojos: aunque está formada sin batido, tiene todos los caracteres de la fibrina del batido. Si se deja coagular un plasma al que se han añadido cantidades crecientes de glóbulos rojos, hasta producir una mezcla idéntica a la sangre, se ven todas las formas de coágulo intermedias entre el coágulo del plasma y el de la sangre total.

La cantidad de fibrina de la sangre es muy variable, pero, en general, se puede decir que se recogen de 1 a 2 gramos de fibrina, pesada seca, por litro de sangre.

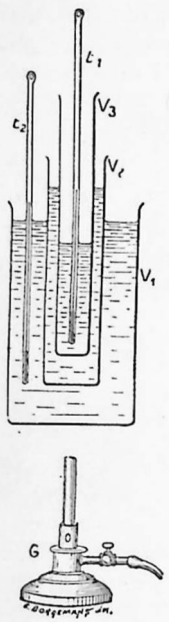


Fig. 52. — Esquema del aparato destinado a determinar la temperatura de coagulación de un líquido albuminoso. — G, mechero Bunsen. — V_1, vaso para el baño de María con agua. — V_2, vaso que contiene agua destinada a moderar las variaciones de temperatura del vaso V_3, que contiene el líquido albuminoso. — t_1, t_2, termómetros.

Para dosificar la fibrina que contiene una sangre determinada, se puede recoger la sangre en un frasco de cristal que contenga algunos fragmentos metálicos (granos de plomo, por ejemplo), pesado antes del experimento. Se cierra el frasco en seguida que se haya puesto la sangre y se agita vigorosamente para que la fibrina se pose en copos compactos. Se pesa el frasco y su contenido, y se deduce el peso de la sangre que se ha desfibrinado. Se decanta la sangre desfibrinada; se lava con agua ligeramente salada (1 por 100), para arrastrar la sangre desfibrinada que embebe la fibrina, hasta su completa decoloración; se pone sobre un filtro previamente pesado; se lava con agua y con éter; se deseca al 105-110° hasta que tenga el peso constante, y se pesa.

3. *¿Cuáles son las porpiedades de esta fibrina?*

La fibrina (tomando como tipo la fibrina de la sangre de caballo), tal como se obtiene por batido, es una substancia blanquecina, opaca, dura, elástica, filamentosa. Es insoluble en el agua pura; es muy poco soluble en las soluciones salinas neutras diluídas de cloruro sódico, de sulfato sódico, de sulfato de magnesia, etc., al 1 por 100, por ejemplo. Pero se disuelve bien y abundantemente en el fluoruro sódico al 1 por 100 y en el cloruro sódico al 5 y al 10 por 100, etc. Las fibrinas que se pueden extraer de las diversas especies animales no son idénticas verosímilmente: se diferencian principalmente por sus solubilidades en sus disolventes salinos; la fibrina del caballo es bastante fácilmente soluble; la del buey lo es mucho menos; la del perro lo es menos aún. Consideremos una solución fluorurada al 1 por 100 de fibrina. Esta solución es coagulable por el calor; es precipitada por diálisis, por dilución, por el cloruro sódico a saturación y por el sulfato de magnesia a saturación. El sulfato de magnesia a saturación la precipita totalmente de su solución. Estas propiedades pertenecen igualmente a las otras soluciones salinas de fibrina, en particular a las soluciones en cloruro sódico. La *fibrina* debe, pues, ser considerada como una *globulina*.

Si elevamos progresivamente la temperatura de una solución clorurada o fluorurada de fibrina, se mantiene clara hasta cerca de los 56°. A esta temperatura y dentro de la diferencia de 1° poco más o menos, se enturbia y se coagula. El líquido libre de este coágulo en copos puede ser calentado más allá de 56°, hasta los 64°, sin enturbiarse. A 64°, nueva turbiedad, que aumenta con la temperatura hasta los 72°. La fibrina, como el fibrinógeno, es, pues, desdoblada a los 56° en dos substancias albuminosas, una coagulada a los 56° y la otra coagulable a 64-72°.

La fibrina, por sus propiedades, se aproxima, pues, al fibrinógeno. Se distingue de él en que sus soluciones no son precipitadas más que parcialmente por el cloruro sódico disuelto a saturación en frío, mientras que las soluciones de fibrinógeno son totalmente precipitadas por esta sal en saturación.

El *suero sanguíneo*, o sea el líquido exudado por el coágulo, o el líquido que, después de desfibrinación de la sangre por el batido, tiene los glóbulos en suspensión y de los que puede ser separado por reposo o por centrifugación, es un líquido claro que se puede calentar hasta los alrededores de 65° sin que se enturbie. No contiene, pues, fibrinógeno. Contiene tres substancias albuminosas y un proteido.

1	Albúmina.	La *sueroalbúmina*.
2	Globulinas.	La *fibrinoglobulina*. La *sueroglobulina*.
1	Proteido	El *núcleoproteido del suero*.

La sueroalbúmina y la sueroglobulina existen en el plasma; la fibrinoglobulina, coagulable a los 65°, no existe en el plasma; aparece durante la coagulación en la sangre; es difícil de aislar y de caracterizar; bástenos el haber señalado su existencia.

Lo que se coagula en la sangre es el plasma; no son los glóbulos, porque si se separa el plasma de los glóbulos (sangre de caballo), sea por el procedimiento del enfriamiento, sea por el procedimiento de la yugular, sea por el procedimiento de los tubos parafinados, si se calienta el plasma, o se extrae de la vena, o se transvasa en un tubo no parafinado, se forma el coágulo; los glóbulos forman una masa viscosa que no contiene fibrina.

4. *¿Preexiste la fibrina en el plasma?*

No, porque el plasma no posee la propiedad de mantener en disolución la fibrina y no contiene en suspensión partículas sólidas capaces de formar la fibrina por una sencilla aglomeración, de lo que podemos convencernos por el examen microscópico. No, porque todas las substancias que se pueden extraer del plasma se diferencian de la fibrina; en particular, las diferentes globulinas que se pueden separar difieren de la fibrina, bien por su precipitabilidad total por el cloruro sódico a saturación (substancia fibrinógena), bien por su punto de coagulación (sueroglobulina) más elevado.

5. *¿Cuál es, dentro del plasma, la substancia albuminosa a expensas de la cual se produce la fibrina?*

Es el fibrinógeno. El plasma contiene fibrinógeno. El suero no lo contiene, puesto que se puede elevar su temperatura hasta 56° sin coagular: únicamente a partir de 64° es cuando empieza a enturbiarse; el suero no lo contiene, puesto que se le puede añadir un 15 por 100 de cloruro sódico, sin precipitar; el fibrinógeno ha desaparecido, pues, durante la coagulación de la sangre, y desaparecido totalmente. Por otra parte, si se prepara una yugular de caballo y se lleva esta yugular y su contenido a los 56°, el plasma extraído del vaso, libre del coágulo en copos producido a los 56°, no contiene ya fibrina. Por último, las soluciones de fibrinógeno, no conteniendo otras substancias proteicas, pueden producir fibrina en determinadas condiciones, mientras que no podían obtenerse con las soluciones de otras proteínas del plasma.

Recordemos también a este respecto que la fibrina y el fibrinógeno presentan propiedades bastante parecidas: estas dos

substancias pertenecen al grupo de las globulinas y son desdobladas a 56° en una substancia albuminosa coagulada y otra substancia albuminosa, que también es una globulina, coagulable a 64-72°.

6. *¿Cuáles son las relaciones del fibrinógeno y la fibrina?*

Tres hipótesis son posibles: 1.ª, o bien el fibrinógeno sufre una sencilla transformación isomérica, cambiando de propiedades sin cambiar de composición centesimal; 2.ª, o bien el fibrinógeno se combina con algún elemento del plasma sanguíneo; 3.ª, o bien el fibrinógeno es desdoblado en dos o más substancias.

Deben descartarse inmediatamente las dos primeras hipótesis. Efectivamente, si el fibrinógeno y la fibrina fuesen substancias isoméricas, el peso de la fibrina formada y el del fibrinógeno que la forma deberían ser iguales; si la fibrina resultase de la combinación del fibrinógeno con alguna otra substancia, el peso de la fibrina formada debería ser superior al peso del fibrinógeno que la forma. No ocurre así: el peso de la fibrina producida por un plasma coagulante es más pequeño que el peso del fibrinógeno contenido en este plasma, porque es más pequeño que el peso del coágulo obtenido llevando el plasma a los 56°, coágulo que por sí solo no representa más que una parte del fibrinógeno (1).

Esta inferioridad de peso de la fibrina no podría atribuirse, por otra parte, a una transformación incompleta del fibrinógeno en fibrina, porque, después de la coagulación, el suero no se coagula ya a los 56°; no empieza a enturbiarse hasta a partir de 64°; por consiguiente, no contiene ya rastro de fibrinógeno.

Por lo tanto, podemos decir que, en la coagulación, *el fibrinógeno sufre un desdoblamiento.*

Podemos encontrar aún otra prueba de este desdoblamiento en la presencia en el suero de una globulina coagulable a 64°, la fibrinoglobulina, que no existía en el plasma (2). En la coagulación el fibrinógeno es desdoblado.

(1) La fibrina no representa más que el 60 a 70 por 100 del fibrinógeno que la forma; se ha comprobado haciendo coagular soluciones de fibrinógeno puro.

(2) Se ha pretendido recientemente que la fibrinoglobulina preexiste en el plasma sanguíneo, y por consiguiente, que no puede ser resultado del desdoblamiento del fibrinógeno. También se habría podido, por medio de sales precipitantes convenientemente escogidas, separar del plasma un fibrinógeno que se transformaría en fibrina, sin dejar aparecer la fibrinoglobulina en el suero. Si es realmente así, la fibrinoglobulina no es el segundo término de desdoblamiento del fibrinógeno;

¿Es esto decir que la fibrina se produce por un sencillo desdoblamiento del fibrinógeno? De ninguna manera. Es posible que antes, durante o después de este desdoblamiento se produzca alguna combinación con algún elemento del plasma, sea el fibrinógeno, sea uno de los términos del desdoblamiento. Podemos decir que hay un desdoblamiento, pero no podemos decir que no ha habido más que desdoblamiento.

Hemos dicho constantemente desdoblamiento y no descomposición. En efecto. Los caracteres que actualmente nos permiten definir el fibrinógeno, la fibrina y la fibrinoglobulina, son caracteres físicos; no bastan, pues, para establecer que hay una diferencia química entre estas substancias. La expresión *desdoblamiento*, aplicable tanto en los casos de diferencias físicas como en los casos de descomposiciones químicas, debe ser la única a emplear si no se quiere ir más allá de los hechos observados. Es posible que en la formación de la fibrina se produzca un desdoblamiento puramente físico, tomando una parte del fibrinógeno las propiedades físicas de la fibrina, y la otra las propiedades físicas de la fibrinoglobulina, sin que haya un cambio de composición química; y esta última hipótesis es digna de tenerse en consideración, porque la proporción de fibrina producida por una cantidad dada de fibrinógeno no es constante: varía del 60 al 70 por 100 de la cantidad de fibrinógeno.

7. *¿Bajo qué influencia se produce esta transformación del fibrinógeno? ¿Es espontánea? ¿Es provocada? Y si es provocada, ¿por qué lo es?*

El desdoblamiento del fibrinógeno no es espontáneo, porque hay líquidos orgánicos—como los líquidos de los trasudados peritoneales y pericárdicos, los líquidos de hidrocele, etcétera—que presentan sensiblemente la misma constitución que el plasma sanguíneo, que, en particular, contienen fibrinógeno, sin tener la propiedad de coagularse espontáneamente. Se pueden obtener igualmente, mediante la sangre de caballo enfriada y filtrada en frío, mediante la sangre de perro o de conejo recogida en vasos parafinados, mediante la sangre de pájaro, plasmas no coagulables espontáneamente. Por último, las soluciones de fibrinógeno puro son particularmente estables y no se transforman espontáneamente. Por último,

pero no se puede poner en duda este desdoblamiento, porque el peso de la fibrina es inferior al peso del fibrinógeno que la forma. El segundo término del desdoblamiento estaría aún por determinar.

las soluciones de fibrinógeno puro son particularmente estables y no se transforman espontáneamente. Estos líquidos (exudados, soluciones de fibrinógeno o plasmas de sangre) no coagulables espontáneamente, aunque contengan fibrinógeno, se coagulan cuando se les añade sangre desfibrinada o suero sanguíneo. La sangre desfibrinada y el suero sanguíneo recién obtenidos contienen, pues, un *agente capaz de provocar la coagulación* de los líquidos que contienen fibrinógeno. ¿Cuál es este agente? Se ha pensado que podría ser una *diastasa*. Porque si se precipita por el alcohol fuerte la sangre desfibrinada o el suero sanguíneo se matiene en contacto con el alcohol durante varias semanas el precipitado producido, y si, después de haber desecado en el vacío el residuo, se pulveriza con una pequeña cantidad de agua, esta agua adquiere la propiedad de hacer coagular los líquidos que contienen fibrinógeno y no espontáneamente coagulables. El agente, contenido en la sangre desfibrinada y en el suero, capaz de provocar la coagulación de los exudados no espontáneamente coagulables, es, pues, precipitado por el alcohol y soluble en el agua; es, además, destruído por el calor, arrastrado por los precipitados en copos, fijado por la fibrina, etc.; en una palabra, se comporta de una manera general como una diastasa.

Se admite, pues, generalmente que la transformación del fibrinógeno en fibrina es provocada por una diastasa que se llama *fibrinofermento* o *trombina*. Asimismo se admite generalmente que la coagulación de la sangre es un fenómeno diastásico. Pero hay que reconocer que estas conclusiones no se imponen, porque no se ha demostrado que el fibrinofermento no desaparezca obrando, ni que la cantidad de fibrina producida sea independiente de la cantidad de fibrinofermento.

8. *¿Existe el fibrinofermento en la sangre en circulación? Si no existe, ¿de dónde proviene? ¿A expensas de cuáles elementos de la sangre se produce? ¿Por qué se produce?*

El fibrinofermento no existe en la sangre en circulación. Se pueden aportar numerosas pruebas.

Si se recoge sangre de pájaro mediante una cánula introducida en el vaso, se la puede conservar durante varios días sin coagularse. Si a esta sangre se añade suero sanguíneo o una solución de fibrinofermento, se coagula rápidamente. Es decir, que la sangre de pájaro no contiene fibrinofermento.

Si se recoge sangre de perro o de conejo en vasos parafinados, mediante una cánula y un tubo parafinados, se la

puede conservar sin coagularse. Si se añade a esta sangre una pequeña cantidad de suero sanguíneo recién obtenido o una solución de fibrinofermento, se determina la coagulación rápidamente. Es decir, que la sangre así obtenida no contenía fibrinofermento, ya que, capaz de coagular bajo la influencia de este agente, se mantenía líquida.

Supongamos que se hace llegar la sangre, al salir de los vasos, directamente a un gran exceso de alcohol (10 volúmenes de alcohol de 95 grados y un volumen de sangre, por ejemplo), y que después de haber mantenido en contacto con el alcohol durante varias semanas el precipitado formado, se intenta extraer el fibrinofermento (por desecación en el vacío y agotamiento por el agua); no se encontrará vestigio de él. Si, por el contrario, se recibe la sangre en un vaso rodeado de hielo para impedir la coagulación, y si después de algunos minutos, o mejor aún de algunas horas, se mezcla el alcohol, se puede obtener el fibrinofermento. O sea, que el fibrinofermento no existe en los vasos, sino que se produce fuera del organismo.

Si se recoge la sangre al salir de los vasos en una solución de fluoruro sódico, de manera que la mezcla contenga el 3 por 1.000 de esta sal, esta sangre no es espontáneamente coagulable. Pero se coagula añadiéndole pequeñísimas cantidades de suero sanguíneo o de fibrinofermento. No debe suponerse, por otra parte, que el fluoruro sódico destruya el fibrinofermento, porque si se fluorura suero al 3 por 1.000, este suero fluorurado conserva toda su actividad como agente coagulante de los líquidos que contienen fibrinógeno.

La sangre en circulación no contiene, pues, fibrinofermento.

Se llega a la misma conclusión por las siguientes consideraciones:

Si existiese el fibrinofermento en la sangre en circulación, pasaría verosímilmente a los exudados: el fermento amilolítico, cuya presencia en la sangre ha sido demostrada, se encuentra en todos los exudados, en los exudados pericárdicos y peritoneales, en el líquido de los hidroceles. ¿Por qué, si existiese el fibrinofermento en la sangre, no pasaría a los exudados? Siendo así que en ellos no se encuentra, ya que estos exudados no se coagulan espontáneamente, sino únicamente cuando se les añade el suero o el fibrinofermento, la sangre en circulación no contiene, pues, fibrinofermento.

El *fibrinofermento* no es producido ni por el plasma, ni por los glóbulos rojos; *es producido por los glóbulos blancos, o, más exactamente, por los elementos que constituyen en la sangre sedimentada la capa llamada capa de los glóbulos blancos* (1).

Suspendamos verticalmente una yugular de caballo; cuando el depósito de los glóbulos se ha producido, separemos mediante ligaduras una zona superior que no contenga más que plasma, una zona inferior conteniendo los glóbulos rojos y una zona media que contiene la capa de los glóbulos blancos, la parte inferior del plasma y la parte superior de los glóbulos rojos; añadamos un poco del líquido contenido en cada una de estas tres zonas, respectivamente, a tres muestras de un líquido de exudado no espontáneamente coagulable: los glóbulos rojos se muestran absolutamente inactivos, el plasma se muestra poco activo en extremo, y el líquido de la capa de los glóbulos blancos se muestra en extremo activo. Es, pues, a expensas de los elementos de la capa de los glóbulos blancos de la sangre, que se produce el fibrinofermento.

Veremos comprobada esta conclusión observando la marcha de la coagulación de la sangre del caballo, que se deja calentar después de haberla dejado posar a la temperatura de 0°. Cerca de la capa de los glóbulos blancos, en las capas inferiores del plasma, es donde aparecen los primeros filamentos de fibrina.

9. *El fibrinógeno del plasma sanguíneo y los glóbulos blancos, ¿son los únicos elementos de la sangre que juegan importante papel en la coagulación de la misma?*

No; *la presencia de las sales de cal* disueltas en el plasma es una *condición necesaria* para la coagulación de la sangre.

Cuando se precipitan en estado de compuestos insolubles las sales de cal de la sangre antes de la coagulación, la sangre no se coagula espontáneamente; añadiendo a la sangre el 1 por 1.000 de oxalatos alcalinos (el oxalato de calcio es insoluble), no se coagula. Si se vuelven a la sangre descalcificada, no coagulable espontáneamente, las sales de cal solubles, esta sangre se coagula como la sangre normal extraída directamente de los vasos. Por lo tanto, la presencia de las sales de cal disueltas en el plasma es una condición necesaria

(1) La linfa no contiene como elementos figurados más que glóbulos blancos; es espontáneamente coagulable. Los glóbulos blancos pueden producir, pues, fibrinofermento. Pero esto no prueba, por otra parte, el que otros elementos anatómicos no pueden producirlo.

para la coagulación. Se puede hacer coagular la sangre oxalatada añadiéndole cloruro de estroncio en lugar de sales de cal. Pero no se la puede hacer coagular por la adición de cloruro de bario o de magnesio.

No obstante, hay una objeción a resolver. Para precipitar las sales de cal de un líquido es necesario añadir un exceso de oxalato, o sea una cantidad mayor que la que es necesaria para formar el oxalato de cal precipitado. La sangre descalcificada no es, por lo tanto, únicamente descalcificada, sino que al mismo tiempo es oxalatada. Esta sangre no se coagula, ¿por qué? ¿Es porque es descalcificada? ¿Es porque es oxalatada? Sin duda alguna que, devolviéndole las sales de cal solubles, se le devuelve su coagulabilidad; pero la adición de estas sales de cal da como primer resultado el precipitar el exceso de oxalato, de manera que la sangre recalcificada es al mismo tiempo desoxalatada. La objeción subsiste, pues.

Supongamos que se ha preparado sangre oxalatada al uno por 1.000. A esta sangre, no coagulable espontáneamente, se añade el 2 por 1.000 de cloruro de magnesia: el exceso de oxalato no precipita, y la sangre queda no coagulable espontáneamente. Supongamos ahora que a esta sangre oxalatada y magnesiada se añaden vestigios de sales de cal disueltas, insuficientes para precipitar el exceso de oxalato del líquido (en presencia del cloruro magnésico, los vestigios de sales de cal no precipitan el oxalato); se comprueba la coagulación de la sangre. He aquí un caso en que la sangre ha podido coagularse a pesar del exceso de oxalato que contenía; no podemos, pues, decir que el exceso de oxalato la impide coagularse.

Supongamos ahora que se somete a la diálisis en presencia de agua clorurada sódica al 9 por 1.000, sangre oxalatada al 1 por 1.000, y que se renueva frecuentemente el agua salada de la diálisis hasta que no quede oxalato en la sangre sometida a la diálisis; se comprueba que esta sangre no se coagula a pesar de haber sido desoxalatada. Pero coagula muy bien si se le añaden pequeñísimas cantidades de sales de cal disueltas.

Por lo tanto, *la sangre oxalatada no se coagula espontáneamente, porque ha sido descalcificada.*

10. El fenómeno de la coagulación de la sangre es un fenómeno complejo: *hay producción de fibrinofermento; hay transformación del fibrinógeno por el fibrinofermento; hay precipitación de la fibrina formada.*

¿En qué fase o en cuáles fases intervienen las sales solubles de cal?

No es en la transformación del fibrinógeno en fibrina ni en la precipitación de la fibrina formada. Porque si a una solución de fibrinógeno que no contenga sales de cal se añade una solución de fibrinofermento que no contenga sales de cal (y hasta oxalatada), se produce fibrina típica; porque si a sangre oxalatada se añade suero fresco (el suero fresco contiene fibrinofermento) oxalatado, se determina la coagulación típica.

Las sales de cal intervienen, pues, en la producción del fibrinofermento.

Supongamos que se ha preparado una sangre oxalatada, y que por centrifugación se han separado los glóbulos del plasma oxalatado. Este plasma no es espontáneamente coagulable, *pues no contiene fibrinofermento.* Pero coagula por la adición de un exceso de sales de cal solubles; contiene, pues, una substancia capaz de transformarse en fibrinofermento por la acción de las sales de cal: *contiene un profibrinofermento o protrombina.*

Por consiguiente, puede afirmarse que las sales de cal de la sangre no intervienen en la formación del profibrinofermento secretado por los glóbulos blancos fuera de los vasos, sino únicamente en la transformación del profibrinofermento en fibrinofermento.

Resumiendo: *los glóbulos blancos, fuera de los vasos sanguíneos, poseen la propiedad de dejar en el plasma una substancia, el profibrinofermento* (1), *que es transformado en fibrinofermento cuando está en presencia de las sales de cal disueltas en el plasma. Este fibrinofermento desdobla el fibrinógeno disuelto en el plasma sanguíneo en dos substancias: una que se precipita, la fibrina y otra que queda en solución en el suero, la fibrinoglobulina.*

(1) Actualmente hay la tendencia a admitir que esta conclusión debería ser modificada como sigue: Los glóbulos blancos no secretan un profibrinofermento transformable en fibrinofermento en presencia de las sales de cal solubles en el plasma sanguíneo; los glóbulos blancos vierten en el plasma sanguíneo una cinasa (las cinasas son substancias capaces de transformar, en medios de composición conveniente, los profermentos en diastasas), la trombocinasa, que formaría el fibrinofermento a expensas del trombógeno contenido en el plasma sanguíneo; la transformación del trombógeno en fibrinofermento no se produciría más que en presencia de las sales de calcio solubles.

. El *trombógeno* se denomina también *protrombina* o también *plasmocimo* o *serocimo*. La *trombocinasa* se denomina también *citocimo*.

11. Hay substancias que aceleran y substancias que retardan (y aun a dosis conveniente impiden) la transformación del profibrinofermento en fibrinofermento producido por las sales de cal. Entre las substancias que aceleran esta fransformación se pueden indicar las maceraciones de tejidos en el agua salada y algunas ponzoñas de serpientes (veneno de víbora de Rusell, por ejemplo); entre las substancias que la retardan y aun la impiden se pueden señalar los venenos de las serpientes del grupo de las cobras.

Supongamos, en efecto, que a un volumen dado de un plasma oxalatado añadimos cierto volumen ora de agua salada, ora de extracto de órganos, ora de veneno de víbora de Rusell o de veneno de cobra, luego igual volumen de una solución de cloruro de calcio; se comprueba que la coagulación se acelera por los extractos de órganos y por el veneno de la víbora de Russell y se retarda por el veneno de la cobra. Por otra parte se puede demostrar que estos diversos líquidos no llevan fibrinofermento (no hacen coagular un líquido fibrinogenado estable) o algunas substancias que favorecen o dificulten la acción del fibrinofermento sobre el fibrinógeno (no modifican la duración de la coagulación de un líquido fibrinogenado tratado por una solución de fibrinofermento) (1).

12. *Existen substancias capaces de impedir la acción del fibrinofermento sobre el fibrinógeno o por lo menos de retardarla.*

Cuando se inyectan en las venas algunas substancias, entre las cuales las principales son las proteosas, el suero de anguila, algunos venenos como el del *crotalus adamanteus* o de la víbora de Europa y, en general, las proteínas tóxicas, se convierte a la sangre en no coagulable espontáneamente. Cuando se inyectan en las venas del conejo ciertas substancias tóxicas, por ejemplo, suero de anguila y el veneno de crotalus adamanteus se hace a la sangre menos coagulable de lo que era antes de la inyección. Estudios de orden fisiológico permiten afirmar que, bajo la influencia de las substancias inyectadas, el organismo ha secretado una substancia dotada de propiedades anticoagulantes capaz de oponerse a la acción del fibrinofermento o disminuir su potencia, y poseyendo las propiedades que la aproximan al grupo de los encimoides, un *antifibrinofermento* o *antitrombina* (1).

(1) Como fibrinofermento se puede emplear suero sanguíneo fresco, o más cómodamente una solución diluída de ponzoña de serpiente de cascabel o de trigonocéfalo, que están dotados de propiedades fibrinofermento.

Se puede buscar la presencia del fibrinofermento de un líquido y dosificarlo. Para reconocer el fibrinofermento hay que fundarse en la propiedad que posee de hacer coagular las soluciones de fibrinógeno puro, los líquidos de exudados serosos, los plasmas de la sangre fuertemente magnesiada después de dilución, los plasmas de la sangre fluorurada al 3 por 1.000 y todos los líquidos no coagulables espontáneamente y únicamente coagulables por la adición de fibrinofermento. Para dosificar el fibrinofermento de un líquido orgánico, o, más exactamente, para comparar las proporciones de fibrinofermento de dos líquidos orgánicos, hay que fundarse en los hechos siguientes: Si a volúmenes iguales de plasma de sangre de perro, fluorurado al 3 por 1.000, se añaden cantidades crecientes de un mismo líquido que contenga fibrinofermento, con tal de que estas cantidades sean pequeñas, la cantidad de fibrina producida después de un tiempo dado crece con la cantidad de fibrinofermento añadida. Bastará, pues, en una serie de tubos que contengan un mismo volumen de plasma de sangre de perro florurada al 3 por 1.000, añadir cantidades crecientes de cada uno de los dos líquidos y determinar a las veinticuatro horas, por ejemplo, las cantidades equivalentes, sea pasando la fibrina producida, sea más sencillamente por simple examen *visual*.

III. — AZUCAR DE LA SANGRE

La sangre contiene un azúcar en solución en el plasma.

Para poner en evidencia el azúcar de la sangre se libra este líquido de las substancias albuminosas y de las materias colorantes que contiene.

Supongamos que se lleve a la ebullición sangre adicionada del 1 por 1.000 de ácido acético: las substancias albuminosas son coaguladas, las materias colorantes son descompuestas y precipitadas. El líquido, libre del coágulo que se ha producido, es incoloro y transparente: contiene todas las substancias no coagulables de la sangre.

Este líquido, reducido a un pequeño volumen por evaporación, posee un *poder rotatorio a la derecha, reduce el licor de Fehling y fermenta por la levadura de cerveza*, dando alcohol y gas carbónico. Contiene *un azúcar*; este azúcar puede

(1) Los extractos de cabezas de sanguijuela y la hirudina son funcionalmente equivalentes a este antifibrinofermento.

ser la glicosa o la maltosa, porque estos dos azúcares poseen la triple propiedad física, química y biológica que acabamos de encontrar en el extracto de sangre. Hemos indicado en el estudio de los azúcares el medio de distinguir la maltosa de la glicosa (pág. 89): una solución de maltosa hervida con un ácido diluído (1 a 2 por 100 de ácido sulfúrico, por ejemplo), aumenta su poder reductor sensiblemente en una proporción de 1 a 2, y reduce su poder rotatorio en la proporción de 3 a 1; una solución de glicosa, hervida con un ácido diluído, conserva sus poderes reductor y rotatorio. El extracto de sangre se comporta como la solución de glicosa. *El azúcar de la sangre es, pues, la glicosa.* Por otra parte se ha podido aislar, partiendo de la sangre, la glicosa que contiene bajo la forma de fenilglicosazona, con su color, su forma cristalina, su punto de fusión y sus solubilidades características.

Se *dosifica*, en general, el *azúcar de la sangre* mediante la reducción del licor de Fehling. Esta reducción debe hacerse en los líquidos transparentes y no albuminosos: transparentes, porque no es posible observar exactamente la decoloración del licor de Fehling en un líquido opaco, y principalmente en un líquido rojizo; no albuminoso, porque en presencia del álcali cáustico contenido en el licor de Fehling, las substancias albuminosas podrían formar amoníaco que dificultaría los resultados del análisis. Es necesario, pues, preparar un extracto de sangre: *dos procedimientos principales* han sido propuestos: 1.°, el procedimiento *por la ebullición con el sulfato de sosa;* 2.°, el procedimiento *por la ebullición con el agua acidulada.*

En el *primer procedimiento*, la sangre es recibida sobre cristales de sulfato de sosa: pesos iguales de sulfato de sosa y de sangre; se lleva la mezcla a la ebullición hasta que la masa no presente coloración ni reflejos rojos; se completa el peso primitivo con una cantidad de agua conveniente para reemplazar el agua volatilizada. Se obtiene de esta manera un líquido sulfatado que se retira del coágulo albuminoso por presión mediante la prensa de mano de Cl. Bernard (figura 53). Experimentos directos enseñan que 25 c. c. de sangre dan un promedio de 40 c. c. de este líquido sulfatado. Conociendo la cantidad de azúcar contenida en el líquido sulfatado, se puede, por una fácil proporción aritmética, determinar la cantidad de azúcar de la sangre.

En el *segundo procedimiento* la sangre se mezcla con 6 u 8 volúmenes de agua acidulada al 1 por 1.000 por el ácido acético, y la mezcla se lleva a la ebullición; el coágulo producido por la ebullición es hervido dos veces con el mismo volumen de agua acidulada al 1 por 1.000 y se reúnen los tres líquidos: estos líquidos contienen la totalidad del azúcar que se puede extraer de la sangre. Se concentra por la ebullición; se termina la coagulación de las substancias albuminosas que pueden aún contener, haciéndolos hervir con una pequeña cantidad de acetato de hierro (el cual por la ebullición determina la coagulación total de las substancias albuminosas naturales coagulables, descomponiéndose él mismo en ácido acético volátil y en subacetato de hierro insoluble). Y por último, después de haber neutralizado, si hay lugar a ello, se reduce el líquido a un pequeño volumen: cuatro veces el volumen de la sangre empleada.

Cualquiera que sea el procedimiento que se siga, se tiene un líquido que contiene azúcar y que puede ser sometido al análisis de reducción. Para esta determinación se emplea el licor de Fehling adicionado de potasa en fuerte proporción, o mejor el licor de Fehling ferrocianurado al 2 por 100; en uno y en otro caso, el óxido de cobre producido no se precipita: el líquido se descolora, pasando del azul al amarillo pálido. Se determina la cantidad del líquido azucarado que es preciso emplear para producir exactamente un volumen dado de licor de Fehling, y se conoce la cantidad de azúcar de la sangre (1).

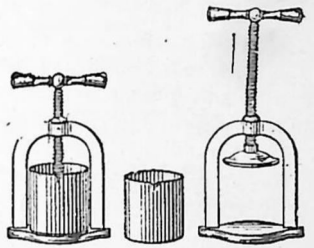


Fig. 53. — Prensa de mano de Cl. Bernard.

En estos procedimientos de dosificación se supone que la sangre no contiene más que glicosa como substancia reductora. No hay duda de que la mayor parte de las substancias reductoras de la sangre están representadas por glicosa, como puede comprobarse por la relación del peso de la substancia reductora total con el precipitado de fenilglicosazona; pero es probable, o por lo menos posible, que la sangre contenga, además de glicosa, pequeñas cantidades de otras substancias reductoras que en los análisis fisiológicos no se toman en consideración.

La cantidad de azúcar contenida normalmente en la sangre de los mamíferos, y en particular en el hombre, está comprendida entre 1 gramo y 1,50 gramos por litro de sangre. Cuando la cantidad de azúcar llega a 2 gramos, 3 gramos y más por litro de sangre, se dice que hay *hiperglicemia;* y cuando la cantidad de azúcar de la sangre es inferior a 1 gramo por litro, se dice que hay *hipoglicemia.*

Cuando se quiere determinar la cantidad de azúcar contenida en la sangre de un animal, hay que practicar la dosifica-

(1) Estos procedimientos no son verdaderamente de un rigor absoluto; pero parecen suficientes para resolver la mayor parte de los problemas que se presentan al fisiólogo, y tienen sobre los procedimientos más perfectos propuestos por los químicos la doble ventaja de la sencillez y de la rapidez de ejecución.

ción del azúcar inmediatamente después de extraer la sangre. Porque si se conserva la sangre durante algún tiempo fuera de los vasos, ya sea a 40°, ya sea a la temperatura ordinaria de los laboratorios, el azúcar desaparece poco a poco: hay *glicólisis*. Esta glicólisis se produce en la sangre fuera del organismo, por la acción de un agente cuyas propiedades se asemejan a las de las diastasas: el *fermento glicolítico*, derivado de los elementos de la capa de los glóbulos blancos de la sangre.

Se puede impedir la producción de esta glicólisis por diferentes procedimientos:

a. Por enfriamiento de la sangre;

b. Por adición de una fuerte cantidad de sales neutras a la sangre (8 a 10 por 100 de sulfato de sosa, o de sulfato de magnesia, o de cloruro sódico, etc.);

c. Por adición a la sangre del 2 por 1.000 de fluoruro sódico en el momento que sale de los vasos;

d. Por ebullición de la sangre.

Si se quiere conservar la sangre sin que disminuya su azúcar; si, por ejemplo, se quiere dosificar el azúcar de la sangre mucho tiempo después de haberla obtenido, es necesario recurrir a uno de estos procedimientos.

El azúcar de la sangre, extraído por uno de los procedimientos que se acaban de indicar, ¿proviene de la descomposición de combinaciones complejas, producida por los reactivos empleados para extraer el azúcar de la sangre? No parece verosímil, porque si se somete a la diálisis una cantidad de sangre desfibrinada, en presencia de agua salada al 1 por 100, el azúcar pasa al líquido exterior con la misma rapidez y en las mismas proporciones que si estuviese libre. Por lo tanto, tenemos que admitir que el azúcar existe en la sangre en estado de libertad química.

Algunos autores afirman que, además del azúcar libre, existe en la sangre azúcar débilmente combinado, disimulado en las moléculas complejas, de donde se podría liberar mediante delicadas acciones químicas, como las hay en fisiología; y proponen que hay que tener en cuenta en los análisis este *azúcar virtual*. Actualmente está bien demostrado que este azúcar virtual no existe y que los autores que admiten su existencia se fundan en análisis equivocados. No hay duda de que se podrían libertar hidratos de carbono, hidrolizando las proteínas de la sangre, reduciéndolas a sus componentes más sencillos; pero en este caso se trataría de intervenciones químicas que

no tienen nada de común con los fenómenos que ocurren en el organismo.

Se ha buscado en la sangre normal la presencia del *glicógeno*. Empleando los procedimientos ordinarios para la investigación de este cuerpo, los resultados han sido negativos. Unicamente empleando procedimientos particularmente largos y delicados, se ha podido poner en evidencia en la sangre la presencia de pequeñísimas cantidades de glicógeno, 0,010 gramos por litro de sangre, poco más o menos.

Este glicógeno, por otra parte, no estaría disuelto en el plasma sanguíneo, sino fijo en los glóbulos blancos, donde se puede poner de manifiesto por la reacción yodoyodurada (pág. 96).

IV. — DIASTASAS DE LA SANGRE

Se han encontrado en la sangre normal, o en el suero normal, dos diastasas principales: 1.°, una *diastasa amilolítica* o amilasa, capaz de sacarificar el almidón y el glicógeno y de transformarlos en dextrinas, maltosa y glicosa: la posibilidad de obtener la glicosa con esta amilasa, ya que las amilasas de la cebada en germinación, de la saliva y del jugo pancreático no producen más que la maltosa, ha conducido a admitir en la sangre la existencia de una *maltasa* capaz de transformar la maltosa en glicosa, y de una *amilasa* propiamente dicha que produce dextrinas y maltosa; 2.°, una diastasa que desdobla la monobutirina de la glicerina en glicerina y ácido butírico, una *monobutirinasa*, que no ejerce, contra lo que se había creído, ninguna acción sobre las grasas neutras naturales, formadas por los triglicéridos de los ácidos oleico, palmítico y esteárico.

V. — GLOBULOS ROJOS

Los *glóbulos rojos* de la sangre están formados esencialmente por una trama incolora, el estroma globular, impregnada de pigmento rojo.

Son relativamente escasos en agua, conteniendo solamente el 60 por 100. El pigmento representa por lo menos las ocho décimas partes del residuo seco de los glóbulos rojos.

El estroma está constituído por una o varias substancias de naturaleza proteica, pertenecientes al grupo de los núcleoproteidos. En los mamíferos, cuyos glóbulos no son nucleados,

no se encuentran en estos estromas más que núcleoproteidos; en las aves, cuyos glóbulos son nucleados, se encuentran a la vez núcleoproteidos y nucleínas.

El volumen de los glóbulos sanguíneos es variable; depende de la naturaleza y de la composición del líquido en que están sumergidos: las soluciones acuosas de sales neutras muy diluídas hinchan los glóbulos; las soluciones acuosas de sales neutras concentradas los encogen.

Si se mezcla, pues, sangre totalmente desfibrinada con soluciones acuosas de sales neutras, se podrá, según la composición de estas soluciones, aumentar, disminuir o no modificar el volumen de los glóbulos sanguíneos. Las soluciones que no modifican el volumen de los glóbulos (hay una concentración que responde a este desiderátum, variable para cada sal neutra) son *isotónicas* al suero sanguíneo; las soluciones que disminuyen el volumen de los glóbulos son *hipertónicas* al suero sanguíneo, y las soluciones que aumentan el volumen de los glóbulos son *hipotónicas* a dicho suero.

VI. — PIGMENTOS DE LA SANGRE

La sangre es coloreada de rojo por dos substancias colorantes muy semejantes una a la otra, la *oxihemoglobina*, de color rojo vivo, y la *hemoglobina*, de color rojo obscuro; la primera puede ser obtenida por oxidación de la segunda, y la segunda, por reducción de la primera. (L. col. IV, figs. J_1, J_2.)

Estas materias colorantes, aunque solubles en el plasma sanguíneo, no están normalmente disueltas en él: están fijadas sobre los glóbulos rojos, como una tintura, y muy sólidamente fijadas, para que el plasma no contenga vestigios en solución.

Por diferentes procedimientos se puede romper esta unión de los glóbulos y las materias colorantes y hacer pasar las materias colorantes en solución al plasma: es lo que se llama *lacar la sangre* o *hematolizar la sangre*. Los procedimientos que se emplean generalmente consisten:

1.° En adicionar a la sangre o los glóbulos separados del suero algunos volúmenes de agua destilada (2 a 5 volúmenes por ejemplo) (1).

(1) Si se añade a la sangre desfibrinada un volumen igual de agua destilada, una parte, pero una parte solamente, del pigmento sanguíneo que abandona los glóbulos rojos se disuelve en el líquido. Si se añaden a la sangre desfibrinada dos volúmenes de agua destilada, la totalidad del pigmento se disuelve en el líquido; los estromas descolorados que han quedado en suspensión pueden reunirse y apretarse en el fondo del líquido por la centrifugación. Si se añaden a la sangre desfibrinada 4 ó 5 volúmenes de agua destilada, los glóbulos rojos se disuelven totalmente (pigmento y estroma) en el líquido.

2.° En añadirle éter (1/20 a 1/10 del volumen de la sangre) en pequeñas porciones, y agitar la mezcla de sangre y éter, después de cada adición de éter.

3.° En enfriar la sangre o los glóbulos rojos separados del suero hasta la congelación y recalentarlos bruscamente.

4.° En tratar la sangre, o los glóbulos rojos separados del suero, por un suero hematolítico correspondiente (véase Capítulo VII, pág. 188), o por una ponzoña en cantidad conveniente (ponzoña de cobra, de botrops, crótalo, etc.).

La hemoglobina no es estable si no está resguardada del oxígeno; así que se pone en contacto con una atmósfera que contenga oxígeno, se transforma en oxihemoglobina por fijación de este gas. La sangre fuera de los vasos, desfibrinada y agitada en el aire, absorbe oxígeno; su hemoglobina es oxidada, transformada en oxihemoglobina. Esta última substancia es estable en presencia del aire, a la presión ordinaria de la atmósfera: por esta causa se han hecho con la oxihemoglobina los primeros y, sobre todo, más numerosos estudios.

A) Oxihemoglobina y hemoglobina

1. — Oxihemoglobina

La *oxihemoglobina* ha podido prepararse pura y *cristalizada*.

Para obtener esta substancia es conveniente separar los glóbulos del plasma o del suero mediante el reposo o por centrifugación, lavarlos con una solución de cloruro sódico o de sulfato sódico al 1 por 100, para que esta solución arrastre las substancias albuminosas, y hematolizarlos añadiéndoles un poco de agua o un poco de éter (1). A la solución de oxihemoglobina así obtenida, enfriada a 0°, se le añade un cuarto de su volumen de alcohol enfriado a 0° y se desciende la temperatura de la mezcla a —10°. Después de algunas horas se ven posarse los cristales de oxihemoglobina.

(1) Se añaden el agua y el éter por pequeñas porciones, agitando cada vez, hasta que la hemólisis está hecha.

Se obtienen mejores resultados procediendo de la manera siguiente: Después de lavados los glóbulos con agua salada como más arriba se indica, se les agita vigorosamente durante dos horas con copos de asbesto. Mediante este tratamiento la oxihemoglobina se separa de los glóbulos y se disuelve en el agua salada en que estaban en suspensión después del lavado; los estromas globulares se reúnen con el asbesto: filtrando con papel, se obtiene una solución de oxihemoglobina. Esta solución se introduce en un intestino dializador, y éste se sumerge en alcohol al 45 por 100. Se lleva todo junto a la nevera y se deja hasta que empiezan a posarse los cristales de oxihemoglobina (unas 24 horas). Entonces se coloca el contenido del dializador en un vaso, que se lleva a un recinto que esté por debajo de 0°: allí termina la cristalización. Para purificar los cristales, se los redisuelve en una pequeñísima cantidad de agua a 37°, se dializa a 0° en presencia de alcohol al 45 por 100 y se continúa como se ha indicado. Los cristales separados del líquido por filtración se desecan sobre un plato poroso, y después en el vacío en presencia del cloruro de calcio.

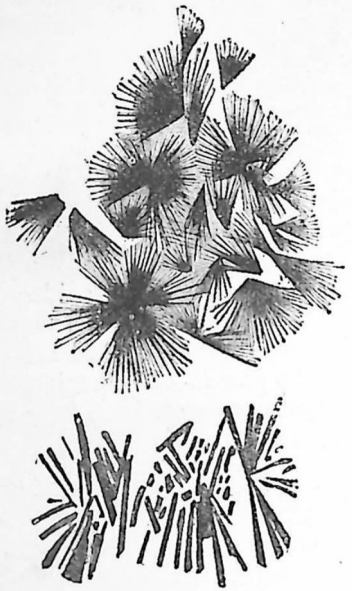


Fig. 54. — Cristales de hemoglobina y de oxihemoglobina del perro (según Hénocque).

Los cristales de oxihemoglobina nunca son muy voluminosos; alguna vez son visibles a simple vista y mejor con la lupa, pero generalmente hay que examinar sus formas geométricas con el microscopio.

Cuando no hay precisión de obtener la oxihemoglobina pura, sino que únicamente se quieren observar los cristales de esta substancia, basta mezclar volúmenes iguales de sangre desfibrinada y de una solución de fluoruro sódico al 2 por 100, y dejar la mezcla a la temperatura ordinaria durante ocho o diez días. Cuando se manipula con la sangre de cobayo, ratón, perro, caballo, estas mezclas, que son imputrescibles, gracias al fluoruro de sodio (el fluoruro sódico al 1 por 100 impide todo desarrollo microbiano), se llenan de preciosos cristales de oxihemoglobina perfectamente regulares. Los resultados son todavía mejores si se hace llegar la sangre arterial a un vaso en que se ha puesto una cantidad de fluoruro de sodio en polvo suficiente para que la mezcla contenga el 2 por 100 aproximadamente, y si se agita con fuerza para asegurar la disolución rápida del fluoruro (la sangre no se coagula); esta sangre fluorada dejada en reposo se llena de cristales de hemoglobina al cabo de algunos días.

Otro procedimiento muy recomendable consiste en introducir en un dializador sangre hematolizada (por el éter) y sumergirlo en un vaso que contenga alcohol diluído de 25 a 40 grados). El alcohol se mezcla a la solución de oxihemoglobina por la diálisis, y se forma el precipitado cristalino.



Fig. 55. — Cristales de oxihemoglobina del conejo (según Hénocque).

La oxihemoglobina preparada purulenta es una substancia de un rojo pardo, soluble en el agua y en las soluciones salinas diluídas (formando soluciones coloradas de un rojo obscuro) e insoluble en el alcohol. La oxihemoglobina es una *substancia ferruginosa;* está formada de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y hierro.

¿Son idénticas las diferentes oxihemoglobinas separadas de la sangre de diferentes animales?

No, por cinco razones principales.

1.° Las oxihemoglobinas de las diferentes sangres *no cristalizan con la misma facilidad:* las oxihemoglobinas de las sangres de cobayo, ardilla, perro y caballo cristalizan fácilmente; las oxihemoglobinas de las sangres humana, de buey y de cerdo cristalizan difícilmente.

2.° Las oxihemoglobinas de las diferentes sangres no *cristalizan en la misma forma:* los cristales de la sangre de cobayo son tetraedros, los de la sangre de ratón son octaedros, los de la sangre de perro y de gato generalmente son largos prismas de cuatro caras laterales, los de la sangre de caballo son muchas veces cortos prismas ortorrómbicos, los de la sangre humana son microscópicas agujas rómbicas. Los cris-

tales de todas estas sangres son del sistema del prisma ortorrómbico; pero la sangre de ardilla forma unas tabletas de seis caras pertenecientes al sistema romboédrico. Por lo tanto, no solamente las diferentes oxihemoglobinas no cristalizan en la misma forma, sino que una de ellas pertenece a un sistema cristalino diferente del que comprende todas las otras (1).

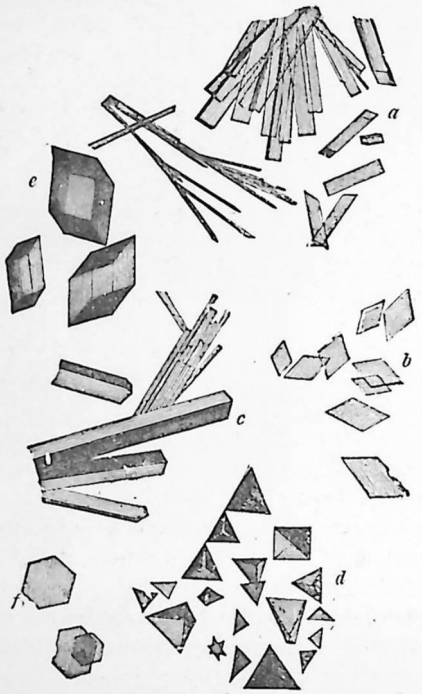


Fig. 56. — Cristales de hemoglobina: *a* y *b*, humana. — *c*, de gato. — *d*, de conejillo de Indias. — *e*, de caballo. — *f*, de ardilla.

3.° Las diferentes oxihemoglobinas *no contienen la misma proporción de agua de cristalización:* por ejemplo, los cristales de la sangre de perro contienen de 3 a 4 por 100; los del cobayo el 7 por 100; los de la ardilla el 9,4 por 100 de agua de cristalización.

4.° La *solubilidad* de las diferentes oxihemoglobinas *no es la misma.* Los cristales del pato son muy solubles en el agua, los del caballo lo son menos, los del perro y de la ardilla menos aún, y los de ratón y del cobayo son difícil y relativamente poco solubles.

5.° Por último, *la proporción del hierro* contenido en las diferentes oxihemoglobinas, sin presentar diferencias muy grandes, *no es rigurosamente la misma:* varía de 0,34 a 0,47 por 100. Estas variaciones no pueden atribuirse, por otra parte, a una cantidad mayor o menor de agua de cristalización, porque la relación del hierro con el azufre varía de 0,38 a 0,88, y la del hierro con el nitrógeno, de 0,020 a 0,027, según el origen del producto. Ejemplos:

POR 100 DE OXIHEMOGLOBINA	N	A	H	$\frac{H}{A}$	$\frac{H}{N}$
Perro.	16,38	0,57	0,34	0,60	0,021
Gato	16,52	0,62	0,35	0,56	0,021
Caballo.	17,31	0,65	0,47	0,72	0,027
Buey	17,70	0,45	0,40	0,88	0,022
Cerdo.	17,43	0,48	0,40	0,83	0,023
Cobayo.	16,78	0,58	0,48	0,83	0,028
Ardilla.	16,09	0,59	0,40	0,67	0,024
Gallina.	16,45	0,86	0,34	0,38	0,020
Pato	16,21	0,54	0,43	0,79	0,026

De todas estas razones (1) se puede sacar la conclusión de que *las diferentes oxihemoglobinas* separadas de la sangre de los diferentes animales *no son idénticas.*

Sin embargo, *las diferentes oxihemoglobinas no se diferencian profundamente* las unas de las otras, en cuanto a su constitución química. Tenemos una doble prueba de ello:

1. Más adelante veremos que bajo la influencia de ciertos agentes, la oxihemoglobina se *descompone* en una substancia ferruginosa, la *hematina.* Cualquiera que sea la oxihemoglobina que se considere, la hematina producida se presenta siempre con las demás propiedades (composición, solubilidades, espectro de absorción), y, por consiguiente, puede ser considerada siempre como la misma substancia. *Hay varias oxihemoglobinas y solamente una hematina.*

2. La oxihemoglobina presenta un *espectro de absorción característico, el mismo* para todas las oxihemoglobinas.

Observando al espectroscopio una solución de oxihemoglobina de un centímetro de espesor, que contenga el 1 por 1.000 de oxihemoglobina, se comprueba que toda la porción violada del espectro es absorbida (2); además, se comprueba la existencia de dos bandas de absorción muy claras, muy marcadas, comprendidas dentro de la región amarilloverdosa del espectro, entre las rayas D y E del espectro solar; una algo más

(1) Después de muchas cristalizaciones, la oxihemoglobina de ardilla deja de formar las tabletas hexagonales: entonces se presenta bajo la forma de prismas o de tetraedros rómbicos. Esta oxihemoglobina sería, pues, dimorfa, y una de sus formas pertenecería al sistema ortorrómbico, como todas las oxihemoglobinas conocidas.

(1) Las oxihemoglobinas de los mamíferos no son fosforadas: son compuestos que contienen probablemente un ácido nucléico y núcleooxihemoglobinas.

(2) Esta solución absorbe igualmente los rayos ultraviolados.

obscura y algo más estrecha cerca de la raya D, la otra algo más clara y algo más ancha cerca de la raya E (1).

Suponiendo la solución examinada de 1 centímetro de espesor, cuando el contenido de la solución aumenta progresiva-

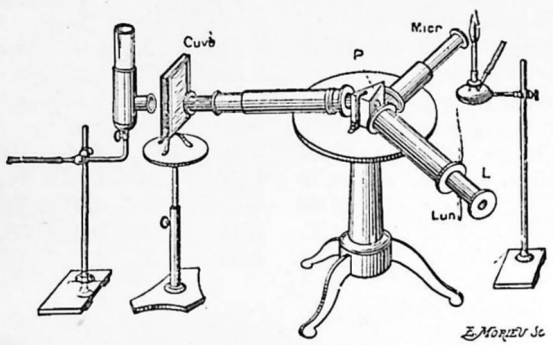


Fig. 57. — Examen de la sangre al espectroscopio.

mente en oxihemoglobina, se ve llegar la absorción poco a poco sobre la región índigo, y después sobre la región azul del espectro; al mismo tiempo las dos bandas de absorción se



Fig. 58. — Espectro de absorción de la oxihemoglobina.
B, C, D, etc., representan la posición de las rayas del espectro solar.

ensanchan poco a poco, se extienden la una sobre la otra por una parte, y hacia las rayas D y E por la otra (L. col. I, fig. I).

Cuando la solución contiene 3,7 por 1.000 de oxihemoglobina, las regiones violada e índigo y la mitad por lo menos de la región azul (hasta la mitad del espacio que separa las rayas F y G del espectro) son absorbidas; las dos bandas de

(1) El promedio de estas bandas de absorción corresponde a longitudes de onda de 578 por la primera y de 542 por la segunda.

Estas dos bandas de absorción son aún visibles, aunque muy atenuadas, cuando se examina en un espesor de 1 centímetro una solución acuosa que contenga el 1 por 10.000 de oxihemoglobina. Por lo tanto, el método espectroscópico proporciona un medio extremadamente sensible para reconocer la presencia de la oxihemoglobina.

absorción se ponen en contacto exactamente, la primera con la raya D, y la segunda con la raya E.

Cuando la cantidad de oxihemoglobina disuelta va aumentando hasta llegar a 6,5 por 1.000, toda la región azul, índigo y violada, a partir de la raya F, es absorbida; las dos bandas de absorción se confunden en una banda única, cuyos bordes llegan más allá de la raya D hacia el rojo, y más allá de la raya E hacia el extremo verde; al mismo tiempo, el extremo rojo es también absorbido.

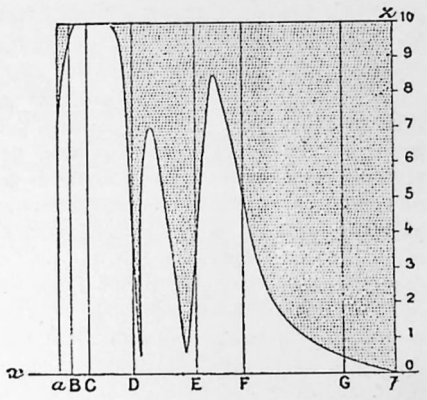


Fig. 59. — Cuadro que representa los espectros de absorción de una solución de oxihemoglobina examinada en un espesor de un centímetro. B, C, D..., son las rayas del espectro solar. En la ordenada *hz* se han indicado los contenidos en oxihemoglobina de la solución examinada. Para saber el espectro de absorción de una solución de oxihemoglobina que contenga *n* por 1.000 de pigmento disuelto, basta trazar la paralela a *xy* por la división *n* de la ordenada *hz*.

Por último, si la solución contiene 8,5 por mil de oxihemoglobina, se comprueba una absorción total de toda la región del espectro, desde el anaranjado hasta el violado, y de toda la región del extremo rojo: el rojo y el rojo anaranjado no son absorbidos.

Si hemos descrito con tantos detalles los espectros de absorción de las soluciones de oxihemoglobina examinadas en un espesor de 1 centímetro siempre, es debido a que hay la costumbre de decir que la oxihemoglobina está caracterizada por un espectro de dos bandas comprendidas entre las rayas D y E del espectro solar. Verdaderamente es así, pero solamente para las soluciones convenientemente diluídas, para las soluciones que contienen de 1 a 6 por 1.000 de oxihemoglobina.

Como todas las oxihemoglobinas dan, bajo la influencia de ciertos agentes destructores, la misma hematina, y como todas presentan el mismo espectro de absorción, no se puede admitir una gran diferencia en su composición química. Este último carácter, la absoluta semejanza de los espectros de absorción, tiene un gran valor demostrativo, porque es

sabido que hay substancias que pueden presentar espectros de absorción claramente distintos (como la oxihemoglobina y la hemoglobina, por ejemplo), a pesar de diferenciarse muy poco en cuanto a su composición química (1).

Se puede concluir con certeza que las diferentes oxihemoglobinas poseen todas en común por lo menos el agrupamiento atómico al cual deben sus propiedades de absorción de la luz.

El conocimiento de este espectro de absorción de la oxihemoglobina presenta otro interés: permite demostrar que la *oxihemoglobina preparada pura*, la oxihemoglobina de la que acabamos de indicar algunas propiedades, *es realmente la materia colorante* o por lo menos una materia colorante extremadamente próxima de la *que tiñe los glóbulos rojos de la sangre en circulación*. Efectivamente, si se examina al microscopio (microscopio provisto como ocular de un pequeño espectroscopio de visión directa), en un animal vivo, un vaso sanguíneo de una membrana delgada, un vaso de la lengua, de la pata, del pulmón de la rana, o un vaso del mesenterio del conejo, o un vaso del ala o de la oreja del murciélago, etc., se ven, si el vaso tiene las dimensiones convenientes, las dos bandas de absorción de la oxihemoglobina. Por lo tanto, la materia colorante de la sangre en circulación es la misma que la que hemos estudiado, después de haberla preparado pura, o, a lo menos, se diferencia tan poco, que el espectro de absorción no es modificado.

La oxihemoglobina es notable porque posee a la vez propiedades cristaloides y propiedades coloides. Como los cristales, puede ser obtenida en forma cristalina; como los coloides, no es dializable; como los coloides también, es parcialmente retenida en los filtros de porcelana deslustrada.

2. — Hemoglobina

Hemos dicho que la sangre contiene dos materias colorantes, la oxihemoglobina y la hemoglobina. Se puede pasar de la oxihemoglobina a la hemoglobina por reducción, y de la hemoglobina a la oxihemoglobina por oxidación. Sometiendo a la acción del vacío una solución de oxihemoglobina, se obtiene una solución de hemoglobina; reduciendo por el hidro-

(1) Sin embargo, no hay que exagerar el valor de este hecho, porque existen también substancias manifiestamente muy diferentes que presentan los espectros de absorción muy semejantes, si no idénticos. Es sabido, por ejemplo, que la oxihemoglobina y el picrocarminato amónico tienen el mismo espectro de absorción.

sulfito de sosa o por el sulfhidrato amónico una solución de oxihemoglobina, se obtiene una solución de hemoglobina.

Por último, en la sangre abandonada a la putrefacción, substraída a la acción del aire, la totalidad del pigmento sanguíneo se encuentra en estado de hemoglobina que se conserva inalterada durante semanas y meses.

La *hemoglobina* es una substancia soluble en el agua y en las soluciones salinas neutras diluídas, insoluble en el alcohol, no diferenciándose de la oxihemoglobina más que por el oxígeno de menos.

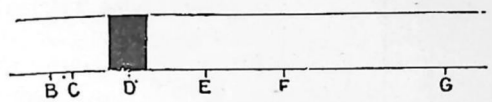


Fig. 60. — Espectro de absorción de la hemoglobina. B, C, D, etc., representan las rayas del espectro solar.

Se puede obtener fácilmente bajo la forma cristalina, partiendo de los glóbulos de la sangre de caballo. Se hemoliza esta sangre por la adición de dos volúmenes de agua, y se deja esta mezcla a la putrefacción. Entonces se añade un cuarto de su volumen de alcohol fuerte y se deja en un sitio fresco. Se posan los cristales brillantes negruzcos en forma de tabletas hexagonales regulares, visibles a simple vista, destruyéndose rápidamente al contacto del aire, del que absorben el oxígeno para formar la oxihemoglobina.

La hemoglobina se caracteriza por su *espectro de absorción*. Una solución de hemoglobina que contenga el 1 por 1.000 de hemoglobina, examinada en un espesor de 1 centímetro, absorbe el extremo rojo por una parte, y la mitad del azul, el añil y el violado, por la otra; su espectro presenta una banda de absorción única, ancha, comprendida entre las rayas D y E del espectro solar, algo más cerca de la D que de la E.

Esta banda de absorción de la hemoglobina se denomina a menudo *banda de Stokes*.

Suponiendo las soluciones examinadas de 1 centímetro de espesor:

Para una solución que contenga el 3 por 1.000 de hemoglobina, la banda de absorción ocupa todo el espacio comprendido entre las rayas D y E (L. col. I, fig. III).

Para una solución que contenga el 10 por 1.000 de hemo-

globina, el rojo es absorbido hasta la raya B del espectro solar; el violado, el añil y la mayor parte del azul son igualmente absorbidos; por último, la banda de absorción se extiende desde la raya D hasta la raya E del espectro solar; solamente quedan dos fascículos luminosos, comprendidos: el primero, rojo anaranjado, entre las rayas B y D; el segundo, azul, cerca y algo más allá de la raya F.

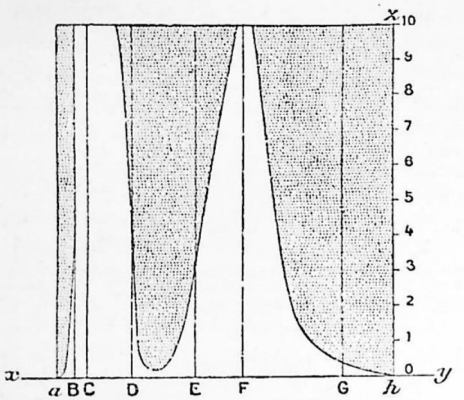


Fig. 61. — Cuadro que representa los espectros de absorción de una solución de hemoglobina examinada bajo un espesor de un centímetro. — B, C, D..., rayas del espectro solar. En la ordenada *hz* están indicados los contenidos en hemoglobina de la solución examinada. Para tener el espectro de absorción de una solución de hemoglobina que contenga *n* por 1.000 de pigmento disuelto, basta trazar la paralela a *xy*, por la división *n* de la ordenada *hz*.

El espectro de la hemoglobina se caracteriza, pues, por la existencia de una banda de absorción situada en las regiones D-E del espectro, para una conveniente concentración de la solución, independientemente de las absorciones producidas sobre las dos extremidades del espectro.

3. — Dosificación de las materias colorantes de la sangre

En general se *dosifica* la materia colorante de la sangre *en estado de oxihemoglobina*. Hay muchos procedimientos para esta dosificación. Se fundan en las propiedades siguientes de la oxihemoglobina. La oxihemoglobina es:

1.°, una materia *colorante* (L. col. IV, J_1, J_2);

2.°, una substancia que *absorbe* ciertas radiaciones luminosas;

3.°, una substancia oxigenada *disociable;*

4.°, una substancia *ferruginosa*.

1. Para dosificar la cantidad de materia *colorante* contenida en un líquido, se pueden seguir los *procedimientos* llamados *colorimétricos*. Primeramente se preparan una serie de soluciones tituladas de la substancia colorante que hay que dosificar, soluciones cada vez más ricas en substancia disuelta, y se compara la solución analizada con los diferentes grados de esta serie, en cuanto a la intensidad de la coloración.

Supongamos, por ejemplo, que se han preparado una serie de soluciones de oxihemoglobina, que contengan el 1, 2, 3... por 1.000 de oxihemoglobina, y que el líquido sanguíneo analizado (es conveniente hematolizarlo previamente para que la tintura sea igual) tenga una coloración de la misma intensidad que la solución que contiene 7 por 1.000 de oxihemoglobina; se sacará la conclusión de que este líquido contiene el 7 por 1.000 de oxihemoglobina. En lugar de preparar cada vez una solución titulada de oxihemoglobina, se emplean una serie de vidrios rojos de oxihemoglobina, más o menos colorados, correspondiendo cada uno de los términos de esta serie, como tintura, a las soluciones de oxihemoglobina que contienen una proporción dada de esta materia colorante y examinadas bajo un determinado espesor, el mismo bajo el que se examina el líquido que se analiza.

Los *colorímetros* son unos aparatos que permiten hacer esta comparación con la mayor facilidad y mucha exactitud.

Supongamos que se tiene una solución titulada de oxihemoglobina (conteniendo el 1 por 100 de este pigmento, por ejemplo) y que se vierte una pequeña cantidad de ella en el recipiente C. Se desciende el cilindro T hasta que la capa del líquido colorado comprendida entre el fondo del recipiente y la base del cilindro T tenga un determinado espesor (1 centímetro, por ejemplo), conocido con exactitud por la lectura sobre la graduación que lleva el aparato. La solución a examinar se vierte (diluída si es necesario, para que la coloración sea de diferente intensidad que la de la solución titulada) en el recipiente C′, y se hace mover el cilindro de vidrio T′, hasta que las dos partes del campo visual del aparato tengan la misma intensidad luminosa, después de atravesar las dos soluciones respectivamente. Se conoce, por la lectura de la segunda graduación, el espesor de la capa líquida atravesada por la luz en el segundo recipiente, que es, por ejemplo, 1,5 centímetros. Se saca la conclusión de que esta segunda solución contiene en un espesor de 1,5 centímetros tanta oxihemoglobina como la primera contiene en el espesor de 1 centímetro. Si la primera es, pues, al 1 por 100, la segunda es al 1 : 1,5 por 100.

Los procedimientos colorimétricos no dan resultados muy exactos, porque es imposible apreciar las mismas diferencias de coloración. En general bastan para la clínica, y permiten

hacer las mediciones con cantidades insignificantes de sangre, puesto que el examen colorimétrico puede ser fácilmente realizado con la sangre diluída al quincuagésimo o al centésimo.

2. La oxihemoglobina, substancia que *absorbe* ciertas radiaciones luminosas, puede ser dosificada *espectrofotométri-*

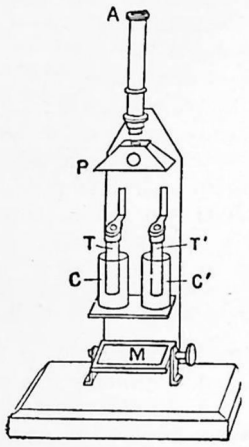


Fig. 62

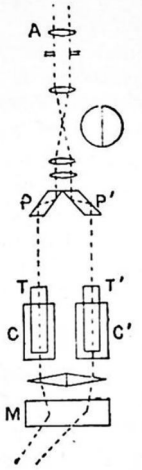


Fig. 63

Fig. 62. — Colorímetro. C, C', recipientes destinados a recibir los líquidos colorados para examinar. — T, T', cilindros de vidrio terminados en dos caras planas que se pueden levantar o descender, para modificar el espesor de la capa líquida situada entre su cara plana inferior y el fondo de la cubeta: una graduación sobre el bastidor del aparato indica este espesor. — P, sistema de prismas de reflexión total destinado a acercar y a yuxtaponer dentro del campo de la lente A los rayos luminosos después de atravesar los líquidos. — M, espejo plano para alumbrar. — Fig. 63. — Marcha de los rayos luminosos dentro del colorímetro.

camente. Las investigaciones espectrofotométricas consisten esencialmente en determinar la cantidad de una luz absorbida por la solución, examinada en un espesor dado. Hay aparatos de diferentes modelos, fundados en principios diferentes, que permiten conocer la cantidad de luz absorbida; son los *espectrofotómetros*. Conocida la cantidad de luz absorbida por una solución dada, se puede, mediante sencillas fórmulas, calcular la cantidad de materia colorante contenida en la solución, si se ha determinado, una vez para todas, el coeficiente de absorción de esta substancia.

Los procedimientos espectrofotométricos permiten también, en una mezcla de oxihemoglobina y hemoglobina, calcular las cantidades respectivas de oxihemoglobina y hemoglobina. Son los únicos procedimientos que permiten actualmente hacer esta determinación. Basta determinar la cantidad de luz absorbida por la solución mixta para dos radiaciones luminosas diferentes; esto permite escribir dos ecuaciones de dos incógnitas, suficientes para calcular las cantidades de hemoglobina y oxihemoglobina.

2 *bis*. Del procedimiento espectrofotométrico se deriva el *procedimiento hematoscópico*. Consiste en determinar el espe-

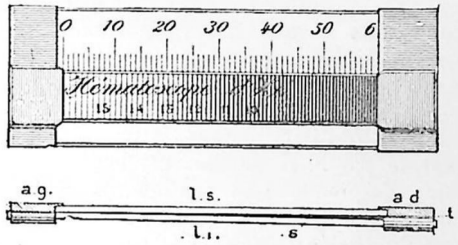


Fig. 64. — Hematoscopio de Hénocque. La lámina inferior *li* está separada de la lámina superior *ls* por un espacio prismático representado en negro. La lámina inferior lleva en sus dos extremidades dos corchetes de latón. El de la izquierda *ag.* mantiene las láminas en contacto; el de la derecha *ad* lleva un talón *t* que determina la separación de las láminas.

sor mínimo bajo el que se debe examinar una solución de oxihemoglobina o de sangre diluída y hematolizada para observar las dos bandas características de la oxihemoglobina que se presentan bajo la misma anchura y con la misma intensidad, claramente separadas por una zona francamente más iluminada. El espesor de las dos soluciones en las que se manifiesta el fenómeno es inversamente proporcional a las cantidades de oxihemoglobina disueltas en un mismo volumen de las dos soluciones. Prácticamente se emplea el aparato llamado *hematoscopio*, formado por dos láminas de vidrio de 60 milímetros de longitud, en contacto por una extremidad y distantes por la otra de 300 μ, comprendiendo así entre ellas un espacio angular en el cual se hace penetrar la sangre obtenida por picadura (5 ó 6 gotas para llenar el aparato), o bien la sangre diluída con algunos volúmenes de agua destilada y luego hematolizada. Se coloca el aparato delante de un es-

pectroscopio, y mejor delante de un microespectroscopio (1), y se determina el espesor mínimo en el que el espectro presenta claramente las dos bandas iguales en anchura y en intensidad, separadas por un intervalo francamente iluminado. Se puede emplear también la solución titulada tipo, y se tienen todos los elementos para calcular el contenido en oxihemoglobina de la sangre diluída y hematolizada. Este procedimiento es poco preciso, porque la determinación del punto en el cual se manifiesta el *fenómeno de las bandas* es muy difícil. Es insuficiente para las investigaciones precisas, pero es conveniente en clínica porque solamente se necesitan cantidades insignificantes de sangre.

3. Supongamos que se ha agitado vigorosamente la sangre en contacto del aire: toda la materia colorante pasa al estado de oxihemoglobina, salvo una fracción despreciable. Supongamos que por un procedimiento cualquiera se provoca la *disociación* de esta oxihemoglobina y que se recoge el oxígeno puro puesto en libertad; se puede determinar la cantidad de oxihemoglobina, ya que 1 gramo de oxihemoglobina desprende 1,58 centímetros cúbicos de oxígeno, medido a la temperatura de 0° y a la presión de 760 milímetros.

Para hacer esta medición se somete la sangre, previamente batida al aire, a la *acción del vacío a la temperatura de 100°:* el oxígeno procedente de la disociación de la oxihemoglobina es puesto en libertad, lo mismo que el oxígeno disuelto en la sangre. Sabiendo la cantidad disuelta normalmente en la sangre (cálculo que se ha hecho una vez para siempre de una manera sensiblemente exacta), por la diferencia se conocerá la cantidad de oxígeno procedente de la disociación de la oxihemoglobina; por consiguiente, se podrá calcular la cantidad de esta última substancia.

4. La materia colorante de la sangre es la única substancia *ferruginosa* contenida en este líquido; si se determina, pues, la *cantidad de hierro* contenida en un volumen dado de sangre, se podrá calcular la cantidad de oxihemoglobina contenida en dicho volumen de sangre, si se ha determinado, una vez para siempre, antes, la proporción de hierro contenida en un peso dado de oxihemoglobina del animal considerado (véase pág. 227). La oxihemoglobina humana contiene 0,42 por 100 de hierro.

Para conocer los procedimientos de análisis del hierro hay que consultar los tratados de química analítica, que indican algunos que

(1) El microespectroscopio es un microscopio cuyo ocular está reemplazado por un pequeño espectroscopio de visión directa.

suministran resultados muy precisos. Frecuentemente los biólogos, con el fin de simplificar estos procedimientos, adoptan una técnica colorimétrica, pero entonces pierden en exactitud lo que ganan en simplicidad.

Los biólogos colocan en una cápsula de platino una pequeña cantidad de sangre exactamente medida, la desecan y la incineran: entonces el hierro queda en estado de óxido férrico. Añaden sulfato ácido de potasa y calcinan: el óxido férrico es transformado en sulfato férrico. Tratan el residuo por el agua caliente, acidulan por el ácido clorhídrico y añaden sulfocianuro amónico. Se produce una coloración rojiza cuya intensidad se compara con la obtenida en análogas condiciones mediante una solución titulada de sulfato férrico. Se deduce fácilmente la cantidad de hierro en la sangre analizada.

Cualquiera de estos procedimientos que se siga (1), pero principalmente con el *procedimiento espectrofotométrico* o con el *procedimiento de la dosificación del hierro*, o sea con los procedimientos exactos, se encuentran en 100 gramos de sangre humana 12 a 15 gramos de hemoglobina, un promedio de 13,5 gramos.

Esta materia colorante constituye la mayor parte del glóbulo rojo, ya que 100 partes en peso de glóbulos rojos desecados contienen en el hombre unas 90 partes de hemoglobina; por lo tanto, la materia colorante constituye las 9 décimas partes del glóbulo rojo, prescindiendo del agua que entra en la composición del glóbulo.

4. — Metahemoglobina

La oxihemoglobina no es el único compuesto oxigenado de la hemoglobina: hay otro, que es la *metahemoglobina*.

La metahemoglobina se produce a expensas de la hemoglobina bajo la influencia de algunos agentes oxidantes, ferrocianuro de potasio, permanganato potásico, nitrito potásico, nitrito de amilo, clorato de sosa, anilina, antifebrina, etc.; inversamente, bajo la influencia de algunos agentes reductores, la metahemoglobina produce la hemo-

(1) De estos procedimientos, hay dos muy precisos: el procedimiento espectrofotométrico y el procedimiento por dosificación del hierro (por lo menos cuando el hierro es dosificado en peso por procedimientos químicos rigurosos); pero su realización exige una educación técnica especial que no poseen generalmente más que los físicos y los químicos. Los procedimientos colorimétrico, hematoscópico y por dosificación del hierro (procedimiento colorimétrico) dan resultados mucho menos precisos; pero como que generalmente bastan para las investigaciones de los biólogos, son los procedimientos de elección. El procedimiento por determinación del oxígeno disociable es poco exacto y se necesita emplear una gran cantidad de sangre.

globina. Pero, por una parte, la metahemoglobina no se produce por la acción directa del oxígeno atmosférico, y, por otra parte, no es disociable.

Además, se ha podido comprobar que cuando se hacen obrar los agentes oxidantes metahemoglobinizantes sobre la oxihemoglobina, se produce primeramente una reducción de la oxihemoglobina al estado de hemoglobina con liberación del oxígeno disociable, y que la oxidación metahemoglobinizante no constituye más que la segunda fase de la reacción. Si se hacen obrar los mismos agentes sobre la carboxihemoglobina (resultante de la substitución de la molécula disociable de oxígeno de la oxihemoglobina por una molécula de

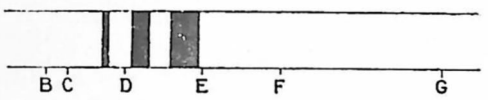


Fig. 65. — Espectro de absorción de las soluciones alcalinas de metahemoglobina.

óxido de carbono), en la primera fase hay desprendimiento de óxido de carbono, y en la segunda, oxidación y transformación en metahemoglobina. Estos hechos establecen claramente que la metahemoglobina es un óxido de hemoglobina estable, diferenciándose profundamente de la oxihemoglobina, y no una oxihemoglobina oxidada.

La metahemoglobina se produce cuando se añaden a una solución de oxihemoglobina, o a sangre hematolizada, algunas gotas de una solución concentrada de ferricianuro potásico (cianuro rojo). Cuando se opera con una solución pura de oxihemoglobina, si después de la adición del ferricianuro potásico se enfría a 0° y se añade un cuarto de volumen de alcohol enfriado a 0°, la metahemoglobina se posa en forma cristalina. La metahemoglobina de cobayo se presenta bajo la forma de tetraedros; las de ratón y de ardilla, bajo la forma de placas hexagonales.

Las *soluciones acuosas de metahemoglobina* presentan un *espectro de absorción* de tres bandas: una dentro del rojo entre C y D, las otras dos entre las rayas D y E del espectro solar. (L. col. I, fig. IV.)

Las soluciones de metahemoglobina, adicionadas de amoníaco, presentan igualmente tres bandas, situadas sensiblemente en las mismas regiones del espectro, siendo las dos primeras algo más próximas hacia el violado.

5. — Hemoglobinas oxicarbonada y oxinitrogenada

La *hemoglobina* forma con el *óxido de carbono* una combinación resultante de la unión directa de una molécula de hemoglobina con una molécula de óxido de carbono, o sea de la substitución de la molécula de oxígeno disociable de la oxi-

hemoglobina por una molécula de óxido de carbono, y por consiguiente de la substitución de un volumen de oxígeno por un volumen igual de óxido de carbono. Es la *hemoglobina oxicarbonada o la carboxihemoglobina.*

Esta combinación no es disociable (1) ni a 15 ni a 40°; por consiguiente, la *sangre oxicarbonada* o una solución de *hemoglobina oxicarbonada* no se descomponen al contacto del aire a estas temperaturas. Esta combinación, por otra parte, es más estable que la oxihemoglobina, de tal manera que la sangre o una solución de oxihemoglobina dejadas en contacto de una atmósfera que contenga la proporción normal de oxígeno (y, por consiguiente, una atmósfera en la que la oxihemoglobina no se disocia) y pequeñísimas cantidades de óxido de carbono, absorben este gas: la oxihemoglobina es transformada en hemoglobina oxicarbonada.

El conocimiento de estos hechos permite comprender cómo muere un animal dentro de una atmósfera que contenga cantidades relativamente débiles de óxido de carbono: el óxido de carbono es absorbido lentamente por la hemoglobina, pero como la hemoglobina forma con él una combinación no disociable, toda la hemoglobina así saturada de óxido de carbono es hemoglobina que no sirve para la fijación y el transporte del oxígeno.

La fijación del óxido de carbono sobre la materia colorante de la sangre es, fisiológicamente, equivalente a una sangría.

La *hemoglobina oxicarbonada* se obtiene *cristalizada* mediante los procedimientos empleados para preparar la oxihemoglobina cristalizada, pero partiendo de la sangre oxicarbonada; las formas cristalinas son las mismas que las de la oxihemoglobina correspondiente; los cristales de oxihemoglobina y los de carboxihemoglobina son isomorfos.

La *hemoglobina oxicarbonada* presenta un *espectro de absorción* muy semejante al espectro de absorción de la oxihemoglobina; este espectro presenta dos bandas de absorción situadas entre las rayas D y E del espectro solar, sensiblemente en las mismas zonas que las rayas de la oxihemoglo-

(1) No es exacto, en rigor, decir que la carboxihemoglobina no es disociable. Efectivamente, es muy poco disociable a la temperatura del cuerpo, pero su tensión de disociación es tan débil, que prácticamente se puede admitir en las observaciones de corta duración (una o algunas horas) que es nula. Sin embargo, la existencia de esta muy débil tensión de disociación permite comprender cómo el organismo viviente acaba, al cabo de algunos días, por librarse del óxido de carbono que estaba fijado sobre una parte de su pigmento sanguíneo.

bina, pero no obstante ligeramente apartadas hacia la extremidad violada del espectro (1). (L. col. I, fig. II.)

Tratada por los agentes reductores y en particular por el sulfhidrato amónico, la hemoglobina oxicarbonada no se transforma en hemoglobina; conserva su espectro de absorción. En las mismas condiciones, la oxihemoglobina es reducida, y su espectro de dos bandas es substituído por un espectro de una sola banda.

La *hemoglobina* forma con el *bióxido de nitrógeno* una combinación, la *hemoglobina oxinitrogenada* o *nitroxihemoglobina*. Esta combinación es más estable que la hemoglobina oxicarbonada: se produce cuando se hace pasar una corriente de bióxido de nitrógeno por una solución de hemoglobina oxicarbonada. No se puede producir la hemoglobina oxinitrogenada por la acción directa del bióxido de nitrógeno sobre la sangre oxigenada, porque en presencia del oxígeno el bióxido de nitrógeno produce, como es sabido, vapores nitrosos, que alteran profundamente la materia colorante de la sangre.

Esta hemoglobina oxinitrogenada se obtiene *cristalizada:* sus cristales presentan las mismas formas que los de la hemoglobina oxicarbonada y de la oxihemoglobina correspondientes: su *espectro de absorción* es, como los espectros de estas dos últimas substancias, un espectro de dos bandas comprendidas entre D y E.

Por último, se conoce una *cianhemoglobina* resultante de la fijación del cianógeno sobre la hemoglobina. Se produce cuando se hace pasar una corriente de cianógeno gaseoso por una solución de hemoglobina, o cuando se calienta a 40° una solución de hemoglobina con una solución diluída de ácido cianhídrico.

El cianógeno no substituye directamente ni al óxido de carbono en la carboxihemoglobina, ni al bióxido de nitrógeno en la nitroxihemoglobina.

B. — *Productos de la descomposición de los pigmentos sanguíneos*

Entre las substancias que se pueden obtener partiendo de la materia colorante de la sangre, hay dos que tienen una importancia considerable desde el punto de vista del conocimiento de la constitución de la hemoglobina y de sus relaciones con otras materias colorantes del organismo: la *hematina* y la

(1) El promedio de las bandas de absorción de la carboxihemoglobina corresponde a las longitudinales de onda de 572 y 536. Hemos notado anteriormente que el promedio de las bandas de absorción de la oxihemoglobina corresponde a las longitudes de onda 578 y 542.

hematoporfirina; hay otras, como la *hemina* y la *hematoidina*, que tienen igualmente algún interés desde el punto de vista fisiológico y médico. Estudiaremos sumariamente estas diferentes substancias.

1. Hematina y hemina

Si se somete durante algún tiempo a una temperatura de 80° una solución de oxihemoglobina o de sangre, la oxihemoglobina es transformada en metahemoglobina, y ésta es descompuesta en una substancia albuminosa coagulada y una materia colorante parda, la *hematina*.

Si se trata por el *alcohol* una solución de oxihemoglobina, esta materia colorante es precipitada sin descomposición; pero si se tiene durante algún tiempo la oxihemoglobina precipitada en contacto con el alcohol, el precipitado se vuelve moreno; se produce un desdoblamiento en substancia albuminosa coagulada y *hematina*.

Cuando se hace obrar sobre la oxihemoglobina el *jugo gástrico* o el *jugo pancreático*, esta materia colorante es descompuesta en una substancia albuminosa, que sufre las transformaciones digestivas gástricas o pancreáticas y *hematina*. Por esto se encuentra la hematina en los excrementos, ya sea después de una alimentación que contenga sangre, ya sea después de hemorragias gástricas o intestinales.

Estas diferentes reacciones enseñan que la *oxihemoglobina* debe ser considerada como una *proteína conjugada*, resultante de la combinación de una substancia albuminosa, llamada *globina*, y la *hematina*. La oxihemoglobina de caballo produce el 94 por 100 de su peso de globina, 4,5 por 100 de hematina y 1,5 por 100 de substancias diversas.

La *globina* puede ser obtenida de la manera siguiente: a una solución acuosa (pobre en sales) de oxihemoglobina, se añade una solución muy diluída de ácido clorhídrico hasta que esté disuelto el precipitado formado por la adición de las primeras gotas; después se añade al líquido 1/5 de su volumen de alcohol al 80 por 100 y 1/2 volumen de éter, y se agita: la hematina pasa en solución al éter; la globina queda en el líquido acuoso. Se precipita la globina por neutralización mediante el amoníaco.

La *globina* es una substancia proteica, insoluble en el agua, soluble en los ácidos muy diluídos (ácido clorhídrico, ácido acético), o en los álcalis fijos muy diluídos (sosa, potasa) insoluble en el amoníaco, etc. En una palabra, presenta las propiedades de las histonas.

La *hematina* preparada pura deja por la calcinación un residuo de óxido de hierro: es, pues, una substancia *ferruginosa*; su fórmula es $C^{32}H^{32}N^4FeO^4$. Es una substancia insoluble en el agua, en el alcohol, en el éter; soluble en el agua alcalinizada, pero insoluble en el agua acidulada; soluble en el alcohol y en el éter acidificados.

Las *soluciones alcalinas de hematina* están *caracterizadas espectroscópicamente* por un espectro de absorción de una

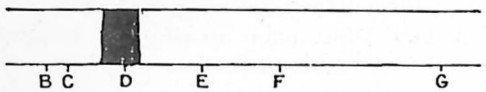


Fig. 66. — Espectro de absorción de las soluciones alcalinas de hematina.

banda mal limitada encima de la raya D del espectro solar; sus *soluciones ácidas* (en alcohol que contenga ácido sulfúrico, por ejemplo) están caracterizadas por cuatro bandas situadas dentro del anaranjado, el amarillo, el verde y el verde azul: la primera muy clara, las tres restantes poco distantes generalmente. (L. col. I, fig. V, y L. col. IV, fig. J_3.)

Para preparar esta hematina pura se emplean los cristales de hemina o clorhidrato de hematina (cuya manera de obtenerlos acabamos de indicar). Se disuelven estos cristales



Fig. 67. — Espectro de absorción de las soluciones ácidas de hematina.

en una solución diluída de potasa, y se trata esta última por el ácido clorhídrico diluído: la hematina, insoluble en el agua acidulada, se precipita en copos pardos, que se lavan con agua hirviendo.

Supongamos que se ha librado al plasma o al suero de los glóbulos rojos que en él flotan por decantación y lavados repetidos con agua salada, que se disuelven estos glóbulos con agua o con éter, que se añaden a esta solución globular 20 volúmenes de ácido acético glacial y que se deja dos horas al baño de María hirviendo. Se produce un depósito azul negro formado de cristales microscópicos, insolubles en el agua, insolubles en los ácidos diluídos, insolubles en el alcohol, éter

y cloroformo. Son los cristales de hemina, llamados también *cristales de Teichmann*. Mediante lavados con agua, alcohol y éter, se les puede librar de los vestigios del líquido en que se han formado.

Estos cristales así preparados, que afectan generalmente la forma de tabletas romboédricas alargadas, a menudo en grupos,

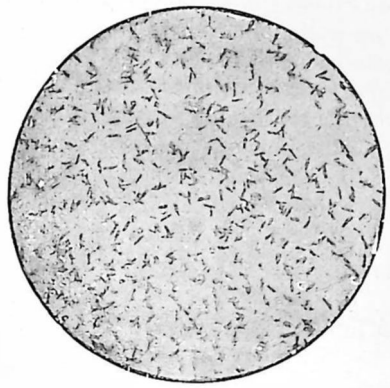


Fig. 68. — Cristales de hemina (fotografía de una preparación).



Fig. 69. — Cristales de Teichmann (hemina o clorhidrato de hematina).

son solubles en los álcalis cáusticos diluídos. Estas soluciones neutralizadas por un ácido diluído precipitan la hematina.

La fórmula de la *hemina* es $C^{32}H^{32}N^4FeO^4HCl$: es el *clorhidrato de hematina*.

La hemina presenta cierto interés práctico: permite determinar la verdadera naturaleza de las *manchas antiguas de sangre*. Supongamos que tenemos una cantidad de sangre desecada: se pulveriza con una pequeñísima cantidad de cloruro sódico, y se humedece el polvo así obtenido con ácido acético glacial; se calienta ligeramente, evitando llegar a la temperatura de ebullición del ácido acético (hasta que el polvo rojizo se disuelva formando un líquido violado o azulado), y se deja enfriar. Examinando al microscopio, se reconoce la presencia de cristales de hemina, que se han producido a expensas de la materia colorante de la sangre desecada.

2. — Hematoporfirina

Cuando se tratan la hematina o la hemina por el ácido clorhídrico fumante, o por el ácido sulfúrico concentrado, o

por el ácido acético glacial saturado de ácido bromhídrico, son descompuestas: el hierro se separa fijado por el ácido mineral, y la hematina es transformada en otra *materia colorante, no ferruginosa, la hematoporfirina.*

La hematoporfirina, con estos procedimientos de preparación, se obtiene disuelta en los ácidos: para obtenerla precipitada, basta diluir con agua destilada estas soluciones ácidas. Se puede obtener igualmente en soluciones alcalinas. Las soluciones ácidas son de color de púrpura; las soluciones alcalinas son de un bonito color rojo; las soluciones ácidas presentan un espectro de absorción de dos bandas; las soluciones alcalinas, un espectro de cuatro bandas. (L. col. I, figura VII.)

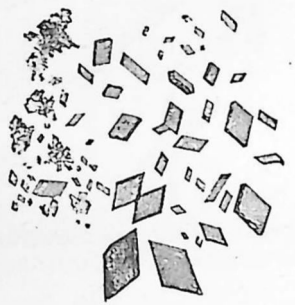


Fig. 70.—Cristales de hematoidina.

La hematoporfirina tiene por fórmula

$$C^{23}H^{36}N^4O^6 \text{ o } C^{16}H^{18}N^2O^3.$$

Esta es la misma fórmula de la bilirrubina, una de las materias colorantes de la bilis. La *hematoporfirina* no es idéntica a la bilirrubina, pero *es isómera de la bilirrubina.*

En el organismo se puede observar en algunos casos una transformación de la materia colorante de la sangre en bilirrubina: en los antiguos extravasados sanguíneos se ha observado frecuentemente la presencia de tabletas cristalinas rombales anaranjadas. A la substancia así cristalizada se la llamaba *hematoidina;* pero se ha reconocido que esta hematoidina es idéntica a la bilirrubina.

Estos hechos son interesantes de conocer: así se puede llegar artificialmente a obtener, a expensas de la oxihemoglobina, una materia colorante isómera de la bilirrubina, siendo la bilirrubina una materia colorante producida por el organismo a expensas de la oxihemoglobina.

Hemos estudiado los principales productos de la descomposición de la oxihemoglobina. Resguardada del oxígeno, la hemoglobina da una serie de productos de descomposición análogos: en particular, en lugar de obtener la hematina, se obtiene el *hemocromógeno* (bajo la influencia de los agentes oxidantes este hemocromógeno se transforma en hematina, e, inversamente, bajo la influencia de los agentes reductores, la hematina se transforma en hemocromógeno). (L. col. I, figura VI.)

Recientemente se han podido establecer relaciones químicas muy

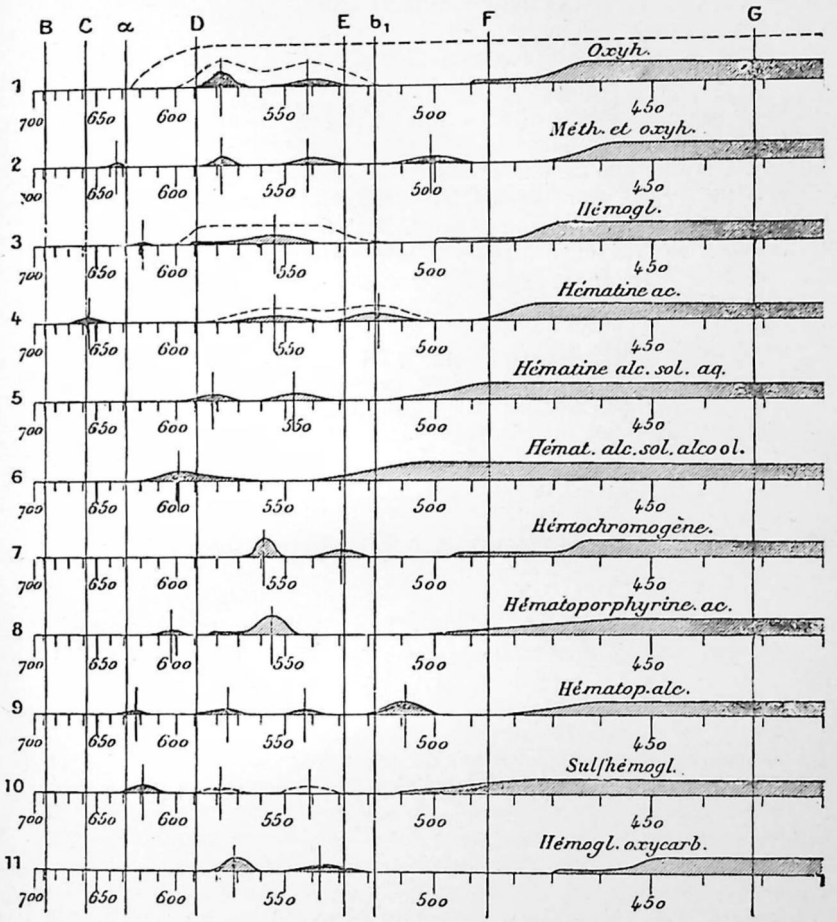
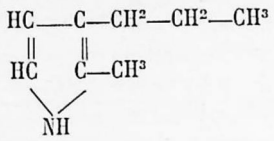


Fig. 71. — Espectros de absorción de los pigmentos sanguíneos y sus derivados.

interesantes entre la hemoglobina de los vertebrados y la clorofila de las plantas.

Partiendo de la hemoglobina se puede, como hemos indicado, obtener la hematina, después la hematoporfirina, $C^{16}H^{18}N^2O^3$; de la hematoporfirina se puede pasar a un cuerpo, la mesoporfirina, $C^{16}H^{18}N^2O^2$,

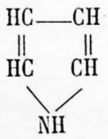
que es transformable en hemopirrol, o metilpropilpirrol:



El hemopirrol absorbe directamente el oxígeno atmosférico para transformarse en urobilina.

De la clorofila se puede obtener una substancia llamada filoporfirina, $C^{16}H^{18}N^2O$, transformable en hemopirrol y después en urobilina.

Los dos pigmentos importantes, animal y vegetal, hemoglobina y clorofila, se relacionan así con el hemopirrol, derivado del pirrol:



CAPITULO IX

LOS GASES DE LA SANGRE Y LOS CAMBIOS GASEOSOS RESPIRATORIOS

SUMARIO.—I. DISOCIACIÓN DE LA OXIHEMOGLOBINA.—La oxihemoglobina es una combinación disociable. ¿Qué es una substancia disociable? ¿Qué es un fenómeno de disociación? Ejemplo del carbonato de cal. Disociación de la oxihemoglobina.

II. GASES DE LA SANGRE.—Estado de los gases de la sangre; disolución y combinación. Leyes de la disolución de los gases. Disolución y disociación. Estado del oxígeno en la sangre. Estado del gas carbónico en la sangre. Estado del nitrógeno en la sangre.

III. CAMBIOS GASEOSOS PULMONARES. — Composición del aire alveolar. Composición del aire espirado. Teoría del cambio gaseoso pulmonar.

I. — DISOCIACION DE LA OXIHEMOGLOBINA

La oxihemoglobina es una *combinación oxigenada disociable*, que se puede desdoblar, en las condiciones que precisaremos, en oxígeno y hemoglobina.

Para comprender los hechos que acabamos de exponer es necesario saber qué es una *substancia disociable*. Tomaremos un sencillo ejemplo de disociación de la química mineral.

Si se somete carbonato de cal a la acción de una temperatura de 860°, en un vaso cerrado, se descompone, pero no es más que *parcialmente descompuesto*, en gas carbónico y cal: es descompuesto hasta que el gas carbónico resultante de la descomposición ejerce dentro del vaso cerrado una presión de 85 milímetros de mercurio. Esta descomposición parcial del carbonato de cal es un *fenómeno de disociación*. El carbonato de cal es un compuesto disociable a la temperatura de 860°

Inversamente, supongamos que en un vaso cerrado a 860° han sido introducidos un exceso de cal y gas carbónico, ejerciendo este último una presión superior a 85 milímetros; una parte de este gas carbónico se combinará con la cal para formar carbonato de cal, hasta que la presión del gas carbónico descienda a 85 milímetros.

Si se opera a otra temperatura, a 1.040°, por ejemplo, ocurrirá lo mismo, con la diferencia de que la descomposición del carbonato de cal seguirá hasta que el gas carbónico desprendido ejerza una presión de 520 milímetros de mercurio, o que la combinación del gas carbónico y la cal seguirá hasta que el gas carbónico ejerza una presión de 520 milímetros de mercurio.

En resumen, en los *fenómenos de disociación* se establece un *equilibrio químico* entre un compuesto y sus productos de descomposición, dependiendo este equilibrio de muchas circunstancias, siendo la más importante, por lo menos en el caso del carbonato de cal, la temperatura.

Antes de empezar el estudio de la disociación de la oxihemoglobina, es necesario definir la *tensión de un gas disuelto*.

Cuando un líquido es puesto en contacto con una atmósfera gaseosa. disuelve cierta cantidad de gas de esta atmósfera. Según la definición, la tensión del gas disuelto es igual a la tensión del mismo en la atmósfera gaseosa, cuando se ha establecido el equilibrio. Si, por ejemplo, se pone en contacto agua con el aire atmosférico, ésta disuelve el oxígeno y el nitrógeno; cuando se ha establecido el equilibrio, la tensión del oxígeno disuelto es igual a 1/5 de atmósfera y la tensión del nitrógeno disuelto es igual a 4/5 de atmósfera, porque el oxígeno y el nitrógeno tienen tensiones iguales a 1/5 y a 4/5 de atmósfera, respectivamente, dentro de la atmósfera.

Recordadas estas nociones, supongamos preparada una solución de oxihemoglobina, e imaginemos para mayor claridad que esta solución no contiene ni hemoglobina ni oxígeno disueltos, sino únicamente oxihemoglobina. Supongamos que esta solución se ha introducido dentro de un recipiente cerrado por todas partes y que quede el recipiente completamente lleno. Si el experimento se hace a una temperatura en la cual la oxihemoglobina es disociable, a 15°, por ejemplo, he aquí lo que ocurre: la oxihemoglobina se descompone en hemoglobina y oxígeno, que quedan disueltos, y esta descomposición prosigue hasta que el oxígeno disuelto alcance cierta tensión. Cuando se ha establecido el equilibrio, existe cierta relación, pero variable según las condiciones del experimento, entre la oxihemoglobina y sus productos de descomposición.

Inversamente, supongamos que se ha preparado una solución de hemoglobina, e imaginemos para mayor claridad que esta solución contiene, además, oxígeno disuelto en cierta tensión y que no contiene oxihemoglobina. Supongamos que esta solución se ha introducido en un recipiente cerrado por todas partes y que el recipiente quede completamente lleno. He aquí lo que ocurre: una parte del oxígeno disuelto se combina con la hemoglobina disuelta, y esta combinación prosigue hasta que existe cierta relación entre la oxihemoglobina, la hemoglobina y el oxígeno disuelto, relación que depende de las condiciones del experimento.

En lugar de operar en un vaso cerrado y completamente lleno por la solución que sirve de experiencia, supongamos que se opera con un vaso cerrado, pero que contenga aire a cierta tensión. Colocando en un recipiente tal una solución de oxihemoglobina pura igual a la empleada en el caso precedente, esta oxihemoglobina se disocia hasta que se ha establecido un equilibrio químico, dependiente de las condiciones del experimento, entre la oxihemoglobina y sus productos de descomposición: en particular la tensión del oxígeno disuelto alcanza cierto valor. Pero esta solución está en contacto con una atmósfera gaseosa: ¿qué ocurrirá? Se pueden presentar tres casos: 1.° La tensión del oxígeno disuelto es igual a la tensión del oxígeno en la atmósfera; no se producirá ninguna nueva modificación. 2.° La tensión del oxígeno disuelto es superior a la de este gas en la atmósfera. Entonces una parte del oxígeno de disociación se desprende, de tal manera, que la tensión del oxígeno disuelto y la del oxígeno gaseoso quedan iguales. Pero el equilibrio químico de las substancias en solución queda roto; una nueva cantidad de oxihemoglobina se descompone, hasta que el nuevo equilibrio químico se alcance, y así sucesivamente. Se comprende, pues, que en estas condiciones experimentales deben establecerse dos equilibrios: un equilibrio físico entre el oxígeno de la atmósfera gaseosa y el oxígeno disuelto, y un equilibrio químico entre la oxihemoglobina, la hemoglobina y el oxígeno disueltos. 3.° La tensión del oxígeno disuelto es inferior a la tensión de este gas en la atmósfera. Entonces una parte del oxígeno de esta atmósfera se disuelve en el líquido, aumentando la tensión del oxígeno disuelto, hasta que las tensiones del oxígeno de la atmósfera y del oxígeno disuelto sean iguales. Pero el equilibrio químico de las substancias disueltas está roto: una parte del oxígeno disuelto se vuelve a combinar con la hemoglobina, hasta que el nuevo equilibrio químico es alcanzado, y así sucesivamente. En este caso también el equilibrio final es la resultante de dos equilibrios: un equilibrio físico y un equilibrio químico.

Inversamente, en un vaso cerrado que contenga cierta cantidad de aire, se introduce una solución de hemoglobina pura

que no contenga ni oxígeno disuelto ni oxihemoglobina disuelta. Una parte del oxígeno de la atmósfera se disuelve en la solución, hasta que la tensión del oxígeno disuelto y la tensión del oxígeno de la atmósfera sean iguales. Puesto que la hemoglobina no es estable en presencia del oxígeno, una parte del oxígeno disuelto se combina con ella, hasta que es alcanzado cierto equilibrio químico. Debido a esta combinación, el equilibrio físico precedentemente alcanzado queda roto: el oxígeno se disuelve de nuevo, etc. Finalmente, el equilibrio resulta de dos equilibrios parciales, uno físico y otro químico.

Supongamos, por último, que el experimento se realiza en presencia de una atmósfera indefinida de gas, en presencia del aire libre, por ejemplo. Ocurre lo mismo que en el caso de una atmósfera limitada de aire, con la diferencia de que uno de los términos del equilibrio físico no varía: la tensión del oxígeno atmosférico.

Tales son las nociones generales que se pueden enunciar relativamente a la disociación de la oxihemoglobina.

La oxihemoglobina no se disocia a la temperatura de 0°; pero se disocia a temperaturas superiores, en particular a la temperatura ordinaria de 15-20° y a la temperatura del cuerpo, 37°.

La relación que existe entre la oxihemoglobina, la hemoglobina y el oxígeno disuelto cuando el equilibrio químico es alcanzado, varía según la temperatura. Si se supone establecido el equilibrio químico de una solución a 15° y se eleva la temperatura a 40°, una nueva porción de oxihemoglobina es descompuesta. En otras palabras, la tensión del oxígeno resultante de la disociación de la oxihemoglobina, lo que se llama *tensión de disociación de la oxihemoglobina*, varía según la temperatura: *aumenta con la temperatura.*

La relación que existe entre las cantidades de hemoglobina y oxihemoglobina, a una misma temperatura, varía según la cantidad de estas substancias en solución. La relación de la cantidad de hemoglobina con la cantidad de oxihemoglobina aumenta cuando la cantidad de los pigmentos disueltos aumenta.

La cuestión que nos ocupa puede examinarse desde otro punto de vista:

Las soluciones de hemoglobina expuestas al aire y agitadas en contacto con él, absorben cantidades variables de oxígeno, dependientes del equilibrio químico que se establece entre la oxihemoglobina, la hemoglobina y el oxígeno disuelto según las condiciones del experimento. Este oxígeno absorbido se compone de dos partes: el oxígeno combinado y el oxígeno disuelto. Para mayor claridad, no nos ocuparemos de este último y sí únicamente del oxígeno combinado.

La tensión de disociación de la oxihemoglobina, como hemos dicho, aumenta con la temperatura. Por consiguiente, en igualdad de circunstancias, una misma solución de hemoglobina absorbe más oxígeno a 15 que a 40°.

La relación de la oxihemoglobina con la hemoglobina aumenta con la cantidad de pigmento disuelto; por consiguiente, en igualdad de circunstancias, una solución de hemoglobina absorbe, para una misma cantidad de hemoglobina, tanto más oxígeno cuanto mayor concentración posee.

Si se hace variar la tensión del oxígeno disuelto, la cantidad de oxihemoglobina varía de un modo muy notable.

Cuando se opera a 40°, por ejemplo, se observa: que en una atmósfera que no contenga oxígeno, una solución de hemoglobina no es modificada. Supongamos que la atmósfera en contacto con la solución de hemoglobina contenga una débil proporción de oxígeno; supongamos para fijar mejor las ideas, que este oxígeno tenga una tensión de 10 milímetros de mercurio, por ejemplo: la solución de los pigmentos sanguíneos contendrá mucha hemoglobina y poca oxihemoglobina; en otras palabras, absorberá poco oxígeno. Supongamos que la presión del oxígeno, aumentando en la atmósfera, llegue a 20, 30, etc., milímetros de mercurio: la solución de los pigmentos sanguíneos contendrá cada vez menos hemoglobina y cada vez más oxihemoglobina; en otras palabras, absorberá cada vez más oxígeno. Así ocurrirá hasta que la presión del oxígeno llegue a 60 milímetros de mercurio poco más o menos; en este momento, la solución contiene muy poca hemoglobina y mucha oxihemoglobina; en otras palabras, ha absorbido mucho oxígeno. Cuando la presión del oxígeno aumenta todavía más allá de 60 milímetros, la relación de la oxihemoglobina con la hemoglobina aumenta algo todavía, pero muy poco; en otras palabras, la cantidad de oxígeno absorbido aumenta algo, pero poco (fig. 72).

Resumiendo, se puede decir que la cantidad de oxígeno absorbido por una solución de hemoglobina aumenta con la presión del oxígeno en la atmósfera: la cantidad de oxígeno absorbido aumenta rápidamente cuando crece la presión del

oxígeno desde 0 a 60 milímetros poco más o menos; y aumenta, pero muy poco, cuando la presión del oxígeno se eleva más allá de 60 milímetros.

Tales son las principales nociones que importa conocer para comprender cuál es el estado del oxígeno en la sangre y para comprender el mecanismo de los cambios gaseosos respiratorios.

La cantidad de oxígeno débilmente combinado, o sea que puede ser puesto en libertad en la disociación de la oxihemo-

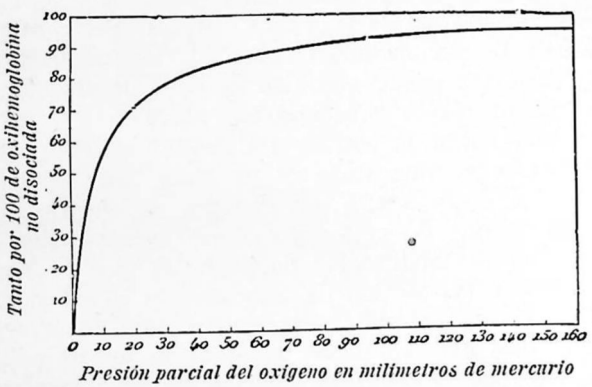


Fig. 72. — Curva de la disociación de la oxihemoglobina (según Hüfner).

globina, es de 1,58 centímetros cúbicos (medido a la temperatura de 0° y a la presión de 760 milímetros de mercurio) para 1 gramo de oxihemoglobina (1).

II. — GASES DE LA SANGRE

Cuando se hace hervir la sangre o cuando se somete a la acción del vacío barométrico, se desprenden gases, que son *oxígeno*, *nitrógeno* y *gas carbónico*.

¿Cuál es el estado de estos gases en la sangre? ¿Están disueltos? ¿Están combinados?

Cuando un líquido es puesto en contacto con una atmósfera gaseosa, cierta cantidad de gas, variable según la naturaleza y la temperatura del líquido, la naturaleza y la tensión del gas, es absorbida por el líquido. Si el gas no ejerce ninguna acción química sobre el líquido, si no se combina a ningún elemento del líquido, si se desprende en el vacío dejando inalterado el líquido, en dicho caso se dice que el gas está disuelto.

(1) Solamente existe una oxihemoglobina; es decir, una hemoglobina dada no contrae más que una sola combinación disociable con el oxígeno.

Cuando un líquido está en contacto con una atmósfera indefinida de un gas, la cantidad de gas disuelto, a una temperatura dada, en la unidad del volumen del líquido, es proporcional a la presión ejercida por el gas. Se llama *coeficiente de solubilidad de un gas* en un líquido, a una temperatura dada, al número que expresa el volumen del gas, medido a 0° y a la presión de 760 milímetros de mercurio, que puede disolver, a la temperatura considerada, la unidad de volumen del líquido, ejerciendo el gas sobre el líquido la presión de 760 milímetros.

Para fijar las ideas, consideremos como líquido disolvente el agua, y como gas disuelto el oxígeno; 1 litro de agua a 0° puesto en contacto con una atmósfera indefinida de oxígeno puro que ejerza una presión de 1 metro de mercurio en la superficie del líquido, disuelve 0,0750 gr. de oxígeno; 1 litro de agua a 0°, puesto en contacto con una atmósfera indefinida de oxígeno puro que ejerza una presión de 0,50 m. de mercurio, disuelve 0,0375 gr.; 1 litro de agua a 0°, puesto en contacto con una atmósfera indefinida de oxígeno puro que ejerza una presión de 2 metros de mercurio, disuelve 0,1500 gr. de oxígeno, etc.

El coeficiente de solubilidad del oxígeno en el agua a 0° es 0,041: esto significa que si se pone en contacto con una atmósfera de oxígeno puro que ejerza una presión de 760 milímetros de mercurio, 1 litro de agua a 0°, disuelve una cantidad de oxígeno que, si es medida a 0° y a la presión de 760 milímetros, ocupa 0,041 del volumen del agua disolvente, es decir, en el ejemplo considerado, 41 centímetros cúbicos.

El coeficiente de solubilidad de los gases varía según la *temperatura*: disminuye cuando se eleva la temperatura. Por ejemplo, los coeficientes de solubilidad del oxígeno son: 0,041 a 0°; 0,032 a 10°; 0,028 a 20°, etc. Los coeficientes de solubilidad del nitrógeno son: 0,020 a 0°; 0,016 a 10°; 0,014 a 20°, etc.

De una manera general, si V es el volumen del líquido disolvente; A, el coeficiente de solubilidad de un gas en este líquido a una temperatura dada; H, la presión ejercida por el

gas en la superficie del líquido; el volumen v del gas disuelto, medido a cero grados y a la presión de 760 milímetros de mercurio, será:

$$v = V \times A \times \frac{H}{760}.$$

Cuando una atmósfera compuesta por una mezcla de varios gases se pone en contacto con un líquido, cada uno de estos gases se disuelve con su coeficiente de solubilidad propio y proporcionalmente a la presión que ejerce en la mezcla gaseosa; o, como se suele decir, cada gas se disuelve como si estuviese solo.

Así, supongamos el agua en contacto con la atmósfera (es sabido que el agua contiene 1/5 de oxígeno y 4/5 de nitrógeno, poco más o menos); el agua disolverá el oxígeno de la atmósfera como si estuviese en contacto con una atmósfera de oxígeno puro que ejerciera una presión igual a $1/5 \times 760$ milímetros. El coeficiente de solubilidad del oxígeno a 0° es 0,041; la cantidad de oxígeno, medida a 0° y a 760 milímetros, disuelta en un litro de agua es, pues:

$$1 \text{ litro} \times 0{,}041 \times \frac{\frac{4}{5} \times 760}{760}, \text{ó } 0{,}00822 \text{ litros.}$$

Asimismo, el agua disolverá el nitrógeno atmosférico como si estuviese en contacto con una atmósfera de nitrógeno puro, que ejerciera una presión de $4/5 \times 760$ milímetros. El coeficiente de solubilidad del nitrógeno a 0° es de 0,020. La cantidad de nitrógeno, medida a cero grados y a 760 milímetros, disuelta en un litro de agua es, pues, en estas condiciones :

$$1 \text{ litro} \times 0{,}020 \times \frac{\frac{4}{5} \times 760}{760}, \text{ó } 0{,}016 \text{ litros.}$$

Cuando un gas está disuelto en un líquido, hay dos procedimientos que permiten extraer la totalidad de este gas: el primero consiste en hacer hervir el líquido, y el segundo en hacer el vacío en la superficie del líquido. La experiencia enseña que a la temperatura de ebullición de los líquidos, los gases simplemente disueltos se desprenden en su totalidad: el coeficiente de solubilidad de los diferentes gases a la temperatura de ebullición del líquido disolvente es igual a O. Por

otra parte, cuando se hace el vacío en la superficie de un líquido, la presión ejercida sobre el líquido por la atmósfera gaseosa tiende hacia O, y la cantidad de gas disuelto en un volumen V tiende hacia el valor

$$V \times A \times \frac{0}{760}, \text{ ó sea O.}$$

Recordadas estas nociones, podemos entrar en el estudio de los gases de la sangre. ¿Están estos gases disueltos? ¿Están combinados?

El *nitrógeno está disuelto* en la sangre. Su coeficiente de solubilidad en la sangre a la temperatura de 40° es de 0,013. El nitrógeno está sencillamente disuelto en la sangre. Si se coloca sangre en contacto con una atmósfera de aire comprimido o de aire enrarecido, la cantidad de nitrógeno disuelto es proporcional a la presión del nitrógeno en esta atmósfera. Esto mismo puede comprobarse si la sangre es tomada de animales que se hacen permanecer en atmósferas comprimidas o enrarecidas: la cantidad de nitrógeno contenida en su sangre varía proporcionalmente a la tensión de este gas en el aire que respiran.

El *oxígeno* se encuentra en la sangre en dos estados: *una parte se halla disuelta y otra está combinada* con la hemoglobina. Hemos indicado ya las condiciones de equilibrio físico y de equilibrio químico en una solución de hemoglobina expuesta al aire, en el estudio que hemos hecho de la disociación de la hemoglobina.

El *gas carbónico* de la sangre existe en *tres estados*: estado de *simple disolución*, estado de *combinaciones disociables* y estado de *combinaciones estables*.

El gas carbónico *disuelto* se encuentra en el plasma sanguíneo.

El gas carbónico en estado de *combinaciones estables* se encuentra en estado de carbonatos alcalinos.

El gas carbónico en estado de *combinaciones disociables* se encuentra en estado de bicarbonatos alcalinos y alcalinotérreos y de combinaciones con las globulinas del plasma y la materia colorante de los glóbulos; las globulinas y la hemoglobina poseen, en efecto, la propiedad de fijar cierta cantidad de gas carbónico.

Los gases de la sangre se encuentran, por consiguiente, en este líquido (a excepción del gas carbónico de los carbonatos

alcalinos), o en estado de sencilla disolución, o en estado de compuestos disociables. Por el vacío se pueden extraer los gases disueltos y determinar, a una temperatura conveniente, la descomposición total de los compuestos disociables de la sangre. Por la acción simultánea del vacío y la ebullición se puede poner en libertad la totalidad de los gases de la sangre disueltos o débilmente combinados.

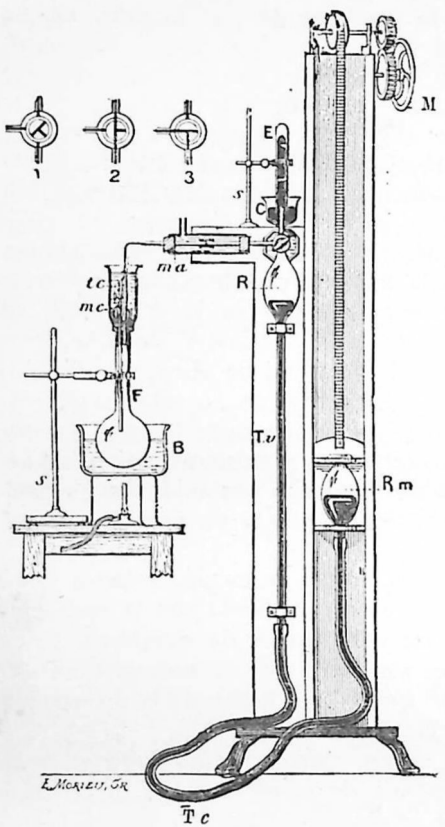


Fig. 73. — Bomba de mercurio. Dispositivo de Gréhant. *Rm*, reservorio móvil. — M, manivela que acciona este reservorio. — *Tv*, tubo barométrico. — R, reservorio. — *Tc*, tubo de caucho. — C, cubeta. — E, probeta para recoger los gases. — F, reservorio destinado a recoger la sangre. — B, baño de María. — *s*, soporte. — *mc*, *ma*, manguitos de caucho llenos de agua. *tc*, tubo de caucho. — 1, 2, 3, posiciones de la espita que corona el reservorio R : 1, mientras se establece el vacío en el reservorio R. — 2, comunicando el reservorio R con el reservorio F que contiene la sangre. — 3, para impeler los gases a la probeta E.

El gas carbónico de los carbonatos alcalinos no puede ser puesto en en libertad, de una manera general, más que por la acción de un ácido: en efecto, estos carbonatos son estables en el vacío a 100°. Cuando se somete a 100° en el vacío suero sanguíneo, después de recoger los gases puestos en libertad, se puede obtener un nuevo desprendimiento de gas carbónico tratándolo por un ácido. Cuando, por el contrario, se somete a 100° en el vacío la sangre total, suero y glóbulos, o bien plasma y glóbulos, después de haber recogido gases puestos en libertad, no se puede obtener un nuevo desprendimiento de gases tratándola por un ácido; la sangre total contiene, pues, una substancia capaz de descomponer los carbonatos alcalinos en el vacío a 100°. Esta substancia es necesariamente una substancia contenida en los glóbulos sanguíneos; no es la hemoglobina, puesto que es destruída a una temperatura inferior a 100°; es la substancia o una de las substancias de la trama globular.

No emprenderemos la descripción detallada de los aparatos que sirven para extraer y recoger los gases de la sangre; indicaremos solamente el principio en que se funda el procedimiento. Se introduce la sangre en un recipiente en el que se ha hecho el vacío, recipiente que se mantiene a 100°: los gases son inmediata y totalmente puestos en libertad. El recipiente en que se ha hecho el desprendimiento gaseoso está en relación con una bomba de mercurio; se pueden aspirar estos gases y hacerlos penetrar en un tubo invertido en el mercurio; sólo falta hacer entonces el análisis de la mezcla gaseosa extraída.

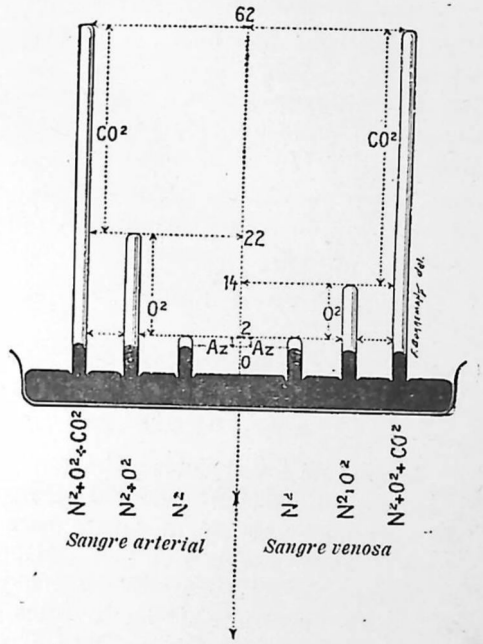


Fig. 74. — Gases de la sangre (esquema).

Si se quiere conocer la cantidad de los gases de la sangre en circulación, hay que evitar en absoluto el contacto de la sangre con el aire. Es conveniente, además, que la sangre sea llevada rápidamente a los 100°, porque la sangre conservada algún tiempo a una temperatura de 20 a 40°, resguardada del aire y fuera de los vasos, consume con bastante rapidez una parte de oxígeno y produce gas carbónico (1).

Los resultados encontrados son los siguientes: 100 centímetros cúbicos de sangre arterial de perro contienen, como

(1) Esta modificación de los gases de la sangre se puede impedir añadiéndole algunas milésimas de fluoruro sódico.

promedio, los volúmenes siguientes de gases, medidos a 0° y 760 milímetros:

Nitrógeno.	2	centímetros	cúbicos.
Oxígeno	20	»	»
Gas carbónico	40	»	»
Total . . .	62	»	»

100 centímetros cúbicos de sangre venosa de perro contienen, como promedio, los volúmenes siguientes de gases, medidos a 0° y 760 milímetros:

Nitrógeno.	2	centímetros	cúbicos.
Oxígeno	12	»	»
Gas carbónico	48	»	»
Total . . .	62	»	»

III. — CAMBIOS GASEOSOS PULMONARES

A nivel de los alvéolos pulmonares se verifican los cambios gaseosos: el oxígeno pasa del aire alveolar a la sangre; el gas carbónico sale de la sangre para pasar al aire alveolar. Estos cambios gaseosos se verifican según las leyes físicas de la ósmosis de los gases. El oxígeno pasa a la sangre porque su tensión en el aire de los alvéolos es superior a su tensión en la sangre venosa (1) que llega al pulmón; y va pasando a ella, o por lo menos puede pasar, hasta que su tensión sea la misma en el aire alveolar que en la sangre. El gas carbónico pasa al aire alveolar porque su tensión en la sangre es superior a la que tiene en el aire alveolar, y va pasando, o por lo menos puede ir pasando, al aire de los alvéolos, hasta que se haya establecido el equilibrio de las tensiones carbónicas.

El aire inspirado tiene la composición del aire atmosférico:

Oxígeno	20,8	volúmenes.
Nitrógeno	79,2	»
Gas carbónico.	indicios.	

(1) La cuestión de la determinación de la *tensión de los gases de la sangre* es una cuestión puramente fisiológica. Se encontrará resumida en el *Compendio de fisiología* de Mauricio Arthus, 5.ª edición, Cap. XV.

El aire espirado en el adulto tiene como promedio, respirando tranquilamente, la composición del cuadro siguiente:

Oxígeno	16,0	volúmenes.
Nitrógeno	79,6	»
Gas carbónico.	4,4	»

Se designa con el nombre de *coeficiente de ventilación* la relación del volumen del aire inspirado o espirado en cada inspiración o espiración, con el volumen del aire contenido en el pulmón. Este coeficiente es igual a un décimo como promedio.

Se puede conocer la composición del aire alveolar en el momento de la espiración, compuesto dicho aire en este momento por una mezcla de 9 volúmenes de aire de espiración y 1 volumen de aire de inspiración. Esta composición es la siguiente:

$$O^2 = \frac{1}{10} \times (16{,}0 \times 9 + 20{,}8) = 16{,}48 \text{ vol.}$$

$$N^2 = \frac{1}{10} \times (79{,}6 \times 9 + 79{,}2 = 79{,}56 \text{ vol.}$$

$$CO^2 = \frac{1}{10} \times (4{,}4 \times 9 + 0) = 3{,}96 \text{ vol.}$$

De esto se puede sacar la conclusión, prescindiendo del vapor de agua para simplificar, que la tensión del oxígeno en el aire alveolar varía de 16,5 a 16,0 por 100 de atmósfera y que la tensión del gas carbónico en el aire alveolar varía de 4,0 a 4,4 por 100 de atmósfera.

Ello enseña: 1.°, que la tensión de los diversos gases alveolares varía poco considerada en las distintas fases respiratorias; 2.°, que los cambios gaseosos pulmonares se verifican entre la sangre y un aire rico en gas carbónico, puesto que contiene por lo menos el 4 por 100.

La tensión del oxígeno en la sangre venosa que llega al pulmón es necesariamente inferior a 16 por 100 de atmósfera; la tensión del oxígeno en la sangre arterial que sale del pulmón no puede ser superior a 16,5 por 100 de atmósfera.

La tensión del gas carbónico en la sangre venosa que llega al pulmón es superior a 4 por 100 de atmósfera, y la tensión de este gas en la sangre arterial que sale del pulmón es, por lo menos, igual a 4 por 100 de atmósfera.

CAPITULO X

LINFA, TRASUDADOS, EXUDADOS

SUMARIO.—I. LINFA.—Constitución de la linfa. Coagulación de la linfa. Linfa y quilo.
II. TRASUDADOS Y EXUDADOS.—Trasudados serosos. Trasudados normales y patológicos. Constitución y coagulación de los trasudados.—Exudados.—Pus.

I. — LINFA

La *linfa* puede ser considerada, de una manera general, en cuanto a su constitución cualitativa, como una sangre desprovista de glóbulos rojos. Está constituída por un *plasma* transparente, incoloro o muy ligeramente cetrino, que tiene en suspensión *células linfáticas*, idénticas a los glóbulos blancos de la sangre.

El *plasma linfático* tiene en solución substancias albuminosas, que son una sueroalbúmina, una sueroglobulina y una substancia fibrinógena (su cantidad es notablemente menor que en el plasma sanguíneo, 40 a 50 por 1.000 en lugar de 75 a 80 por 1.000), sales minerales (cloruros y fosfatos de sosa, de potasa, de cal, etc.), gases (gas carbónico y nitrógeno, indicios de oxígeno).

La linfa extraída de los vasos linfáticos se *coagula*, como la sangre, espontáneamente; forma un *coágulo* incoloro, poco duro, no retráctil (1), constituído por una trama fibrinosa a la que adhieren en las células linfáticas. La cantidad de fibrina producida es menor que la que produce el mismo volumen de sangre: oscila entre 4 y 8 decigramos por litro de linfa.

(1) El coágulo de la linfa no se retrae, como el coágulo sanguíneo, para expulsar el suero; es conocida la razón de esta diferencia: la retracción del coágulo sanguíneo es provocada por las plaquetas de la sangre; como la linfa no contiene plaquetas, su coágulo no se retrae.

La coagulación de la linfa y la coagulación de la sangre constituyen el mismo y único fenómeno. Todos los procedimientos empleados para impedir o retardar la coagulación espontánea de la sangre impiden o retardan la coagulación espontánea de la linfa. La linfa contiene en solución una substancia fibrinógena que constituye la materia prima a cuyas expensas se forma la fibrina. Esta substancia fibrinógena es desdoblada por la influencia de un agente (fibrinofermento o trombina) de las células linfáticas, etc. Todo lo que se ha dicho a propósito de la coagulación de la sangre puede ser rigurosamente repetido a propósito de la coagulación de la linfa. Después de la coagulación, queda un líquido cualitativamente idéntico al suero sanguíneo, el suero linfático.

El *quilo* es la *linfa intestinal* cargada de innumerables glóbulos grasos absorbidos durante la digestión. La presencia en el quilo de los glóbulos grasos que tiene en suspensión le da un aspecto lechoso. Aparte de estos glóbulos grasos, la constitución cualitativa del quilo es sensiblemente la misma que la de la linfa.

II. — TRASUDADOS Y EXUDADOS

Las grandes cavidades serosas, peritoneal, pericardíaca, pleural, contienen normalmente algunas gotitas de líquido. Alguna vez también, en particular en ciertas especies animales, hay en estas cavidades una gran cantidad de líquido: no es raro encontrar en la cavidad peritoneal del caballo 500 centímetros cúbicos y más de líquido; en la cavidad pericardíaca del mismo, 50 centímetros cúbicos de líquido y más. Estos líquidos constituyen los *trasudados serosos normales*.

Estas mismas cavidades pueden contener también líquido en mucha mayor abundancia, bajo la influencia de causas patológicas. Estos trasudados patológicos pueden ser de *naturaleza no inflamatoria* y de *naturaleza inflamatoria*. Como pertenecientes al grupo de los trasudados no inflamatorios, citemos el líquido de las ascitis, el del hidrocele, hidrotórax y el líquido del hidropericardias, a los que hay que añadir el líquido de los edemas. Estos son los *trasudados serosos patológicos*.

Como pertenecientes al grupo de los trasudados de natu-

raleza inflamatoria, citemos el líquido de las peritonitis de las pericarditis y de las pleuresías: son los *exudados inflamatorios*.

Los exudados inflamatorios se diferencian de los trasudados serosos por los dos caracteres siguientes, conexos, uno histológico y otro químico: los trasudados serosos no contienen elementos figurados en suspensión; los exudados inflamatorios contienen abundantes glóbulos blancos; los trasudados serosos no son espontáneamente coagulables; los exudados inflamatorios se coagulan espontáneamente, formando un coágulo semejante al de la linfa. Si los trasudados serosos no se coagulan espontáneamente, no se debe a la ausencia del fibrinógeno, sino a la ausencia de los elementos generadores del fibrinofermento, suero sanguíneo o sangre desfibrinada, los trasudados serosos se coagulan, como ya hemos dicho al estudiar la coagulación de la sangre.

La composición química de los trasudados y de los exudados es cualitativamente la misma que la de la linfa y, por consiguiente, que la del plasma sanguíneo. Contienen una sueroalbúmina, una sueroglobulina, una substancia fibrinógena, etc. Se ha dicho que la substancia fibrinógena de los trasudados y exudados se diferencia de la substancia fibrinógena del plasma sanguíneo. Hemos visto, estudiando el plasma sanguíneo, que el fibrinógeno se coagula a una temperatura de 56°, ya esté en su solución natural, el plasma, ya esté en solución en las soluciones salinas diluídas. La mayoría de los líquidos de los trasudados serosos, el líquido del hidrocele en particular, no se coagulan siempre a 56°; muchas veces hasta cerca de 60° no comienza a formarse una turbiedad. Esto no prueba que el fibrinógeno del plasma sanguíneo y el fibrinógeno del líquido del hidrocele sean diferentes. Efectivamente, si se preparan soluciones salinas de fibrinógeno puro sirviéndose como materia prima del plasma o del líquido del hidrocele, se comprueba que todas estas soluciones se coagulan siempre a 56°. Si se disuelve en el líquido del hidrocele fibrinógeno preparado partiendo del plasma sanguíneo, no se observa la coagulación antes de los 60°. Por lo tanto, si el fibrinógeno del líquido del hidrocele no se coagula siempre a 56°, sino alguna vez a 60°, no depende esto de una diferencia química de las dos substancias coagulables, sino de la naturaleza de los líquidos en que están en solución.

Al lado de los trasudados normales, hay que mencionar el *humor acuoso del ojo*, que por su constitución química y por

sus propiedades es un verdadero trasudado. No se coagula espontáneamente, pero si se le añade suero sanguíneo, forma un pequeñísimo coágulo fibrinoso.

El *líquido céfalorraquídeo*, por el contrario, no debe ser colocado entre los trasudados, como habían propuesto algunos autores. No es un trasudado, porque no contiene ni fibrinógeno ni sueroalbúmina: no contiene fibrinógeno, porque no se coagula a 56° y no forma fibrina ni espontáneamente ni después de añadirle suero sanguíneo; no contiene sueroalbúmina, porque todas las substancias albuminosas disueltas son precipitadas por el sulfato de magnesia disuelto a saturación.

¿Se puede citar el *pus* entre los trasudados? El pus está esencialmente constituído por un líquido, generalmente poco abundante, en el que están en suspensión elementos muy numerosos: glóbulos blancos que han sufrido la degeneración grasosa, llamados glóbulos de pus, y glóbulos de grasa formados de los glóbulos blancos degenerados y destruídos.

El líquido en que están en suspensión estos glóbulos sólidos debe llamarse *suero de pus* y no plasma del pus: efectivamente, contiene sueroalbúmina y sueroglobulina como el suero sanguíneo; pero no contiene fibrinógeno: no es coagulable ni espontáneamente ni después de añadirle suero sanguíneo. El suero del pus contiene además una o varias substancias del grupo de los núcleoproteidos, derivadas verosímilmente de los elementos figurados disgregados.

CAPITULO XI

TEJIDO CONJUNTIVO

SUMARIO.—Constitución general del tejido conjuntivo.—I. Tejido conjuntivo propiamente dicho. Colágeno y gelatina.—II. Tejido cartilaginoso. Condrina.—III. Tejido óseo. Materias minerales.

Los tejidos que se comprenden bajo la denominación general de tejidos conjuntivos se presentan en dos aspectos a veces muy diferentes; el tejido celular subcutáneo parece diferenciarse profundamente del tejido cartilaginoso; el tejido adiposo parece diferenciarse del tejido dental; el tejido de los tendones y de los ligamentos parece diferenciarse profundamente del tejido óseo. No obstante, estos diversos tejidos tienen una misma constitución histológica y una misma composición química.

Todos los tejidos conjuntivos están esencialmente constituídos por los siguientes elementos:

1.° *Células:* células del tejido conjuntivo, células de cartílago, etc.

2.° *Fibras conjuntivas* blancas, ondulosas, extremadamente finas, no ramificadas ni anastomosadas.

3.° *Fibras elásticas* amarillentas, ramificadas y anastomosadas, menos finas que las fibras conjuntivas.

4.° Una *substancia fundamental* en la que están sumergidas las células y las fibras.

Para mayor claridad de la descripción, dividiremos los tejidos conjuntivos en tres grupos: I. Tejido conjuntivo propiamente dicho.—II. Tejido cartilaginoso.—III. Tejido óseo.

I. — TEJIDO CONJUNTIVO PROPIAMENTE DICHO

El estudio de las células del tejido conjuntivo es un estudio casi exclusivamente histológico: englobadas en la substancia fundamental del tejido conjuntivo, no han podido aislarse suficientemente para poder estudiar con toda precisión su composición química.

En el tejido adiposo, que no es más que una variedad del

tejido conjuntivo, las células están ingurgitadas de materias grasas que son mezclas de triestearina, tripalmitina y trioleína.

Las fibras conjuntivas están esencialmente constituídas por una subtancia llamada *colágeno*. El colágeno es insoluble en el agua y se hincha por los álcalis diluídos o por el ácido acético diluído; las sales neutras retraen el colágeno hinchado por los álcalis. El colágeno sometido a la acción de los ácidos diluídos a la temperatura de ebullición o a la acción del agua sobrecalentada (en la marmita de Papin) es transformado en *gelatina* (v. cap. V, pág. 142).

Las fibras elásticas están esencialmente constituídas por una substancia llamada *elastina* (v. cap. V, pág. 157), perteneciente al grupo de los albuminoides.

La substancia fundamental del tejido conjuntivo es una *mucina*. Se la puede extraer y demostrar su existencia, tratando el tejido conjuntivo, durante cuarenta y ocho horas, a la temperatura ordinaria, por el agua de cal. La mucina es disuelta por este líquido: entonces se la puede precipitar neutralizando con un ácido.

II. — TEJIDO CARTILAGINOSO

Tomaremos como tipo el *cartílago hialino*, constituído por células encapsuladas sumergidas en una masa fundamental homogénea.

Cuando se trata el cartílago hialino por el vapor de agua sobrecalentado, se forma, a expensas de su substancia fundamental, una substancia soluble en el agua caliente que se gelatiniza por el enfriamiento; esta substancia así formada se llama *condrina* y se considera como derivada de una *substancia condrógena* que existe en el cartílago.

La condrina, sin embargo, no es una substancia simple, sino una mezcla compleja formada en su mayor parte de gelatina y mucina (o de una substancia próxima a las mucinas). Como la gelatina, la condrina es insoluble en el agua fría, en el alcohol y en el éter; como la gelatina, forma soluciones con el agua caliente y se gelatiniza por enfriamiento; como las mucinas, es precipitada por los ácidos diluídos, y el precipitado es insoluble en un exceso de ácido acético, pero es soluble en un exceso de ácido clorhídrico; como las mu-

cinas, forma, por la acción prolongada de ácido clorhídrico diluído hirviendo, una substancia reductora de composición semejante a la de los hidratos de carbono.

Se admite generalmente en la actualidad que la substancia fundamental del cartílago hialino está formada por una mezcla de colágeno y combinaciones de un ácido nitrogenado y sulfurado, el *ácido sulfocondroítico*, con álcalis o tierras alcalinas, con el colágeno y con las substancias albuminosas. El ácido sulfocondroítico, cuya compleja constitución ha sido dilucidada (1), produce, entre los productos de su descomposición por los ácidos minerales diluídos en ebullición, una substancia reductora, derivada de hidrato de carbono, la glicosamida, $CH^2OH—(CHOH)^3—CH(NH^2)—CHO$; su combinación con las substancias albuminosas, que hemos señalado en el cartílago, representa la mucina contenida en la condrina.

Por la influencia del vapor de agua sobrecalentado, la substancia colágena del cartílago forma la gelatina; las sales minerales del ácido sulfocondroítico no se alteran; las combinaciones de este ácido con el colágeno y con las substancias albuminosas son descompuestas parcialmente; se forman gelatina, substancias albuminosas coaguladas y ácido sulfocondroítico libre, que se une, por lo menos parcialmente, a los álcalis del tejido. En el agua sobrecalentada se disuelven en seguida la gelatina formada, los sulfocondroitatos de los álcalis formados o preformados, el sulfocondroitato de colágeno y la mucina no transformados, formando todo ello lo que se había considerado como una substancia única, la condrina.

Tratando la condrina por un ácido diluído, disuelta en caliente, se determina la formación de un precipitado formado de ácido sulfocondroítico libre, sulfocondroitato de colágeno y mucina, no transformados, mezcla que antes se consideraba como un cuerpo definido y que se llamaba *condromucoide*.

III. — TEJIDO OSEO

El hueso parece diferenciarse profundamente de las otras formas de tejido conjuntivo. No obstante, sólo se diferencia por la abundancia de materias minerales (50 a 80 por 100).

(1) El ácido sulfocondroítico puesto en contacto con el ácido clorhídrico diluído, durante varios días a 40°, se descompone en ácido sulfúrico y condroitina. La condroitina es a la vez descompuesta por los ácidos minerales hirvientes en ácido acético y condrosina, que es un amidoácido.

La condrosina resulta probablemente de la unión de la glicosamida y del ácido glicurónico, dos cuerpos que presentan gran interés fisiológico y de los que hemos hablado precedentemente (pág. 97). Pero es conveniente añadir que esta concepción no está admitida definitivamente, porque la condrosina no da las reacciones características de la glicosamida o del ácido glicurónico y de sus compuestos.

Las materias orgánicas que entran en su constitución son la *elastina* y la *oseína;* de la elastina ya hemos hablado en las fibras elásticas del tejido conjuntivo; la oseína es idéntica a la substancia colágena de las fibras conjuntivas.

Las substancias minerales del hueso son: el *fosfato tricálcico*, el *carbonato de cal* y, en pequeñas cantidades, el cloruro cálcico y el fosfato de magnesia.

He aquí un análisis de la ceniza de un hueso humano (fémur):

Fosfato de cal.	87,45 por 100
» de magnesia	1,57 »
Fluoruro cálcico.	0,35 »
Cloruro »	0,23 »
Carbonato »	10,18 »
Oxido de hierro.	0,10 »

Los *dientes* están constituídos químicamente como los huesos.

He aquí un análisis de dientes humanos:

	Dentina	Esmalte
Substancias orgánicas.	29,15	6,88
Cal.	58,18	50,22
Magnesia	1,57	0,73
Acido fosfórico.	30,24	40,69
» sulfúrico.	0,38	0,39
Flúor	0,48	1,09

CAPITULO XII

TEJIDO NERVIOSO

SUMARIO. — Constitución general del tejido nervioso. Neuroqueratina. Protagón. Rodopsina o púrpura retinal.

Indicaremos sumariamente las principales substáncias que se encuentran en el tejido nervioso.

Son *substancias proteicas*: substancias albuminosas, proteidos y albumoides. Entre las primeras hay que señalar unas substancias pertenecientes al grupo de las albúminas y otras al grupo de las globulinas; entre los proteidos, los núcleoproteidos; por último, entre los albuminoides, la neuroqueratina.

Son *materias grasas*: grasas neutras (trioleína, tripalmitina, triestearina) y grasas fosforadas (lecitina y protagón).

Son *substancias extractivas*, entre las que la más importante es la colesterina.

Son materias salinas.

Estas diferentes substancias han sido estudiadas, la mayoría de ellas, en otros capítulos; nos limitaremos a hablar de la *neuroqueratina* y del *protagón*.

La *neuroqueratina* se relaciona íntimamente con la queratina de las producciones cutáneas por su insolubilidad en el agua, alcohol, éter y ácidos minerales diluídos; por su resistencia a los jugos gástrico y pancreático; por su composición centesimal y por su riqueza en azufre; por sus productos de descomposición y por su riqueza en tirosina.

La *queratina* se encuentra en las producciones cutáneas epiteliales y por consiguiente en los productos que tienen su origen en los elementos del epiblasto. Es sabido que el sistema nervioso central deriva de una invaginación de las células epiblásticas en las profundidades del mesoblasto. La presencia de la neuroqueratina en el tejido nervioso establece, por su crecimiento, una aproximación química entre dos tejidos derivados de una misma hoja del blastodermo: debido a este

punto de vista, es interesante hacer notar la importancia que tiene la presencia de la neuroqueratina en el tejido nervioso (véase capítulo XIII, pág. 271).

El *protagón* es considerado por algunos autores como lecitina. Parece, no obstante, que hay que distinguir en el tejido nervioso la lecitina a la vez que otra substancia semejante, el protagón. Esta substancia, según los autores que admiten su individualidad, podría ser considerada como una combinación de la lecitina y otra substancia a la que se ha dado el nombre

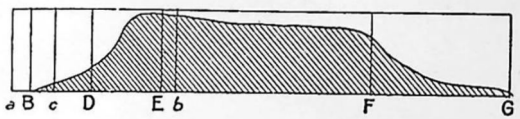


Fig. 75. — Espectro de absorción de la rodopsina (según Kühne).

de *cerebrina*. Este protagón, sometido a la barita cáustica en ebullición, forma los productos de descomposición de la lecitina: ácidos grasos, ácido fosfoglicérico y colina; forma además una substancia nitrogenada, pero no fosforada, que nos limitaremos a mencionar, la *cerebrina*

Dentro del estudio del sistema nervioso debe hacerse el del *ojo*. Nos limitaremos aquí a hacer algunas indicaciones sumarias sobre una subsistencia notable contenida en la porción externa de los bastoncitos de la retina, en cierto número de animales, un pigmento al que distintos autores que de ello se han ocupado han dado los nombres de *púrpura retinal*, *púrpura visual*, *rodopsina*, *eritropsina* y *rojo visual*.

La *rodopsina* tiene la propiedad de ser alterada por la luz, tanto si está contenida en los bastoncitos retinales como si se halla extraída de ellos: su coloración pasa del rojo carmín al rojo, al anaranjado y al amarillo. La luz roja no produce esta transformación sino de una manera muy lenta.

Para extraer esta substancia, se sacrifican los animales (ranas, por ejemplo, o animales domésticos) que hayan estado antes en la obscuridad: se extrae el ojo, se aísla la retina, pero siempre en la obscuridad, por lo menos parcial. Después se trata la retina por una solución de 2 a 5 por 100 de sales biliares en agua: este es el mejor disolvente conocido de la rodopsina. De esta manera se obtiene una solución clara de color rojo púrpura. Desecada en el vacío, deja posar un residuo parecido al del carminato amónico. Dializada en

presencia del agua, pierde las sales biliares y deja posar un polvo violado.

La rodopsina presenta un aspecto de absorción sin bandas; absorbe la luz desde el amarillo hasta el violado.

La rodopsina es destruída por el calor (instantáneamente a 76°, en algunas horas a 52°); es destruída por los álcalis, por los ácidos, por el alcohol, por el éter y por el cloroformo.

CAPITULO XIII

PRODUCCIONES CUTANEAS

SUMARIO.—Queratina.—Sudor.

La piel está constituída en sus partes profundas por tejido conjuntivo normal, del que ya hemos estudiado la composición (véase Cap. XI, pág. 264).

Las partes superficiales de la piel pueden sufrir en determinadas regiones modificaciones en su estructura histológica y transformarse en *producciones córneas*: tales son los *cabellos*, los *pelos*, la *lana*, las *uñas*, los *cascos*, los *cuernos*, las *plumas*, el *pico*, etc.

La substancia fundamental de estas producciones es la *queratina*.

La queratina es una proteína: efectivamente, está esencialmente compuesta, como ellas, de carbono, hidrógeno oxígeno, nitrógeno y azufre; como las proteínas, de las reacciones de coloración xantoproteica, del biuret, de Millon y glioxílica; como las proteínas, forma, por la influencia de los ácidos minerales a alta temperatura y en general bajo la influencia de los agentes hidrolizantes, productos de descomposición, entre los cuales hay que citar el gas carbónico, el amoníaco, amidoácidos: leucina, tirosina, ácido aspártico, glicocola, alamina y fenilalanina, valina, serine, lisina, arginina, cistina, etc., substancias todas de las que hemos indicado la constitución y las relaciones químicas, al estudiar (Cap. V, página 107) los productos de hidrólisis de las proteínas.

Esta substancia es notable por su resistencia a los agentes químicos; no se disuelve ni es modificada por el agua, alcohol, éter, ácidos diluídos, jugo gástrico o pancreático; pero no resiste indefinidamente a los agentes de la putrefacción.

Para obrar sobre la queratina es preciso emplear los álcalis cáusticos o los ácidos fuertes a la temperatura de ebullición, y mejor aún a mayor temperatura en vaso cerrado.

El *sudor*, producido por las glándulas sudoríparas contenidas en el espesor de la piel, se ha comparado muchas veces con la orina. Se admite que la secreción sudoral es normalmente ácida, por lo menos en el hombre. Contiene materias minerales, que son principalmente cloruros, con pequeñas cantidades de fosfatos y sulfatos, y materias orgánicas, que son principalmente grasas neutras y ácidos grasos volátiles, colesterina, urea, creatinina.

La *materia sebácea*, secretada por las glándulas anejas a los pelos, es una substancia semilíquida, que contiene, junto con restos epiteliales, abundantes glóbulos grasos compuestos de grasas neutras, de ácidos grasos libres y de jabones.

CAPITULO XIV

EL MUSCULO

SUMARIO.—Constitución de los músculos.

I. MIOPLASMA. — Coagulación del mioplasma: miosina y miosuero. Substancias albuminosas del mioplasma. Coagulación del músculo y rigidez muscular.

II. PIGMENTOS DEL MÚSCULO.—Hemoglobina y miohematina.

III. MATERIAS EXTRACTIVAS DEL MÚSCULO. — Sales. Glicógeno, inosita, ácido láctico. Creatina.

Se distinguen tres clases de músculos: los *músculos estriados*, los *músculos lisos y el músculo cardíaco*. Es sabido que los *músculos estriados* están constituídos por fibras musculares alargadas que presentan estriaciones transversales provistas de una vaina llamada sarcolema; que los *músculos lisos* están constituídos por células fusiformes alargadas, sin sarcolema; que el músculo cardíaco está constituído por fibras estriadas cortas, divididas y anastomosadas entre sí, sin sarcolema. Las fibras o las células musculares están reunidas en masas musculares más o menos considerables por tejido conjuntivo.

Las masas musculares comprenden así una masa muscular propiamente dicha, englobada dentro del tejido conjuntivo. El *sarcolema* de los músculos estriados puede ser considerado desde el punto de vista químico como tejido conjuntivo: se admite generalmente que está constituído por una substancia semejante a la elastina, la cual es la substancia fundamental de las fibras elásticas.

Dejando aparte el tejido conjuntivo del músculo, estudiaremos la composición de la substancia muscular propiamente dicha.

El músculo contiene proteínas, sales, materias extractivas, unas nitrogenadas y otras ternarias; 100 partes de músculo humano, contienen, poco más o menos, 25 por 100 de residuo sólido y 75 por 100 de agua. Estas materias sólidas compren-

den: proteínas, 15 a 20 por 100 del músculo; sales minerales, 3 por 100 del músculo, etc.

I. — MIOPLASMA

Es difícil estudiar la *substancia muscular no transformada*, tal como se encuentra en el músculo vivo: esta substancia muscular sufre, en efecto, a la temperatura ordinaria una transformación importante, tan pronto como el músculo es separado del animal.

Para obtener esta substancia muscular no transformada hay que operar en la rana (1) y de la manera siguiente: se hace pasar por la aorta de una rana un corriente de agua salada al 6 por 1.000, con el fin de librar a todo el aparato circulatorio, y en particular a los vasos de los músculos, de la sangre que puedan contener. Se enfrían las masas musculares hasta —10°; se pican, con unas tijeras muy enfriadas, los músculos enfriados también; se machacan estos músculos triturados en un mortero enfriado a —10°, con la mano del mortero enfriada también a —10°. De esta manera se obtiene una *nieve* muscular que se somete a la acción enérgica de una prensa, que previamente ha sido también enfriada. La *nieve* muscular así prensada desprende un líquido algo amarillento, de consistencia siruposa, llamado *plasma muscular* o *mioplasma*, de reacción alcalina.

Se admite que este mioplasma existe en el músculo vivo, porque la experiencia ha demostrado los dos hechos siguientes: un músculo enfriado a —10° es inexcitable a esta temperatura pero este músculo recobra todas sus propiedades cuando vuelve a estar a la temperatura ordinaria. Por lo tanto, en la prepaparación del mioplasma no se han podido determinar modificaciones ni por el enfriamiento, ni por la división y presión del tejido muscular.

Si se deja recalentar el mioplasma preparado como acabamos de decir, se forma, lentamente a 0°, e instantáneamente a la temperatura del cuerpo, un *coágulo* en copos y muy débilmente retráctil, que se vuelve ácido poco a poco y deja

(1) Los ensayos en los músculos de animales de sangre caliente no han dado resultados claros y satisfactorios.

exudar una pequeña cantidad de un líquido claro, el *suero muscular* o *miosuero*.

El coágulo está esencialmente constituído por una substancia albuminosa, la *miosina*. Este fenómeno presenta alguna analogía con el fenómeno de la coagulación espontánea de la sangre; para recordar esta analogía, los autores han empleado las palabras plasma y suero. Siguiendo esta analogía, podemos admitir también la existencia en el mioplasma de una substancia generadora de la miosina, la *substancia miosinógena*, equivalente a la substancia fibrinógena de la sangre. Además, en la coagulación espontánea de la sangre, la substancia fibrinógena es transformada y forma fibrina insoluble en el plasma sanguíneo; y en la coagulación espontánea del músculo, la substancia miosinógena se transformaría produciendo miosina. Pero, apresurémonos a consignarlo, esto no son más que hipótesis.

El *miosuero* contiene dos substancias albuminosas en suspensión: una globulina y una albúmina, una *mioglobulina* y una *mioalbúmina*. Tratado, en efecto, por el sulfato de magnesia disuelto a saturación, el miosuero precipita una substancia albuminosa que posee todas las propiedades de las globulinas: soluble en las soluciones salinas neutras diluídas, precipita parcialmente de sus soluciones por dilución, por diálisis, por el cloruro sódico disuelto a saturación en frío: precipita totalmente por el sulfato de magnesia disuelto a saturación en frío. Esta mioglobulina en solución salina diluída es coagulable a 63°. Libre de esta mioglobulina, el miosuero, saturado de sulfato de magnesia, precipita, por la adición de un ácido, una nueva substancia albuminosa soluble en el agua y en las soluciones salinas diluídas, no siendo precipitada de sus soluciones por diálisis, ni por dilución, ni por el cloruro sódico o el sulfato de magnesia disueltos a saturación en frío, la mioalbúmina. Esta mioalbúmina es coagulable a 73°.

El coágulo está esencialmente constituído por la miosina. La *miosina* es una substancia insoluble en el agua, soluble en las soluciones salinas neutras, principalmente en las soluciones de cloruro sódico y de cloruro amónico que contengan del 5 al 10 por 100 de sal, que precipita de sus soluciones por diálisis, por dilución, y precipita totalmente por el sulfato de magnesia disuelto a saturación: *por lo tanto, es una globulina*. Como el fibrinógeno y la fibrina, se coagula a 56°; como el

fibrinógeno, es totalmente precipitada por el cloruro disuelto a saturación en frío en sus soluciones.

La miosina se distingue del fibrinógeno por no transformarse por el fibrinofermento. La miosina se distingue de la fibrina por su precipitabilidad total por el cloruro sódico disuelto a saturación en frío.

El coágulo muscular, el *miocoágulo*, no está formado únicamente por la miosina: contiene otra substancia albuminosa a la que se ha dado el nombre de *paramiosinógeno* (o *musculina*). Esta substancia, que es una globulina como la miosina, se distingue de ella por su coagulabilidad a 47°.

El mioplasma contendría, pues, cuatro substancias albuminosas: el *miosinógeno*, el *paramiosinógeno*, la *mioglobulina* y la *mioalbúmina*. Abandonado a la temperatura ordinaria, este mioplasma se coagula espontáneamente: esta coagulación resultaría de la transformación del miosinógeno en miosina. Precipitando, esta miosina arrastraría el paramiosinógeno no transformado, para formar el miocoágulo: no contendría, pues, el *miosuero* más que dos substancias albuminosas, la *mioglobulina* y la *mioalbúmina*.

Se ha supuesto también que esta transformación del miosinógeno en miosina sería un fenómeno de fermentación diastásica, como la transformación del fibrinógeno en fibrina: se produciría bajo la influencia de una diastasa, el *miosinofermento*, preparable como el fibrinofermento.

Hemos expuesto estas nociones en forma de duda, porque no están aún bien demostradas. El paralelo que se ha establecido entre la coagulación espontánea de la sangre y la coagulación espontánea del mioplasma, se apoya en hipótesis y no sobre hechos precisos: por lo tanto, actualmente por lo menos, no es más que una apreciación.

Esta coagulación del plasma muscular que se verifica *in vitro, ¿se verifica también en el músculo en su situación normal?* Si, responden los autores: gracias a esta transformación, se produce la *rigidez muscular*. Es sabido que más o menos pronto después de la muerte, las masas musculares se vuelven rígidas. Si se somete a la presión un músculo rígido, se obtiene un líquido que no se coagula espontáneamente, como el mioplasma que hemos estudiado: el líquido así obtenido contiene una mioglobulina y una mioalbúmina, pero no contiene ni miosina ni paramiosinógeno en cantidad apreciable. Si se pone en maceración un músculo rígido picado, en una solución de cloruro sódico o de clorhidrato amónico al 10 por 100, se obtiene un líquido que contiene paramiosinógeno y miosina en

solución. En el músculo rígido se encuentran, pues, substancias del plasma coagulado.

No solamente *el músculo rígido es un músculo coagulado*, sino que también *todo músculo coagulado es o ha estado rígido:* la experiencia enseña de modo evidente que la rigidez aparece cuando ya no es posible extraer del músculo convenientemente enfriado un plasma coagulable espontáneamente.

La *rigidez* y la *coagulación del músculo* son, pues, *un solo y mismo fenómeno*. Ahora bien, si se somete a la presión, a la temperatura ordinaria, un músculo en el momento que se ha extraído del animal vivo, el líquido que desprende es miosuero. Por lo tanto, se puede afirmar que la acción mecánica ejercida por la prensa a la temperatura ordinaria sobre el tejido muscular, ha bastado para provocar la rigidez.

El músculo vivo, en reposo y reposado, tiene la reacción neutra; el músculo vivo y fatigado hasta la extenuación tiene la reacción ácida. El músculo rígido tiene reacción ácida. ¿La reacción ácido del músculo rígido aparece al mismo tiempo que la rigidez? ¿Está en relación con la coagulación del músculo? Probablemente no, como resulta de los hechos siguientes:

1.° El plasma muscular preparado en frío, como hemos indicado, se coagula sin volverse ácido: no toma la reacción ácida hasta algún tiempo después de la formación del miocoágulo.

2.° Un músculo vivo fatigado hasta la extenuación (por ejemplo, un músculo de un animal intoxicado por la estricnina) tiene reacción ácida, sin ser por ello rígido.

II. — PIGMENTOS DEL MUSCULO

Los músculos están coloreados de rojo; deben esta coloración en parte a la *hemoglobina de la sangre* que llena los numerosos vasos comprendidos entre sus fibras y en parte a la *hemoglobina de su propio tejido*. La fibra muscular está coloreada de rojo, como los glóbulos rojos de la sangre, por la hemoglobina y la oxihemoglobina. Poniendo en maceración en agua un músculo libre de sangre por lavados intravasculares, se obtiene un líquido que presenta al examen espectroscópico las rayas de la hemoglobina.

Se ha descrito en el músculo otra substancia colorante, la *miohematina*, caracterizada por su espectro de absorción: existirían también

una *miohematina* y una *oximiohematina*, derivando la una de la otra por oxidación o por reducción, como la hemoglobina y la oxihemoglobina. Se ha discutido la existencia de estas substancias, que nunca han sido preparadas y que únicamente se conocen por sus espectros de absorción; se ha dicho que estas substancias son productos de transformación de la hemoglobina del músculo por los reactivos empleados. La cuestión no está aún definitivamente resuelta: no obstante, nosotros admitiremos la existencia de esta substancia, porque su existencia ha sido comprobada en los músculos de los insectos, los cuales, como es sabido, no poseen hemoglobina: por lo tanto, por lo menos en estos seres, la miohematina no proviene de la transformación de la hemoglobina por los reactivos.

III. — MATERIAS EXTRACTIVAS DEL MUSCULO

Las *materias extractivas del músculo* son unas ternarias, otras nitrogenadas y otras minerales.

Las *substancias minerales del músculo* son las substancias minerales de todos los tejidos, cloruros y fosfatos, sales de potasio, de sodio, de calcio y de magnesio. Pero es conveniente fijarse en la riqueza en fósforo del músculo, y también en sales de potasa, y su relativa pobreza en sales de sodio y cloruros. He aquí un ejemplo.

1.000 partes de músculo contienen:

Potasa.	4,65
Sosa.	0,77
Cal y magnesia.	0,50
Acido fosfórico.	4,64
Cloro.	0,67

Entre las *substancias ternarias del músculo* señalemos el glicógeno, la inosita, la glicosa y el ácido láctico.

1. El músculo contiene *glicógeno* en cantidad variable, pudiendo llegar a 1 y aun a 1,5 por 1.000 (1). Estudiando el hígado, describiremos los procedimientos de preparación y de dosificación del glicógeno del hígado; estos procedimiento son aplicables al músculo; no los describiremos aquí. Diremos únicamente que el procedimiento empleado generalmente para demostrar la presencia del glicógeno en el músculo, y dosificar este hidrato de carbono, consiste esencialmente en disolver totalmente por la ebullición el músculo en una solución de sosa cáustica a razón de 3 a 4 partes de sosa por 180 partes de músculo (1), y en este líquido, que contiene álcalialbuminoides, proteosas, glicógeno no alterado (porque el glicógeno, como ya hemos dicho, no es alterado por la sosa cáustica ni aun en ebullición), etc., precipitar los álcalialbuminoides por neutralización, las proteosas por el licor de Brücke y el ácido clorhídrico, y después el glicógeno por el alcohol.

(1) La cantidad de glicógeno del músculo disminuye por las contracciones y desaparece en las convulsiones estricnicas; disminuye también, pero más despacio, bajo la influencia del enfriamiento y del ayuno, y acaba, pero muy tardíamente, por desaparecer.

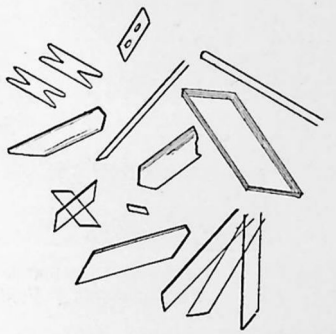


Fig. 76 — Cristales de inosita (Halliburton).

2. La *inosita* tiene la composición centesimal de las glicosas, $C^6H^{12}O^6$. Pero no es un hidrato de carbono; es un compuesto aromático, un hexahidrohexaoxibenceno $C^6H^6(OH)^6$. Es una substancia soluble en el agua, insoluble en el alcohol fuerte, insoluble en el éter. Esta substancia cristalizable no posee poder rotatorio, no es reductora, no fermenta por la levadura de cerveza, caracteres que la separan profundamente de las glicosas que hemos estudiado: glicosa, levulosa y galactosa. La inosita puede sufrir la fermentación láctica, añadiéndole creta y queso.

La preparación y la dosificación de la inosita son operaciones muy delicadas, que renunciamos a describir. El músculo contiene de 0,1 a 0,3 por 1.000 de inosita.

3. El músculo vivo y descansado contiene muy poco *azúcar;* el músculo separado del cuerpo contiene algo más. Es sabido que este azúcar es un azúcar reductor, fermentable, dextrógiro, que verosímilmente es glicosa.

4. El músculo vivo descansado y muy vascularizado tiene *reacción neutra;* el músculo vivo y extenuado y el músculo muerto y rígido tienen *reacción ácida*. Esta reacción ácida es debida a la presencia de un *ácido láctico* (2). El ácido láctico que se encuentra en los músculos lleva el nombre de *ácido sarcoláctico* o *ácido paraláctico:* es distinto del ácido

(1) Se añaden, por ejemplo, a 20 gramos de músculo, 90 centímetros cúbicos de agua y 10 centímetros cúbicos de una lejía de sosa cáustica al 15 por 100.

(2) La cantidad de ácido láctico del músculo puede llegar al 1 por 1.000.

láctico que se forma en la leche abandonada al aire, a expensas de la lactosa, y se designa este último con el nombre de *ácido láctico de fermentación*. El ácido sarcoláctico es dextrógiro, el ácido láctico de fermentación es inactivo sobre la luz polarizada; sus sales de cal y de cinc se diferencian por sus solubilidades y por su contenido en agua de cristalización.

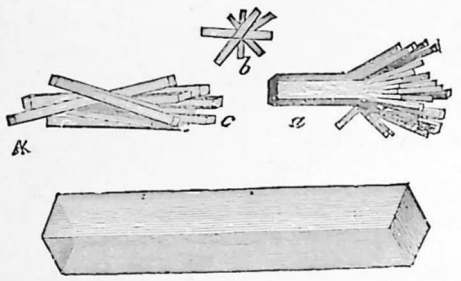


Fig. 77. — Cristales de creatina de carne de buey (según Robin y Verdeil).

Estos dos ácidos responden, por otra parte, a la misma constitución, CH^3-CHOH-CO^2H.

El ácido sarcoláctico de los músculos no deriva de los hidratos de carbono y en particular del glicógeno que aquéllos contienen; dicho ácido se produce en los músculos de animales que han sido privados del glicógeno por un ayuno previo suficientemente largo.

Esto ácidos lácticos preparados puros son líquidos siruposos, fuertemente ácidos de sabor y con los papeles reactivos, solubles en el agua, en el alcohol y en el éter.

Entre las *substancias extractivas nitrogenadas del músculo*, citaremos la *creatina* y las substancias de la *serie púrica o xántica*.

La *creatina* es una substaancia cuaternaria, compuesta de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Es una substancia cristalizable, soluble en el éter. La creatina, que no estudiaremos de una manera detallada, presenta dos reacciones importantes para el fisiólogo. Hervida con agua de barita cáustica, se descompone en metilglicocola y urea. Hervida con ácidos diluídos, pierde el agua y se transforma en creatinina, substancia que se encuentra en muy pequeña cantidad en el músculo, y en bastante cantidad en la orina.

$$\underset{\text{Creatina.}}{C^4H^9N^3O^2} = H^2O + \underset{\text{Creatinina.}}{C^4H^7N^3O}$$

Los músculos contienen una cantidad importante de creatina, 2 a 4 por 1.000: la creatina puede ser considerada como un producto de desasimilación de las substancias albuminosas

del músculo. No se encuentra la creatina en otros tejidos sino en el muscular y en los líquidos del organismo, y aun en muy poca cantidad; es eliminada, pues, bajo otra forma. Acabamos de indicar las relaciones de la creatina con la urea y la creatinina: podemos admitir, pues, que la creatina es eliminada bajo una u otra de estas formas por la orina. Por lo tanto, podemos admitir, dadas las íntimas relaciones de la creatina y la creatinina, que no se diferencian más que por el H^2O, que la creatina se elimina principalmente, si no exclusivamente, bajo la forma de creatinina.

La creatina se ha obtenido sintéticamente por la unión de la cianamina CN—NH^2 y de la metilglicocola (1) NH(CH^3)—CH^2—CO^2H. Debe ser considerada desde luego como una metilglicocianamina.

$$NH=C\begin{cases}NH^2\\ N(CH^3)\text{-}CH^2CO^2H.\end{cases}$$

Ahora bien, según hemos visto precedentemente, la arginina, que participa de la constitución del núcleo fundamental de la molécula albuminosa, responde a la constitución:

$$NH=C\begin{cases}NH^2\\ NH\text{-}(CH^2)^3\text{-}CH(NH^2)\text{-}CO^2H.\end{cases}$$

La analogía de las dos substancias es manifiesta. Se las puede considerar una y otra como a productos de la substitución de la guanidina

$$NH=C\begin{cases}NH^2\\ NH^2\end{cases}$$

siendo la creatina el ácido metilguanidinacético, y la arginina un ácido guanidinamidovaleriánico. Estas nociones químicas deben ser recordadas porque permiten entrever las relaciones que verosímilmente existen entre la creatina y el núcleo fundamental de las substancias albuminosas.

La creatinina, de la que acabamos de hablar, y que se deriva de la creatina por la pérdida de una molécula de agua, tiene por fórmula de constitución

$$NH=C\begin{cases}NH\text{——}CO\\ N(CH^3)\text{—}CH^2,\end{cases}$$

en la que fácilmente se ven las analogías con la de la creatina.

(1) Este cuerpo se denomina también sarcosina.

El músculo contiene además otras substancias extractivas nitrogenadas. Son: el ácido úrico y los cuerpos pertenecientes a la *serie xántica*. Se comprenden bajo esta última denominación una serie de cuerpos compuestos de carbono, hidrógeno, nitrógeno y, generalmente, oxígeno, que hemos obtenido precedentemente como productos de descomposición de los ácidos nucleicos y llamados por esta razón bases nucleínicas. Limitémonos a señalar en el músculo la presencia, al lado del ácido úrico, de algunos de estos cuerpos: xantina, hipoxantina y guanina.

CAPITULO XV

EL HIGADO Y LA BILIS

SUMARIO.—I. TEJIDO HEPÁTICO.
II. GLICÓGENO DEL HÍGADO.—Glicógeno y azúcar del hígado.
III. BILIS.—La bilis contiene dos grupos de substancias características: las sales biliares, los pigmentos biliares. *a. Sales biliares.* Solubilidades y preparación de las sales biliares. Bilis cristalizada de Plattner. Reacción de Pettenkofer. Acidos biliares: ácido taurocólico, preparación y propiedades. Constitución de los ácidos biliares: ácido colálico. *b. Pigmentos biliares.* Bilirrubina y biliverdina. La bilirrubina. Solubilidades, propiedades, preparación. La biliverdina. Solubilidades, propiedades, preparación. Reacción de Gmelin. Origen de los pigmentos biliares. *c.* El núcleoproteido biliar. *d.* La colesterina, etc. *e.* Los cálculos biliares: cálculos de colesterina y cálculos de bilirrubina.

I. — TEJIDO HEPATICO

El tejido hepático, libre por lavados intravasculares de agua salada al 1 por 100 de la sangre que normalmente contiene, presenta una reacción muy ligeramente alcalina cuando acaba de extraerse de un animal vivo, y una reacción francamente ácida si se examina algún tiempo después de la muerte.

El tejido hepático contiene alrededor de 75 por 100 de substancias fijas, substancias proteicas, substancias hidrocarbonadas, materias grasas, substancias extractivas y materias minerales.

Las proteínas del hígado son albúminas, globulinas, núcleoproteidos, que se han podido separar y caracterizar por los métodos generales fundados en sus solubilidades, sus precipitabilidades, sus temperaturas de coagulación, etc.

Las substancias hidrocarbonadas del hígado son el glicógeno y la glicosa.

Las materias grasas son grasas neutras, trioleína, tripalmitina y triestearina, y lecitina. El hígado normal contiene alrededor de 2 a 3 por 100 de grasas; pero en los casos de infiltración grasosa y de degeneración grasosa, su proporción aumenta y puede llegar a 10, 15 y aun a 20 por 100.

Las principales substancias extractivas son la urea, las bases xánticas, el ácido sarcoláctico (este último en el hígado que se ha vuelto ácido después de la muerte), etc.

Entre las substancias minerales del tejido hepático, hay que señalar el hierro, cuya cantidad puede llegar al 1 por 1.000 del peso del tejido fresco. Este hierro se halla en estado de combinación con substancias proteicas verosímilmente nucleicas, que ocultan sus reacciones: no puede ser claramente caracterizado más que en las cenizas hepáticas.

El hígado es un órgano de múltiples funciones: debemos considerar particularmente su *función glicogénica* y su *función biliar*.

II. — GLICOGENO DEL HIGADO

El hígado es el gran regulador del azúcar de la sangre y de los tejidos. Si el organismo recibe por las ramas de la vena porta, que lo han extraído del intestino, un exceso de azúcar, el hígado detiene este azúcar a su paso y lo fija en sus células bajo la forma de glicógeno. Si el azúcar de los tejidos o de la sangre, constantemente consumido por el funcionamiento de los órganos, disminuye, el hígado forma azúcar a expensas del glicógeno de reserva en su tejido y regula así a una tasa constante la proporción del azúcar de todo el organismo.

Por consiguiente, lo que importa conocer son los hidrocarbonos del hígado.

El hígado contiene *glicógeno:* se puede demostrar, ya sea por una reacción histoquímica, ya sea por una preparación química.

El glicógeno se colora de pardo caoba por el licor yodoyodurado (v. cap. IV, pág. 96): tratando por este reactivo un fragmento de tejido hepático o de células hepáticas disociadas, veremos, al examen microscópico de estos elementos, alrededor del núcleo de la célula, glóbulos claramente colorados de pardo caoba. Esta reacción enseña que el glicógeno se encuentra en el interior de las células hepáticas formando pequeños

gránulos dispuestos alrededor del núcleo y esparcidos en zonas irregulares del protoplasma celular (1).

Ya hemos dicho anteriormente que el glicógeno es soluble en el agua, dando soluciones opalescentes, e insoluble en el alcohol; transformándose, por ebullición en presencia de ácidos diluídos, en azúcar reductor y fermentable.

Haciendo hervir el hígado triturado y machacado con agua, obtendremos un líquido fuertemente opalescente. Este líquido, tratado por el alcohol, forma un abundante precipitado blanco en copos. Este precipitado, lavado con alcohol y desecado, se colora de pardo caoba por la solución yodoyodurada; agotado por el agua, este precipitado, lavado y desecado, forma soluciones que después de la ebullición con ácido clorhídrico diluído y de neutralización, reducen al licor de Fehling y fermentan por la levadura de cerveza: el precipitado contiene, pues, glicógeno.

Pero el glicógeno obtenido así es muy impuro: el alcohol precipita, no solamente el glicógeno, sino también las substancias proteicas no coaguladas contenidas en el extracto de hígado. Para obtener un glicógeno puro, sirviéndose del hígado como materia prima, es preciso separar, en el extracto acuoso de hígado, el glicógeno de las proteínas. Se obtiene tratando este extracto acuoso por el licor de Brücke y el ácido clorhídrico (v. cap. V, pág. 129): las proteínas son precipitadas; el glicógeno queda en solución. En el líquido libre así de las proteínas, basta añadir 2 volúmenes de alcohol de 95 por 100 para precipitar el glicógeno (2). El glicógeno así obtenido no contiene proteínas, pero generalmente contiene sales. Para purificarlo, se puede disolver en agua y someter la solución a la diálisis, en presencia de agua destilada; las sales se dializan; el glicógeno, substancia coloide, no se dializa. La solución, libre de la mayor parte de las sales (3), es precipitada por el alcohol. De esta manera se obtiene el glicógeno, del que hemos estudiado las propiedades en el capítulo V, página 95.

El fisiólogo no debe solamente poder reconocer el glicógeno en el hígado y separarlo, sino también debe dosificarlo.

La dosificación se verifica como la preparación; es conveniente,

(1) Esta opinión no está admitida por todos los autores: algunos creen que el glicógeno está regularmente repartido en toda la célula y no se condensa en gránulos más que bajo la influencia de reactivos histoquímicos.

(2) También se puede proceder como sigue: el hígado muy fresco es finamente triturado; se añade una parte de papilla hepática, 2 partes de solucion acuosa de ácido tricloroacético a 2 ó 4 por 100, que se incorpora a la papilla triturando de nuevo la masa fuertemente enfriada; se echa en un filtro; se precipita el glicogeno del licor filtrado por el alcohol y después de haberlo separado en el filtro se lava con alcohol y éter.

(3) La diálisis no debe ser completa, porque para ser precipitado por el alcohol, el glicógeno no debe estar libre por completo de sus sales.

sin embargo, hacer hervir el tejido hepático picado muchas veces con una nueva cantidad de agua para disolver la totalidad del glicógeno. Los extractos acuosos reunidos y concentrados por la ebullición son librados de las substancias proteicas que contienen por el licor de Brücke y el ácido clorhídrico, añadidos después de enfriar el líquido (porque en caliente el ácido clorhídrico podría transformar una parte del glicógeno en azúcar) y precipitados por dos volúmenes de alcohol de 95 por 100. El precipitado se lava con alcohol de 60 por 100, después con alcohol de 95 por 100 y después con éter, se deseca en el vacío hasta un peso constante y se pesa.

El agotamiento completo del hígado por el agua hirviendo es una operación muy larga; a la vez es difícil saber si el agotamiento es completo. Por esto, es mejor proceder de la manera siguiente: se hace hervir el hígado con el 4 por 100 de su peso de sosa cáustica, poco más o menos, disuelta en una cantidad conveniente de agua (1): el tejido hepático es así completamente disuelto; las proteínas son transformadas en álcalialbuminoides o proteosas; el glicógeno no es alterado. Se precipitan los álcalialbuminoides por neutralización, y en el líquido obtenido por filtración se determina el glicógeno, como en el método precedente, terminando la precipitación de las proteínas por el licor de Brücke clorhídrico y precipitando después el glicógeno por el alcohol.

La cantidad de glicógeno contenida en el hígado de los mamíferos es muy variable. Ordinariamente es de 30 a 40 por 1.000, pero en algunos casos, y en particular después de una comida rica en hidrocarbonados, es mucho más considerable, pudiendo llegar a 100 y 120 por 1.000.

Cuando el hígado está en su sitio en el animal viviente, contiene glicógeno; también tiene azúcar, glicosa, pero en débil proporción.

Cuando el hígado es separado del resto del organismo y dejado durante algún tiempo a la temperatura ordinaria, o mejor aún a 40°, una parte del glicógeno contenido en las células hepáticas se transforma: a sus expensas se forma *un azúcar reductor y fermentable*. Al cabo de un tiempo, variable según la cantidad de glicógeno del hígado y según la temperatura, desaparece la totalidad del glicógeno para transformarse en azúcar.

Si el hígado es hervido, el glicógeno no se transforma en azúcar: por lo tanto, el agente de transformación es destruído por la ebullición. Cuando el hígado es picado en presencia de una solución de fluoruro sódico al 1 por 100 (que mata los elementos vivos o suprime las manifestaciones de su vitalidad), conserva la propiedad de transformar el glicógeno en azúcar: el agente de transformación no es, pues, la célula viviente.

(1) Se añadirán, por ejemplo, a 20 gramos de tejido hepático, 90 centímetros cúbicos de agua y 10 centímetros cúbicos de una lejía de sosa cáustica al 15 por 100.

Esta transformación se verifica en el hígado extraído del cuerpo por la acción de una *diastasa amilolítica*, análoga, pero que no es idéntica verosímilmente, a la diastasa que encontraremos en la saliva, en el jugo pancreático y, en general, en la mayoría de líquidos y tejidos orgánicos, porque ella transforma el glicógeno en glicosa, y no solamente en dextrinas y maltosa, como ocurre con estas diastasas digestivas.

Esta transformación que se verifica en el hígado extraído del cuerpo, ¿se produce también durante la vida? La mayoría de los fisiólogos responden afirmativamente: el hígado contiene glicógeno, contiene una diastasa capaz de tranformarlo en azúcar: el azúcar producido por el hígado durante la vida se produce a expensas del glicógeno y por fermentación diastásica. ¿Por qué rechazar esta hipótesis que explica los hechos de una manera sencilla e imaginar complicadas teorías? Una parte, y probablemente la más importante, del azúcar que circula por el organismo y en él es constantemente consumido, deriva del glicógeno del hígado; pero no hay que olvidar que, en defecto del glicógeno hepático, el organismo puede producir azúcar a expensas de sus proteínas.

III. — BILIS

La bilis secretada o excretada por el hígado es un líquido rojo, pardo, amarillo o verde, según la especie animal, dentro de los canales biliares y dentro de la vesícula biliar; se vuelve verde obscuro cuando se ha mantenido durante algún tiempo en contacto con el aire; al gusto es amarga, grasienta al tacto, fluente y viscosa; su reacción es alcalina al tornasol.

Contiene dos grupos de substancias característicos:

Las *sales biliares*.
Los *pigmentos biliares*.

Contiene, además, un *núcleoproteido*, la *colesterina*, sales, cloruros y fosfatos, sales de potasa, de sosa, de cal y de hierro.

La cantidad de bilis producida en veinticuatro horas en el

hombre es de 500 a 800 centímetros cúbicos. La cantidad de bilis producida en el perro de 15 a 20 kilogramos de peso es de 150 a 200 centímetros cúbicos en veinticuatro horas.

He aquí como ejemplos algunos análisis de bilis humanas:

Agua	974,80	964,74	974,60
Residuo seco	25,20	35,26	25,40
Mucina	5,29	4,29	5,15
Sales biliares	9,31	18,24	9,04
Extracto etéreo (grasas, lecitina, colesterina, etc.)	2,28	5,48	3,75
Sales	8,52	7,25	7,46

a) Sales biliares

Al lado de las sales de ácidos minerales, cloruros y fosfatos, la bilis contiene siempre sales de ácidos orgánicos, llamadas *sales biliares*. Son las sales sódicas de dos ácidos orgánicos nitrogenados: el uno es el ácido *glicocólico* y el otro el ácido *taurocólico*. Estos ácidos son llamados *ácidos biliares*: son característicos de la bilis, porque no se encuentran más que en la bilis, en la que siempre se hallan. La bilis de todos los animales no siempre contiene las dos especies de sales biliares: así en la bilis de perro no se encuentra más que el taurocolato sódico; en la bilis de buey, por el contrario, y también en la bilis humana, se encuentran a la vez el glicocolato y el taurocolato sódicos. La bilis humana contiene aproximadamente 7 por 100 de glicocolato y el 2 por 100 de taurocolato.

Las *sales biliares* son solubles en el agua, solubles en el alcohol e insolubles en el éter: éste las precipita de sus soluciones alcohólicas. La bilis debe su conocido amargor a la presencia de estas sales biliares.

He aquí cómo se pueden preparar las sales biliares:

Se mezclan íntimamente 200 cent. cúb. de bilis de buey, por ejemplo, con 20 gr. de negro animal y se evapora hasta sequedad. Los pigmentos biliares se fijan entonces fuertemente en el negro animal, lo que permite obtener sales biliares no coloreadas, por lo tanto no ensuciadas con pigmentos biliares. La masa seca formada de negro animal y residuo seco de la bilis es tratada por el alcohol absoluto que disuelve las sales biliares, la colesterina, la lecitina, las materias grasas, etc, de la bilis. Esta solución alcohólica, que está fuertemente coloreada, se mantiene en general en prolongado contacto con negro animal, que fija la materia colorante. Entre las substancias

disueltas en el alcohol, las sales biliares son las únicas insolubles en el éter y en el alcohol-éter; todas las demás conocidas substancias son solubles con el éter. Por consiguiente, añadiendo éter a la solución alcohólica descolorada, se determina la producción de un precipitado constituído únicamente por sales biliares.

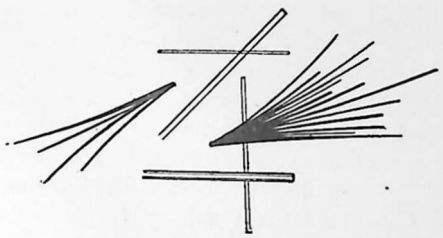


Fig. 78. — Bilis cristalizada de Plattner. Cristales microscópicos.

El precipitado de las sales biliares se presenta con la forma de un fino polvo blanco, que se posa al fondo del líquido alcohol-éter y se aglomera en una masa de aspecto pastoso o resinoso. Si se deja esta masa amorfa en contacto, durante algunos días, con alcohol fuertemente eterificado, en el que es precipitada, se transforma generalmente en una masa cristalina formada de largas agujas sedosas agrupadas en fascículos. Constituye lo que se llama la *bilis cristalizada de Plattner*.

Las sales biliares presentan una reacción notable, llamada *reacción de las sales o de los ácidos biliares, o reacción de Pettenkofer*.

Si a una solución de un ácido o de una sal biliar se añaden en pequeñas porciones, evitando que la temperatura se eleve

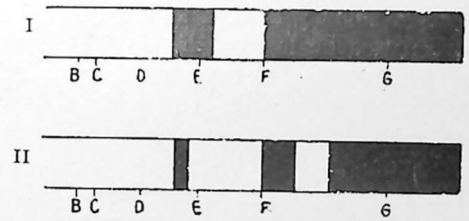


Fig. 79. — Reacción de Pettenkofer. Espectros de absorción. I, líquido concentrado. — II, líquido diluído.

a más de 70°, dos tercios de su volumen de ácido sulfúrico concentrado y después algunas gotas de una solución de azúcar de caña al 10 por 100, o de un solución de levulosa al 10 por 100, se ve tomar al líquido una coloración rojo púrpura obscura. Esta reacción se produce muy claramente con las so-

luciones que no contienen más del 4 por 100 de sales biliares (L. col. IV, fig. L).

Esta reacción es debida a la acción sobre las sales biliares de un cuerpo que se forma por la acción del ácido sulfúrico sobre el azúcar, el furfurol. También se puede hacer la reacción de la manera siguiente: a 1 centímetro cúbico del líquido a analizar se añade 1 centímetro cúbico de una solución acuosa de furfurol al 1 por 1.000 y 1 centímetro cúbico de ácido sulfúrico concentrado, evitando que la temperatura pase de 70°. Se obtiene así la coloración rojo púrpura. Bajo esta forma, la reacción se llama *reacción de Udranszky* (1).

Esta coloración rojo púrpura obscura, que se produce por la acción del ácido sulfúrico y del azúcar, o del ácido sulfúrico y del furfurol sobre las sales biliares, ¿es característica de estas sales? No; otras substancias, y en particular todas las proteínas menos la gelatina, dan la misma reacción. Para ser característica de las sales o ácidos biliares, la rección de Pettenkofer debe ser comprobada y completada por el examen espectroscópico del líquido rojo púrpura obscuro obtenido.

Cuando el líquido rojo púrpura obtenido en la reacción de Pettenkofer es muy diluído, absorbe las partes más refrangibles del violado, el extremo violado; menos diluído, absorbe mayor parte de violado; menos diluído aún, absorbe la totalidad del violado. Cuando el líquido ha sido diluído de manera que absorba la totalidad del violado, su espectro de absorción presenta dos bandas de absorción: una situada a nivel de la raya F del espectro solar y la otra situada entre las rayas D y E del espectro, cerca de la raya E. Cuando, por último, el líquido es muy concentrado, el espectro de absorción se compone de la banda situada cerca de la raya E del espectro solar, y de una vasta zona de absorción que se extiende sobre las partes añil y violada del espectro.

Las sales biliares son glicocolatos y taurocolatos de álcalis (sales de sosa en los mamíferos y la mayoría de los vertebrados, sales de potasa en algunos peces marinos).

Se pueden obtener puros y por separado el glicocolato de sosa o el ácido glicocólico y el taurocolato de sosa o el ácido taurocólico.

La preparación del *taurocolato de sosa* es fácil: la bilis de perro

(1) Si en lugar de operar con la bilis misma, se verifica la reacción de Udranszky con la solución alcohólica de bilis descolorada por el negro animal, se pueden poner de manifiesto muy claramente, en 1 centímetro cúbico de este extracto alcohólico 0,0001 gr. de ácido colálico.

contiene, como hemos dicho, taurocolato de sosa, pero no contiene el glicocolato. Por lo tanto, si se prepara la bilis cristalizada de Plattner, sirviéndose como materia prima de la bilis de perro, se obtendrá taurocolato de sosa. Obtenida la sal de sosa, se tendrá fácilmente el ácido libre: basta disolver el taurocolato de sosa en alcohol, añadir un poco de ácido clorhídrico, para poner en libertad el ácido taurocólico, separar por filtración el cloruro sódico formado insoluble en el alcohol y precipitar el líquido alcohólico por el éter. Para terminar la purificación, eliminando los restos de cloruro sódico, se redi-

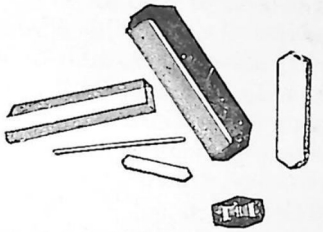


Fig. 80. — Acido glicocólico cristalizado.

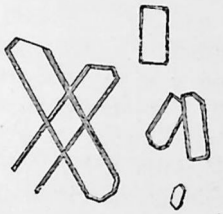


Fig. 81. — Cristales microscópicos de taurina (Halliburton).

suelve el ácido biliar en alcohol absoluto y se precipita por el éter. Cuando se verifica esta precipitación en líquidos absolutamente anhidros, el ácido se precipita en una masa resinosa que poco a poco se transforma en una masa cristalina. Si a los líquidos se les añade un poco de agua, puede verificarse la precipitación cristalina desde un principio.

Pero no se conoce ninguna bilis que contenga únicamente *glicocolato*. Para preparar esta sal se debe emplear la bilis de buey, que contiene a la vez glicocolato y taurocolato de sosa; es preciso separar las dos sales o sus dos ácidos: la separación es fácil de realizar, porque el ácido glicocólico es poco soluble en el agua (1 parte en 300 de agua a la temperatura ordinaria), mientras que el ácido taurocólico es muy soluble en el agua. Supongamos que se ha preparado con la bilis de buey la bilis cristalizada de Plattner; las sales biliares así obtenidas son disueltas en el agua y su solución es tratada por el ácido sulfúrico diluído, hasta que se produce una turbiedad persistente. El fino precipitado producido así, constituído únicamente por ácido glicocólico, se transforma en algunas horas en masas de agujas cristalinas. Por otra parte, se puede purificar este precipitado separándolo por filtración, desecándolo a la temperatura de 100°, disolviéndolo en alcohol absoluto y precipitándolo por el éter. El precipitado amorfo se transforma poco a poco en una masa cristalina.

Existen numerosos procedimientos para la preparación y purificación de los ácidos biliares, pero no es preciso describirlos aquí.

Preparados puros, los *ácidos biliares* están, o pueden estar, cristalizados en largas y finas agujas; los ácidos biliares, como sus sales sódicas, son solubles en el alcohol fuerte, insolubles en el éter, precipitados de sus soluciones alcohólicas por el éter: el precipitado así producido, amorfo en un principio, no tarda en cristalizar cuando se mantiene en contacto con el líquido alcohol-éter, en el que se ha formado. El ácido glicocólico es muy poco soluble en el agua; el ácido taurocólico, por el contrario, es muy soluble en el agua.

¿Cuál es la constitución química de estos ácidos?

El análisis elemental nos enseña que el *ácido glicocólico* es una substancia *cuaternaria* compuesta de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, que responde a la fórmula $C^{26}H^{43}NO^6$; que el *ácido taurocólico* está compuesto de cinco elementos: carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y *azufre*, y responde a la fórmula $C^{26}H^{45}NSO^7$.

Haciendo hervir el *ácido glicocólico* con una lejía alcalina, solución saturada en caliente de agua de barita, por ejemplo, o con un ácido mineral diluído, ácido clorhídrico, por ejemplo, el ácido biliar es desdoblado, con fijación de una molécula de agua, en un amidoácido, la *glicocola* (ácido amidoacético) $NH^2CH^2CO^2H$ y un ácido orgánico no nitrogenado, el ácido *colálico*.

$$\underset{\text{Acido glicocólico}}{C^{26}H^{43}NO^6} + H^2O = \underset{\text{Glicocola}}{C^2H^5NO^2} + \underset{\text{Acido colálico.}}{C^{24}H^{40}O^5},$$

Haciendo hervir el *ácido taurocólico* con una solución saturada en caliente de agua de barita, o con ácido clorhídrico diluído, el ácido biliar es descompuesto, con fijación de una molécula de agua, en un amidoácido, la *taurina* (que es *sulfurada*), o ácido amidoetilsulfónico $SO^2\langle^{CH^2\text{-}CH^2NH^2}_{OH}$ y un ácido orgánico no nitrogenado, el ácido *colálico*.

$$\underset{\text{Acido taurocólico}}{C^{26}H^{45}NSO^7} + H^2O = \underset{\text{Taurina}}{C^2H^7NSO^3} + \underset{\text{Acido colálico.}}{C^{24}H^{40}O^5}$$

Estos hechos establecen con gran claridad el parentesco químico y el parentesco de origen de los dos grupos de sales biliares, ya que *los ácidos biliares resultan de la combinación de un mismo ácido, el ácido colálico, con amidoácidos, la glicocola en un caso y la taurina en otro.*

Sabemos que la *glicocola* se encuentra entre los productos de hidrólisis de las proteínas. La *taurina* no se encuentra entre estos productos; se encuentra entre ellos, como substancia sulfurada, la cistina. Esta puede ser desdoblada por el estaño y el ácido clorhídrico en dos moléculas de cistina

$$CH^2(SH)—CH(NH^2)—COOH.$$

Esta es transformada por los agentes oxidantes en ácido cisteico

$$CH^2(SO^2OH)—CH(NH^2)—COOH,$$

y este último, por pérdida de ácido carbónico, forma la taurina. Así están establecidas las relaciones químicas entre la taurina y la cistina derivada de las proteínas.

El *ácido colálico* que se puede preparar así, con el ácido glicocólico o con el ácido taurocólico, da la *reacción de Pettenkofer* (y la modificación de Udranszky); los ácidos biliares y sus sales deben su propiedad de dar esta reacción de coloración al núcleo colálico.

Hemos dicho constantemente el ácido glicocólico y el ácido taurocólico; sería mejor decir los ácidos glicocólicos y los ácidos taurocólicos; efectivamente, parece que *las sales biliares de los diferentes animales y los ácidos correspondientes no son idénticos:* existirían ácidos biliares muy semejantes los unos con los otros, con las mismas propiedades químicas, la misma constitución general, pero *diferenciándose por el ácido colálico* que entra en la constitución de sus moléculas y presentando algunas propiedades diferentes; de la misma manera que hay distintas hemoglobinas y oxihemoglobinas en los diferentes animales. Se han descrito en particular los ácidos *hioglicocólico, hiotaurocólico* e *hiocolálico* en el *cerdo;* los ácidos *antropoglicocólico*, etc., en el *hombre*; un ácido *quenotaurocólico* en el *pato.*

No describiremos los largos y difíciles procedimientos que permiten dosificar los ácidos biliares de la bilis; indicaremos solamente algunos resultados.

En la bilis humana se han encontrado de 8 a 20 por 1.000 de sales biliares, representando el glicocolato sódico las tres cuartas partes de estas sales, y una cuarta parte el taurocolato sódico.

He aquí algunos análisis:

	Para 1 litro de bilis		
Sales biliares	9,50	18,24	9,04
Taurocolato	3,05	2,08	2,18
Glicocolato	6,27	16,16	6,86

La bilis de perro contiene de 3,5 a 12 por 1.000 de taurocolato sódico.

b) *Pigmentos biliares*

Generalmente se dice que hay dos pigmentos biliares fundamentales: la *bilirrubina* y la *biliverdina*, siendo la bilirrubina transformable en biliverdina por el oxígeno atmosférico. Esta proposición no es exacta: la bilis no contiene ni bilirrubina ni biliverdina, sino las combinaciones salinas de estas dos substancias, bilirrubinatos y biliverdinatos por el oxígeno del aire. Por otra parte, se pueden preparar fácilmente por medio de estas sales los compuestos que figuran como ácidos, la bilirrubina y la biliverdina.



Fig. 82. — Bilirrubina.

La *bilirrubina* ($C^{32}H^{36}N^4O^6$) (1) ha podido ser preparada pura, amorfa y cristalizada. Amorfa, es un polvo amarillo rojizo, que recuerda el sulfuro de antimonio amorfo; cristalizada, se presenta bajo la forma de tabletas rómbicas con los ángulos obtusos frecuentemente redondeados.

La bilirrubina es absolutamente insoluble en el agua, muy poco soluble en el éter, muy poco soluble en el alcohol; es soluble en el alcohol amílico (principalmente en caliente) y es muy soluble en el cloroformo. Las soluciones clorofórmicas de bilirrubina no presentan espectro de absorción; absorben todas las radiaciones, del rojo al violado, aumentando regularmente la absorción del rojo hacia los violados (L. col. V, figura M.)

La bilirrubina no fija fácilmente el oxígeno del aire para transformarse en biliverdina. Esta oxidación no se verifica bien más que por el empleo de agentes de oxidación moderada, tales como el agua oxigenada, etc.

La bilirrubina se comporta como un ácido: se combina con

(1) Esta substancia es llamada también: colepirrina, bilifeína, bilifulvina, hematoidina, etc.

los álcalis, formando los *bilirrubinatos de álcalis*, algo solubles en el agua, solubles en los álcalis y en los carbonatos de álcalis e insolubles en el cloroformo; se combina con las tierras alcalinas, formando los bilirrubinatos alcalinotérreos, insolubles en el agua y en el cloroformo. Por consiguiente, la bilirrubina se disuelve, en estado de bilirrubinato alcalino, en una solución acuosa de álcalis o de carbonatos alcalinos; inversamente, la bilirrubina es precipitada de su solución clorofórmica, en estado de bilirrubinato alcalino, por la agitación de esta última con una pequeña cantidad de una solución alcalina.

Las soluciones acuosas de los bilirrubinatos alcalinos son precipitadas por los ácidos minerales, descomponiendo el ácido al bilirrubinato y poniendo en libertad la bilirrubina, insoluble en el agua. Estas mismas soluciones acuosas de bilirrubinatos son precipitadas por las soluciones de sales alcalinotérreas, en estado de bilirrubinatos alcalinotérreos insolubles en el agua.

Estas diferentes proposiciones quedan resumidas en el siguiente cuadro:

	Agua	Cloroformo
Bilirrubina	Insoluble.	Soluble.
Bilirrubinatos alcalinos . . .	Solubles.	Insolubles.
» alcalinotérreos .	Insolubles.	Insolubles.

Los bilirrubinatos alcalinos en contacto del aire se transforman en biliverdinatos (segundo grupo de pigmentos biliares).

Si se trata por un agente hidrogenante, por la amalgama de sodio, por ejemplo, una solución acuosa de bilirrubinatos alcalinos, se transforma la bilirrubina en *hidrobilirrubina*,

$$\underset{\text{Bilirrubina}}{C^{32}N^{36}N^4O^6} + H^2O + H^2 = \underset{\text{Hidrobilirrubina,}}{C^{32}H^{40}N^4O^7}$$

substancia que se considera como idéntica a la urobilina (véase Cap. XXIII).

Por la influencia de algunos agentes reductores, y en particular del ácido yodhídrico, la bilirrubina produce el hemopirrol $C^8H^{13}N$, derivado del pirrol. Como hemos indicado ya, este hemopirrol, que se puede derivar de la hematina y de la hematoporfirina (véase Cap. VIII, pág. 246), absorbe el oxígeno atmosférico y se transforma en urobilina.

Se puede separar la bilirrubina de la bilis, agitando la bilis fresca acidulada, en el momento de salir de la vesícula biliar (en el momento, para que los bilirrubinatos no hayan podido ser transformados en biliverdinatos por el contacto del aire), con el cloroformo; se obtiene una solución clorofórmica de bilirrubina. Pero procediendo de esta manera, no se obtienen más que pequeñas cantidades de bilirrubina, demasiado pequeñas para poder hacer el estudio de esta materia colorante.

Para obtener la bilirrubina en gran cantidad es necesario extraerla de ciertos cálculos biliares. En el buey se encuentran frecuentemente cálculos de bilirrubinato de cal dentro de la vesícula biliar. Estos cálculos contienen, además del bilirrubinato de cal, otras substancias, particularmente la colesterina: el bilirrubinato de cal es insoluble en este disolvente; los cálculos reducidos a polvo son librados de la colesterina por el éter. El polvo de bilirrubinato de cal es descompuesto por el ácido clorhídrico en bilirrubina insoluble en el agua y cloruro de calcio soluble en el agua. Por lavados con agua, se libra a la bilirrubina de sus impurezas salinas. La bilirrubina así obtenida es amorfa; para obtenerla cristalizada se disuelve en el cloroformo hirviente: entonces cristaliza por enfriamiento.

La *biliverdina*, $C^{32}H^{36}N^4O^8$, puede ser considerada como un producto de oxidación de la bilirrubina, de la que se diferencia por O^2 de más.

Se conoce en estado amorfo; se la ha obtenido también en cristales poco limpios, plaquetas rómbicas de ángulos romos, haciendo evaporar una solución de biliverdina en ácido acético glacial.

Es insoluble en el agua, en el éter y en el cloroformo. Se disuelve en el alcohol, en el alcohol amílico, en el ácido acético glacial y en el cloroformo adicionado de ácido acético glacial. (L. col. V, fig. M_2.)

Notemos que la bilirrubina y la biliverdina pueden ser fácilmente separadas una de la otra, gracias a sus diferentes solubilidades: por ser la bilirrubina muy soluble en el cloroformo y muy poco soluble en el alcohol.

Las soluciones alcohólicas de biliverdina no presentan espectros de absorción en bandas; absorben todas las radiaciones luminosas, siendo la absorción tanto más enérgica cuanto más próxima es la radiación al extremo violado.

La biliverdina, lo mismo que la bilirrubina, forma con los álcalis y con las tierras alcalinas compuestos llamados biliverdinatos. Los biliverdinatos son descompuestos por los ácidos minerales en biliverdina y sales minerales. Los biliverdinatos

alcalinos son solubles en el agua, los biliverdinatos alcalinotérreos son insolubles en el agua. Por consiguiente, la biliverdina se disuelve en las soluciones alcalinas o de carbonatos alcalinos; estas soluciones son precipitadas por los ácidos minerales al estado de biliverdina, insoluble en el agua, y por las sales alcalinotérreas al estado de biliverdinatos alcalinotérreos insolubles en el agua.

Los agentes hidrogenantes transforman la biliverdina en *hidrobilirrubina*, como transforman igualmente la bilirrubina:

$$\underset{\text{Biliverdina}}{C^{32}H^{36}N^4O^8} + H^6 = \underset{\text{Hidrobilirrubina}}{C^{32}H^{40}N^4O^7} + H^2O.$$

Basta, por ejemplo, tratar una solución de biliverdina en espíritu de vino por la amalgama de sodio, para obtener la hidrobilirrubina.

Para preparar la biliverdina se agita en contacto del aire una solución de bilirrubinato de un álcali: el bilirrubinato del álcali absorbe oxígeno y se transforma en biliverdinato: la solución se vuelve verde. Esta solución acuosa de biliverdinato alcalino es tratada por el ácido clorhídrico diluído, que descompone esta substancia en biliverdina insoluble en el agua y cloruro alcalino soluble. La biliverdina precipitada es purificada por disolución en el alcohol y precipitación de su solución alcohólica por un grande exceso de agua.

Las materias colorantes de la bilis presentan una reacción notable, llamada *reacción de los pigmentos biliares* o *reacción de Gmelin*.

Esta reacción se funda en la propiedad que poseen las materias colorantes de la bilis de formar, bajo la influencia de los oxidantes, tales como el ácido nítrico, una serie de productos de oxidación, que presentan vivas y variadas coloraciones.

Supongamos que en un vaso de reacciones se ponen algunos centímetros cúbicos (10 centímetros cúbicos, por ejemplo) de ácido nítrico fuerte (que contenga en pequeña cantidad vapores nitrosos disueltos) (1), y que por encima de esta capa densa de ácido se echa, evitando todo lo posible la mezcla de los dos

(1) El ácido nítrico débilmente nitroso que es conveniente para estas pruebas, se obtiene exponiendo a la luz el ácido nítrico hasta que presente una coloración muy ligeramente amarilla. Extemporáneamente se le puede obtener haciendo hervir algunos centímetros cubicos de ácido nítrico fuerte con un fragmento de cerilla y mezclando este ácido con el ácido puro, que así se ha vuelto ligeramente nitroso.

líquidos, la solución menos densa de bilirrubinato alcalino o la bilis diluída (20 centímetros cúbicos, por ejemplo). Al cabo de algunos instantes se observan en las capas inferiores de la solución biliar una serie de zonas superpuestas que presentan las siguientes coloraciones: debajo, en contacto con el ácido, hay una zona amarilla; después, por encima y por el siguiente orden, zonas roja, violada, azul y verde (1). La existencia de esta sucesión de zonas coloradas dispuestas en el precedente orden es característica de los pigmentos biliares. (L. col. IV, figs. N_1, N_2, N_3, N_4, N_5.)

Cuando la bilis que hay que examinar es rica en mucina y en seudomucina, o cuando el líquido que se ha de examinar desde el punto de vista de los pigmentos biliares contiene substancias precipitables por el ácido nítrico, la reacción de Gmelin pierde toda su claridad, porque las coloraciones son desfiguradas por el precipitado producido. En estos casos es conveniente, antes de hacer la prueba de Gmelin, separar los pigmentos biliares de las substancias precipitables. Se consigue fácilmente por medio del alcohol amílico, que disuelve la bilirrubina y la biliverdina: basta agitar vigorosamente el líquido acuoso con alcohol amílico, no miscible en el agua, que disuelve los pigmentos biliares. La solución amílica sirve para practicar directamente la reacción de Gmelin, porque el ácido nítrico no se mezcla con el alcohol amílico y no obra sobre él: las coloraciones se producen, como hemos dicho más arriba, con una gran claridad.

Se puede dar a la reacción de Gmelin la forma llamada *reacción de Hammarsten*, que presenta a menudo indiscutibles ventajas. Se prepara una mezcla de 1 volumen de ácido nítrico al 25 por 100 y 19 volúmenes de ácido clorhídrico al 25 por 100 (esta mezcla no debe ser utilizada hasta algunos días después de su preparación), y se añaden a 1 volumen de esta mezcla 4 volúmenes de alcohol fuerte (esta última mezcla no debe hacerse hasta poco tiempo antes de ser utilizada). Así se obtiene el reactivo de Hammarsten. Si a 2 centímetros cúbicos de este reactivo se añaden algunas gotas de la solución de los pigmentos biliares, se obtiene inmediatamente una coloración verde que persiste indefinidamente. Si a este líquido verde se añade gota a gota el reactivo, se obtienen sucesivamente la serie de coloraciones de Gmelin; cada una de estas coloraciones se produce con una cantidad determinada de reactivo y se conserva indefinidamente si deja de añadirse reactivo.

(1) La coloración verde es debida a la biliverdina; la coloración azul, a un pigmento llamado bilicianina o colecianina que se ha podido aislar y que presenta espectros de absorción de bandas características; la coloración violada resulta de una mezcla del pigmento azul y un pigmento rojo, por otra parte mal conocido este último; la coloración amarilla es debida a un pigmento llamado coletelina.

¿De dónde provienen los pigmentos biliares? De las materias colorantes de la sangre, de la hemoglobina y de la oxihemoglobina, como lo demuestran los siguientes hechos:

1. *Los pigmentos biliares existen en todos los vertebrados menos en el «amphioxus»*; ahora bien, todos los vertebrados menos el anfioxo tienen glóbulos rojos y, por consiguiente, glóbulos con *hemoglobina*. En los invertebrados, que generalmente no tienen hemoglobina, se observa que también carecen de pigmentos biliares.

2. En los *extravasados sanguíneos* la materia colorante de la sangre desaparece poco a poco; después de cierto tiempo, no se encuentra ya hemoglobina ni oxihemoglobina; pero se encuentran cristales de una substancia que se había llamado *hematoidina;* esta hematoidina presenta todas las propiedades de la bilirrubina y como a tal debe ser considerada.

De estos hechos podemos deducir que los pigmentos biliares derivan de las materias colorantes de la sangre.

También se puede establecer que los pigmentos biliares derivan del grupo prostético hematina de los pigmentos sanguíneos. En efecto, hemos indicado que se puede, partiendo de la hematina o de la bilirrubina, obtener el hemopirrol, derivado del pirrol, directamente oxidable por el oxígeno atmosférico que lo transforma en urobilina. Ahora bien, como hemos reconocido más arriba (pág. 295), la bilirrubina puede ser transformada en urobilina.

c) *Núcleoproteido biliar*

La bilis (1) es fluente y viscosa. Debe esta propiedad a la presencia de una substancia que se ha considerado mucho tiempo como una *mucina*. Se la puede separar de la bilis por los procedimientos ordinarios de obtención de las mucinas, sea por precipitación mediante algunas gotas de ácido acético, sea por el alcohol fuerte añadido hasta que el líquido contenga de 60 a 80 por 100.

(1) Este estudio del núcleoproteido biliar se ha hecho sobre la bilis de buey.

Recordemos las propiedades de las mucinas:

Las mucinas comunican a sus soluciones una viscosidad considerable: son precipitadas de sus soluciones por el ácido acético, y el precipitado formado es insoluble en un exceso de este ácido; son precipitadas de sus soluciones por el alcohol y se disuelven en los álcalis cáusticos. Son substancias formadas de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre; pero no son fosforadas y la proporción de nitrógeno es menor que la de las substancias albuminosas. Por ebullición prolongada con un ácido mineral diluído, son desdobladas en una substancia albuminosa y diversas substancias, entre las que se encuentra siempre un hidrocarbono, típico o substituído, reductor.

La substancia llamada ordinariamente mucina biliar, ¿es una mucina? No.

Sin duda alguna, comunica a la bilis una fuerte viscosidad; sin duda alguna, es precipitada de la bilis por el alcohol; sin duda, es precipitada de la bilis por el ácido acético, y sin duda, es disuelta en los álcalis diluídos. Pero el precipitado producido por el ácido acético es fácilmente soluble en un exceso de ácido; además, no está formada únicamente de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre: contiene también fósforo y su contenido en nitrógeno es de 16 por 100, como el de las substancias albuminosas; y hervida con un ácido mineral diluído, no forma ninguna substancia reductora.

Por lo tanto, no es ninguna mucina: es una *seudomucina*. Se la considera generalmente como un *núcleoproteido*. Llamémosle, pues, *núcleoproteido biliar* (1).

Discutiendo su naturaleza, hemos indicado sus principales propiedades, las únicas que nos importa conocer.

Su cantidad en la bilis oscila alrededor de 1 por 1.000.

d) *Colesterina*, $C^{25}H^{44}O$ o $C^{27}H^{46}O$.

La bilis contiene *colesterina*, pero esta substancia no es, como las que hemos estudiado hasta ahora en este capítulo, característica de la bilis: se encuentra también en los centros nerviosos, en la yema de huevo, etc.

Es una substancia cuya constitución química es mal conocida; se sabe únicamente que es alcohol (2) y no saturada.

(1) La bilis humana contiene asimismo un núcleoproteido; pero también se encuentra una pequeña cantidad de una verdadera mucina.

(2) La lanolina, que se extrae del sebo del carnero, es un éter palmítico de la colesterina.

Es absolutamente insoluble en el agua, en los ácidos diluídos y en los álcalis. Se disuelve fácilmente en el alcohol fuerte hirviendo, y cristaliza por enfriamiento de sus soluciones alcohólicas, bajo la forma de anchas y delgadas tabletas rómbicas, que contienen una molécula de agua de cristalización $C^{27}H^{46}O + H^2O$. Se disuelve igualmente bien en el éter, en el cloroformo y en general en todos los disolventes de las grasas (1); cristaliza, por evaporación de sus soluciones etéreas o clorofórmicas, bajo la forma de largas agujas sedosas que no contienen agua de cristalización (2). Es soluble en los aceites y algo en las soluciones acuosas de sales biliares.

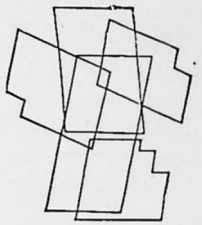


Fig. 83. — Colesterina.

Hay cierto número de reacciones de coloración que permiten caracterizar la colesterina. Nos limitaremos a señalar las dos siguientes:

1. *Reacción de Salkowski.*—Si se disuelve la colesterina en cloroformo (como un grano de mijo en 1 ó 2 centímetros cúbicos de cloroformo) y se añade un volumen igual de ácido sulfúrico concentrado, el líquido clorofórmico se colora primeramente en rojo sangre, después poco a poco en rojo violado, tomando el ácido sulfúrico un color rojo obscuro con fluorescencia verde.

2. *Reacción microquímica.* — Si se tratan los cristales de colesterina por una mezcla de 5 partes de ácido sulfúrico concentrado y 1 parte de agua, los cristales se coloran desde los bordes hacia el centro, primeramente en rojo carmín vivo y después en violado. Esta reacción es útil en particular para el examen microscópico.

La bilis contiene también una pequeña cantidad de *lecitinas*, de *grasas neutras* y de *jabones*.

Por último, la bilis contiene materias salinas que son clo-

(1) Agotando los tejidos por el éter o por el cloroformo, se obtienen íntimamente mezcladas las grasas y la colesterina. Para separar la colesterina de esta mezcla, se la somete a la acción saponificante de los álcalis cáusticos (sosa cáustica, por ejemplo) a la temperatura de ebullición: las grasas son transformadas en jabones solubles en el agua; la colesterina queda inalterada, insoluble en el agua.

(2) Esto es cierto únicamente si las soluciones se han hecho en éter anhidro o en el cloroformo anhidro; si el éter o el cloroformo disolventes son húmedos, si depositan, después de evaporación del disolvente, tablillas idénticas a las que suministra por la evaporación la solución en alcohol fuerte.

ruros, fosfatos, sales de sosa, de potasa, de magnesia y de *hierro*.

En las cenizas de la bilis siempre puede encontrarse hierro, aunque en muy pequeña cantidad. Por ejemplo, en cien centímetros cúbicos de bilis se hallan de 1 a 6 miligramos.

e) *Cálculos biliares.*

Las concreciones que se observan en los conductos y principalmente en la vesícula biliar, son de dos clases: los *cálculos de colesterina*, los más frecuentes, en el hombre; y los *cálculos pigmentarios*, raros en el hombre y frecuentes en el buey (1).

Los cálculos de colesterina son muy ligeros: flotan en el agua; son poco coloreados. La colesterina está en ellos en capas concéntricas de estructura cristalina: los cristales presentan una dirección radiada.

Los cálculos pigmentarios están esencialmente constituídos de bilirrubinato de cal: son pesados, obscuros, sin estructura cristalina.

Estos caracteres exteriores permiten en general reconocer la naturaleza de un cálculo biliar. Pero si se quiere comprobar el resultado basado en la inspección del cálculo por un somero análisis químico, éste puede llevarse a efecto de la manera siguiente:

Se disuelve el cálculo por el alcohol caliente o por el éter; si la solución alcohólica forma por enfriamiento anchas plaquetas cristalinas; si la solución etérea forma por evaporación largas agujas sedosas, el cálculo era de colesterina. Esta conclusión puede ser comprobada por las reacciones de coloración antes indicadas (pág. 301); reacción de Salkowski, hecha ya directamente con el cálculo, ya con los cristales que se han posado en la solución alcohólica del cálculo; reacción microquímica hecha con estos últimos cristales.

El cálculo reducido a polvo es insoluble en el alcohol y en el éter; si después de tratado por el ácido clorhídrico es soluble en el cloroformo, formando una solución rojo-morena; si después de tratado por el ácido clorhídrico es soluble en las

(1) Excepcionalmente se han señalado cálculos minerales de carbonato y de fosfato de cal.

soluciones alcalinas, formando líquidos precipitables por los ácidos o por las sales alcalinotérreas, líquidos que se vuelven verdes en contacto del aire, el cálculo era de bilirrubinato de calcio. Esta conclusión puede comprobarse por las reacciones de coloración practicadas con las soluciones alcalinas de dicho cálculo: reacción de Gmelin o reacción de Hammarsten (páginas 297 y 298).

CAPITULO XVI

CAPSULAS SUPRARRENALES. TIROIDES

SUMARIO. — I. CÁPSULAS SUPRARRENALES, la adrenalina. — II. TIROIDES. El yodo del tiroides. La tiroidina. La tiroglobulina.

El estudio químico de las glándulas vasculares sanguíneas no está más que esbozado; por ello nos limitaremos a hacer algunas sumarias indicaciones sobre algunas importantes substancias descubiertas en las cápsulas suprarrenales y en el tiroides.

I. — CAPSULAS SUPRARRENALES

Es sabido que la ablación total de las cápsulas suprarrenales determina la muerte de los animales, pero se ignora el papel fisiológico de estos órganos. Recordemos que están situadas, en número de dos, en la parte pósterosuperior de la cavidad abdominal, más o menos próximas a la aorta y a la vena cava inferior; que son fáciles de reconocer a causa de su situación y de su color moreno claro, y que al corte presentan una substancia medular y una substancia cortical.

Los fisiólogos han demostrado que las cápsulas suprarrenales contienen una substancia que obra sobre el corazón y los vasos de una manera notable: los extractos acuosos de las cápsulas suprarrenales inyectados en las venas de un animal retardan los movimientos del corazón y principalmente elevan la presión arterial.

Los químicos han podido aislar esta substancia, purificarla y determinar su composición, su constitución y sus propiedades principales. Es la *adrenalina* (1).

(1) Algunos autores la han llamado también epinefrina y suprarrenina; pero la palabra adrenalina ha prevalecido.

La preparación de la adrenalina se funda en su solubilidad en el agua acidulada y en el alcohol acidulado y en su insolubilidad en el agua amoniacalizada. Se han indicado diversos procedimientos, que no vamos a enumerar aquí; nos limitaremos a resumir el siguiente, propuesto por el descubridor de la adrenalina.

Las cápsulas suprarrenales, o mejor, su substancia medular, es triturada y machacada con polvo de vidrio y puesto el todo a macerar durante algunas horas (cinco, por ejemplo) en agua acidulada (2 a 3 por 100 de ácido clorhídrico, o sulfúrico, u oxálico, etc.) al baño de María a 60°, y preferentemente en presencia de una atmósfera de ácido carbónico (para evitar la oxidación que sufre fácilmente la adrenalina en presencia del aire). Se somete entonces la maceración durante una hora a 95°: las proteínas disueltas son de esta manera coaguladas en su mayor parte. El líquido, separado por filtración o por centrifugación, es concentrado en el vacío, adicionado de 2 a 3 volúmenes de alcohol fuerte, filtrado, librado del alcohol por evaporación en el vacío y por último alcalinizado con amoníaco. Se produce un precipitado cristalino impuro de adrenalina: se la purifica por disolución en alcohol acidulado y precipitación por el amoníaco; repetida esta manipulación algunas veces, deja pura la adrenalina.

La adrenalina se presenta en prismas, agujas o pajuelas romboidales; es muy poco soluble en el agua caliente, en extremo poco soluble en el alcohol, insoluble en absoluto en el éter y en el cloroformo, y fácilmente soluble en los ácidos y álcalis. Su solución acuosa, primeramente incolora, toma sucesivamente, en contacto con el aire, las coloraciones rosada, roja y parda, debido a su oxidación.

La adrenalina responde a la fórmula $C^9H^{13}NO^3$ y a la constitución siguiente (1):

$$C^6H^3(OH)^2—CH(OH)—CH^2—N\begin{matrix}H\\CH^3\end{matrix}.$$

La adrenalina es una base que forma sales (clorhidrato, sulfato, tartrato, benzoato, etc.), uniéndose directamente con los ácidos correspondientes. Estas sales son más solubles en el agua que la adrenalina; son descompuestas por el amoníaco, que precipita la adrenalina de sus soluciones acuosas.

(1) Se ha logrado la síntesis de la adrenalina; el producto sintético es inactivo sobre la luz polarizada, mientras que la adrenalina retirada de las cápsulas suprarrenales posee poder rotatorio izquierdo.

La adrenalina sintética tiene una acción hipertensiva menor que la adrenalina capsular.

El tejido de las cápsulas suprarrenales presenta una reacción de coloración llamada *reacción de Vulpian*. Si se trata este tejido, y particularmente la substancia medular, por una solución acuosa de cloruro férrico, se produce una coloración verde esmeralda, que pasa al rojo púrpura por la influencia de los álcalis, volviéndose verde otra vez, por neutralización. La adrenalina y sus sales presentan la reacción de Vulpian, lo que autoriza para decir que esta reacción caracteriza la adrenalina del tejido de las cápsulas.

Los procedimientos de dosificación de la adrenalina son imperfectos; los números que resultan no constituyen más que indicaciones: 1 gramo de tejido de cápsula suprarrenal contiene de 1 a 2 miligramos de adrenalina.

La adrenalina tiene, por otra parte, una actividad fisiológica considerable: 0,2 miligramos de adrenalina bastan, en inyección intravenosa, para provocar en el conejo una elevación de la presión arterial de 7 a 8 centímetros de mercurio durante uno a dos minutos.

II. — TIROIDES

Es sabido que la ablación del tiroides determina en el hombre la aparición de desarreglos tróficos y psíquicos, que constituyen el mixedema postoperatorio; y que estos mismos desarreglos, constituyendo el mixedema espontáneo, se observan en los individuos en quienes el tiroides ha sido atrofiado o destruído patológicamente. Cuando se practica la tiroidectomía en el adolescente, o cuando la atrofia del tiroides se produce durante la infancia, a estos desarreglos mixedematosos hay que añadir una suspensión más o menos importante del desarrollo. Es sabido también que estos diversos accidentes pueden ser atenuados, si no suprimidos, por el tratamiento llamado tiroideo: ingestión de tiroides de animales, o inyección subcutánea de extractos acuosos o glicéricos de tiroides de animales. Y, por último, es sabido que este tratamiento debe ser rigurosamente vigilado, ya que no tarda en provocar accidentes, entre los cuales los principales son enflaquecimiento del individuo, aceleración de los latidos del corazón, etc. Pero se ignora el papel fisiológico del tiroides.

En el hombre, el cuerpo tiroides está formado por una masa única en la que se pueden distinguir dos lóbulos laterales reunidos por un istmo medio. En la mayoría de los animales domésticos existen dos tiroides distintos a los lados de la laringe. En el conejo, los dos lóbulos tiroideos situados a los lados de la laringe y de la tráquea superior están reunidos por una hoja tiroidea muy delgada que se extiende por delante de los primeros anillos de la tráquea.

Es importante distinguir del tiroides las paratiroides, órganos situados cerca, en la superficie y hasta en el mismo espesor del tiroides, del que se diferencian esencialmente por su estructura histológica y por su papel fisiológico.

El tiroides en general contiene *yodo*; pero este yodo no está en estado de libertad ni en estado de yoduro metálico; está unido a substancias orgánicas que lo disimulan. Para ponerlo en evidencia es necesario destruir la materia orgánica.

Al tejido tiroideo (2 gramos, por ejemplo) triturado y desecado, se añade potasa cáustica sólida (1 gramo, por ejemplo) y calcinada, en presencia de una pequeña cantidad de nitrato de potasa, dentro de un crisol de plata o de níquel. La calcinación debe verificarse a la temperatura más baja posible y sin pasar del rojo sombra, para evitar la volatilización de los yoduros. La masa fundida se deja enfriar y después se disuelve en agua (5 centímetros cúbicos, por ejemplo), calentándola ligeramente: la solución acuosa es neutralizada y acidulada luego ligeramente por el ácido sulfúrico; el yoduro potásico contenido en el residuo de la calcinación es, en estas condiciones, descompuesto: el yodo es puesto en libertad. Agitando con cloruro el líquido así preparado, se ve a este disolvente colorarse de violado. Por otra parte, se puede poner de manifiesto el yodo libre en este líquido, añadiéndole una solución de yoduro de almidón, que lo colora de azul intenso (véase *Almidón*, pág. 94).

Se ha dosificado la cantidad de yodo contenida en el tiroides del hombre, de los animales domésticos y de algunos animales salvajes. Esta cantidad es muy variable según la especie animal considerada y, en la misma especie, según los individuos: es, por otra parte, siempre pequeña y alcanza raramente 1 centigramo por 100 gramos de tejido tiroideo pesado fresco. Alguna vez también el tejido tiroideo no contiene yodo en cantidad apreciable al análisis químico cuantitativo ni aun al cualitativo.

Del tejido tiroideo se ha podido retirar una substancia yodada muy interesante, la *tiroyodina* o *yodotirina*.

El cuerpo tiroides (de carnero, por ejemplo), después de triturado y machacado es hervido durante 6 a 8 horas con ácido sulfúrico al 10 por 100 (para evitar la concentración del ácido). La casi totalidad del tejido ha sido disuelta, no queda más que una pequeña cantidad de una materia parda en copos. Se echa sobre un filtro, se lava la materia parda con agua y después se agota con alcohol de 85° hirviente. La solución alcohólica evaporada deja un residuo que se agota por el éter para quitar las grasas que pueda contener; queda una masa morena, rica en yodo, la tiroyodina. Siendo la tiroyodina

soluble en los álcalis, se purifica por una serie de disoluciones en agua alcalinizada y de precipitaciones con el ácido sulfúrico.

La tiroyodina es una substancia insoluble en el agua, insoluble en el éter e insoluble en el cloroformo; soluble en las soluciones diluídas de álcalis (fijo o volátil) y de carbonatos alcalinos, y soluble en el alcohol fuerte.

La tiroyodina es una substancia yodada; se demuestra, como hemos indicado antes para los tejidos tiroideos, calcinándola con un álcali y poniendo de manifiesto el yodo en el residuo de la calcinación, mediante el cloroformo o el almidón. La *proporción de yodo* contenida en la tiroidina *es variable*; puede alcanzar 9,3 por 100 (y aun, según ciertos autores, 12 y 14 por 100) del peso de la tiroyodina; pero puede ser mucho menor, 4, 2 y aun 1 por 100. También se podría preparar, según algunos, partiendo de cuerpos tiroideos no yodados, mediante los procedimientos que acabamos de indicar, una tiroyodina no yodada.

Estos hechos conducen a pensar que la tiroyodina no es una combinación química definida; una de dos: o es una mezcla de dos substancias, yodada la una y la otra no, en variables proporciones y resultando la substncia yodada de la fijación del yodo sobre la substancia no yodada; o es una substancia a la que se puede unir el yodo en distintas proporciones.

En lugar de tratar el tejido tiroideo por el ácido sulfúrico al 10 por 100 hirviente para preparar la tiroidina, se puede tratar por el jugo gástrico artificial y recoger el residuo de esta digestión gástrica para tratarlo como se hace con el residuo del tratamiento por el ácido sulfúrico hirviente.

Cualquiera que sea el procedimiento de preparación adoptado, ácido sulfúrico hirviente o jugo gástrico, es evidente que se han alterado los compuestos químicos que constituyen el tejido tiroideo. Es muy posible que la tiroyodina no exista en el tejido tiroideo, sino que resulte de la acción de los agentes hidrolizantes empleados sobre las substancias yodadas de este tejido.

Se ha procurado aislar esta substancia generadora de la tiroyodina del tejido tiroideo. Se consigue de la manera siguiente:

Después de triturado y machacado el tiroides, es puesto a macerar en la nevera con agua salada al 1 por 100 durante algunas horas. Al líquido libre de los tejidos se añade un volumen igual de una solución saturada de sulfato amónico: se forma un precipitado que contiene todo el yodo: queda en solución una substancia proteica no yodada. La substancia precipitada es insoluble en el agua destilada, soluble en las soluciones saladas o ligeramente alcalinas, de las que es precipitada por los ácidos, por el sulfato de magnesia a saturación y por el sulfato amónico a semisaturación. Es una globulina, la *tiroglobulina*. La substancia no precipitada es un núcleoproteido.

La *tiroglobulina* puede ser considerada como la generadora de la tiroyodina: es desdoblada por los ácidos diluídos hirvientes, o por el jugo gástrico, en tiroyodina y substancia albuminosa, que sufre la proteólisis.

La proporción de yodo de la tiroglobulina es variable; según ciertos autores, hasta se puede obtener una tiroglobulina no yodada partiendo de cuerpos tiroides no yodados.

Las consideraciones que hemos expuesto respecto del estado del yodo en la tiroyodina se pueden aplicar también a la tiroglobulina.

La ablación del tiroides determina fenómenos patológicos, mixedema y suspensión de desarrollo; no deben atribuirse a la ausencia del yodo o de compuestos yodados, tiroglobulina o tiroyodina, porque los animales que tienen el tiroides sin yodo no presentan por ello el mixedema.

La ingestión o la inyección de tejido tiroideo en los animales provoca enflaquecimiento y accidentes cardíacos y vasculares. Estos fenómenos deben atribuirse a la tiroyodina y a la tiroglobulina, porque se les puede provocar inyectando una u otra de estas substancias.

Por otra parte, la combinación yodada, tiroyodina o tiroglobulina, y no el substrato al que se une el yodo en la tiroyodina o en la tiroglobulina, es la que produce estos fenómenos, porque las substancias no yodadas son inactivas y las substancias yodadas son también más activas cuanto más yodadas son.

La cantidad de yodo contenida en el tiroides, en la tiroyodina o en la tiroglobulina parece que depende de la alimentación del animal o del individuo. Llega al máximo en las medicaciones yodadas.

CAPITULO XVII

ALIMENTOS

SUMARIO.—Recuerdo de nociones fisiológicas.

I. ANÁLISIS DE LOS ALIMENTOS. — *Agua, cenizas, proteínas:* qué se entiende por proteínas; dosificación del nitrógeno total por el procedimiento de Kjeldahl. *Grasas:* extracto etéreo; extracción de las grasas. *Hidrocarbonos:* equivalencia en azúcar. *Valor calorimétrico* de los alimentos.

II. ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL. — *a. Carne*, las vísceras, el caldo, el extracto de carne, el pescado. *b. Leche*, el queso, la leche esterilizada, la leche condensada. *c. Huevos* de las aves; la yema, el hematógeno.

III. ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL. — Simientes de los *cereales*, harina, pan. Simientes de las *leguminosas*. Tubérculos y raíces alimenticias; frutos.

Los fisiólogos han establecido que la nutrición de los animales debe contener normalmente:

1.°, *agua*;

2.°, *substancias minerales*, principalmente cloruros y fosfatos; sales de potasio, de sodio, de calcio, de magnesia, de hierro;

3.°, *hidrocarbonos*, glicosas, sacarosas o amilosas;

4.°, *grasas*, grasas neutras, tripalmitina, triestearina, trioleína o lecitinas;

5.°, *proteínas*, en particular substancias albuminosas.

No hay duda de que en condiciones experimentales, que no se encuentran en la práctica corriente, y en algunas especies de animales carnívoros, se ha podido reducir considerablemente la ración de hidrocarbonos y de grasas reemplazándola por una ración equivalente de proteínas; pero esta substitución no es compatible en el hombre, una vez establecida, con la conservación de la salud. No hay duda tampoco de que en la ración alimenticia del hombre y de los animales se han podido reemplazar todas o una parte de las grasas por una cantidad equivalente de hidrocarbonos, y viceversa; pero si en el hombre la substitución de la mayor parte de las grasas por los hidrocarbonos es posible sin perjudicar a su salud, la substitución inversa no es compatible con el cumplimiento de las funciones digestivas normales.

Podemos decir, pues, que en los animales y en el hombre en particular, los cinco grupos de substancias indicadas deben formar parte de su nutrición.

Desde el punto de vista cuantitativo, limitándonos a examinar el caso del hombre, si la cantidad de grasas puede ser reducida considerablemente sin ningún inconveniente, no ocurre lo mismo con las cantidades de proteínas y de hidrocarbonos. El hombre debe asimilar una cantidad mínima de nitrógeno, y, por consiguiente, ingerir, digerir y absorber una cantidad mínima de proteínas, si no quiere exponerse a perder diariamente más nitrógeno del que recibe y llegar infaliblemente a una muerte próxima. El hombre debe ingerir una cantidad mínima de hidrocarbonos si no quiere aumentar las cantidades de proteínas o de grasas más allá de los límites compatibles con la conservación del funcionamiento normal del aparato digestivo, y, por consiguiente, de la salud.

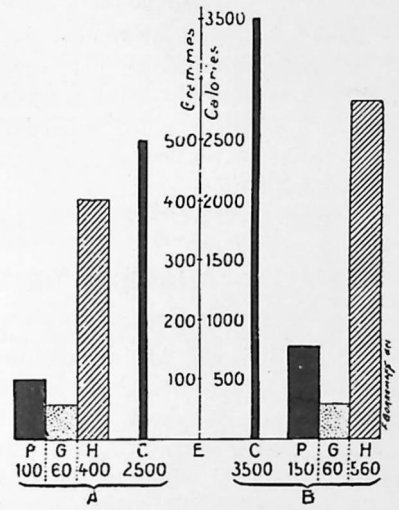


Fig. 84. — Alimentación material y energética del hombre. — A, hombre en reposo. — B, hombre trabajando. — P, proteínas. —G, grasas. — H, hidrocarbonos. — C, calorías. — E, escala.

Desde el punto de vista cuantitativo también, el hombre debe absorber una cantidad de alimentos suficiente para subvenir a su consumo energético, cuyo consumo comprende dos partes principales, la producción de calor y la producción de trabajo.

Estas sumarias nociones de fisiología, que no nos interesa desarrollar aquí, deben ser recordadas para saber que los alimentos, o mejor, la mezcla de los alimentos ingeridos, deben tener ciertas condiciones cualitativas, aunque, por otra parte, con bastante laxitud.

Recordemos, por último, que las estadísticas alimenticias han proporcionado los siguientes resultados:

Un hombre adulto de mediano peso, no verificando ningún trabajo manual importante, consume diariamente alrededor de 100 gramos de proteínas, 50 gramos de grasas, 400 gramos de hidrocarbonos, lo que corresponde a unas 2.500 calorías.

Un hombre adulto de mediano peso, verificando el trabajo regular de un obrero industrial, consume diariamente alrededor de 150 gramos de proteínas, 60 gramos de grasas y 560 gramos de hidrocarbonos, lo que corresponde a unas 3.500 calorías.

Los alimentos son: 1.°, de origen animal; 2.°, de origen vegetal.

Los principales alimentos de origen animal son:

a. La carne y las vísceras de los animales;
b. La leche.
c. Los huevos de las aves.

Los principales alimentos de origen vegetal son:

a. Las semillas de los cereales y el pan;
b. Las semillas de las leguminosas;
c. Las raíces y los tubérculos;
d. Las legumbres;
e. La frutas.

I. — ANALISIS DE LOS ALIMENTOS

El análisis de los alimentos comprende cinco determinaciones fundamentales, la del agua, de las cenizas, de las proteínas, de las grasas y de los hidrocarbonos.

1.° **Determinación del agua.**—Hemos indicado ya (Capítulo I, pág. 6), cómo se determina el agua de las substancias y de los líquidos del organismo y cómo se obtiene el peso del residuo seco.

2.° **Determinación de las cenizas.** — Hemos indicado también (Cap. I, pág. 8), cómo se practican la carboniazción y la incineración de los líquidos y tejidos del organismo para obtener sin pérdidas su residuo mineral.

3.° **Determinación de las proteínas.** — Se designa, *en el estudio de las cuestiones de la alimentación*, bajo el nombre de *proteínas* a todas las substancias nitrogenadas contenidas en las materias alimenticias, con exclusión de las lecitinas, por corresponder estas últimas al grupo de las grasas.

Estas proteínas comprenden dos grupos de substancias, las *substancias proteicas*, substancias albuminosas, proteidos y albuminoides, y las *substancias no proteicas*, bases xánticas, amidoácidos, etc. En general se puede admitir que esta segunda categoría de substancias es cuantitativamente muy inferior a la primera.

Para determinar la proporción de las proteínas contenidas en una substancia alimenticia dada, se determina por el procedimiento de Kjeldahl la proporción de nitrógeno que contiene y seguidamente se multiplica este número por el coeficiente 6,25.

Con este procedimiento se tienen datos aproximados; efectivamente, se admite que todas las proteínas contienen 1:6,25 ó 16 por 100 de su peso de nitrógeno. Ahora para las substancias albuminosas esta proporción varía de 15,0 a 17,6 por 100; para los glicoproteidos, de 11,7 a 13,6 por 100; para los albuminoides de 16,4 a 18,3 por 100. Además, se comete un pequeño error admitiendo que todo el nitrógeno está bajo la forma de substancia proteica, ya que una parte, mínima sin duda,

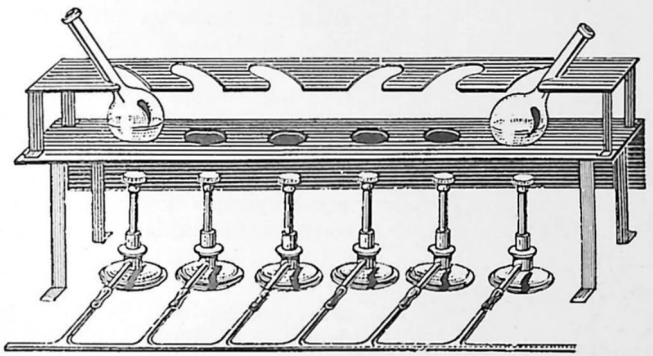


Fig. 85. — Destrucción de la materia orgánica por el ácido sulfúrico para la determinación del nitrógeno total.

está bajo forma de substancias no proteicas y en particular bajo forma de lecitina, como hemos dicho hace poco. Pero no importa que los números no sean más que aproximados, porque todos los estudios fisiológicos sobre los cambios materiales y energéticos son aproximados por lo menos en la proporción de un 10 por 100.

La *dosificación del nitrógeno total* se hace por el *procedimiento de Kjeldahl*. Este procedimiento se funda en las siguientes nociones:

1.° Si se hace hervir una materia orgánica cualquiera con ácido sulfúrico concentrado, la materia orgánica es destruída totalmente, y todo el nitrógeno que ella contenía se encuentra en estado de sulfato amónico;

2.° Si se hace hervir una solución de sulfato amónico con un exceso de sosa cáustica, el amoníaco es totalmente expulsado de su combinación.

La dosificación se puede practicar de la siguiente manera:

Dentro de un matraz se colocan 25 centímetros cúbicos de una mezcla de ácido sulfúrico concentrado y ácido fosfórico anhidro (mezcla que se forma con 1 litro de ácido sulfúrico y 200 gramos de anhidro fosfórico) y 0,1 centímetro cúbico de mercurio; después, algunos gramos (de 2 a 5, por ejemplo) de la substancia que se ha de analizar (el ácido fosfórico anhidro sirve para fijar el agua de la substancia e impedir la hidratación del ácido sulfúrico, que para esta operación debe ser y seguir siendo concentrado: se ha comprobado que cuando se añade un poco de mercurio, la destrucción y la oxidación de la materia orgánica se verifican más rápidamente). Esta mezcla se hace hervir, y tiene que continuar hirviendo lentamente (nunca debe hervir con fuerza) hasta que la decoloración sea completa. El líquido contiene entonces sulfato de mercurio y ácido sulfúrico en exceso. Se deja enfriar. Se añade sosa cáustica (solución de 1,25 de densidad) hasta casi saturar la totalidad del ácido sulfúrico libre, y se deja enfriar de nuevo. Se añade sosa cáustica hasta que la reacción sea claramente alcalina, después 12 centímetros cúbicos de una solución de sulfuro de potasio (1) (obtenida disolviendo dos partes de sulfuro de potasio en tres partes de agua), para precipitar el mercurio en estado de sulfuro de mercurio. Entonces se somete este líquido a la destilación y el amoníaco que se desprende se recoge en una cantidad conocida de una solución ácida titulada (por ejemplo, una solución de ácido oxálico normal, de 4,5 por 100). Determinando el título ácido de esta solución, una vez terminada la destilación del amoníaco, se puede saber la cantidad de ácido neutralizada por el amoníaco y, por consiguiente, la cantidad de nitrógeno de la materia orgánica sometida a análisis.

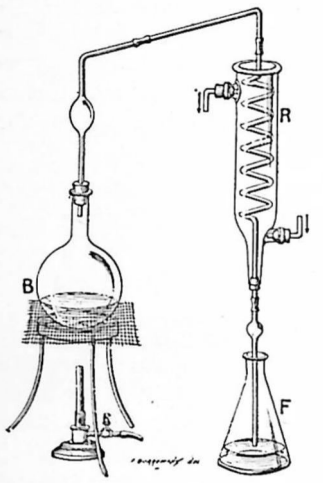


Fig. 86. — Aparato para determinar el amoníaco producido por la acción del ácido sulfúrico sobre las materias orgánicas (procedimiento de Kjeldahl). — B, matraz que contiene el líquido y la sosa. — R, refrigerante. — F, frasco que contiene la solución ácida titulada.

4.° **Determinación de las grasas.** — Con el nombre de grasas, en el estudio de las cuestiones de la alimentación, se comprenden todas las substancias solubles en el éter: grasas neutras, ácidos grasos libres, lecitinas, colesterina, etc. Se determina, en resumen, el *extracto etéreo.*

(1) Se ha propuesto substituir el sulfuro de sodio por el hipofosfito de sosa para precipitar el mercurio (véase más adelante, *Nitrógeno total de la orina*).

Para practicar esta determinación es conveniente primeramente preparar el residuo seco de la substancia a analizar, desecándola a la estufa a 100°, y después a 110°. Este residuo seco, finalmente pulverizado en un mortero (y a este objeto se le añade arena para asegurar mejor su división, si las partículas tendiesen a unirse entre sí), se agota por el éter hirviendo hasta que no deja nada al éter. El líquido etéreo libre del éter por evaporación deja un residuo que se pesa: es el extracto etéreo de la substancia a analizar, son las grasas. El agotamiento por el éter puede hacerse con cualquiera de los aparatos químicos llamados aparatos para el agotamiento. Los fisiólogos emplean generalmente el aparato de Soxhlet, cuyas características esenciales están indicadas en la figura 87.

Con algunas substancias (en general con los tejidos animales) es imposible obtener la totalidad de las grasas por extracción simple por el éter. Para obtener buenos resultados es necesario, después de haber extraído la mayor parte de las grasas, separar el éter de la materia y someter ésta a la acción proteolítica del jugo gástrico artificial: la solución gástrica y el residuo son evaporados, desecados y agotados de nuevo por el éter. De esta manera se obtiene la totalidad de las grasas.

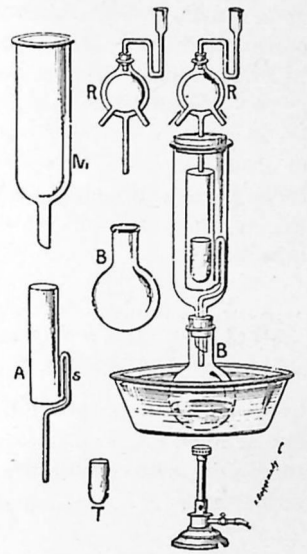


Fig. 87. — Aparato de Soxhlet para extraer las grasas. — B, matraz con éter. — M, manguito. —A, tubo provisto de un tubo sifón *s*. — T, dedo de guante en papel filtro, destinado a contener la substancia. — R, refrigerante. Colocada la substancia dentro de T, se introduce dentro de A, y se coloca A dentro de M. Entonces se monta el aparato como indica la figura. Calentando B al baño de María, se volatiliza el éter que contiene; este éter es condensado dentro del refrigerante y cae sobre la substancia, después se derrama por el sifón *a*, arrastrando las materias disueltas así que su nivel alcanza el vértice del sifón.

5.° **Determinación de los hidrocarbonos.**—Los hidrocarbonos no se determinan siempre directamente; se calcula su cantidad por diferencia: se considera como hidrocarbono toda substancia que es agua, sal, proteínas o grasas. Los hidrocarbonos comprenden, pues, los azúcares, los almidones, la celulosa, las gomas, las partes leñosas, etc.

Tiene verdadero interés fisiológico poder calcular la cantidad de hidrocarbonos transformables en azúcares. Esta determinación se practica fácilmente hidrolizando mediante un ácido mineral diluído (por ejemplo, ácido clorhídrico al 10 por 100), a la temperatura de 120°, en autoclave, la substancia analizada hasta la transformación total. Determinando entonces la cantidad de azúcar, se obtiene el equivalente en azúcar de los hidrocarbonos; esto es lo que interesa al fisiólogo.

6.° **Determinación del valor calorífico o energético.** — El agua y las materias minerales no producen energía en el organismo: los hidrocarbonos y las grasas la producen transformándose en ácido carbónico y agua; las proteínas la producen transformándose en ácido carbónico, agua y urea. Se admite que

	Calorías
1 gramo de hidrocarbono produce	4,1
1 » de proteína »	4,1
1 » de grasa »	9,3

Conociendo la proporción de hidrocarbonos, proteínas y grasas contenidos en 1 gramo de una substancia dada, se puede, mediante estos números, calcular el valor energético de la substancia.

II. — ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

a) Carne

La carne está esencialmente constituída por tejido muscular y tejido conjuntivo. Hemos descrito con algunos detalles la constitución química de la fibra muscular y del tejido conjuntivo; por consiguiente, nos limitaremos a recordar que la carne es un alimento complejo; contiene:

1.°, agua; alrededor del 75 por 100 de su peso;

2.°, sales, principalmente fosfatos (sales de potasa, pero también, aunque en menor cantidad, sales de sosa, de cal, de magnesia) y cloruros. Por su materia colorante propia, la hemoglobina, contiene también hierro: 100 gramos de carne contienen alrededor de 0,5 gramos de ácido fosfórico, 0,1 gramo de cloro, 0,5 gramos de potasa, 0,1 gramo de sosa, 0,01 gramo de cal, 0,04 gramos de magnesia y 0,005 gramos de óxido de hierro;

3.°, hidrocarbonos, que están representados casi exclusivamente por el glicógeno;

4.°, materias grasas en pequeña cantidad, contenidas principalmente en el tejido conjuntivo, pero que también existen, en muy pequeña cantidad, en la misma fibra muscular;

5.°, substancias albuminosas, la más importante de las cuales es la miosina.

La carne contiene, además de estas substancias, materia colágena y elastina en pequeña cantidad, y substancias extractivas nitrogenadas, como la creatina, las bases xánticas, etc.

He aquí un análisis de la carne de buey:

Agua.	75,90	por	100
Residuo seco	24,10	»	»
Substancias albuminosas	18,36	»	»
» colágenas	1,64	»	»
Materias grasas.	0,90	»	»
Hidrocarbonos.	0,60	»	»
Materias extractivas.	1,30	»	»
Materias minerales.	1,30	»	»

Este análisis demuestra claramente que la carne no es para el hombre un alimento capaz de satisfacer sus necesidades; es pobre en grasa y sobre todo en hidrocarbonos: la carne es un alimento esencialmente proteico.

He aquí algunos análisis de carnes (L. col II):

	Agua	Proteínas	Grasas	Hidrocarbonos	Sales
Buey semigraso	72,2	21,0	5,5	0,3	1,0
Ternera magra	76,8	20,0	1,5	0,2	1,5
Cerdo magro.	71,0	20,5	7,0	0,4	1,1

Las principales vísceras alimenticias tienen aproximadamente la siguiente composición:

	Agua	Proteínas	Grasas	Hidrocarbonos	Sales
Hígado de ternera.	71,2	19,4	4,5	2,7	1,6
Riñones de buey.	76,7	16,6	4,8	0,3	1,2
» de carnero.	78,7	16,5	3,2	»	1,3
Seso de cerdo	75,8	11,7	10,3	»	1,6
Corazón de ternera.	73,2	16,8	9,6	»	1,0
Molleja de ternera	70,9	16,8	12,1	»	1,6

El caldo de carne obtenido por una prolongada ebullición tal como se practica corrientemente, y sin sal, contiene alre-

dedor del 2 por 100 de materias disueltas, siendo la mitad de ellas substancias orgánicas y la otra mitad sales. Las substancias orgánicas son substancias extractivas nitrogenadas, creatina y bases xánticas, y gelatina, procedentes de la transformación del tejido conjuntivo por la ebullición. Entre las sales domina el fosfato de potasa.

El extracto de carne contiene alrededor de 25 por 100 de agua y 75 por 100 de residuo seco, estando formado este último de sales (15 por 100) y de materias orgánicas (60 por 100). Estas materias orgánicas son substancias extractivas (creatina y bases xánticas), gelatina, proteosas, peptonas, algo de glicógeno y de ácido sarcoláctico. Las sales son principalmente fosfato de potasa.

La carne de los pescados se diferencia de la de los mamíferos y de la de los pájaros por su contenido en proteínas, que generalmente es algo menor, y por su contenido en grasa, que generalmente es mayor. La carne de ciertos pescados no contiene más que de 12 a 14 por 100 de proteínas; en general, para la mayoría de especies, es de 14 a 16 por 100; en algunas especies llega al 28 por 100. El contenido en grasa varía considerablemente según las especies; desde el 0,5 por 100 puede llegar al 5 y aun al 20 por 100: la grasa de pescado es siempre un aceite, líquido a la temperatura ordinaria, que contiene de 60 a 80 por 100 de oleína.

He aquí algunos análisis de carne de pescado:

	Agua	Proteínas	Grasas	Hidrocarbonos	Sales
Carpa	78,90	15,71	4,85	»	0,54
Perca	82,60	14,90	1,53	»	0,97
Arenque	76,00	17,25	5,26	»	1,51
Caballa	67,60	15,67	15,32	»	1,41
Raya	76,40	22,08	0,62	»	0,90
Lenguado	61,40	17,45	20,08	»	0,87

(L. col II.)

b) Leche

Estudiaremos la leche en un capítulo especial; nos limitaremos ahora a las siguientes indicaciones.

La leche contiene:

Sales;
Grasas neutras (emulsionadas);
Azúcar de leche;
Proteínas.

He aquí algunos análisis tipos de leche (L. col. II):

	100 centímetros cúbicos de leche			
	de vaca	de cabra	de burra	de mujer
Agua	86,0	85,0	90,0	89,0
Residuo seco	14,0	15,0	10,0	11,0
Proteínas	4,1	4,3	2,3	2,0
Grasas	3,9	4,1	1,2	3,6
Lactosa	5,2	5,6	6,0	5,0
Sales	0,8	1,0	0,5	0,4

Las leches de vaca, de cabra, de oveja, son la materia prima para la fabricación de los *quesos*. Sometidas a la acción del cuajo, producen un cáseum, que se exprime y se deja, en condiciones muy variables, a la maduración; ésta resulta de las múltiples transformaciones que sufren la caseína y la grasa bajo la influencia de los fermentos organizados. La composición de los quesos es evidentemente muy variable; se los puede separar en tres grupos, según que la cantidad de las grasas sea grande, mediana o pequeña. Damos aquí tres análisis de quesos, grasos, semigrasos y magros respectivamente, como indicación general:

	100 gramos de queso		
	graso	semigraso	magro
Agua	36	46	48
Residuo seco	64	54	52
Proteínas	28	28	33
Grasas	30	20	8
Azúcares y ácidos	2	3	7
Sales	4	3	4

La leche, principalmente para la nutrición de los niños, puede ser esterilizada; la composición de la *leche esterilizada* por el calor es la de la leche natural.

La leche puede ser conservada en forma de *leche condensada;* se obtiene por evaporación de una cantidad más o menos grande de agua de la leche natural, y esterilización por el calor. Frecuentemente se le añade azúcar de sacarosa. La leche condensada tiene la composición de la leche natural, de la que se diferencia únicamente por el agua de menos (la leche condensada sin sacarosa, contiene alrededor del 50 por 100 de agua y el 50 por 100 de residuo seco; la leche con sacarosa contiene generalmente 25 por 100 de agua y 75 por 100

de residuo seco), y por la sacarosa de más en la sacarosada (30 a 40 por 100).

c) Huevo de las aves

El huevo de gallina, que puede servir de tipo, está constituído por:

La clara;
La yema.

La *clara de huevo* es rica principalmente en substancias albuminosas: la más importante y la más abundante es la

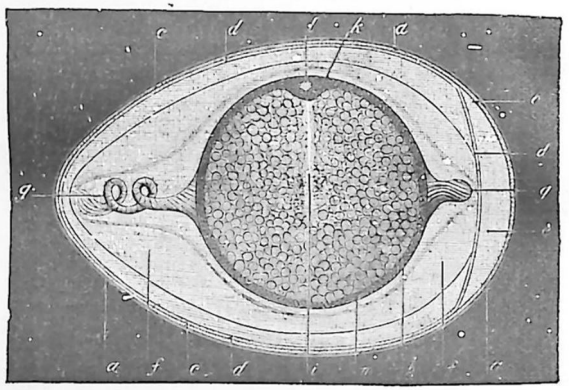


Fig. 88. — Huevo de ave (según Gautier). — *a*, cáscara. — *c*, *d*, hojas de la membrana de la cáscara. — *e*, cámara de aire. — *f*, *f*, clara o albumen. — *h*, membrana vitelina que envuelve a la yema. — *g*, *g*, chalazas, ligamentos que suspenden la yema y se unen a la membrana de la cáscara interna. — *k*, cicatrícula o disco prolígero. — *l*, vesícula germinativa de Purkinje.

ovalbúmina. Esta ovalbúmina va acompañada de globulinas poco abundantes y de una pequeña cantidad de un mucoide; la clara de huevo fresca no contiene proteosas.

He aquí algunos análisis de clara de huevo de gallina:

Agua	86,7 por 100	86,6 por 100	85,8 por 100
Residuo seco	13,3 » »	13,4 » »	14,2 » »
Substancias albuminosas.	12,2 » »	12,4 » »	12,9 » »
Hidrocarbonos	0,5 » »	0,2 » »	0,3 » »
Materias minerales . .	0,6 » »	0,6 » »	0,8 » »
Materias grasas . . .	Indicios	0,2 » »	0,3 » »

(L. col. II.)

La *ovalbúmina* es una albúmina típica: o sea que es soluble en el agua destilada, soluble en las soluciones neutras salinas diluídas; estas soluciones son coagulables por el calor. No son precipitables ni por la diálisis, ni por dilución, ni por el ácido acético, ni por el cloruro sódico, ni por el sulfato de magnesia disueltos a saturación en frío. Son precipitadas por el cloruro sódico o el sulfato de magnesia disueltos a saturación en frío, cuando han sido aciduladas convenientemente. Son precipitadas por el sulfato amónico disuelto a saturación en frío, etc.

La ovalbúmina se distingue de la sueroalbúmina por su poder rotatorio, que es

$$[\alpha]_D = -35{,}5°,$$

y el de la sueroalbúmina es

$$[\alpha]_D = -63°.$$

La clara de huevo contiene globulinas que no representan más que el 5 ó 7 por 100 de las proteínas totales. Se distinguen dos por lo menos, que se diferencian por sus temperaturas de coagulación.

Por último, se encuentra en la clara de huevo una substancia incoagulable por el calor, soluble en el agua, precipitable por el sulfato amónico a saturación como las proteosas, pero que no da las reacciones de las proteosas. Esta substancia, que bajo la influencia prolongada del ácido clorhídrico hirviente da lugar a la producción de una substancia reductora, ha sido considerada como un glicoproteido, la *ovomucoide*.

La *yema de huevo* es muy rica en materias fijas: contiene alrededor del 50 por 100 de residuo fijo. Este residuo fijo está formado de:

1.°, proteínas, entre las cuales la más importante es la ovovitelina, al lado de la cual hay que señalar, en pequeña cantidad, la albúmina y nucleínas;

2.°, materias grasas, que son grasas neutras y lecitina;

3.°, hidrocarbonos, en pequeña cantidad, que son principalmente azúcar, glicosa;

4.°, sales entre las cuales las más abundantes son cloruros (sales de cal y de potasa).

He aquí algunos análisis de yema de huevo de gallina:

Agua	49,20	49,90	50,80
Residuo seco	50,80	50,10	49,20
Proteínas	15,63	15,70	16,20
Grasas	33,80	33,30	31,90
Hidratos de carbono	indicios	indicios	indicios.
Sales	1,20	1,10	1,10

La *ovovitelina* es una proteína insoluble en el agua, soluble en las soluciones salinas diluídas, soluble en las soluciones ácidas y en las soluciones alcalinas diluídas. Sus soluciones saladas se coagulan a 70-75°; son precipitadas por dilución. Estos son los caracteres de solubilidad de las globulinas. Pero no es precipitada por el cloruro sódico disuelto a saturación, carácter que la diferencia de las globulinas propiamente dichas. Es el tipo de substancias que constituyen la *familia de las vitelinas*.

Alguna vez se ha considerado a la ovovitelina como un paranúcleoproteido, porque bajo la acción del jugo gástrico deja generalmente posar paranucleína. Es muy verosímil que esta paranucleína provenga de impurezas que acompañan a la ovovitelina, y no de la ovovitelina misma.

Las cenizas de la yema de huevo son ricas en ácido fosfórico y contienen óxido de hierro.

He aquí un análisis de cenizas de yema de huevo: 100 partes de ceniza contienen:

Sosa	5,12 a 16,57
Potasa	8,05 a 8,93
Cal	12,21 a 13,28
Magnesia	2,07 a 2,11
Oxido de hierro	1,19 a 1,45
Acido fosfórico	63,81 a 66,70
Sílice	0,55 a 1,40

No obstante, la yema de huevo no contiene ni fosfatos ni sales de hierro: contiene combinaciones fosforadas orgánicas y combinaciones orgánicas ferruginosas.

Las *combinaciones fosforadas orgánicas* de la yema de huevo son lecitinas [las cuales son, como hemos dicho precedentemente (cap. III), dioleíl-, diestearil-, dipalmitil-fosfoglicératos de colina] y nucleínas.

El hierro está en estado de combinación orgánica; esta combinación ha recibido el nombre de *hematógeno* (es evidente que a expensas de esta combinación ferruginosa, única que existe en el huevo, se forma la hemoglobina ferruginosa de la sangre del pollo). El hematógeno debe ser considerado como un *proteido ferruginoso*, formado por la combinación de una substancia albuminosa y de un grupo prostético ferruginoso, por las siguientes razones:

Si se agota la yema de huevo por el alcohol y por el éter, no se encuentran indicios de combinaciones ferruginosas: estas combinaciones quedan en el residuo que contienen las substancias albuminosas, las nucleínas, etc. En este residuo, el hierro no está en estado de combinación salina; es sabido que todas las sales de hierro, tanto si el ácido de la sal es orgánico como si es mineral, son solubles en alcohol acidulado por el ácido clorhídrico; puesto que el residuo de que estamos tratando no deja indicios de combinaciones ferruginosas en el alcohol acidulado por el ácido clorhídrico (1); luego, el hierro en este residuo se halla en estado de combinación metalorgánica. Cuando se somete este residuo a la acción del jugo gástrico, las substancias albuminosas son peptonizadas, las proteínas son desdobladas en substancias proteósicas y grupos prostéticos. Ahora bien, en estas condiciones, el hierro queda en su totalidad con el residuo insoluble. Este residuo insoluble no abandona combinaciones ferruginosas al alcohol acidulado por el ácido clorhídrico, puesto que contiene el hierro en estado de combinaciones no salinas. Por consiguiente, la o las combinaciones ferruginosas de la yema de huevo son proteidos, formados por la unión de una substancia albuminosa y un grupo prostético ferruginoso.

Se ha considerado muchas veces a este grupo prostético como una nucleína; pero no es más que una hipótesis, y actualmente no hay nada que permita confirmarla o negarla.

III. — ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

Los alimentos de origen animal son ricos en proteínas; en general son probres en hidrocarbonos. Los alimentos de origen

(1) A este efecto se emplea el líquido o reactivo de Bunge: alcohol de 95°, 90 volúmenes; ácido clorhídrico al 25 por 100, 10 volúmenes.

vegetal son, por el contrario, ricos en hidrocarbonos y generalmente pobres en proteínas.

Las *semillas de los cereales* forman una parte importante de la alimentación del hombre: citaremos el trigo, el arroz, la cebada, etc. Estos granos son muy ricos en hidrocarbonos y muy pobres en materias grasas.

He aquí algunos análisis (L. col. II):

	Trigo	Centeno	Arroz	Cebada
Agua	13,56	15,26	14,41	13,78
Residuo fijo	86,44	84,74	85,59	86,22
Proteínas	12,40	11,43	6,94	11,16
Grasas	1,70	1,71	0,51	2,12
Extracto no nitrogenado	67,89	67,83	77,61	65,51
Cenizas	1,79	1,77	0,45	2,63
Residuo leñoso	2,66	2,00	0,08	4,80

El hombre utiliza para su alimentación, no el grano del trigo, sino la *harina* de trigo libre del salvado. El trigo da como máximo 80 por 100 de harina buena y como mínimo 20 por 100 de salvado.

He aquí como se precisan los análisis de la harina y del salvado de trigo:

	Harina	Salvado
Agua	14,86	14,07
Residuo seco	85,14	85,93
Proteínas	8,91	13,46
Grasas	1,11	2,46
Extracto no nitrogenado	74,28	52,63
Cenizas	0,51	6,52
Residuo leñoso	0,33	30,86

(L. col. II.)

La harina se emplea generalmente bajo la forma de *pan*. A la harina se le añade agua, sal y levadura; se mezcla todo hasta constituir una pasta homogénnea, que no tarda en hincharse como consecuencia de la formación de burbujas gaseosas en su espesor (la levadura ha provocado, a expensas de los hidratos de carbono de la pasta, una fermentación con desprendimiento de burbujas gaseosas). La pasta levada es sometida a la cocción a una temperatura de 200 a 250°. Durante esta operación, una parte del almidón es transformado en engrudo de almidón, dextrina y maltosa.

Análisis del pan blanco:

Agua	28,6
Residuo seco	71,4
Proteínas	9,6
Grasas	1,0
Hidrocarbonos	60,1
Substancias diversas	0,7

(L. col. II.)

Las *semillas de las leguminosas*, habichuelas, guisantes, lentejas, etc., son más ricas en proteínas que las semillas de los cereales, pero en cambio son menos ricas en hidratos de carbono.

	Habichuelas	Lentejas	Guisantes
Agua	13,60	12,30	10,60
Residuo fijo	86,40	87,70	89,40
Proteínas	23,12	25,70	18,88
Grasas	2,28	1,90	1,22
Substancias no nitrogenadas	53,63	53,50	56,21
Cenizas	3,53	2,80	2,26
Substancias diversas	3,84	3,80	2,10

(L. col. II.)

Las patatas, las zanahorias, los rábanos, etc., en general los *tubérculos* y las *raíces alimenticias*, son muy ricos en hidratos de carbono y pobres en proteínas y grasas. He aquí algunos análisis:

	Patatas	Zanahorias	Nabos
Agua	75,77	87,10	89,40
Residuo seco	24,23	12,90	10,60
Proteínas	1,79	1,00	1,40
Grasas	0,16	0,20	0,20
Hidrocarbonos	20,56	9,30	7,40
Cenizas	0,97	0,90	0,70
Diversos	0,75	1,50	0,90

(L. col. II.)

Las *frutas* tienen una composición muy variable según su naturaleza: en general son pobres en proteínas y en grasas, y ricas en agua. No obstante, existen frutas secas poco acuosas, otras ricas en grasas, etc.

Ejemplos:

	Manzanas	Peras	Fresas	Uvas
Agua	84,6	84,4	90,4	77,4
Residuo seco	15,4	15,6	9,6	22,6
Proteínas	0,4	0,6	1,0	1,3
Grasas	0,5	0,5	0,6	1,6
Hidrocarbonos	13,0	11,4	6,0	13,9
Celulosa	1,2	2,7	1,4	4,3
Cenizas	0,3	0,4	0,6	0,5

	Castañas	Nueces	Dátiles
Agua	45,0	4,8	15,4
Residuo seco	55,0	95,2	84,6
Proteínas	6,2	21,0	2,1
Grasas	5,5	54,9	2,8
Hidrocarbonos	35,4	15,3	78,4
Celulosa		2,0	
Cenizas	1,1	2,0	1,3

(L. col. II.)

CAPITULO XVIII

LECHE

SUMARIO.—Lactoplasma y glóbulos.

I. GLÓBULOS GRASOS DE LA LECHE.—Constitución de los glóbulos de la leche; ¿tienen una membrana envolvente?

II. LACTOPLASMA.—*a*. Azúcar de leche. *b*. Proteínas de la leche. La caseína y el caseinógeno. Las substancias albuminosas coagulables de la leche; lactalbúmina y lactoglobulina. *c*. Caseificación de la leche. Cuajes. Cáseum y lactosuero. Distinción de la caseificación de la leche y de la precipitación por autoacidificación. Naturaleza del fenómeno de la caseificación. Transformación de la leche durante la caseificación. Substancias proteicas del coágulo de la leche; substancias proteicas del lactosuero. La substancia caseógena: la leche descalcificada. Estudio de los fenómenos de la caseificación mediante las soluciones fosfosódicas de caseína.

III. Calostro.

IV. Leches diversas.

Tomaremos como tipo la *leche de vaca*.

La leche está constituída por un líquido, que llamaremos *plasma de la leche* o *lactoplasma*, en el que están en suspensión dos clases de elementos: unos son glóbulos grandes, de 2 a 5 milésimas de milímetro de diámetro, redondeados y muy refringentes: son los *glóbulos de la leche*; los otros son finas *granulaciones* de menos de media milésima de milímetro de diámetro, formando un puntillado negro entre los glóbulos de la leche examinada al microscopio.

Los *glóbulos de la leche*, constituídos esencialmente por la materia grasa de la leche, se llaman también *glóbulos grasos* (1); las *granulaciones* finas, si se admite que están consti-

(1) El diámetro de los glóbulos grasos de la leche de vaca varía de 0,0025 mm. a 0,0045 mm.: la mayoría tienen 0,004 mm., poco más o menos, o sea 4 μ.

tuídas esencialmente por el fosfato tribásico de cal, podrían llamarse *granulaciones fosfáticas*.

I. — GLOBULOS GRASOS DE LA LECHE

Si se deja la leche en reposo, los glóbulos grasos, menos densos que el lactoplasma, suben a la superficie de la leche y forman una capa distinta, la *nata*. Bajo la acción centrifugadora, la formación de la nata se verifica más rápida y completamente. Si se deja la leche en reposo durante varios días, evitando toda transformación microbiana capaz de acidificar la leche, y por consiguiente de determinar la disolución del fosfato de cal, las granulaciones finas, más densas que el lactoplasma, se posan al fondo del líquido en una delgada capa de un blanco nacarado.

¿Cuál es la constitución de los glóbulos de la leche? ¿Tienen una membrana envolvente? (1).

Los glóbulos de la leche están *esencialmente constituídos por la materia grasa*. Pero, ¿están constituídos únicamente por la materia grasa? ¿No entran otras substancias en su constitución? ¿No están dotados de una membrana envolvente que les impide adherirse unos a otros? Si están provistos de una membrana envolvente, ¿cuál es la naturaleza de esta membrana? Y si no tienen esta membrana envolvente, ¿no están englobados en una atmósfera protectora, de naturaleza proteica, por ejemplo?

La leche agitada en contacto del *éter* no cede a éste su materia grasa. La leche, por lo tanto, dicen los partidarios de la membrana globular, se comporta como si los glóbulos grasos estuviesen protegidos por una membrana insoluble e inatacable por el éter.

Si se agita la leche durante cierto tiempo, si se *bate*, se obtiene la mantequilla. *¿Qué es la mantequilla?* La mantequilla resulta de la aglomeración de las gotitas grasas de la leche. Los repetidos choques del batido, dicen los partidarios de la membrana envolvente, rompen la membrana y permiten a los glóbulos grasos, puestos en libertad, soldarse.

(1) Si entramos en detalles sobre la constitución de los glóbulos de la leche, no significa que esta cuestión sea de mucha importancia; es porque nos permite agrupar ciertos experimentos y dar a conocer algunas propiedades de la leche.

Cuando se añade a la leche una lejía de sosa cáustica y se agita con éter, el éter disuelve la grasa de la leche. Esto demuestra, dicen los partidarios de la membrana envolvente, que la envoltura de los glóbulos está compuesta de una substancia insoluble en el éter y soluble en la sosa cáustica: esta substancia es probablemente la caseína. Por otra parte, añaden los mismos fisiólogos, siempre que se precipita la caseína de la leche, ya sea por el ácido acético, ya sea por el cloruro sódico, la materia grasa se encuentra englobada en el precipitado; luego los glóbulos están envueltos por una membrana de caseína.

A

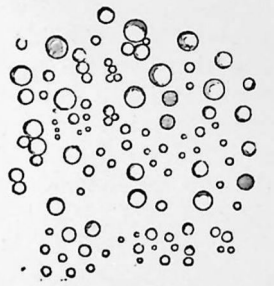


Fig. 89. — Glóbulos de la leche.

A estas conclusiones, los adversarios de dicha membrana hacen las objeciones siguientes:

Si se examina al microscopio una gota de leche, colocada sobre una lámina de vidrio y cubierta por una laminilla, y se ejerce presión sobre dicha laminilla, jamás se ve a estos glóbulos tomar una forma que demuestre la rotura de una membrana: los glóbulos se presentan regulares ¿Ocurriría esto si los glóbulos tuviesen una membrana envolvente?

No hay duda de que los glóbulos grasos son arrastrados por todas las precipitaciones de la caseína en la leche, pero esto no prueba que la caseína forme una membrana a los glóbulos en el sentido verdadero de la palabra. Conocemos mal el estado de la substancia proteica, que consideramos como disuelta; quizá están mal comparadas estas soluciones con las soluciones salinas. Es posible, y aun probable, que esta substancia se condense alrededor de los glóbulos grasos, que constituyen centros de atracción, formando a estos glóbulos una atmósfera mal definida y sobre todo mal limitada. De tal manera que los glóbulos no estarían envueltos por una verdadera membrana bien definida y estable, sino sumergidos en un líquido proteico que los forma, gracias a sus propiedades físicas, gracias a sus propiedades de adherencia y gracias a las fuerzas capilares que están en juego, una zona protectora mal definida y variable.

Esta conclusión es confirmada por las propiedades de la *leche homogeneizada*. Existen hace varios años *máquinas* llamadas *homogeneizadoras*, que permiten dividir los glóbulos

grasos de la leche en partículas infinitamente pequeñas. En esta operación, si existiese una membrana envolvente, sería rota, y si la persistencia de la emulsión tuviese como condición esencial la integridad de esta membrana, los glóbulos se soldarían como en la operación del batido. Puesto que en la leche homogeneizada los glóbulos grasos quedan indefinidamente en emulsión, y la leche homogeneizada no se diferencia de la leche normal si no en que los glóbulos no se agrupan nunca para formar la nata: quedan esparcidos por toda la masa de la leche.

Admitimos, pues, que los glóbulos grasos están sumergidos en un líquido cuyas propiedades físicas permiten a la emulsión, que es la leche o la nata, ser estable, hasta en presencia del éter. Si se cambian estas propiedades físicas por la adición de sosa, por ejemplo, se destruirá la estabilidad de la emulsión; será posible la disolución de los glóbulos grasos en el éter.

El arrastre de los glóbulos grasos por los precipitados de caseína se explica fácilmente por esta propiedad general de los coloides de arrastrar, cuando precipitan, los elementos en suspensión.

En cuanto al batido, tenemos que confesar que no conocemos la explicación. ¿Es preciso admitir una modificación física de la leche, que permite a la emulsión volverse instable y a los glóbulos grasos soldarse bajo la influencia del batido? Lo ignoramos.

Las *materias grasas de la leche* son *las materias grasas neutras* ordinarias: *trioleína*, *tripalmitina*, *triestearina*, con pequeñas cantidades de otros glicéridos, entre los cuales los más importantes ponderablemente son la tributirina y la tricapronina. La leche contiene alrededor del 40 por 100 de materias grasas, materias grasas que están compuestas de 30 a 35 por 100 de trioleína, de 58 a 63 por 100 de trimargarina (mezcla de tripalmitina y triestearina), de 4 a 5 por 100 de tributirina, de 2 a 3 por 100 de tricapronina e indicios de otras grasas (1).

(1) La leche contiene, según algunos autores, una pequeña cantidad de lecitina, 0,05 gms., poco más o menos, por 100 gramos de leche.

Los ácidos grasos que se han encontrado en la leche de vaca, en mayor o menor cantidad, algunos de ellos en pequeñísimas cantidades, son los ácidos butírico, caprónico, caprílico, caprínico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, o sean los ácidos grasos normales que contienen 6, 8, 10, 12, 14, 16 y 18 átomos de carbono, y el ácido oleico. Es un hecho notable en verdad el que no se encuentren ácidos grasos impares, y sí únicamente ácidos grasos pares, y cuya explicación se encuentra sin duda en las siguientes consideraciones (teoría de la β. oxidación).

Está demostrado que, por la influencia de los oxidantes que obran moderadamente sobre su molécula, los ácidos acíclicos normales producen los oxácidos correspondientes, fijándose el agrupamiento oxhidrilado en β. o sea sobre el antepenúltimo carbono: así el ácido butírico forma el ácido β. oxibutírico

$$\underset{\beta}{CH^3}\text{-}\underset{\alpha}{CH^2}\text{-}CO^2H + O = CH^3\text{-}CHOH\text{-}CH^2\text{-}CO^2H$$

y más generalmente

$$R\text{-}\underset{\beta}{CH^2}\text{-}\underset{\alpha}{CH^2}\text{-}CO^2H + O = R\text{-}CHOH\text{-}CH^2CO^2H.$$

Una oxidación algo más fuerte transformará en agrupamiento ácido el agrupamiento alcohol secundario y destacará de la molécula una cadena bicarbonada, disminuyendo así de 2 el número de los átomos de carbono de la molécula

$$R\text{-}CHOH\text{-}CH^2\text{-}CO^2H + O = R\text{-}CO^2H + CH^3CO^2H.$$

Se comprende desde luego que del ácido esteárico en C^{18} se pase al ácido palmítico en C^{16}, y de éste al ácido mirístico en C^{14}, etc.

Para dosificar las materias grasas de la leche se pueden emplear dos procedimientos principales: el primero consiste en extraer estas materias grasas y pesarlas; el segundo consiste en preparar un extracto de estas materias grasas y determinar su densidad.

1.° Se toman, por ejemplo, 50 cm.^{3} de leche; se añade 1,5 cm.^{3} de una lejía de potasa de 1,27 de densidad (obtenida disolviendo 400 gramos de potasa cáustica en el agua y añadiendo el agua necesaria para completar un litro a la temperatura ordinaria), después 100 cm.^{3} de éter. Se agita vigorosamente, después se deja en reposo, y se decanta la mayor cantidad posible de éter. Se añade de nuevo éter; se agita, se deja en reposo y se decanta, y se repite esta maniobra hasta que una pequeña porción del éter decantado no deja ya residuo graso después de la evaporación. Se reúnen todas las porciones del éter; se evaporan; se decanta el residuo graso a la estufa a 105-110°; se deja enfriar en un desecador y se pesa.

Una modificación ventajosa (porque permite economizar éter) de este procedimiento, consiste en mezclar la leche sometida a análisis con una cantidad de yeso suficiente para hacer una pasta que tenga la consistencia de una masa solidificable. Se deseca esta masa a la estufa de aire, en la que se eleva progresivamente la temperatura hasta 105-110°; después se pulveriza. Se introduce dentro de un aparato de agotamiento por el éter y se procede a este agotamiento. El extracto etéreo es evaporado, desecado y pesado.

2.° Si se quiere emplear el procedimiento densimétrico o areométrico, se recurre en general a los aparatos y procedimientos de Soxhlet. El principio de este procedimiento consiste en alcalinizar la leche por la potasa, en hacer pasar la materia grasa en solución en una proporción dada de éter y en determinar la densidad de esta solución

mediante un densímetro, a una temperatura dada. Unas tablas, que se venden con el aparato, permiten, sin necesidad de ningún cálculo, deducir de la densidad encontrada la proporción de las materias grasas de la leche.

II. — LACTOPLASMA

Se obtiene el lactoplasma por una enérgica centrifugación de la leche; los glóbulos grasos se reúnen en su totalidad en la superficie del lactoplasma. El lactoplasma contiene sales, gases, un azúcar y substancias proteicas.

La *reacción de la leche* es neutra al tornasol. Ordinariamente se dice que la reacción de la leche es *anfótera* o sea que enrojece el papel azul de tornasol y vuelve azul el papel de tornasol enrojecido por un ácido diluído. En realidad, la leche da al papel de tornasol un tinte violado que parece rojo al lado del azul y parece azul al lado del rojo. *La reacción de la leche es, pues, neutra al tornasol.*

Las sales disueltas en la leche son cloruros, fosfatos y citratos (1); no hay sulfatos. Son sales de potasa, de sosa, de cal y de magnesia.

He aquí algunos números que indican, expresada en gramos, la cantidad de materias minerales de la leche de vaca, por litro.

Cloro	1,3	0,8	0,9
Acido fosfórico	1,4	2,3	2,5
Cal	1,2	1,8	2,0
Magnesia	0,2	0,2	0,1
Potasa	2,5	2,0	1,9
Sosa	0,5	0,6	0,9

Los gases disueltos en la leche son oxígeno, nitrógeno y gas carbónico.

a) *Azúcar de la leche*

La leche contiene un azúcar, el *azúcar de leche* o *lactosa*. Hay alrededor del 5 por 100 de lactosa en la leche de vaca.

Estudiando los azúcares, hemos dicho que la lactosa es una

(1) La proporción de ácido cítrico contenida en la leche de vaca llega, y frecuentemente los excede, a 1,5 gramos por litro.

sacarosa, o sea un azúcar que responde a la fórmula $C^{12}(H^2O)^{11}$. La lactosa es dextrógira, reductora y no fermentable por la levadura de cerveza.

Hervida la lactosa con un ácido mineral diluído se desdobla, fijando un molécula de agua, en dos azúcares del grupo de las glicosas: glicosa y galactosa.

Si la levadura de cerveza no tiene acción sobre la lactosa, otras levaduras pueden hacerle sufrir la fermentación alcohólica. Así, si se somete a la leche, en condiciones convenientemente escogidas, a la acción de ciertas levaduras, se obtienen bebidas alcohólicas, entre las cuales las más conocidas son: el *kefir*, preparado con la leche de vaca; el *kumis*, preparado con la leche de yegua, etc.

Un microorganismo llamado *fermento láctico* hace sufrir a la lactosa una fermentación particular: transforma la lactosa en *ácido láctico:*

$$\underset{\text{Lactosa}}{C^{12}(H^2O)^{11}} + H^2O = \underset{\text{Acido láctico}}{4C^3H^6O^3}.$$

Este ácido láctico, llamado *ácido láctico de fermentación*, es distinto del ácido sarcoláctico, que hemos encontrado en el músculo rígido. Hay que notar esta diferencia: el ácido láctico de fermentación y sus sales no tienen poder rotatorio hacia la derecha.

El fermento láctico existe en todo polvo de la atmósfera: dejada la leche en contacto del aire, o en un vaso que no haya sido esterilizado, sufre la fermentación láctica, la lactosa disminuye al tiempo que la reacción de la leche se vuelve ácida; cuando la leche es suficientemente ácida, la caseína precipita; se dice que la leche se cuaja o coagula espontáneamente, y también que se coagula por autoacidificación. Esta *coagulación espontánea de la leche* no tiene nada que ver con la coagulación espontánea de la sangre: es una precipitación de la caseína de la leche por el ácido láctico resultante de la transformación de la lactosa bajo la influencia de los fermentos lácticos.

Para dosificar la lactosa contenida en una leche dada, se precipita la caseína por adición de ácido acético (1 a 2 por 1.000 generalmente): se hace hervir para coagular la lactoglobulina y la lactoalbúmina; se pone sobre un filtro, y del líquido filtrado se dosifica la lactosa por titulación con el licor de Fehling (según los principios que hemos dado

en el Cap. IV, pág. 78), teniendo en cuenta que el poder reductor de la lactosa es igual a 0,70, si el de la glicosa es igual a 100.

b) *Proteínas de la leche*

La leche contiene tres proteínas:

1. Una caseína: la *caseína* (o mejor el *caseinógeno*).
2. Una albúmina: la *lactoalbúmina*.
3. Una globulina: la *lactoglobulina*.

Las caseínas son paranúcleoproteidos. La caseína de la leche de vaca contiene 0,85 por 100 de fósforo; por digestión clorhidropéptica, deja posar una paranucleína que contiene de 2 a 3 por 100 de fósforo. No son coaguladas ni por el calor ni por el alcohol. Una caseína puede ser hervida en el agua, o mantenida en contacto prolongado con el alcohol, o tratada por el alcohol absoluto hirviendo, sin perder la propiedad de disolverse en sus disolventes primitivos. Las caseínas son incoagulables.

Las caseínas son insolubles en el agua destilada: son solubles en los álcalis cáusticos muy diluídos y en las soluciones acuosas de las tierras alcalinas; se disuelven también en la soluciones de carbonatos alcalinos, poniendo al gas carbónico en libertad. Por último, se disuelven en las soluciones acuosas de fluoruro sódico, de oxalato amónico y de oxalato de potasa (que contengan del 1 al 5 por 100 de sal).

Las propiedades de las soluciones de las caseínas son algo diferentes según que las caseínas hayan sido disueltas en soluciones alcalinas diluídas o en soluciones de sales neutras de álcalis.

Las *soluciones de las caseínas en los álcalis* pueden ser hervidas sin que precipiten su caseína. No son precipitadas cuando, previa dilución, se hacen atravesar por una corriente de gas carbónico. Son precipitadas por el ácido acético, y por una cantidad conveniente del mismo pueden ser totalmente precipitadas. Son precipitadas totalmente por el cloruro sódico o por el sulfato de magnesia, disueltos uno y otro a saturación a la temperatura ordinaria.

Las *soluciones de las caseínas en soluciones de sales neutras* pueden ser hervidas sin precipitar su caseína. Estas soluciones, y, para tomar un ejemplo, las soluciones en el cloruro sódico al 1 por 100 de esta sal, son precipitadas por una corriente de gas carbónico que obre sobre la solución después de diluída, y mediante una dilución conveniente pueden ser totalmente precipitadas. Son precipitadas por el ácido acético, y, en proporción conveniente, totalmente precipitadas. Son totalmente precipitadas por el sulfato de magnesia disuelto a saturación; pero no son precipitadas por el cloruro sódico disuelto a saturación a la temperatura ordinaria (a la temperatura de ebullición son, por el contrario, precipitadas por esta sal disuelta a saturación).

Las soluciones de las caseínas en las sales y sus soluciones en los álcalis se diferencian, pues, por dos propiedades: 1.°, las primeras son precipitadas (las segundas no) después de diluídas, por el gas carbónico; 2.°, las primeras no son precipitadas y las segundas lo son totalmente por el cloruro sódico disuelto a saturación a la temperatura ordinaria.

La leche no se precipita por la ebullición.

Cuando se añade a la leche 1 ó 2 por 1.000 de ácido acético, se determina la producción de un precipitado en copos que arrastra los glóbulos grasos; el líquido libre del precipitado es transparente y muy poco colorado.

Cuando se satura la leche de sulfato de magnesia en frío, se determina la producción de un precipitado en copos que engloba los glóbulos grasos, condensándose en el seno de un líquido transparente.

Cuando se hace pasar una corriente de gas carbónico por la leche, diluída o no, no se produce ninguna precipitación.

Cuando se satura de cloruro sódico en frío la leche, se produce un precipitado que engloba los glóbulos grasos; el líquido libre del precipitado es transparente.

La leche se comporta, pues, como una *solución de caseína en los álcalis o fosfatos alcalinos*, y no como una solución salina.

El precipitado producido en la leche por el ácido acético está constituído por una substancia llamada *caseína*. Esta substancia es insoluble en las soluciones diluídas de cloruro sódico. El precipitado producido en la leche por el cloruro sódico disuelto a saturación en frío no es la caseína: se disuelve en las soluciones diluídas de cloruro sódico; se llama *substancia caseinógena*. La leche contiene una substancia caseinógena transformada por los ácidos diluídos en caseína y precipitada.

Se amite algunas vez que el caseinógeno existe en la leche bajo dos estados: en estado de verdadera disolución y en estado de simple suspensión. Se funda esto en los experimentos de filtración con porcelana porosa: en estas condiciones, una parte, pero únicamente una parte, del caseinógeno es retenida por el filtro; por lo tanto, se puede deducir que el caseinógeno que ha pasado por el filtro estaba en solución, y el que ha sido retenido estaba en suspensión. Como que la leche filtrada deja aún caseinógeno si se vuelve a filtrar, es dable admitir que existe en la leche un equilibrio entre las dos formas de caseinógeno. Esto no es más que una ingeniosa explicación de los hechos observados, pues continúan conservando un carácter hipotético.

Cuando se precipita la leche por el ácido acético, o por el sulfato de magnesia o el cloruro de sodio disueltos a saturación en frío, el líquido transparente separado del precipitado forma un coágulo proteico a la temperatura de bullición. Puesto que la caseína es totalmente precipitada de sus soluciones fosfoalcalinas por los tres agentes: ácido acético, sulfato de magnesia y cloruro sódico, la leche contiene, pues, otras proteínas a más de la caseína. Estas proteínas que quedan en solución en la leche, después de precipitada la caseína, no deben ser consideradas como un residuo de caseína no precipitada, porque estas substancias son coagulables; el coágulo producido por la ebullición es particularmente insoluble en las soluciones acuosas de fluoruro sódico al 1 por 100.

¿Qué substancias albuminosas coagulables son las contenidas en la leche?

La leche saturada de sulfato de magnesia en frío se precipita; el líquido claro separado de este precipitado se coagula por la ebullición; este coágulo, como ya hemos visto, no es un resto de caseína, ya que no es soluble en el fluoruro sódico; no es un coágulo de globulinas, ya que, por definición, las globulinas son totalmente precipitadas de sus soluciones por saturación con sulfato de magnesia en frío. No puede ser más que un coágulo de albúmina. Esta albúmina ha sido llamada *lactalbúmina*.

La leche saturada de cloruro sódico en frío precipita; el líquido claro separado de este precipitado forma un nuevo precipitado cuando se satura de sulfato de magnesia en frío; este nuevo precipitado no es un resto de caseína, porque el líquido no contenía ya proteínas no coagulables; no es una albúmina, porque las albúminas no son precipitadas por el sulfato de magnesia, ni aun en presencia del cloruro de sodio; es una globulina. Se la ha llamado *lactoglobulina*.

La lactalbúmina presenta las propiedades generales de las albúminas, y, en particular, de la sueroalbúmina, de la que no se diferencia más que por su poder rotatorio.

La lactoglobulina presenta las propiedades generales de las globulinas, y, en el grupo de las globulinas, las de la sueroglobulina, de la que parece no diferenciarse.

Por esto el suero de un conejo que haya recibido cuatro o cinco inyecciones subcutáneas o intraperitoneales de suero de buey, separadas de seis a ocho días, precipita la leche de vaca libre de su caseína, igual que precipita al suero sanguíneo de vaca. Ahora bien; hemos dicho (Cap. VII, pág. 184) que la especificidad notable de estos sueros precipitantes lo es tanto desde el punto de vista de la especie de substancia albuminosa precipitada, como de la especie animal de que proviene; podemos, desde luego, considerar a la lactoglobulina como idéntica a la sueroglobulina.

La cantidad de caseína contenida en la leche de vaca es de 4 por 100 poco más o menos. La cantidad de substancias albuminosas coagulables es mucho menos importante: no pasa de 0,5 por 100; de todos modos, varía mucho según la leche considerada. La proteína más importante de la leche, la más abundante, la que caracteriza a la leche y le comunica sus propiedades, es la caseína; las demás proteínas contenidas en la leche deben ser puestas en segundo orden.

c) *Clasificación de la leche*

Cuando la leche es tratada por el *cuajo*, se coagula. Los cuajos son esencialmente extractos de cuajar o *abomaso* de ternera o de cabrito, preparados de distintas maneras (1). La coagulación de la leche por el cuajo es la primera fase de la fabricación industrial de los quesos; es también la primera fase de la digestión gástrica. Por este doble punto de vista tiene interés en ser estudiada.

Supongamos, pues, que se añade el cuajo a la leche a una temperatura de 30 a 40°. Al cabo de un tiempo más o menos largo, según la naturaleza de la leche y la naturaleza y cantidad del cuajo empleado, la leche se cuaja en una masa homogénea, sólida, que tiembla, irregular al corte. Dejado en reposo, este coágulo se retrae, expulsando un líquido transpa-

(1) Cierto número de substancias vegetales poseen la propiedad de coagular la leche, como el cuajo; tales son el jugo de la higuera, las flores de alcachofa, hierbas de cuajo, etc. Algunos microbios fabrican también substancias coagulantes.

rente. El coágulo está esencialmente constituído por una proteína precipitada, perteneciente a la clase de las caseínas (luego veremos que no es caseína), englobando en su masa los glóbulos grasos de la leche.

No es posible dejar de ver la analogía, o por lo menos la analogía exterior, de este fenómeno con el fenómeno de la coagulación espontánea de la sangre. En ambos casos, un líquido orgánico, esencialmente constituído por un líquido o plasma, que tiene en suspensión elementos figurados, glóbulos sanguíneos o glóbulos de la leche, se cuaja en un masa gelatinosa total. En ambos casos, esta masa se retrae expulsando un líquido claro, un suero. En ambos casos, la masa sólida retraída está esencialmente constituída por proteína, materia fundamental que engloba y fija los elementos figurados del líquido, glóbulos sanguíneos o glóbulos de la leche.

Se pueden resumir estas nociones en el siguiente cuadro:

(I)
- Sangre. → Plasma. / Glóbulos.
- Leche. → Lactoplasma. / Glóbulos de la leche.

(II)
- Sangre coagulada. → Coágulo. → Proteína. / Glóbulos.
- Sangre coagulada. → Suero.
- Leche coagulada. → Coágulo. → Proteína. / Glóbulos.
- Leche coagulada. → Lactosuero.

La *leche de vaca, hervida*, se coagula siempre menos rápidamente que la misma leche no hervida; el coágulo obtenido partiendo de la leche hervida es menos compacto y menos retráctil. La adición de un poco de ácido o de sales de cal favorece la coagulación de la leche, y hace más rápida y más extensa la retracción del coágulo. Los álcalis o los carbonatos alcalinos retardan la coagulación de la leche de vaca, cruda o hervida; la leche de vaca, hervida, saturada de gas carbónico se coagula muy rápidamente.

Esta coagulación de la leche por el cuajo, ¿puede compararse a la coagulación por autoacidificación?

No, porque los cuajos no son necesariamente productos ácidos. *No*, porque la reacción de la leche después de la coagulación por los cuajos neutros es neutra, como lo es antes de la adición del cuajo. *No*, porque, como veremos, los productos de la coagulación por el cuajo y por los ácidos no son idénticos.

Es necesario, pues, distinguir estos fenómenos dándoles nombres convenientemente escogidos. La coagulación de la leche por autoacidificación no puede ser una verdadera coagulación, porque la caseína es incoagulable: es, como hemos dicho, una *precipitación de la caseína*. La leche precipita su caseína por *autoacidificación*. La coagulación de la leche por el cuajo no es una coagulación; no es una sencilla precipitación, porque el producto no es caseína. Es necesario designar este fenómeno mediante un nombre especial; lo llamaremos *caseificación:* la leche es caseificada, la caseína es caseificada por el cuajo.

¿Qué es el fenómeno de la caseificación?

Los *cuajos* son productos muy complejos: contienen sales y materias orgánicas diversas. ¿Cuál es, entre todas las substancias que los constituyen, la substancia activa? Sometidos a la ebullición, los cuajos pierden su acción sobre la leche; tratados por el alcohol fuerte, forman precipitados que, separados del líquido, desecados a una temperatura poco elevada y disueltos en agua, comunican a esta agua el poder caseificante. El principio activo del cuajo es una diastasa, descrita y estudiada bajo el nombre de *fermento lab*. La caseificación de la leche es un fenómeno de *fermentación diastásica*.

¿Qué transformaciones se verifican en la leche durante y por la caseificación? La leche, como ya se ha dicho, contiene tres proteínas: una caseína (el caseinógeno), una lactoglobulina y una lactalbúmina. La leche caseificada presenta un coágulo y un suero dignos de estudio; el coágulo contiene una proteína; el suero contiene tres substancias albuminosas.

La *proteína del coágulo* es una caseína; pero no es ya ni la caseína ni el caseinógeno. Se distingue de la caseína y del caseinógeno por los siguientes caracteres: la caseína y el caseinógeno preparados puros no dejan residuo salino por la incineración; la proteína del coágulo jamás se ha podido obtener tal que, por la incineración, no deje residuo salino. La proteína del coágulo es soluble en los álcalis y en los ácidos, pero es mucho menos soluble en ellos que la caseína y el caseinógeno. Por último, el poder rotatorio específico del caseinógeno y el de la substancia fundamental del coágulo de la leche son distintos. Es, por lo tanto, una substancia de nueva formación; la llamaremos *cáseum* o *paracaseína*. Sin embargo, el cáseum no se diferencia profundamente, esencialmente, del caseinógeno o de la caseína; si se preparan conejos de suero preci-

pitante, mediante repetidas inyecciones de leche, de soluciones fosfosódicas de caseína o de soluciones fosfosódicas de cáseum, se obtienen sueros que precipitan indistintamente la leche, las soluciones fosfosódicas de caseína y las soluciones fosfosódicas de cáseum, siempre que las caseínas inyectadas y ensayadas pertenezcan a la misma especie animal.

El lactosuero contiene tres substancias albuminosas: la lactalbúmina y la lactoglobulina de la leche y una substancia albuminosa de nueva formación. Esta substancia no es coagulada ni precipitada por la ebullición; no es precipitada por los ácidos; recuerda, pues, por sus propiedades, las proteosas: es la proteosa del lactosuero, la *lactosueroproteosa*. Es la *substancia albuminosa característica del lactosuero* (1).

Este estudio de las proteínas del coágulo y del suero de la leche caseificada demuestra que, en la caseificación, la caseína de la leche es transformada, sufre un desdoblamiento, formando dos proteínas, una que se encuentra en el coágulo, del que constituye la masa fundamental, y otra que se encuentra en solución en el lactosuero: la primera, más abundante (su peso representa el 90 por 100 de la caseína transformada), la segunda mucho menos abundante.

La *caseificación de la leche por el cuajo es, pues, esencialmente un desdoblamiento del caseinógeno de la leche y una precipitación de uno de los productos del desdoblamiento.* El estudio de la acción del cuajo sobre la *leche oxalatada al 1 por 1.000* permite examinar este fenómeno con más precisión.

Se añade a la leche el 1 por 1.000 de oxalato neutro de potasa, de oxalato de sosa o de oxalato amónico, y, después de añadirle el cuajo, elevemos a 40° la temperatura de esta leche oxalatada (y, por consiguiente, por lo menos parcialmente descalcificada, puesto que el oxalato de álcali precipita las sales solubles de calcio en estado de oxalato cálcico insoluble). No se forma cáseum: la leche continúa líquida. La caseificación perfecta de la leche, la producción del cáseum, exige, en la leche sometida a la acción del fermento lab, la presencia de una cantidad de sales de cal disueltas próxima a

(1) Recientemente se ha dicho que la lactosueroproteosa no era un elemento constante del lactosuero; cuando se encuentra en él, preexistiría en la leche antes de la caseificación, y no se encontraría en el lactosuero cuando la leche sometida a la caseificación es recientemente ordeñada. No estamos conformes con esta opinión, porque las soluciones de caseína purificadas, sometidas a la acción del cuajo cálcico, forman, como la leche, un cáseum precipitado y un suero que contiene una substancia proteósica de nueva formación

la cantidad normal. Pero si el cuajo no caseifica, en el sentido propio de la palabra, la leche oxalatada al 1 por 1.000, transforma, no obstante, profundamente esta leche como lo demuestran los siguientes hechos.

La leche oxalatada al 1 por 1.000 no precipita por la ebullición y tampoco cuando se le añade el 1 por 1.000 de cloruro cálcico. La leche oxalatada al 1 por 1.000, sometida a la acción del fermento lab a 40° durante suficiente tiempo, forma por la ebullición un precipitado en copos, que engloba los glóbulos grasos de la leche, y por la adición del 1 por 1.000 de cloruro cálcico forma un precipitado en el cual los copos se aglomeran rápidamente en una masa homogénea y retráctil que engloba los glóbulos grasos.

La substancia que se precipita por la adición de cloruro cálcico a la leche oxalatada transformada por el cuajo es el cáseum, porque posee todas las propiedades y, en particular, las solubilidades, precipitabilidades y poder rotatorio del mismo.

La substancia que se precipita por la ebullición no es la caseína: la caseína no se precipita en la leche (ni en la leche oxalatada) por la ebullición; es el cáseum, porque posee todas las propiedades de él, y en particular las solubilidades, precipitabilidades y poder rotatorio. No hay duda que el cáseum normalmente formado es insoluble en la leche oxalatada, mientras que la substancia precipitada por la ebullición es soluble en ella; pero esta diferencia no tiene gran importancia. Hay motivos para pensar que estas substancias están entre sí en la misma relación que la sílice soluble y la sílice gelatinosa, que la alúmina soluble y la alúmina precipitada, etc. La substancia que en la leche oxalatada sometida a la acción del cuajo forma el cáseum cuando se precipita, la *substancia caseógena* (1), por consiguiente, es un *cáseum soluble.*

La transformación del caseógeno en cáseum se verifica en la leche natural bajo la influencia de las sales de cal disueltas. En la leche oxalatada transformada por el cuajo, se verifica bajo la influencia de las sales de cal solubles sobreañadidas, o bajo la influencia de las sales solubles de bario, de estroncio y de magnesio.

Añadiendo a la leche el 3 por 1.000 de un citrato neutro alcalino, se obtiene *leche citratada al 3 por 1.000*, que posee todas las propiedades de la leche oxalatada al 1 por 1.000,

(1) Algunos autores llaman a esta substancia *paracaseína*.

desde el punto de vista de la caseificación. Puesto que los citratos neutros alcalinos no precipitan las sales de cal de la leche, la leche citratada no es una leche descalcificada; pero los citratos poseen, al contrario de los coloides, o por lo menos de ciertos coloides, un poder antiprecipitante antagónico del poder precipitante de las sales alcalinotérreas.

Se pueden estudiar los fenómenos de la caseificación mediante las soluciones fosfosódicas de caseína.

La leche es precipitada por el 1 por 1.000 de ácido acético; el precipitado de caseína es separado del ácido que ha servido para su precipitación, por los lavados con agua, y de los glóbulos grasos que ha arrastrado, por lavados con éter. Así preparada, la caseína es disuelta en una solución muy diluída de sosa cáustica, y la solución alcalina de caseína es exactamente neutralizada por el ácido fosfórico.

Una solución tal presenta los dos siguientes caracteres: la caseína en solución puede ser totalmente precipitada por la adición de una cantidad conveniente de ácido acético; la caseína en solución puede ser precipitada por la adición de cloruro cálcico, pero solamente en muy gran proporción.

Haciendo obrar sobre una solución tal el cuajo a 40°, podremos comprobar: 1.°, que la substancia en solución ya no es totalmente precipitada por el ácido acético, cualquiera que sea la proporción de este ácido; 2.°, que es precipitada por pequeñísimas cantidades de cloruro cálcico.

La caseína ha sido, pues, desdoblada en dos substancias, una que no es precipitada más que por el ácido acético: es la lactosueroproteosa; otra que es precipitada por pequeñas cantidades de cloruro cálcico: es la substancia caseógena. Por el cloruro cálcico, esta substancia caseógena es precipitada en estado de cáseum.

Como vemos, la solución fosfosódica de caseína permite analizar los fenómenos de caseificación de la caseína como la leche oxalatada.

Si se prepara una solución fosfocálcica de caseína, disolviendo la caseína en el agua de cal y neutralizando con el ácido fosfórico, se obtiene una solución que es caseificable por el cuajo como la leche natural. Se comprueba la formación de un cuajo insoluble, y queda en solución una substancia proteica no coagulada por el calor, no precipitada por los ácidos: la lactosueroproteosa.

III. — CALOSTRO

Se designa con el nombre de *calostro* la leche amarillenta, espesa y viscosa secretada durante las primeras horas, y alguna vez los primeros días, que siguen al parto. El calostro se distingue de la leche normal por los siguientes caracteres:

1. El calostro contiene, además de los glóbulos de la leche, elementos llamados *glóbulos del calostro*, caracterizados por su tamaño (20 milésimas de milímetro, poco más o menos) y por su aspecto granuloso.

2. El calostro se coagula por la ebullición, unas veces en una masa compacta que recuerda la clara de huevo cocida, y otras veces en grandes grumos que flotan en un líquido amarillento y transparente; el coágulo retiene los glóbulos grasos y los glóbulos del calostro. El calostro debe esta coagulabilidad a la abundancia de proteínas coagulables, lactalbúmina y lactoglobulina, que contiene. El calostro según la mayoría de análisis, contiene de 12 a 15 por 100 de proteínas coagulables por el calor.

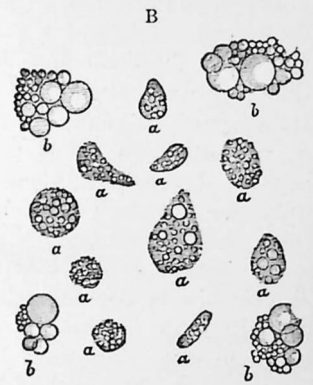


Fig. 90. — Elementos del calostro (según Beauregard y Galippe). —*a*, cuerpos granulosos.—*b*, glóbulos aglomerados.

3. El calostro, adicionado de cuajo a 40°, no es caseificado: continúa perfectamente líquido.

La constitución del calostro es la misma que la de la leche, cualitativamente por lo menos. Contiene azúcar de leche, materias grasas neutras y proteínas, que son: la caseína, la lactalbúmina y la lactoglobulina. Pero mientras que en la leche la caseína forma la mayor parte de las proteínas y da a la leche sus propiedades, en el calostro son las substancias albuminosas coagulables, lactalbúmina y lactoglobulina, considerablemente aumentadas, las que le comunican sus propiedades. Por esto el calostro coagula por la ebullición, arrastrando el coágulo de lactalbúmina y lactoglobulina a la caseína. Pero ¿cómo se explica que el calostro que contiene caseína no forme cáseum con el cuajo? No lo sabemos de una manera precisa. Pero podemos volver caseificable el calostro: basta añadirle cloruro cálcico en una débil proporción. Entonces se forma el cáseum, arrastrando consigo los glóbulos grasos y una fuerte proporción de lactalbúmina y lactoglobulina. El calostro se comporta, pues, frente al cuajo, como las leches oxalatadas y citratadas: contiene sales de cal en disolución;

¿contiene un exceso de citrato que nutra la acción precipitante de las sales de cal? Es posible, pero no se ha demostrado.

Para demostrar en el calostro la presencia de las tres proteínas, caseína, lactalbúmina y lactoglobulina, se puede proceder de la manera siguiente:

Se adiciona ácido acético al calostro, hasta que se produce un precipitado en copos; se lava este precipitado con agua; se hace hervir con agua para coagular las substancias albuminosas coagulables que pueda contener, se pone en presencia de fluoruro sódico al 1 por 100; una substancia proteica se disuelve, y la disolución fluorurada presenta todas las propiedades de las solucioness salinas de caseína. El calostro contiene, pues, caseína.

Se satura el calostro de sulfato de magnesia en frío; se separa el precipitado por filtración: el líquido claro se coagula por el calor; contiene una substancia albuminosa coagulable, una albúmina, la lactalbúmina.

Se satura el calostro de cloruro sódico en frío; se separa el precipitado por filtración: el líquido claro se precipita por el sulfato de magnesia disuelto a saturación; por lo tanto, contiene una globulina, la lactoglobulina.

He aquí algunos análisis de calostro de vaca (primer ordeño) por 100 gramos:

Agua	74,79	71,45	67,17	80,80	75,15
Residuo seco	25,21	28,55	32,83	19,20	24,87
Proteínas (1)	18,10	15,75	21,76	13,25	18,12
Grasas	2,92	9,28	8,14	2,05	3,97
Hidrocarbonos	2,90	2,42	2,21	2,92	1,65
Cenizas	1,17	1,10	0,82	1,00	1,15

Tales son los caracteres del calostro verdadero, del que es secretado inmediatamente después del parto. Pero poco a poco estos caracteres se modifican; primeramente el calostro es caseificable por el cuajo, sin dejar de ser coagulable por la ebullición; después, el coágulo producido por la ebullición va siendo cada vez menos abundante, volviéndose el líquido separado del coágulo cada vez más turbio y lechoso. Finalmente, el calostro pierde su coagulabilidad por la ebullición: entonces es ya leche verdadera. El calostro, muy rico primeramente en substancias albuminosas coagulables y relativamente pobre en caseína, va siendo cada vez menos rico en substancias albuminosas coagulables y más rico en substancias caseínicas, hasta que su constitución toma la forma de la leche verdadera.

(1) En la suma de las proteínas, la caseína no representa más que del 3 al 4 por 100; el resto, o sea la mayoría, corresponde a las proteínas coagulables por el calor: lactalbúmina y lactoglobulina.

Veamos algunos números que indican la composición del calostro de ordeños sucesivos:

	1.er ordeño	2.º ordeño	3.er ordeño	4.º ordeño
Agua	74,79	81,42	84,94	85,72
Residuo seco	25,21	18,58	15,06	14,28
Proteínas	18,10	11,27	7,32	4,27
Grasas	2,92	2,27	2,30	4,98
Hidrocarbonos	2,90	3,88	4,39	4,17
Cenizas	1,17	1,16	1,05	0,83

IV. — LECHES DIVERSAS

a. La *leche de cabra*, de un blanco nacarado brillante, no se diferencia esencialmente de la leche de vaca. Sin embargo, hay que hacer constar que la nata sube mucho más lentamente y mucho más incompletamente que en la leche de vaca. Sufre menos fácilmente que esta última la fermentación láctica. La proporción de las substancias minerales es bastante elevada (8 a 9 por 1.000); los cloruros y las sales de cal son las dominantes. Se coagula por el cuajo formando un voluminoso cáseum macizo retráctil.

He aquí dos análisis de leche de cabra:

Agua	86,13	87,60
Residuo seco	13,87	12,40
Proteínas	4,29	3,70
Grasas	4,78	4,20
Hidrocarbonos	4,04	4,00
Cenizas	0,76	0,56

b. La *leche de oveja* es ligeramente amarilla. Es notable por su riqueza en caseína (5,5 a 6,0 por 100), en grasa (7 por 100) y en fosfato de cal. Forma con el cuajo un cáseum blando y poco retráctil.

Dos análisis de leche de oveja:

Agua	79,97	81,10
Residuo seco	20,03	18,90
Proteínas	6,18	5,54
Grasas	7,40	6,98
Hidrocarbonos	5,57	5,53
Cenizas	1,02	0,96

c. Las *leches de yegua y de burra*, menos blancas que la de vaca, son mucho más pobres que esta última en proteínas y materias grasas. La leche de burra contiene alrededor de 2,5 por 100 de caseína, 1,5 por 100 de grasas y 6 por 100 de lactosa. Los ácidos determinan en estas leches un ligero precipitado en copos que flota en un líquido algo turbio; el cuajo hace coagular estas leches, pero el coágulo es siempre poco voluminoso, muy poroso y muy poco retráctil: el lactosuero es turbio. Sufren muy fácilmente la fermentación láctica.

He aquí dos análisis de leches de burra y de yegua:

	Burra	Burra	Yegua	Yegua
Agua	89,56	89,25	90,11	90,21
Residuo seco	10,64	10,75	9,89	9,80
Proteínas	3,07	2,22	1,99	2,00
Grasas	1,17	1,64	1,21	1,56
Hidrocarbonos	6,00	6,58	6,54	5,73
Cenizas	0,40	0,51	0,55	0,55

d. La *leche de los carnívoros*, y principalmente *la de perra*, es notable por su riqueza en proteínas (7 a 12 por 100), en grasas (8 a 12 por 100) y en materias minerales (1 a 1,2 por 100), particularmente en fosfato de cal (0,4 por 100). En el aire termina por la putrefacción después de una larga permanencia, pero no sufre la fermentación láctica. El cuajo la caseifica: se forma un cáseum blando, granuloso, fino, muy poco retráctil, que deja exudar algunas gotitas de lactosuero.

He aquí un análisis de leche de perra:

Agua	80,17
Residuo seco	19,83
Proteínas	7,70
Grasas	8,10
Hidrocarbonos	2,98
Cenizas	1,05

e. La *leche de cerda* contiene a veces hasta el 8 por 100 de proteínas, 6 a 7 por 100 de materias grasas (con predominio de la oleína) y 1,5 por 100 de substancias minerales; frecuentemente es incaseificable por el cuajo y coagulable por el calor, como los calostros típicos.

Véase un análisis:

Agua	80,92
Residuo seco	19,08
Proteínas	6,20
Grasas	7,06
Hidrocarbonos	4,75
Cenizas	1,07

f. La *leche de vaca* ha servido de tipo para nuestro estudio de la leche, y muy justamente, porque ocupa por su composición química una situación media entre las diferentes leches que nos proporcionan las especies domésticas. Es más rica en caseína que la de yegua y de burra; contiene menos que la de oveja, de cabra y de perra; contiene más azúcar que la leche de cabra y de oveja y menos que la de yegua y de burra; es más grasa que la de yegua y de burra, y menos que la de perra y de oveja; es más rica en materias minerales que la leche de yegua y de burra, y menos que la de perra, cerda y oveja. Su materia mineral es pobre en cloro (0,1 por 100) y en sosa (0,05 por 100); rica en ácido fosfórico (0,2 por 100), en cal (0,18 por 100) y en potasa (0,2 por 100).

He aquí algunos análisis de leche de vaca:

Agua	87,15	86,43	86,15	86,70
Residuo seco	12,85	13,57	13,85	13,30
Proteínas	3,57	3,33	3,60	3,40
Grasas	3,69	4,20	3,68	4,00
Hidrocarbonos	4,88	5,28	5,69	5,30
Cenizas	0,71	0,76	0,78	0,60

g. La *leche de mujer* tiene la misma composición cualitativa que las leches que acabamos de estudiar. Cuantitativamente se diferencia de la leche de vaca por su pobreza en proteínas y por su riqueza en azúcar de leche. Por término medio, la leche de mujer contiene 2 a 3 por 100 de materias grasas (1),

(1) La grasa de la leche de mujer se funde alrededor de 39°; contiene pocos glicéridos derivados de los ácidos grasos volátiles (100 gramos de grasas de leche de mujer no contienen más que 1,4 gramos) y en particular del ácido butírico; contiene una fuerte proporción de oleína (alrededor de 41 a 42 por 100).

1,5 a 2,0 por 100 de proteínas (1), 6 por 100 de lactosa y 0,2 por 100 de materias minerales.

La caseína de la leche de mujer es precipitada por los ácidos, pero es necesario añadir una fuerte proporción de ácido; entonces precipita bajo la forma de copos ligeros que flotan en un líquido turbio (2). Con el cuajo, la leche de mujer forma un cáseum; pero este cáseum es poco abundante, muy poroso y apenas retráctil; el lactosuero es muy turbio; contiene proteínas coagulables por el calor en gran abundancia.

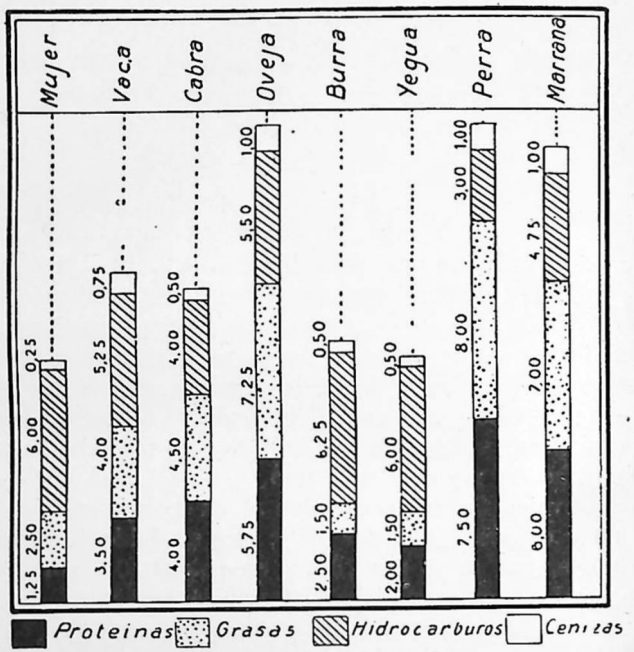


Fig. 91. — Composición del residuo seco de 100 gramos de leche de diversas especies (mujer, vaca, cabra, oveja, burra, yegua, perra, cerda).

(1) La mayor parte de estas proteínas está aquí representada por las proteínas coagulables; la caseína de la leche de mujer no pasa de 6 a 8 gramos por litro, mientras que las albúminas coagulables alcanzan la proporción de 9 a 12 gramos por litro.

(2) La caseína de la leche de mujer se distingue también de la caseína de la leche de vaca en que, tratada por la pepsina clorhídrica, se transforma sin posar paranucleína. Pero es más verosímil que las diferencias notadas son más bien cuantitativas que cualitativas.

La leche de mujer no sufre fácilmente la fermentación láctica; y la leche de vaca, como ya sabemos, es, por el contrario un medio muy favorable para el desarrollo de los fermentos lácticos.

Veamos algunos análisis de leche de mujer:

Agua	80,71	81,18	78,91	80,79	80,64	80,39	78,58
Residuo seco . .	9,29	8,82	11,09	9,21	9,36	9,61	11,42
Proteínas . . .	0,87	0,87	1,03	1,16	1,04	1,17	1,35
Grasas	2,19	1,57	3,82	2,60	2,67	2,05	3,32
Hidrocarbonos . .	5,90	6,17	6,01	5,25	5,45	6,18	6.50
Cenizas. . . .	0,23	0,21	0,23	0,20	0,20	0,20	0,25

CAPITULO XIX

SALIVA

SUMARIO.—I. CONSTITUCIÓN QUÍMICA DE LA SALIVA.—La mucina, el salfocianuro.

II. DIASTASA SALIVAL.—Propiedad diastásica de la saliva: la tialina. Sacarificación del almidón: las dextrinas y la maltosa. Comparación de la sacarificación por la saliva y la sacarificación por los ácidos.

Diferentes glándulas, llamadas *glándulas salivales*, situadas cerca o en el espesor de las paredes de la cavidad bucal, vierten sus secreciones en esta cavidad. La *saliva mixta* está formada por la mezcla de las diferentes salivas: *parotídea*, *submaxilar*, *sublingual* y *bucal*. Es un líquido fluente muy ligeramente opalescente.

Como todos los líquidos del organismo, la saliva mixta contiene en solución sales minerales. Estas sales son principalmente cloruros y fosfatos, sales de potasa, de sosa y de cal. Se debe también señalar en la saliva la presencia de una muy pequeña cantidad de carbonatos alcalinos, a los que hay que atribuir su reacción ligeramente alcalina (su alcalinidad es igual a la de una solución de carbonato de sosa al 0,5 por 100 aproximadamente).

I. — CONSTITUCION QUIMICA DE LA SALIVA

La saliva suministra, por litro, de 3 a 6 gramos de residuo seco, del que 2 gramos son materias minerales y 3 a 4 gramos materias orgánicas.

Entre los elementos orgánicos de la saliva hay que señalar tres: una *mucina*, una *substancia albuminosa* y un *sulfocianuro*.

La *mucina salival* proviene principalmente de la secreción de la glándula submaxilar en el hombre; la saliva submaxilar

es manifiestamente más viscosa que las otras salivas (la saliva parotídea del hombre no contiene mucina).

Supongamos aislada esta mucina salival: es una substancia viscosa y pegajosa. Se disuelve en las soluciones muy diluídas de álcalis cáusticos (potasa, sosa, amoníaco), formando líquidos de reacción neutra cuando el disolvente no está en exceso. Estas soluciones neutras no son ni coaguladas ni precipitadas por la ebullición. Son precipitadas por el alcohol en presencia de pequeñas cantidades de sales. Son precipitadas totalmente por la adición de ácido acético, siendo el precipitado producido absolutamente insoluble en un exceso cualquiera de ácido acético. Son igualmente precipitadas por una pequeña cantidad de ácido clorhídrico, pero el precipitado es redisuelto en un exceso de este ácido. Hervidas con ácido sulfúrico o ácido clorhídrico diluídos (al 10 por 100, por ejemplo), las soluciones de mucina salival son descompuestas en una substancia albuminosa y otras diversas substancias, entre las que se ha reconocido la existencia de hidrocarbono monosubstituído capaz de reducir el licor de Fehling y la glicosamida.

Fundándose en alguna de estas propiedades de la mucina salival, se la puede evidenciar en la saliva, prepararla y dosificarla.

Tratando la saliva por el ácido acético, se determina la producción de un precipitado insoluble en un exceso de ácido acético; este precipitado es un precipitado de mucina, porque de todas las substancias contenidas normalmente en la saliva, ninguna, no siendo la mucina, posee esta doble propiedad; los demás elementos de la saliva, cloruros, fosfatos, sales alcalinas y de tierras alcalinas, sulfocianuros, etc., no son precipitados por el ácido acético; la pequeña cantidad de substancia albuminosa contenida en la saliva puede ser precipitada por el ácido acético, pero el precipitado se redisuelve en un exceso de ácido.

Se puede preparar la mucina salival partiendo de la saliva, pero lo más frecuente es emplear para hacer esta preparación la maceración acuosa de las glándulas submaxilares de ternera. El líquido que contiene la mucina en solución es diluído por 10 volúmenes de agua (1) adicionada de pequeñas cantidades de ácido clorhídrico: se forma un precipitado; se continúa añadiendo ácido clorhídrico hasta que el líquido contenga el 0,15 por 100: el precipitado se ha redisuelto. Se precipita la mucina de este líquido ácido, diluyéndolo con 5 volúmenes de agua destilada.

(1) Esta dilución tiene por fin permitir a la mucina precipitarse en copos; si se acidifica el líquido no diluído, se la transforma en gelatina, como se ha hecho notar en la página 144, nota 1.

Por último, para dosificar la mucina salival se añade a la saliva ácido acético en exceso; se lava el precipitado con agua fuertemente acética, hasta que las aguas de lavado no arrastren ya ni materias salinas, ni substancias albuminosas.

La saliva contiene siempre una muy pequeña cantidad de una *substancia albuminosa* coagulable por el calor, perteneciente al grupo de las *globulinas*.

Por último, la saliva contiene *sulfocianuros*.

Los *sulfocianuros* dependen del grupo del cianógeno. Es sabido que el ácido ciánico tiene por fórmula CNOH, y el cianato de potasa CNOK. El ácido sulfocianhídrico responde a la fórmula CNSH; es, pues, del ácido ciánico del que el oxígeno divalente ha sido reemplazado por el azufre también divalente; el sulfocianuro de potasio es CNSK.

Los sulfocianuros alcalinos son sales solubles en el agua y en el alcohol. Cuando se añade a sus soluciones una solución de cloruro férrico, aparece una coloración rojo sangre intensa, que el ácido clorhídrico fuerte no hace desaparecer (los acetatos alcalinos forman igualmente con el cloruro férrico un color rojo obscuro, pero esta coloración desaparece en presencia de un exceso de ácido clorhídrico).

Se puede afirmar la existencia del sulfocianuro en la saliva por los hechos siguientes:

La saliva acidulada por el ácido clorhídrico y adicionada de una solución diluída de cloruro férrico, toma una coloración rojo sangre intensa.

El extracto alcohólico de la saliva da la misma reacción de coloración.

El extracto alcohólico contiene una substancia sulfurada, porque, después de la acción de una mezcla de clorato potático y ácido clorhídrico (mezcla oxidante), presenta las reacciones de los sulfatos: esta substancia sulfurada soluble en el alcohol, ya que existe en el extracto alcohólico, no puede ser ni un sulfato neutro, ni una substancia albuminosa, ni una mucina, puesto que estas substancias son solubles en el alcohol.

La saliva contiene, pues, una substancia sulfurada, transformable en sulfato por los agentes oxidantes, soluble en el agua, soluble en el alcohol, que toma, en presencia del ácido clorhídrico y del cloruro férrico, una coloración roja; *contiene*, pues, *sulfocianuros*.

El sulfocianuro existe normalmente en la saliva mixta, pero en muy pequeña cantidad, alrededor de 0,008 por 100 (1). Alguna vez también la cantidad de esta sal es tan débil, que es difícil evidenciarla por la

(1) La saliva de los que no fuman contiene siempre menos sulfocianuros que la saliva de los que fuman. Determinaciones hechas a este objeto dan como promedio: para los no fumadores, 0,004 por 100; para los fumadores, 0,012 por 100.

reacción de coloración: es lo que ha hecho que ciertos autores crean que el sulfocianuro no es un elemento normal de la saliva.

II. — DIASTASA SALIVAL

La saliva mixta posee una *propiedad diastásica;* contiene un *fermento soluble*, la *diastasa salival* o *fermento sacarificante* de la saliva, o mejor *diastasa amilolítica* salival, *amilasa* salival o *tialina*.

La saliva mixta puede transformar el almidón cocido; puede *sacarificarlo* (1). Su acción sobre el almidón crudo es casi nula.

Las soluciones acuosas de engrudo de almidón tienen, como es sabido, la propiedad de colorarse en azul por el agua yodada y de no reducir el licor cupropotásico de Fehling. Cuando estas soluciones han sido sometidas a la acción de la saliva a la temperatura del cuerpo durante suficiente tiempo, variable según la saliva empleada, se comprueba que han perdido la propiedad de colorarse en azul por el yodo y que han adquirido la propiedad de reducir el licor cupropotásico de Fehling. El almidón ha sido, pues, transformado.

Esta acción de la saliva sobre el almidón es una acción diastásica, porque es suspendida a baja temperatura, acelerada a temperaturas próximas a los 40° y definitivamente destruída por la ebullición, sin que la reacción y la composición química del líquido salival sean modificadas de una manera apreciable.

La diastasa salival obra en medio muy débilmente alcalino. (como lo es la saliva) y también en medio neutro. Pero basta una pequeñísima cantidad de ácido clorhídrico o de jugo gástrico (de modo que la mezcla tenga una acidez equivalente a 0,3 por 1.000 de ácido clorhídrico) para suprimir esta acción.

Estudiemos con algún detalle esta acción de la saliva sobre la solución de *engrudo de almidón*, separando, por medios convenientemente escogidos, la acción de los microbios. Para hacer este estudio, examinemos la composición de la solución en diferentes momentos.

(1) No todas las salivas aisladas de las diversas glándulas poseen esta propiedad sacarificante; por esto las salivas parotídeas del hombre y del caballo no tienen acción sobre el almidón.

Operemos sobre una solución de engrudo de almidón, incapaz de reducir el licor de Fehling, que se colore de azul por el yodo. Hagamos obrar la saliva (la saliva normal no reduce el licor cupropotásico y no se colora por el yodo), hasta que la mezcla no se colore ya de azul por el yodo (1). En este momento comprobaremos que la solución tiene las siguientes propiedades: forma un precipitado por el alcohol; se colora en rosa por el agua yodada; reduce el licor cupropotásico de Fehling; contiene substancias que pertenecen al grupo de las *dextrinas* y al grupo de los *azúcares fermentables*. Investigaciones cuidadosas han probado que contiene en realidad por lo menos dos dextrinas (una *eritrodextrina*, substancia que se colora en rosa por el agua yodada y una *acroodextrina*, substancia que no se colora por el agua yodada), y un azúcar, que es la *maltosa*, o sea un azúcar dextrógiro, reductor, del grupo de las sacarosas. Las dextrinas, principalmente la eritrodextrina, son abundantes; la maltosa está en pequeña cantidad.

Dejemos obrar la saliva por más tiempo sobre la solución de engrudo de almidón; llega un momento en que la solución ya no se colora en rosa por el yodo; conserva sus demás propiedades, su precipitabilidad por el alcohol, su poder reductor. No contiene ya eritrodextrina, pero contiene aún *acroodextrina* y *maltosa;* esta última se ha vuelto abundante.

Por último, dejemos obrar la saliva durante mucho tiempo sobre el engrudo de almidón, durante varios días, por ejemplo, hasta que el equilibrio final sea alcanzado. Comprobaremos que la solución contiene siempre *acroodextrina* y *maltosa* y no contiene substancias de nueva formación. Aislemos la acroodextrina precipitándola por el alcohol, disolvámosla en el agua y hagamos obrar la saliva fresca sobre esta solución de acroodextrina, y no observaremos ninguna transformación. Esto ocurre cuando la acroodextrina ha sido preparada con líquidos sometidos, hasta que la reacción ha terminado, a la acción de la saliva. Si, por el contrario, se ha sacado la acroodextrina de los líquidos en el momento que desaparece la reacción de la eritrodextrina (coloración rosa con el agua yodada), esta acroodextrina se transformará principalmente en maltosa por la saliva. Esto ha conducido a los

(1) Cuando se hace obrar la saliva sobre el engrudo de almidón en papilla, hay primeramente licuefacción del engrudo; la substancia disuelta forma siempre con el yodo la reacción azul. Se dice que el engrudo de almidón ha sido transformado en *almidón soluble* o *amilodextrina*.

autores a considerar la acroodextrina como una mezcla de varias substancias: generalmente se clasifican tres, que se distinguen por sus diferentes precipitabilidades por el alcohol, por sus poderes rotatorios y por sus poderes reductores: la *acroodextrina* α, la *acroodextrina* β y la *acroodextrina* γ, siendo esta última la única que no es modificada por la saliva: es la que se separa de las soluciones sometidas durante largo tiempo a la acción de la saliva.

Resumiendo, cuando se hace obrar la saliva sobre una solución de engrudo de almidón, se comprueba: 1.°, la simultánea aparición de dextrinas y de maltosa; 2.°, la disminución progresiva de las dextrinas y el correspondiente aumento de la maltosa; 3.°, la total desaparición de la eritrodextrina y de las acroodextrinas α y β, y la conservación indefinida de la acroodextrina γ.

A estos hechos se les ha dado la siguiente *interpretación*, que ha sido clásica durante mucho tiempo entre los fisiólogos.

El almidón puede ser considerado como un cuerpo que tiene por fórmula $(C^6H^{10}O^5)^n$, siendo el valor de n por lo menos igual a 5. *Por la influencia de la saliva, se producen una serie de desdoblamientos; cada desdoblamiento* (acompañado de una hidratación parcial) *da lugar a la formación de una dextrina y de maltosa;* las dextrinas de los sucesivos desdoblamientos tienen por fórmula $(C^6H^{10}O^5)^p$, disminuyendo p a cada nuevo desdoblamiento. Para precisar, el almidón es desdoblado en maltosa y eritrodextrinado; la eritrodextrina es desdoblada en maltosa y acroodextrina α: la acroodextrina α es desdoblada en maltosa y acroodextrina β: la acroodextrina β es desdoblada en maltosa y acroodextrina γ, no siendo esta última modificable por la saliva.

Esta interpretación no está admitida por todos los autores; algunos la han substituído por la siguiente, que se apoya en ciertos experimentos hechos con la diastasa de la cebada germinada. Manteniendo durante un tiempo conveniente a 79-80° una solución de malta, se ha obtenido un líquido que, obrando sobre el engrudo de almidón, forma dextrinas pero no deja indicios de maltosa. La sacarificación del almidón no resultaría, pues, de sucesivos desdoblamientos que producen cada vez maltosa, sino de dos transformaciones sucesivas, por la influencia de dos diastasas: una transformación del engrudo de almidón en dextrinas por una *amilasa verdadera;* una transformación de las dextrinas en maltosa por otra diastasa, una *dextrinasa*. En esta nueva teoría, las diversas dextrinas no derivarían, por otra parte, unas de otras, sino que provendrían de diversos almidones más o menos fácilmente atacables por la amilasa, y estas dextrinas serían unas transformadas en maltosa por la dextrinasa, y las otras no.

Según otros autores, la interpretación sería otra. El almidón, como

hemos indicado (pág. 95) se compone de dos grupos de substancias, las amilocelulosas y las amilopectinas; la malta contendría dos diastasas, una que se podría llamar amilocelulosa, que obraría sobre las amilocelulosas transformándolas integralmente en maltosa; y la otra, que se llamaría amilopectasa, obraría sobre las amilopectinas para transformarlas en dextrinas sin ninguna formación de maltosa. La amilocelulosa sería destruída a 80°, la amilopectasa resistiría esta temperatura.

No nos es posible actualmente escoger entre estas diversas interpretaciones.

La *diastasa de la cebada en germinación* transforma el engrudo de almidón en dextrinas y maltosa, como lo hace la diastasa salival. Estas dos diastasas, que obran, en las mismas condiciones de temperatura y de medio, determinando la formación de los mismos productos de transformación, pueden ser consideradas prácticamente como idénticas.

Por la acción de los *ácidos minerales diluídos* a la temperatura de ebullición sobre el engrudo de almidón, se obtienen primeramente los mismos productos de transformación que por la acción de las diastasas: dextrina y maltosa; pero los últimos productos de transformación no son los mismos. Por la influencia de los ácidos minerales diluídos a la ebullición, la acroodextrina γ y la maltosa sufren una hidratación y forman la glicosa. De tal manera que cuando la acción de las diastasas se ha agotado, se tiene acroodextrina y maltosa; cuando la acción de los ácidos es suficientemente prolongada, se tiene únicamente *glicosa*.

La *saliva mixta humana* posee un *poder amilolítico* muy enérgico; las salivas parotídea y submaxilar humanas, recogidas puras y sin mezcla de ninguna otra saliva, poseen igualmente, por lo menos algunas veces, si no siempre, un poder amilolítico considerable. En general, todas las secreciones salivales del hombre pueden producir más o menos enérgicamente la transformación del almidón.

CAPITULO XX

JUGO GASTRICO

SUMARIO.—El jugo gástrico presenta al estudio combinaciones ácidas y dos diastasas la peptosina y el fermento lab.

I. COMBINACIONES ÁCIDAS.—Reacción del jugo gástrico. ¿Cuáles son las substancias a las que debe el jugo gástrico su reacción ácida? ¿Acido clorhídrico o ácido láctico? ¿Acido clorhídrico libre o combinaciones cloradas orgánicas ácidas? Lo que los autores llaman ácido clorhídrico libre. El ácido láctico del jugo gástrico. Dosificación de las combinaciones cloradas del jugo gástrico. Tres grupos de procedimientos.

II. PEPSINA. — Poder proteolítico del jugo gástrico. Diastasa proteolítica del jugo gástrico. La diastasa no posee su poder proteolítico más que en líquidos ácidos. Jugo gástrico artificial y soluciones de pepsina. Transformaciones pépticas de las substancias albuminosas. Dispeptona parapeptona y peptonas de Meissner. Propeptona y peptona de Schmidt-Mülheim. Proteosas y peptonas verdaderas. Pepsinógeno.

III. FERMENTO LAB O CUAJO. — El poder caseificante del jugo gástrico. La diastasa caseificante del jugo gástrico. Jugo gástrico artificial y solución de fermento lab. Comparación de la acción de la pepsina y del fermento lab.

IV. CONTENIDO GÁSTRICO.

Los fisiólogos han demostrado que la secreción del jugo gástrico es intermitente, por lo menos en el hombre y en los mamíferos carnívoros; se produce en el momento de las comidas y bajo la influencia de los alimentos ingeridos. Es decir, que el jugo gástrico estudiado y analizado no es el jugo gástrico puro, sino una mezcla de jugo gástrico y de materias alimenticias; es el *contenido gástrico* y no el jugo gástrico.

Para provocar la secreción del jugo gástrico en el hombre se hace ingerir generalmente una comida compuesta de pan blanco ordinario y una infusión ligera de té. Se extrae después de cierto tiempo el contenido gástrico mediante la sonda estomacal.

En el perro se puede proceder igualmente; pero generalmente se

practica en este animal la operación de la fístula gástrica para evitar el sondaje. Después de haber hecho ingerir al perro diversas materias animales, restos de huesos, tendones (corvejón de ternera, por ejemplo), etc., hervidos, se abre la cánula obturadora y se recoge el líquido que se derrama por el orificio.

Se ha podido obtener en los perros jugo gástrico absolutamente puro por tres procedimientos: 1.° Se seccionan el cardias y el píloro

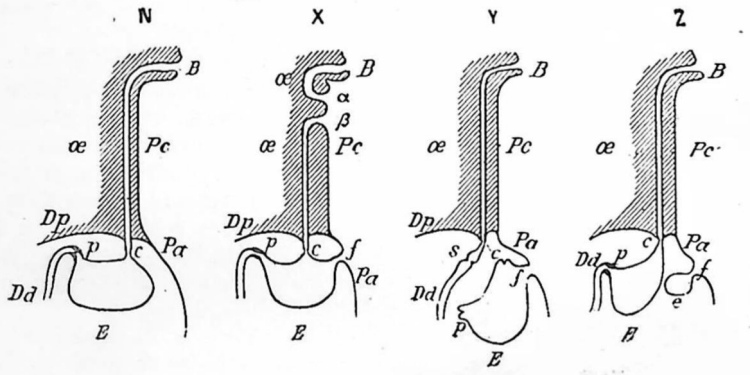


Fig. 92. — Esquema de las principales disposiciones fisiológicas destinadas a producir jugo gástrico puro. — *B*, boca. — *Œ*, esófago. — *E*, estómago. — *c*, cardias. — *p*, píloro. — *Dd*, duodeno. — *Dp*, diafragma. — *Pc*, piel del cuello. — *Pa*, piel del abdomen. — *N*, animal normal. — *X*, animal preparado para producir jugo gástrico con la comida ficticia. — *α*, orificio cutáneo del esófago superior seccionado y suturado a la piel. — *β*, orificio cutáneo del esófago inferior. — *f*, orificio cutáneo de la fístula gástrica. — *Y*, animal con el estómago aislado. — *s*, sutura del esófago y del duodeno; el píloro y el cardias han sido ligados después de seccionados. — *f*, orificio cutáneo de la fístula gástrica. — Z, animal que lleva el pequeño estómago de Pawlow. — *c*, pequeño estómago secretor. — *f*, su orificio cutáneo.

para aislar el estómago; después se colocan ligaduras obturadoras en estos dos orificios, cardíaco y pilórico, para transformar el estómago en una bolsa cerrada; se practica en esta bolsa la fístula gástrica, y suturando el origen del duodeno a la terminación del esófago, se restablece la continuidad del tubo digestivo. El líquido que se acumula dentro de la bolsa gástrica es puro y sin mezcla de saliva ni de alimentos. 2.° En un perro portador de una fístula gástrica se practica la esofagostomía y se comprueba que una abundante secreción gástrica absolutamente pura aparece cuando el animal ingiere una comida ficticia (o sean alimentos que se escapan en su totalidad por el orificio de la fístula esofágica). 3.° Por último, se ha preparado en el perro el pequeño estómago de Pawlow: es una bolsa formada mediante un colgajo de la mucosa gástrica; esta bolsa se abre fuera para

derramar su secreción; la observación fisiológica ha demostrado que esta secreción es idéntica a la del estómago normal.

En el estudio del jugo gástrico distinguiremos: el *jugo gástrico puro* (obtenido por uno de los tres procedimientos que acabamos de indicar) y el *jugo gástrico impuro*, o *contenido gástrico* (obtenido mezclado con los alimentos o sus productos de transformación).

El jugo gástrico, puro o impuro, está caracterizado por su *reacción ácida* y por dos propiedades: *peptoniza las substancias albuminosas* y *caseifica la leche;* nos ofrece para el estudio:

1.°, las *combinaciones ácidas;*

2.°, una *diastasa peptonizante*, la *pepsina;*

3.°, una *diastasa caseificante*, el *fermento lab.*

El jugo gástrico del perro recogido puro de toda mezcla, sea con la saliva, sea con los alimentos, es un líquido transparente, incoloro, ligeramente fluente, de reacción ácida, pudiendo ser hervido sin enturbiarse, dando por evaporación un residuo pardo amarillento fuertemente ácido y, por calcinación, cenizas blancas débilmente alcalinas.

El jugo gástrico impuro del hombre y del perro no se diferencian esencialmente del jugo gástrico puro por sus propiedades físicas.

El jugo gástrico tiene reacción ácida; enrojece intensamente al papel azul de tornasol. La acidez del jugo gástrico puro del perro, evaluada en ácido clorhídrico, es de 4,8 a 5,2 por 1.000. Esto significa que si se toman, por ejemplo, 100 centímetros cúbicos de jugo gástrico puro de perro, es preciso, para neutralizarlo, añadirle una cantidad de sosa capaz de neutralizar 100 centímetros cúbicos de una solución de ácido clorhídrico que contenga de 4,8 a 5,2 por 1.000 de ácido. La acidez del jugo gástrico impuro del perro es menor; raramente pasa de 3 por 1.000. La acidez del jugo gástrico impuro del hombre todavía es menor: evaluada en ácido clorhídrico, está comprendida entre 1,8 y 1,5 por 1.000 en las condiciones ordinarias de la observación clínica. Los jugos gástricos casi puros que se han podido recoger en el hombre contienen de 4,0 a 4,8 por 1.000 de ácido clorhídrico.

Las cenizas del jugo gástrico contienen esencialmente cloruros y fosfatos, sales de sosa, de potasa, de cal y de magnesia; no contienen sulfatos ni carbonatos, por lo menos en cantidades apreciables.

La cantidad de las materias minerales del jugo gástrico (perro) es de 1,5 por 1.000.

I. — COMBINACIONES ACIDAS

El jugo gástrico es *ácido. ¿Cuál es la substancia o cuáles son las substancias que le comunican esta reacción?*

La mayoría de los autores han atribuído la acidez del jugo gástrico a la presencia del *ácido clorhídrico* o a la presencia del *ácido láctico.* Las primeras investigaciones han sido hechas con el jugo gástrico impuro del hombre o del perro, o sea con el contenido de su estómago, jugo gástrico y comida de prueba.

Cuando se somete el jugo gástrico impuro a la destilación, dicen los partidarios del ácido clorhídrico, se desprenden vapores ácidos que precipitan las soluciones de nitrato de plata al estado de cloruro de plata: estos vapores son vapores clorhídricos. El jugo gástrico impuro debe, pues, su acidez a la presencia del *ácido clorhídrico.*

No hay duda, responden los partidarios del *ácido láctico,* que por la destilación del jugo gástrico impuro se produce un desprendimiento de ácido clorhídrico, pero este desprendimiento no empieza a producirse hasta que el jugo gástrico ha sido evaporado hasta la consistencia siruposa; durante todo el tiempo en que se verifica la evaporación primera, los vapores no son ácidos; no ocurriría así si se tratase verdaderamente del ácido clorhídrico. Este desprendimiento de ácido clorhídrico puede, por otra parte, explicarse perfectamente por la acción de un ácido orgánico fuerte sobre el cloruro sódico del líquido gástrico. Ahora bien, el contenido gástrico comprende ácidos orgánicos, y en particular ácido láctico: se puede, en general, demostrar fácilmente la presencia de este ácido en el líquido gástrico; se le puede extraer, se pueden preparar sus sales, se puede determinar su composición y su constitución química. Este ácido es el verdadero ácido del contenido gástrico; es el que, obrando a alta temperatura sobre el cloruro sódico del contenido gástrico concentrado, provoca el desprendimiento de ácido clorhídrico.

Seguramente, replican los partidarios del ácido clorhídrico, el jugo gástrico impuro contiene frecuente ácido láctico;

pero ¿lo contiene siempre y lo contiene necesariamente? Sí, en los herbívoros y principalmente en los rumiantes, cuyo estómago nunca está vacío, y en los cuales el ácido láctico proviene de fermentaciones microbianas que se verifican dentro de las cavidades gástricas a expensas de los hidratos de carbono del os alimentos ingeridos. No, en los carnívoros, con tal que se recoja el contenido gástrico veinticuatro horas después de la última comida regular y que se provoque la secreción por la ingestión de substancias que no contengan ácido láctico. Puesto que este contenido gástrico de los carnívoros, que no contiene ácido láctico, desprende vapores clorhídricos al final de la destilación, estos vapores no provienen de la descomposición del cloruro sódico por el ácido láctico, ya que no contienen dicho ácido láctico.

La misma conclusión resulta del examen del jugo gástrico impuro en el animal sometido a dieta desclorurada (agotamiento de los alimentos por el agua hirviente, para extraer los cloruros). Después de largo tiempo, la secreción gástrica pierde su acidez, para volverla a adquirir así que se añaden cloruros a los alimentos. ¿Ocurriría esto si el ácido del jugo gástrico fuese el ácido láctico?

El ácido del líquido gástrico es el *ácido clorhídrico,* y añaden, he aquí la demostración: si en un líquido gástrico se determina la cantidad total de cloro por una parte, y la cantidad de bases metálicas, sosa, potasa, cal, magnesia, por otra, se encuentra que la cantidad total de cloro es siempre superior a la que se necesita para saturar la totalidad de las bases. Habría, pues, en el líquido gástrico un exceso de cloro no combinado con los metales, aun cuando se supusiesen estos metales en estado de cloruros; como que una parte de estos metales está en estado de fosfatos, resulta *a fortiori* que una parte del cloro del jugo gástrico no está combinada con los metales.

Como las únicas combinaciones cloradas del organismo son los cloruros y el ácido clorhídrico, se puede concluir que el jugo gástrico contiene ácido clorhídrico.

Por otra parte, supongamos hecho el análisis de la cantidad total de cloro, del fósforo y de las bases de un líquido gástrico. Supongamos que se emplee la totalidad del fósforo para formar los fosfatos tribásicos con una parte de las bases, y que se satura lo que resta de las bases con una cantidad conveniente de cloro; queda aún un exceso de cloro. Calculemos

la cantidad de ácido clorhídrico que puede dar este exceso de cloro. Determinemos, por último, la acidez del líquido gástrico evaluada en ácido clorhídrico. Encontraremos para estos dos valores de ácido clorhídrico números sensiblemente iguales. El líquido gástrico se comporta, pues, como si el exceso de cloro estuviese en estado de ácido clorhídrico.

De donde se saca la conclusión: *el jugo gástrico impuro debe su acidez, a bien al ácido clorhídrico, o bien a las combinaciones cloradas orgánicas ácidas*, teniendo estas combinaciones una acidez igual a la del ácido clorhídrico que entra en su composición.

La cuestión que acabamos de estudiar trae como corolario la siguiente: *Las combinaciones ácidas del jugo gástrico, ¿son ácido clorhídrico libre o combinaciones cloradas orgánicas ácidas?* Los experimentos que vamos a describir nos darán luz respecto a ello. Distinguiremos claramente el *caso del jugo gástrico impuro* y el *caso del jugo gástrico puro*, porque la conclusión a que llegaremos será diferente según el caso considerado.

Llamamos por definición *ácido clorhídrico libre* al ácido clorhídrico en solución en el agua. Cuando un líquido presenta todas las propiedades del ácido clorhídrico en solución en el agua, contiene ácido clorhídrico libre. Cuando un líquido presenta alguna de las propiedades, hasta la mayoría de las propiedades, pero no todas las propiedades del ácido clorhídrico en solución en el agua, no contiene ácido clorhídrico libre.

Cuando se trata por una solución acuosa de *ácido clorhídrico* una solución de *acetato de sosa*, de tal modo que la mezcla contenga un equivalente de ácido clorhídrico por un equivalente de acetato de sosa, los 33/34 de acetato de sosa son transformados en cloruro sódico. Cuando se trata una solución de *acetato de sosa* por el *jugo gástrico impuro*, de manera que la mezcla contenga, por un equivalente de acetato de sosa, una cantidad de jugo gástrico de igual acidez que un equivalente de ácido clorhídrico, solamente la mitad del acetato de sosa es transformada en cloruro sódico.

Cuando se somete a la *diálisis* una solución acuosa de *ácido clorhídrico* y *cloruro sódico*, la relación de la cantidad de ácido con la de cloruro sódico es mayor en el líquido exterior que en el sometido a la diálisis: el ácido clorhídrico se dializa, pues, más rápidamente que el cloruro sódico. Cuando se somete a la *diálisis el jugo gástrico impuro*, se comprueba que la relación del cloro con las bases es menor en el líquido exterior que en el sometido a la diálisis: los cloruros del jugo gástrico se dializan, pues, más rápidamente que las combinaciones ácidas.

Cuando se hace *hervir* una solución de *azúcar de caña* durante un tiempo dado con una *solución clorhídrica diluída* pura, por una parte, y con *jugo gástrico impuro* de la misma acidez, por otra, la cantidad de azúcar invertido por la solución ácida es siempre más considerable que la cantidad de azúcar invertido por el jugo gástrico.

Estos experimentos prueban que las *combinaciones ácidas del jugo gástrico impuro no pueden ser exclusivamente con el ácido clorhídrico libre;* no nos permiten saber si son exclusivamente combinaciones cloradas orgánicas o una mezcla de estas combinaciones con el ácido clorhídrico libre. Los siguientes experimentos, principalmente el segundo, permiten, por el contrario, resolver la cuestión.

Cuando se hace *hervir* una solución de *engrudo de almidón* con una solución diluída de *ácido clorhídrico*, se transforma el almidón en dextrinas y azúcar reductor. Cuando se hace *hervir* una solución de *engrudo de almidón* con *jugo gástrico impuro* de la misma acidez que la solución precedente, no se transforma el almidón.

Cuando se hace *hervir una solución acuosa de ácido clorhídrico* o cuando se coloca esta solución en el vacío, se provoca un desprendimiento de vapores clorhídricos. Cuando se hace *hervir el jugo gástrico impuro* sin dejarlo llegar a la consistencia siruposa, o cuando se destila en el vacío, no se provoca ningún desprendimiento clorhídrico.

Así pues, el *jugo gástrico impuro no contiene ácido clorhídrico libre;* por lo menos dos de las propiedades de este ácido faltan en el jugo gástrico. El jugo gástrico impuro obtenido por los procedimientos de uso corriente en la práctica clínica no contiene más que *combinaciones cloradas orgánicas ácidas.*

¿Cuáles son estas combinaciones? Actualmente es imposible decirlo: su constitución química nos es desconocida; pero conocemos algunas de sus propiedades.

Estas combinaciones presentan una reacción ácida al tornasol, a la feniltafleína y al ácido rosólico. Como el ácido clorhídrico, convierten en azul obscuro el rojo congo; descoloran la fucsina; hacen perder a las soluciones de eosina su

dicroísmo y modifican su espectro de absorción; convierten en azul el violado de metilo, y en verde esmeralda el verde de malaquita (todas estas reacciones y otras, llamadas *reacciones de coloración*, han sido consideradas por los clínicos como demostrativas del ácido clorhídrico libre en el jugo gástrico; demuestran sencillamente la existencia de combinaciones que se comportan frente a la materia colorante como se comporta el ácido clorhídrico libre, lo que es muy diferente).

Hemos visto precedentemente que las soluciones de estas substancias cloradas orgánicas ácidas obran menos enérgicamente que las soluciones de ácido clorhídrico de la misma acidez sobre el azúcar de caña y sobre los acetatos; que se dializan con menos rapidez que los cloruros. Hemos visto, además, que son incapaces de transformar el almidón en dextrinas y azúcar, y que no son volátiles ni descomponibles, ni en el vacío ni a la temperatura de ebullición: únicamente a una temperatura superior a los 100°, y cuando son concentradas, estas combinaciones sufren una descomposición, dejando en libertad el ácido clorhídrico.

En resumen, **el jugo gástrico impuro** *debe esencialmente su acidez a compuestos clorados orgánicos ácidos que presentan ciertas propiedades de los ácidos minerales libres, y en particular del ácido clorhídrico libre, pero que no presentan todas las propiedades de este último.*

El **jugo gástrico puro,** recogido en el experimento de la comida ficticia, *contiene ácido clorhídrico libre.* Efectivamente, dejado en el vacío, encima de ácido sulfúrico, deja desprender, a la temperatura ordinaria, vapores de ácido clorhídrico; bajo la acción de una temperatura de 20 a 30° en el vacío, deja destilar abundantes vapores clorhídricos, que se pueden recoger en una solución titulada de sosa y dosificarlos.

Sin embargo, si el jugo gástrico puro obtenido después de una comida ficticia contiene la casi totalidad de su ácido clorhídrico, en estado de libertad química, contiene también una pequeña cantidad en estado de combinación clorada orgánica ácida; en efecto, después de la ebullición, después de la acción del vacío, contiene aún algo de ácido clorhídrico.

Por el contrario, el jugo gástrico puro producido en un estómago aislado por la sección del cardias y del píloro abandona la totalidad de su ácido clorhídrico en el vacío y en la ebullición. Es muy verosímil que la diferencia entre estos dos jugos gástricos puros se deba a que en el primer caso las mucosidades esofágicas han impurificado

la secreción gástrica y que su moco ha fijado una pequeña porción de ácido clorhídrico en estado de combinación clorada orgánica ácida.

Añadamos que este jugo gástrico rigurosamente puro se comporta a la diálisis como una solución acuosa de ácido clorhídrico de la misma acidez, sacarifica la misma cantidad de almidón e invierte la misma cantidad de sacarosa, en las mismas condiciones experimentales, que una solución acuosa de ácido clorhídrico de la misma acidez.

Se puede, pues, sacar la conclusión: el *jugo gástrico puro secretado en el estómago aislado contiene únicamente ácido clorhídrico libre.*

Cierto número de autores admiten que existe en el jugo gástrico impuro a la vez *ácido clorhídrico libre* y *ácido clorhídrico débilmente combinado.* Ya hemos dicho por qué no podemos admitir estas distinciones; por otra parte, lo que un autor llama ácido clorhídrico libre, otro no lo considera como tal.

Tal autor admite que el jugo gástrico contiene ácido clorhídrico libre cuando hace volver azul el violado de metilo; tal otro, cuando convierte en verde el verde brillante; otro, cuando vuelve azul el rojo congo; otro, cuando descolora la fucsina; otro, por último, cuando, evaporado hasta consistencia siruposa, desprende vapores clorhídricos.

El ácido clorhídrico así considerado como libre no lo es en realidad. Además, ocurre a menudo que un jugo gástrico, examinado con uno de los reactivos que acabamos de indicar, el rojo congo, por ejemplo, contiene ácido clorhídrico llamado libre, y examinado con otro reactivo, el violado de metilo, por ejemplo, no lo contiene.

Supongamos que se procede a la titulación acidométrica de una solución acuosa de sosa cáustica en presencia de los reactivos indicadores de uso corriente, se obtiene bastante exactamente el mismo título sea cual fuere el reactivo indicador empleado.

Si a una solución acuosa diluída de ácido clorhídrico se añade una solución acuosa de clara de huevo neutra al papel de tornasol; si se abandona esta mezcla algunas horas a 40° y si se procede a la titulación ácidométrica, se comprueba que los títulos obtenidos varían según los indicadores empleados. Con los unos, fenolftaleína, ácido rosólico tornasol, el título es el mismo que si no se hubiese añadido clara de huevo, y el mismo sea cual fuere el indicador empleado. Con los otros, tropeolina 00, violado de metilo, rojo congo, etc., el título es siempre más débil de lo que hubiese sido en ausencia de la clara

de huevo; se puede decir que ésta oculta, o también neutraliza, con estos reacticos una fracción del ácido clorhídrico.

También puede ocurrir, si la cantidad de clara de huevo añadida es suficiente, que el líquido se vuelva neutro ante los reactivos de la segunda serie, conservando su primitiva acidez con los reactivos de la primera serie.

Accesoriamente, el jugo gástrico contiene *fosfatos ácidos:* cuando un líquido contiene fosfatos y presenta la reacción ácida, una parte por lo menos del ácido fosfórico se halla en estado de fosfatos no saturados.

Accidentalmente el jugo gástrico contiene *ácido láctico*, que proviene generalmente de una transformación de los hidratos de carbono de la alimentación por los microorganismos conocidos con el nombre de fermentos lácticos.

Este ácido láctico puede evidenciarse por la *reacción de Uffelmann*. El ácido láctico posee la propiedad de colorar de amarillo vermut el líquido violado o azul violado obtenido mezclando una solución acuosa muy diluída de percloruro de hierro y una solución diluída de fenol. (L. col. V, figuras 0_1, 0_2, 0_3.)

A 10 c. c. de una solución acuosa de fenol al 1 por 100 se añaden algunas gotas de una solución de cloruro de hierro muy diluída, hasta obtener un tinte azul violado intenso (1). El ácido láctico (siempre que esté en el líquido en la proporción de 1 por 1.000 por lo menos) hace virar esta coloración al amarillo; los ácidos minerales, cuando su cantidad es suficiente, producen una decoloración absoluta.

Esta reacción no es, por otra parte, específica: se verifica con el ácido oxálico, con el ácido tartárico, con el ácido málico, etc. Ella permite, pues, distinguir sencillamente en este caso el ácido láctico del ácido clorhídrico.

Cuando el jugo gástrico contiene ácido láctico, o en general ácidos orgánicos, es posible extraer estos ácidos por el éter. Cuando se agita con éter una solución acuosa de un ácido mineral, como el ácido clorhídrico, la casi totalidad del ácido queda en solución en el agua. Cuando se agita con éter una solución acuosa de un ácido orgánico, como el ácido láctico, la casi totalidad del ácido pasa en solución al éter. Los compuestos clorados orgánicos ácidos del jugo gástrico se comportan frente al éter como los ácidos minerales: quedan en solución en el agua.

(1) Se emplea frecuentemente una mezcla conocida con el nombre de *reactivo de Uffelmann*, compuesta de 10 centímetros cúbicos de una solución acuosa de fenol al 4 por 100, 20 centímetros cúbicos de agua destilada y una gota de solución concentrada de percloruro de hierro

En un jugo gástrico dado se pueden determinar la acidez total, la acidez debida a los ácidos orgánicos y la acidez debida a los compuestos minerales (sales ácidas y compuestos orgánicos clorados).

Para dosificar la *acidez total* es preciso hacer una determinación acidimétrica del jugo gástrico en presencia de un reactivo indicador determinado, por ejemplo, la fenolftaleína o el tornasol (1), o sea determinar la cantidad de una solución alcalina titulada capaz de neutralizar el líquido.

Para dosificar la *acidez debida a los ácidos orgánicos*, se agita el jugo gástrico con éter, que disuelve dichos ácidos orgánicos. El líquido etéreo es evaporado, el residuo es disuelto en agua y la solución acuosa se dosifica acidimétricamente.

Para dosificar la *acidez debida a los compuestos minerales* (sales ácidas y compuestos orgánicos clorados) es preciso, agitando el jugo gástrico con éter, librarlo de los ácidos orgánicos que pueda contener y determinar la acidez del residuo acuoso.

Para determinar la *cantidad de compuestos orgánicos clorados*, que algunos autores designan, no sin cierta razón, porque fisiológicamente se comporta como tal, *ácido clorhídrico libre*, un gran número de procedimientos han sido propuestos, los cuales pueden clasificarse en tres grupos principales.

Los *procedimientos del primer grupo* consisten esencialmente en neutralizar el jugo gástrico con una solución alcalina titulada, en presencia de reactivos indicadores convenientemente escogidos, como la fucsina, el rojo congo, la eosina, etc. Se admite que la solución alcalina añadida neutraliza primeramente los compuestos clorados orgánicos ácidos con exclusión de las sales ácidas del jugo gástrico: los reactivos indicadores permiten saber el momento en que esta saturación está terminada. *Estos procedimientos son malos*, porque nada prueba que las combinaciones cloradas orgánicas ácidas están exclusivamente saturadas por la sosa ante las otras substancias de reacción ácida del jugo gástrico, y en particular los fosfatos ácidos; porque también los reactivos indicadores empleados pueden indicar que la saturación de los compuestos orgánicos clorados ácidos está terminada cuando en realidad no lo está aún.

Los *procedimientos del segundo grupo* consisten esencialmente en dosificar el cloro total del jugo gástrico por una parte, y el cloro de los compuestos que no son destruídos a la temperatura de incineración, por otra parte. La diferencia de los dos números obtenidos repre-

(1) La elección del indicador no es indiferente, porque el resultado varía considerablemente según el indicador empleado (fenolftaleína, tornasol, anaranjado, etc.). Es conveniente, pues, para investigaciones comparativas, emplear siempre el mismo indicador.

senta el cloro de los compuestos orgánicos clorados. La dosificación del cloro total se hace después de la incineración en presencia del carbonato de sosa que retiene el ácido clorhídrico puesto en libertad; la dosificación del cloro llamado mineral se hace después de la incineración del jugo gástrico. Las cenizas, en uno y otro caso, son disueltas en agua acidulada por el ácido nítrico; los cloruros disueltos son precipitados por el nitrato de plata; el precipitado de cloruro de plata es lavado, desecado y pesado. Se deduce el peso correspondiente de cloro. *Estos procedimientos son malos*, porque durante la desecación, y sobre todo durante la incineración, una parte del ácido clorhídrico procedente de la disociación de los compuestos clorados orgánicos ácidos puede ser retenida por los fosfatos monometálicos alcalinos contenidos en el jugo gástrico; inversamente, como consecuencia de una acción de los fosfatos dimetálicos alcalinotérreos del jugo gástrico, una parte de los cloruros metálicos es descompuesta y es puesto en libertad el ácido clorhídrico. Así, hay dos causas de error en sentido inverso, que no se compensan necesariamente una y otra. Hay, pues, un error, sea en más, sea en menos, del que es imposible determinar el valor aproximado y aun conocer el sentido del mismo.

Los *procedimientos del tercer grupo* consisten en transformar los compuestos orgánicos clorados ácidos en cloruro de bario, por adición al jugo gástrico de carbonato de bario y desecación e incineración de la mezcla. El residuo está formado de carbonato de bario no transformado, de fosfato de bario resultante de la acción de los fosfatos ácidos del jugo gástrico sobre el carbonato de bario, de cloruro de bario y sales del jugo gástrico. Entre estas diferentes sales de bario, una sola es soluble en el agua: es el cloruro de bario, procedente de la acción de los compuestos orgánicos clorados ácidos sobre el carbonato de bario. En el extracto acuoso de estas cenizas, basta dosificar el bario para reducir la cantidad de cloro de los compuestos clorados orgánicos ácidos del jugo gástrico. Esta dosificación del bario se verifica precipitándolo por el sulfato de sosa en presencia de ácido clorhídrico: el precipitado de sulfato de bario es lavado, secado, calcinado y pesado.

Estos procedimientos no presentan las causas de error que hemos señalado en los procedimientos del segundo grupo, ya que la incineración se verifica en un medio neutro y, por consiguiente, en ausencia de fosfatos monometálicos alcalinos y de fosfatos dimetálicos alcalinotérreos. Pero *no están exentos de toda causa de error*, porque a la temperatura de calcinación el carbonato de bario puede volver a obrar sobre los cloruros alcalinos del jugo gástrico y formar a sus expensas algo de cloruro de bario: el cloro atribuído a los compuestos orgánicos ácidos se encuentra, por consiguiente, en mayor cantidad que está en realidad.

Hay otros procedimientos de dosificación de los compuestos clorados orgánicos del jugo gástrico. No debemos discutirlos porque ninguno de ellos es verdaderamente bueno.

Si se determina, por varios de los procedimientos propuestos, la cantidad de los compuestos clorados orgánicos del jugo gástrico, se encuentran resultados absolutamente diferentes: es éste un hecho que sirve para confirmar la importancia de las objeciones que hemos presentado a propósito de los procedimientos de dosificación y para probar que estos procedimientos están plagados de causas de error.

Hechas las precedentes reservas, veamos los principales procedimientos empleados en clínica.

1.° **Método alcalimétrico.** — A 10 c. c. de jugo gástrico se añaden 2 c. c. de una solución normal de carbonato de sosa; se evapora hasta sequedad en una cápsula de platino y se calcina el residuo hasta la destrucción de las materias orgánicas y desaparición completa del carbón. Se añaden al residuo salino blanco 20 c. c. de una solución décimonormal (1) de ácido clorhídrico: una parte de este ácido neutraliza el exceso de carbonato de sosa empleado y otra parte queda libre. La cantidad de este ácido libre, igual a la del ácido del jugo gástrico, es determinada por titulación acidimétrica mediante una solución décimonormal de sosa, en presencia de fenolftaleína, empleada como reactivo indicador.

2.° **Método barítico.** — Se evaporan hasta sequedad 10 c. c. de jugo gástrico adicionados de un exceso de carbonato de barita, y se calcina hasta la completa destrucción de las materias orgánicas; se agota por el agua caliente el cloruro de bario formado y se titula por medio de una solución titulada de nitrato de plata en presencia de un poco de bicromato de potasa. El final de la operación se indica por la mancha anaranjada que forma un gota de nitrato de plata en un papel mojado por el líquido a analizar.

3.° **Método clorométrico.** — Se divide el jugo gástrico sometido a análisis en tres porciones α, β, γ, sirviendo respectivamente para la dosificación del cloro total, del ácido clorhídrico libre y del ácido clorhídrico combinado con las bases minerales. A la porción α se adiciona un exceso de una solución de carbonato de sosa, destinada a fijar el ácido clorhídrico libre y el ácido de los compuestos clorados orgánicos ácidos; se evapora hasta sequedad al baño de María; se calcina el residuo hasta la carbonización de las materias orgánicas y se agota por el agua caliente. En este extracto acuoso se

(1) La solución décimonormal de ácido clorhídrico contiene 3,65 gms. de ácido por litro; la solución décimonormal de sosa cáustica contiene 4 gms. por litro.

dosifica volumétricamente (1) el cloro: es el *cloro total*. La porción β es evaporada hasta sequedad al baño de María con el fin de librarla del ácido clorhídrico libre; al residuo se añade carbonato de sosa, se deseca, se incinera, etc., como la porción α; se obtiene así el cloro total menos el cloro del ácido clorhídrico libre, o sea el *cloro de los compuestos clorados orgánicos ácidos y de los cloruros metálicos*. La porción μ es evaporada hasta sequedad y calcinada sin añadirle carbonato de sosa; en el residuo se dosifica volumétricamente el cloro: es el *cloro de los cloruros metálicos*.

Resumiendo, el cloro γ corresponde al cloro combinado con las bases minerales; el cloro contenido en el jugo gástrico en estado de combinaciones cloradas orgánicas ácidas corresponde a la diferencia β — γ; el cloro de ácido clorhídrico libre corresponde a la diferencia α — β.

II. — PEPSINA

El jugo gástrico transforma las substancias albuminosas; en particular, disuelve la fibrina, la clara de huevo cocida, etcétera, transformándolas. En conjunto, el fenómeno de la disolución de las substancias albuminosas por el jugo gástrico llamó en seguida la atención de los primeros observadores; decían: el jugo gástrico tiene la propiedad de disolver las substancias albuminosas (proteínas); posee un *poder proteolítico*.

¿Debe el jugo gástrico su poder proteolítico a las combinaciones ácidas?

El jugo gástrico, *exactamente neutralizado*, en presencia del tornasol, sea por un álcali cáustico, sea por un carbonato alcalino, no posee ya ningún poder proteolítico; acidulado de nuevo, el jugo gástrico recobra este poder proteolítico. Este experimento demuestra que la *presencia de compuestos ácidos* en el jugo gástrico es una *condición necesaria* para su actividad proteolítica.

El jugo gástrico *hervido* no posee ningún poder proteolítico. Ahora bien, la ebullición no modifica la acidez del jugo gástrico ni cuantitativamente, ni cualitativamente, por lo menos cuando se trata del jugo gástrico impuro: es preciso para

(1) Véase Cap. XXIII, pág. 412.

neutralizarlo la misma cantidad de sosa antes y después de la ebullición; da, antes y después de la ebullición, las mismas reacciones de coloración (fucsina, eosina, rojo congo, etc.). Esto prueba que si la *presencia de compuestos ácidos* en el jugo gástrico es una *condición necesaria, no es una condición suficiente* para su actividad proteolítica. Para obrar sobre las substancias albuminosas, el jugo gástrico debe contener también un agente que es destruído a la temperatura de ebullición. Este agente es una *diastasa:* la *pepsina*.

En resumen, el jugo gástrico debe su poder proteolítico a una diastasa, la pepsina, que obra sobre las substancias albuminosas en un medio ácido (1). Privado de pepsina por la ebullición, el jugo gástrico se vuelve inactivo; privado de ácido por neutralización, el jugo gástrico se vuelve igualmente inactivo.

El jugo gástrico ácido disuelve las substancias albuminosas, o, para decirlo exactamente, transforma las substancias albuminosas en substancias solubles en los líquidos acuosos, en *proteosas*. Las proteosas habían sido designadas con el nombre de *peptonas*, que actualmente se aplica a una de ellas (véase página 136); por eso existe la costumbre de decir que el *poder proteolítico* del jugo gástrico es un *poder peptonizante*, o que el jugo gástrico peptoniza las substancias albuminosas.

Se pueden preparar, por medio de la mucosa gástrica, líquidos de maceración o extractos que posean el mismo poder peptonizante que el jugo gástrico natural. Se pueden obtener soluciones de pepsina, o sea líquidos que, sin contener los diferentes elementos químicos del jugo gástrico, posean, como él, poder peptonizante.

Se preparan los líquidos de maceración, los *jugos gástricos artificiales*, haciendo digerir durante veinticuatro horas, a la temperatura ordinaria y mejor a 40°, en varios litros de una solución acuosa de

(1) De la proposición así enunciada resulta que la pepsina es considerada como el agente de la transformación, y el ácido como la condición de actividad de este agente. Algunos autores rechazan esta concepción, porque dicen que los ácidos son tan indispensables como la pepsina para asegurar la transformación gástrica de las proteínas. Esto es perfectamente justo, pero nos parece conveniente distinguir claramente entre el papel esencial de la pepsina, que no puede ser substituída por otro agente equivalente, y el papel, sin duda indispensable, pero secundario, del ácido clorhídrico, que puede ser substituído por otro ácido o por un fosfato ácido. Y por esto adoptamos la fórmula tal como ha sido enunciada antes.

ácido clorhídrico o de ácido fosfórico al 3 ó 4 por 1.000 (1), una mucosa gástrica de cerdo picada.

Se pueden preparar *extractos de mucosa gástrica* haciendo macerar en glicerina una mucosa triturada. Este extracto glicérico, acidulado al 4 por 1.000 con ácido clorhídrico, posee un poder proteolítico muy enérgico.

La preparación de las *soluciones de pepsina*, o sea de los líquidos muy pobres en elementos fijos, a pesar de ser muy activos, se funda en las dos observaciones siguientes:

1.° La pepsina es arrastrada en algunos precipitados producidos en los líquidos de maceración de mucosas gástricas.

2.° La pepsina no se dializa notablemente.

Se puede, por ejemplo, preparar un jugo gástrico artificial, haciendo macerar una mucosa gástrica en una solución de ácido fosfórico diluído, neutralizar esta solución con agua de cal, separar el precipitado de fosfato tricálcico producido y disolverlo en el ácido clorhídrico diluído: así se obtendrá un líquido que posee un poder peptonizante enérgico y no contiene más que una débil proporción de elementos fijos de la maceración gástrica y fosfato de ácido de cal. Dializando este líquido, se elimina este fosfato ácido de cal y se obtiene una solución muy activa sobre las substancias albuminosas y muy pobre en elementos fijos.

Los líquidos obtenidos por cualquiera de los procedimientos que hemos indicado poseen el mismo poder peptonizante que el jugo gástrico. El estudio de las transformaciones de las substancias albuminosas por el jugo gástrico puede, pues, ser hecho indiferentemente con el jugo gástrico natural, con los jugos gástricos artificiales, con los extractos de mucosas gástricas o con las soluciones de pepsina.

Los líquidos pépticos no obran sobre las substancias albuminosas, como ya hemos dicho, sino cuando son ácidos; esta acidez puede ser debida al ácido clorhídrico combinado con las materias orgánicas, como en el contenido gástrico natural, o al ácido clorhídrico libre, como en las soluciones artificiales

(1) Se puede emplear un ácido mineral cualquiera, clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, etc., porque la pepsina obra en un medio ácido cualquiera y no solamente en un medio clorhídrico. Parece estar ya fuera de duda por recientes investigaciones, que el ácido interviene en la acción péptica gracias a los productos de su disociación electrolítica (se admite que, en solución en el agua, los ácidos son parcialmente disociados en radical del ácido y en hidrógeno, dependiendo el número de los átomos de hidrógeno liberados de la naturaleza del ácido y de su cantidad) y en particular a los iones hidrógeno. La presencia de los iones hidrógeno es la condición necesaria de la actividad péptica; dos líquidos con la misma cantidad de pepsina tienen, en efecto, la misma actividad péptica cuando el número de los iones hidrógeno es el mismo (igual concentración en iones hidrógeno), sea el que fuere el ácido empleado.

de pepsina o en el jugo gástrico puro; o a otro ácido, fosfórico, sulfúrico, etc.

Los líquidos pépticos ácidos no obran a la temperatura de 0°; su poder proteolítico aumenta de intensidad con la temperatura hasta 35-40°, poco más o menos; hacia esta temperatura llega al máximo; en seguida disminuye, para desaparecer definitivamente a los 60°. La pepsina, diastasa, es, como todas las diastasas, destruída por el calor.

Haciendo obrar a una temperatura de 30-40°, el jugo gástrico o una solución ácida de pepsina sobre una substancia albuminosa, la fibrina, por ejemplo, hasta la disolución tan completa como sea posible, queda siempre un polvo fino no disuelto: es la *dispeptona* (de Meissner). Neutralizado por el carbonato de sosa, el líquido precipita copos albuminosos, es el *precipitado de neutralización* o la *parapeptona* (de Meissner). En el líquido libre por filtración de la parapeptona quedan aún en solución substancias albuminosas: son las *peptonas* (de Meissner).

La *dispeptona* es una substancia rica en fósforo, inatacable por los jugos digestivos; es una *nucleína;* es, o bien una impureza, como en el caso de la fibrina (residuo de glóbulos sanguíneos), o bien un producto del desdoblamiento de la proteína empleada, como en el caso de la caseína o de los núcleoproteidos.

La *parapeptona* es una substancia soluble en los líquidos ácidos, precipitada por neutralización; es un *acidalbuminoide.* Resulta de la acción del ácido del líquido péptico sobre la substancia albuminosa, y no de la acción de la pepsina, porque se produce igualmente por la acción del ácido solo. No es tampoco un producto de transformación péptica.

Las *peptonas* (de Meissner) son los verdaderos productos de la digestión péptica. Meissner consideraba tres *peptonas*, α, β, γ, que distinguía según su precipitabilidad por el ferrocianuro potásico acético y por el ácido nítrico. La peptona α era precipitable por los dos reactivos; la peptona β, por el ferrocianuro potásico y no por el ácido nítrico; la peptona γ, por ninguno de estos dos reactivos.

Schmidt-Mülheim consideraba las peptonas de Meissner como una mezcla de dos substancias solamente: una que llamaba *propeptona*, y otra que llamaba *peptona.*

La *propeptona de Schmidt-Mülheim* presenta las tres reacciones propeptónicas: precipitación en frío por el ácido nítri-

co, por el ferrocianuro potásico acético y por el cloruro sódico acético; redisolución en caliente del precipitado formado y reaparición de este precipitado por enfriamiento.

La *peptona de Schmidt-Mülheim* no presenta las tres reacciones propeptónicas.

La propeptona es abundante y la peptona no lo es cuando la acción de la pepsina ácida ha sido corta; siendo poco abundante la propeptona y muy abundante la peptona en los líquidos en los que la acción de la pepsina ácida ha sido prolongada, Schmidt-Mülheim sacaba la conclusión de que la pepsina transforma las substancias albuminosas en propeptona, y después la propeptona en peptona.

La propeptona y la peptona de Schmidt-Mülheim no son dos individuos químicos; *la propeptona es una mezcla, la peptona también*. La propeptona está esencialmente formada de las substancias que hemos estudiado bajo el nombre de *proteosas primarias* (protoproteosas y heteroproteosas), con algo de proteosa secundaria. La peptona es una mezcla de *proteosa secundaria* (deuteroproteosa) y *peptona verdadera*. Hemos descrito las propiedades de estos cuerpos en el Capítulo V (página 138).

Cuando la acción de la pepsina ha sido de corta duración, el líquido contiene proteosas primarias, muy poca proteosa secundaria y peptona verdadera. Cuando la acción es prolongada, las proteosas primarias son menos abundantes, y la proteosa secundaria y la peptona aumentan. Cuando la acción es muy prolongada, las proteosas primarias han disminuído considerablemente, la proteosa secundaria ha disminuído también y la peptona ha aumentado. Por lo tanto, la substancia albuminosa ha sido en seguida transformada en proteosas primarias (heteroproteosas y protoproteosas simultáneamente), éstas en proteosa secundaria y esta última en peptona.

En resumen, cuando se hace obrar la pepsina ácida sobre una substancia albuminosa cualquiera hasta la disolución tan completa como sea posible de esta substancia, se comprueban los siguientes hechos: queda un residuo no disuelto esencialmente constituído de nucleínas. El líquido llevado a la ebullición puede producir un ligero coágulo, correspondiente a la parte no transformada de la substancia albuminosa, sencillamente disuelta en el líquido. Libre de este coágulo, el líquido deja posar, por neutralización, copos de parapeptona o acidalbuminoide. Libre de este precipitado, el líquido contiene proteosas, que se pueden reconocer, separar y dosificar mediante los procedimientos precedentemente indicados.

Damos a continuación, en forma de cuadro, la correspondencia de las substancias descritas por diferentes autores:

Dispeptona		Nucleína
Parapeptona	Precipitado de neutralización	Acidalbuminoide o sintonina
Peptonas de Meissner	Propeptona de Schmidt-Mülheim	Proteosas primarias: Protoproteosa; Heteroproteosa
		Proteosa secundaria o deuteroproteosa
	Peptona de Schmidt-Mülheim	Proteosa secundaria o deuteroproteosa
		Peptona verdadera.

El jugo gástrico transforma, no solamente las substancias albuminosas, sino también la *gelatina* y la *elastina*. Sometida a la acción de la pepsina ácida, la gelatina se licua: es transformada en substancias nuevas no gelatinizables. Cuando se saturan por el sulfato amónico las soluciones de gelatina transformada por el jugo gástrico, se determina una precipitación de substancias llamadas *gelatosas;* el líquido, libre de este precipitado, contiene aún una substancia en solución que se llama *gelatinopeptona.*

La elastina, que constituye la substancia fundamental del tejido elástico, también es transformada por el jugo gástrico en substancias llamadas *elastosas* y *elastinopeptona.*

Pero el jugo gástrico no obra sobre la queratina, su acción sobre la condrina es muy débil.

Cuando se hace obrar el jugo gástrico sobre los *proteídos*, se produce, en general, un desdoblamiento, que separa la substancia albuminosa y el agrupamiento prostético (1). Así es como la hemoglobina es desdoblada en hematina, que queda inalterada en el jugo gástrico, y globina, que sufre las transformaciones sucesivas de la peptonización; así es como los núcleoproteídos o los paranúcleoproteídos son desdoblados en nucleínas o paranucleínas, que quedan inalteradas (2) en el jugo gástrico, y substancias albuminosas, que son peptonizadas. Sin embargo, el jugo gástrico no desdobla todos los proteídos; las nucleínas y las paranucleínas, formadas por la unión de una substancia albuminosa y ácidos nucleicos, o paranucleicos, no son desdobladas por él.

(1) Este desdoblamiento no se efectúa sino con lentitud extrema.

(2) Nunca se encuentran bases xánticas o púricas en los productos de digestión péptica de los núcleoprotéidos.

El jugo gástrico puede transformar las *caseínas* en *caseosas* y en *caseínopeptona;* pero esta transformación no se realiza sino con lentitud extrema.

Para comparar la actividad digestiva de varios jugos gástricos, han sido propuestos diversos procedimientos. Los más generalmente empleados son los siguientes:

1.° Se prepara fibrina bien lavada, que se tritura finamente; se colocan dentro de tubos de ensayo cantidades tan iguales como sea posible; se les añaden iguales cantidades de los jugos gástricos sometidos a análisis, y se pone todo en la estufa a 40°. Se comparan los tiempos necesarios para la total disolución de la fibrina en los diversos tubos.



Fig. 93

2.° Se preparan pequeños cubos de clara de huevo coagulada; se introducen en los tubos de ensayo cantidades pesadas (sin ser desecadas); se añaden iguales cantidades de jugos gástricos; se colocan en la estufa a 40°; se dejan allí algunas horas; después se ponen sobre un filtro y se pesan los residuos albuminosos no disueltos. Estos residuos son tanto más abundantes cuanto más activos son los jugos gástricos (figura 93).

3.° **Método de Mette.**—Se llenan de clara de huevo cruda tubos de vidrio de 1 a 2 milímetros de diámetro, y se calientan para coagular la albúmina. Se secciona con un corte de lima el tubo de vidrio que contiene la albúmina coagulada en segmentos de longitud exactamente determinada. Se introducen estos segmentos en los tubos de ensayo y se hacen obrar a 40° iguales cantidades de los jugos gástricos a comparar. Después de algunas horas de acción se retiran los cilindros y se mide con la lupa la longitud del cilindro albuminoso no digerido. La disminución de su longitud es tanto mayor cuanto más activo es el jugo gástrico empleado. Se puede substituir la albúmina por el suero sanguíneo, en el que se determina la coagulación por el calor, o por una solución de gelatina al 15 ó 20 por 100, que se deja gelificar por enfriamiento (con tubos de gelatina se hace la prueba a la temperatura ordinaria).

4.° **Método colorimétrico.** — Se prepara fibrina teñida por el carmín. Para ello se lava completamente fibrina obtenida por el batido de la sangre y se sumerge en una solución de carmín; después de haberla dejado en ella algún tiempo, se retira y se lava con agua hasta que las aguas del lavado no toman ya ninguna coloración: se puede conservar en glicerina. Si se hace obrar sobre una fibrina así preparada el jugo gástrico, la cantidad de fibrina disuelta y, por consiguiente, la cantidad de carmín puesto en libertad, será tanto mayor cuanto más activo sea el jugo gástrico. Para comparar la actividad de dos jugos gástricos basta, desde luego, comparar colorimétricamente los líquidos de la digestión al cabo de un tiempo determinado, igual para ambas pruebas.

5.° **Método de Arthus y Siegwart.** — Para comparar las proporciones en pepsina de los líquidos pépticos, se preparan una serie de tubos que contengan un mismo volumen (10 centímetros cúbicos, por ejemplo) de una solución de gelatina al 5 por 100 en agua acidulada al 4 por 1.000 de ácido clorhídrico. De estos tubos se toman dos series de 10 ó 12 cada una; y se añaden respectivamente 1, 2, 4, 6, 8, 10, etc. gotas de uno o de otro líquido péptico (el líquido gelatinado se ha calentado previamente a 30-40° para que esté licuado). Se asegura la mezcla íntima del licor gelatinado y de la solución péptica; luego se deja a la temperatura del laboratorio. Al cabo de un tiempo más o menos largo (12 a 24 horas en general) se comprueba que en las dos series hay tubos que contienen la gelatina licuada. Se investiga cuáles son entre estos tubos los que corresponden a las dos series y cuya fluidez es la misma, es decir, aquellos en que la transformación está en el mismo punto y que, por consiguiente, contienen la misma cantidad de pepsina. Y se comprueba esta igualdad de fluidez notando el tiempo que tarda en derramarse, de una pipeta de 5 centímetros cúbicos por ejemplo, uno u otro líquido.

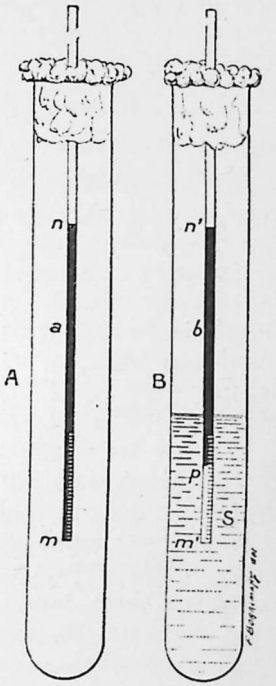


Fig. 94. — Tubos de Mette. En A, tubo de Mette dispuesto para servir: *a*, tubo de Mette que contiene su cilindro de albúmina *mn;* este tubo ha pasado por frotamiento duro por el tapón de uata del tubo de ensayo A; puede ser graduado en milímetros, longitudinalmente. — B, tubo de Mette sometido a la acción del jugo gástrico S; la albúmina ha sido digerida en *mp*.

La mucosa gástrica no contiene pepsina, sino un profermento, un *pepsinógeno*. Este pepsinógeno es insoluble en la

glicerina, mientras que la pepsina se disuelve en ella; resiste a la acción del carbonato de sosa al 1 por 100, que destruye la pepsina. Es transformado en pepsina por los ácidos diluídos y en particular por el ácido clorhídrico al 4 por 1.000.

III. — FERMENTO LAB O CUAJO

El jugo gástrico tiene la propiedad de coagular la leche. ¿Qué es esta coagulación? ¿A qué substancia del jugo gástrico hay que atribuir esta propiedad?

Es sabido que cuando se añade a la leche una cantidad conveniente de ácido, por ejemplo, de 2 a 5 por 1.000 de ácido clorhídrico o acético, se precipita la caseína en copos. El jugo gástrico es ácido; su acidez, en algunos animales por lo menos, llega al 4 ó 5 por 1.000 *¿No es a esta acidez a la que el jugo gástrico debe la propiedad de coagular la leche?*

No, por las siguientes razones:

1. Cuando se acidifica la leche por la adición de una suficiente cantidad de ácido, la precipitación de la caseína casi es intantánea; los copos se forman en algunos segundos. Cuando se mezcla el jugo gástrico con la leche, la coagulación no se verifica hasta después de algunos minutos, y muchas veces tarda más aún. No hay duda que si el jugo gástrico es muy ácido, y se añade a poca leche mucho jugo gástrico, puede ser que la acidez de la mezcla sea suficiente para provocar la precipitación de la caseína; pero éste es un hecho especial; en general, la coagulación de la leche por el jugo gástrico exige algún tiempo para verificarse.

2. Cuando la leche es coagulada por un ácido, la caseína se precipita en copos, que se posan, rápidamente y sin soldarse, en una masa única. Cuando la leche se coagula por el jugo gástrico, se transforma en una gelatina coherente, en un coágulo que afecta la forma del vaso, retrayéndose poco a poco y expulsando un líquido claro.

3. Por último, y esta es la mejor demostración, cuando se neutraliza exactamente el jugo gástrico, conserva la propiedad de coagular la leche; cuando se hace hervir el jugo gástrico impuro, conservando su acidez, pierde la propiedad de coagular la leche.

Estos datos nos demuestran que no es a sus combinaciones

ácidas a las que debe el jugo gástrico su propiedad de coagular la leche; debe esta propiedad a algo que es destruído por la ebullición. Este algo es una diastasa: es el *fermento lab*, *quimosina* o *cuajo* (1). Es la misma diastasa que hemos encontrado precedentemente en los cuajos y de la que hemos estudiado su manera de obrar sobre la caseína de la leche (página 337).

La coagulación de la leche por el jugo gástrico no es una precipitación ni una coagulación, es una *caseificación*.

Hemos dicho precedentemente lo que es la caseificación: es una transformación de la caseína de la leche, un desdoblamiento de esta caseína en dos substancias: una, la substancia caseógena, da, en presencia de las sales solubles de cal, un precipitado de cáseum insoluble en la leche; la otra, la substancia albuminosa del lactosuero, soluble en el lactosuero. Estas dos substancias las volvemos a encontrar en la leche transformada por el jugo gástrico. Y esto es natural que así ocurra, porque los cuajos son productos preparados con mucosas gástricas de animales jóvenes.

La presencia del fermento lab en el jugo gástrico de los mamíferos jóvenes todo el mundo la admite; la presencia de esta diastasa en el jugo gástrico de los adultos es negada frecuentemente. Esta negación es un error craso. *Los jugos gástricos de los mamíferos adultos contienen el fermento lab, siempre y sin excepción;* pero contienen generalmente mucho menos que el jugo gástrico de los mamíferos jóvenes; frecuentemente contienen tan poco, que los procedimientos empleados generalmente para ponerlo de manifiesto son incapaces de demostrar su presencia. Ordinariamente, para reconocer en un líquido la presencia del fermento lab, se neutraliza aquél y se le hace obrar a 40° sobre un volumen igual de leche. Operando así con el jugo gástrico, muchas veces a 40°, no se produce la coagulación, o no se forma el coágulo más que hasta después de una hora, hora y media, dos horas y más. Para demostrar la presencia del fermento lab en estos jugos gástricos pobres, hay que recurrir a un artificio: es preciso *sensibilizar la leche* con que se opera. Se obtiene este resultado, o bien añadiendo a la misma algunas diezmilésimas de ácido (cantidad incapaz

(1) Algunos autores dan el nombre de *cuajo* a esta diastasa. Otros reservan el nombre de *cuajo* para los extractos de mucosas gástricas capaces de caseificar la leche, y dan al principio activo de estos cuajos el nombre de *fermento lab*. Sería conveniente en todo caso, para evitar confusiones, decir «la diastasa del cuajo» y no sencillamente el «cuajo».

de precipitar la caseína de la leche), o bien añadiéndole pequeñas cantidades de cloruro de calcio. El fermento lab obra mucho más enérgicamente en los líquidos algo ácidos o algo cálcicos. Si se procede así, se comprueba que el jugo gástrico de los animales adultos contiene siempre el fermento lab.

Como hemos dicho al estudiar la pepsina, se puede substituir, para el estudio de las diastasas del estómago, el jugo gástrico natural, o bien por las maceraciones de mucosa gástrica, o bien por soluciones de diastasas purificadas.

Se obtienen jugos gástricos artificiales que contienen el fermento lab, haciendo macerar durante veinticuatro horas cuajares de ternera o de cabrito, triturados, en agua; y mejor todavía en una solución de ácido clorhídrico al 1 por 1.000. Se puede emplear también una mucosa gástrica de mamífero adulto, pero en este caso es necesario hacerla macerar en un líquido ácido, porque la mucosa gástrica de los adultos no contiene fermento lab, pero posee la propiedad de producir este fermento por la influencia de los ácidos (1). Estos líquidos de maceración ácida son en seguida neutralizados por la sosa o por el carbonato de sosa.

Se obtienen extractos de mucosa gástrica ricos en fermento lab, haciendo macerar en glicerina cuajar de ternera o de cabrito, triturado y libre de sus capas musculares.

Por último, hay procedimientos para obtener *soluciones de fermento lab*, llamadas soluciones puras, o sea soluciones que poseen un poder caseificante muy enérgico a pesar de ser pobres en extremo en elementos fijos. Se puede particularmente hacer macerar cuajar de ternera en una solución de ácido salicílico al 1 por 1.000, tratar esta maceración por alcohol, separar el precipitado así formado y redisolverlo en el agua, etcétera.

En cuanto a los productos industriales llamados *cuajos*, son obtenidos igualmente por medio de cuajares de ternera o de cabrito. Son extractos de mucosa gástrica de animales jóvenes, extractos generalmente muy impuros, pero dotados de un poder caseificante muy enérgico.

Hemos admitido que la diastasa caseificante del jugo gástrico es una diastasa distinta de la pepsina. Ahora bien, vemos que los procedimientos de preparación de los líquidos caseificantes no se diferencian esencialmente de los procedimientos de preparación de los líquidos proteolíticos: maceración en el ácido clorhídrico diluído, extracto glicérico, etc.; ¿no se podría pensar que la pepsina y el fermento lab son una diastasa capaz en medio ácido de peptonizar las substancias albuminosas y capaz en medio ácido, neutro o muy ligeramente alcalino, de caseificar la leche?

(1) Es lo que se expresa diciendo que la mucosa gástrica de los mamíferos adultos contiene un profermento, un *prolabfermento* o *proquimosina*.

No, porque es posible obtener líquidos con poder proteolítico y sin poder caseificante; e inversamente, líquidos con poder caseificante y sin poder proteolítico.

El líquido de maceración de cuajar de ternera, acidulado al 3 por 1.000 con ácido clorhídrico, pierde toda su acción caseificante (después de neutralizado), cuando se ha tenido cuarenta y ocho horas a 40°, pero conserva un poder proteolítico enérgico. Inversamente, una maceración de cuajar de ternera agitada con carbonato de magnesia precipitado recientemente, pierde toda acción proteolítica y conserva un poder caseificante enérgico.

La *pepsina* y el *fermento lab* son, pues, dos diastasas *esencialmente distintas*.

Tal vez sería mejor no presentar esta conclusión sin algunas reservas, si, como recientemente se ha sostenido, los experimentos en que se funda no están fuera de toda duda y si, como se ha dicho en multitud de memorias, la actividad péptica y la actividad del fermento lab de un jugo, de un contenido o de una mucosa gástricos, varían paralelamente el uno con el otro, cuando se han sabido realizar las condiciones de una rigurosa comparación.

Desde el punto de vista fisiológico, sin embargo, es conveniente conservar la distinción de las dos funciones del jugo gástrico, la función pepsina y la función del fermento lab, porque estas dos acciones, que son muy diferentemente influídas por las condiciones del medio, no se manifestarán de una manera equivalente o paralela en el organismo viviente; porque, se puede argüir también, hay jugos gástricos fuertemente peptonizantes y débilmente caseificantes, y jugos gástricos débilmente peptonizantes y fuertemente caseificantes.

Diciendo que el fermento lab posee la propiedad de caseificar la leche en un medio neutro, ácido o ligeramente alcalino; que no obra a temperaturas inferiores a 20°; que posee un máximo de acción hacia los 40°, siendo destruído a los 60-70°; que su acción está favorecida por las sales alcalinotérreas solubles y principalmente por los ácidos diluídos añadidos en pequeñas cantidades, y retardada o anulada, según la dosis, por los álcalis, conocemos ya las principales propiedades de esta diastasa.

En el capítulo sobre la leche hemos estudiado los productos resultantes de la acción del fermento lab sobre la caseína; hemos dicho que esta diastasa no es verdaderamente una dias-

tasa coagulante, sino más bien una diastasa desdoblante; si se forma un precipitado, un cáseum, *es accidental*, sabiendo que uno de los productos de desdoblamiento de la caseína por el fermento lab es precipitado en los líquidos que contienen una débil proporción de sales de cal; pero esta precipitación es independiente en absoluto de la diastasa.

La pepsina se comporta también, por lo menos en su origen, como una diastasa desdoblante: en los líquidos de digestión péptica se ven aparecer simultáneamente la heteroproteosa y la protoproteosa. La manera de obrar de estas dos diastasas gástricas presenta cierta analogía. Por lo tanto, hay que considerar el *fermento lab* como una *verdadera diastasa digestiva*.

IV. — CONTENIDO GASTRICO

Los alimentos introducidos en el estómago, la saliva deglutida durante o después de las comidas, el jugo gástrico secretado, se mezclan para formar una masa semilíquida, bajo la influencia de los movimientos de la pared gástrica. Durante el primer tiempo de estancia de los alimentos en el estómago la saliva continúa obrando, pues la reacción es poco ácida: la sacarificación continúa. Poco a poco, la acidez gástrica aumenta, el papel de la saliva ha terminado y el papel de la pepsina empieza; las substancias albuminosas son peptonizadas y disueltas.

La masa alimenticia transformada parcialmente por el jugo gástrico se llama *quimo*.

En el quimo se puede reconocer la presencia de azúcar reductor, de dextrinas y de almidón no transformado; se encuentran substancias albuminosas no transformadas, mezcladas con las proteosas resultantes de su transformación péptica; se encuentran masas de materias grasas, puestas en libertad como consecuencia de la disolución del tejido conjuntivo que las englobaba. Los fragmentos de carne cruda no digerida están hinchados; los tendones y los cartílagos aparecen algo hinchados también; los huesos están reblandecidos.

A veces, principalmente cuando la acidez del jugo gástrico no es muy considerable, se desarrollan fermentaciones microbianas dentro de la cavidad gástrica: se ven aparecer el ácido láctico, el ácido butírico, el ácido acético y gases, que son esencialmente nitrógeno y gas carbónico.

CAPITULO XXI

JUGO PANCREATICO

SUMARIO.—Jugo pancreático natural y jugos pancreáticos artificiales. Las tres propiedades diastásicas, las tres diastasas del jugo pancreático.

I. AMILOPSINA o diastasa amilolítica.—Transformación del almidón por el jugo pancreático; dextrina y maltosa.

II. ESTEAPSINA o diastasa saponificante.—Propiedad saponificante y propiedad emulsiva del jugo pancreático.

III. TRIPSINA o diastasa proteolítica.—Maceraciones pancreáticas. Soluciones de tripsina. Transformaciones tríptica de las substancias albuminosas. Proteosas y peptona. Paralelo de la digestión péptica y la digestión tríptica. Aminoácidos y bases hexónicas. Anfopeptona, hemipeptona, antipeptona. Dosificación de la tripsina. Tripsinógeno. Erepsina pancreática.

El jugo pancreático puede ser obtenido por fístula del conducto pancreático o conducto de Wirsung; cuando la operación se hace extemporáneamente en el perro no se obtienen frecuentemente más que algunas gotas y a lo sumo algunos centímetros cúbicos de jugo; pero se pueden formar fístulas permanentes que producen jugo pancreático puro en abundancia. Los fisiólogos han comprobado que la secreción del jugo pancreático en el perro es intermitente: normalmente se produce cuando el contenido ácido del estómago se derrama hacia el duodeno por el píloro entreabierto. Los ácidos del contenido gástrico que obran sobre la mucosa duodenal forman una substancia, la secretina (véase cap. XXII, pág. 405), que, resorbida y arrastrada por la sangre hasta las células pancreáticas, provoca su actividad. El conocimiento de estos hechos permite obtener a voluntad grandes cantidades de jugo pancreático en los perros portadores de una fístula pancreática temporal o permanente; basta inyectar en el duodeno 20 ó 30 centímetros cúbicos de ácido clorhídrico al 1 por 1.000, o en las venas 20 a 30 centímetros cúbicos de una solución de secretina obtenida por maceración de la mucosa duodenal en ácido clorhídrico al 4 por 1.000 y neutralización por la sosa. En los grandes herbívoros, en los cuales la secreción pancreática es interrumpida, se pueden obtener litros de secreción pancreática por la fístula del conducto pancreático.

El jugo pancreático es un líquido claro, muy ligeramente cetrino, viscoso y fluente, que da espuma por la agitación. Su reacción es alcalina (la alcalinidad del jugo pancreático puro es de 4 a 5 por 1.000 expresada en carbonato de sosa). Es eminentemente putrescible.

Cuando se quieren estudiar las propiedades diastásicas del jugo pancreático, se puede recurrir indistintamente a los jugos pancreáticos naturales o a las maceraciones de jugo pancreático. Es un hecho general que las maceraciones de las glándulas posean las propiedades diastásicas de los jugos secretados por las mismas; hemos visto que se obtienen maceraciones de mucosa gástrica dotadas de las propiedades proteolítica y caseificante del jugo gástrico; del mismo modo, se obtienen maceraciones de páncreas dotadas de las propiedades diastásicas del jugo pancreático.

Estos *jugos pancreáticos artificiales* pueden prepararse por la maceración del tejido pancreático triturado en agua fría. Siendo el tejido pancreático eminentemente putrescible, como el jugo mismo, estas maceraciones deben ser hechas, para evitar la pululación de los microorganismos, bien a baja temperatura, cercana a los 0°, bien en un medio saturado de cloroformo o bien en presencia de un agente antiséptico, como el fluoruro de sodio al 1 por 100, que no destruye las diastasas.

Se obtendrán, pues, los jugos pancreáticos artificiales haciendo macerar el tejido pancreático triturado en agua muy fría o en agua cloroformada, o en una solución de fluoruro sódico al 1 por 100 (este último es indiscutiblemente el mejor procedimiento, porque permite obtener jugos pancreáticos fluorurados, absolutamente imputrescibles).

El jugo pancreático natural contiene una porción de materias minerales igual al 10 ó al 15 por 1.000. Las cenizas del jugo pancreático contienen esencialmente sales y tierras alcalinas, cloruros, fosfatos y carbonatos.

El jugo pancreático natural contiene substancias albuminosas; sometido a la ebullición, se coagula en grandes copos como la clara de huevo; tratado por el alcohol, forma un abundante precipitado en copos; tratado por los ácidos minerales, forma un precipitado soluble en un exceso de ácido. Presenta con mucha claridad las reacciones del biuret, xantoproteica, de Millon, o sea las reacciones de coloración de las substancias albuminosas.

La composición química del jugo pancreático, cualitativa o cuantitativa, no permite caracterizarlo claramente. Pero posee *tres propiedades diastásicas características.*

El jugo pancreático natural posee la propiedad de *sacarificar el almidón y el glicógeno*, de *saponificar las grasas neutras* y de *peptonizar* o, más exactamente, *hidrolizar las materias albuminosas.*

Las maceraciones acuosas de páncreas fresco poseen las mismas propiedades que el jugo pancreático natural.

Tratando por la glicerina el jugo pancreático fresco, se obtiene un extracto glicérico activo. Este extracto glicérico tratado por el alcohol forma un precipitado; este precipitado separado por filtración, desecado a baja temperatura y disuelto en agua, comunica a dicha agua la triple propiedad pancreática.

El jugo pancreático natural, las maceraciones acuosas, los extractos glicéricos y las soluciones derivadas, pierden sus propiedades por la ebullición. Por consiguiente, la *triple propiedad pancreática* es una *triple propiedad diastásica*, puesto que los agentes activos son solubles en el agua, solubles en la glicerina, insolubles en el alcohol y pierden toda su actividad a la temperatura de ebullición.

El jugo pancreático contiene, pues, tres diastasas: una diastasa amilolítica o *amilopsina*, una diastasa saponificante o *esteapsina* y una diastasa proteolítica o *tripsina.* Contiene *tres diastasas distintas, y no una sola diastasa*, capaz de obrar a la vez sobre los hidrocarbonos, sobre las grasas y sobre las substancias albuminosas, porque es posible obtener, partiendo del páncreas o del jugo pancreático, líquidos que posean una acción sobre uno solo de estos grupos de substancias.

Así, cuando se hace una maceración acuosa de páncreas, el agua adquiere muy rápidamente el poder amilolítico y muy lentamente el poder proteolítico; por consiguiente, una maceración de páncreas de algunas horas a baja temperatura posee el poder amilolítico, pero no posee el poder proteolítico. Si, por el contrario, se hace macerar el páncreas durante mucho tiempo, renovando muchas veces el agua de maceración, se obtiene finalmente un líquido dotado de un poder proteolítico muy claro, pero absolutamente desprovisto de poder amilolítico.

Por último, el jugo pancreático recogido mediante una cánula colocada en el conducto de Wirsung, y por consiguiente sin tocar los líquidos intestinales, posee los poderes amilolí-

tico y saponificante, pero no tiene ninguna actividad proteolítica, por lo menos sobre la ovalbúmina coagulada.

I. — AMILOPSINA, DIASTASA AMILOLITICA O AMILASA PANCREATICA

Cuando se añade a algunos centímetros cúbicos de una solución de engrudo de almidón, a una temperatura de 40°, una gota de jugo gástrico natural obtenido por la fístula del conducto de Wirsung, se obtiene una transformación casi instantánea del engrudo de almidón; en algunos segundos, el líquido, que era opalescente, se vuelve claro; ya no se colora en azul por el yodo; reduce el licor de Fehling; no contiene ya almidón; contiene dextrinas y un azúcar reductor y fermentable.

Las maceraciones pancreáticas poseen la misma propiedad amilolítica que el jugo pancreático natural; la transformación del engrudo de almidón es, no obstante, menos rápida.

Las transformaciones que sufre el engrudo de almidón bajo la influencia del fermento amilolítico del páncreas son exactamente iguales a las que sufre bajo la influencia del fermento amilolítico de la cebada germinada. El almidón es transformado en dextrinas y maltosa. Remitimos al estudio que hemos hecho del fermento amilolítico de la saliva (Cap. XIX, pág. 353) para la descripción de los productos de transformación del almidón por esta diastasa y para la determinación del orden de aparición y de sucesión de estos productos.

El glicógeno es transformado por la diastasa amilolítica del páncreas como el almidón; los productos de transformación son los mismos: dextrinas y maltosa.

ESTEAPSINA, DIASTASA SAPONIFICANTE O LIPASA PANCREATICA

El jugo pancreático ejerce sobre las materias grasas neutras una doble acción: 1.°, una acción *química:* las *saponifica;* 2.°, una acción *física:* las *emulsiona.*

Estudiando las grasas neutras, hemos indicado la constitución de estas substancias; hemos dicho que, por la influencia de ciertos agentes, pueden desdoblarse en ácidos grasos y glicerina; hemos dicho que cuando este desdoblamiento se hace por la influencia de un álcali, el ácido graso puesto en libertad se combina con el álcali para formar una sal de ácido graso, un jabón. Hemos llamado a esta descomposición de las grasas neutras por los álcalis cáusticos con producción de jabones, una saponificación, y hemos aplicado esta palabra *saponificación*, por extensión, al desdoblamiento de las grasas neutras en ácidos grasos y glicerina.

El jugo pancreático natural, ciertas maceraciones de páncreas (particularmente las obtenidas haciendo macerar el páncreas en una solución de carbonato y de bicarbonato de potasa) y los extractos glicéricos de páncreas, poseen la propiedad de saponificar las materias grasas neutras. Estas materias son desdobladas en glicerina y en ácidos grasos, y estos últimos, en presencia de los carbonatos alcalinos contenidos en el jugo pancreático (y también de los carbonatos alcalinos contenidos en el jugo intestinal), forman jabones alcalinos.

La demostración de esta propiedad saponificante del páncreas se puede hacer del modo siguiente:

Se hacen macerar a temperatura poco elevada, durante 24 horas y agitando de vez en cuando, 10 gramos de páncreas picado en 30 c. c. de una solución acuosa de bicarbonato de sosa al 1 por 1.000 saturada de cloroformo. Se añaden entonces 20 c. c. de agua, se agita y se filtra con papel.

Se mezclan 10 c. c. de este líquido pancreático con 2 c. c. de aceite y se agita vigorosamente. Se comprueba que disminuye progresivamente la alcalinidad de la mezcla, luego desaparece, para ceder lugar a una ligera acidez, a medida que se liberan los ácidos grasos del aceite.

Pero debemos hacer notar que la saponificación de las materias grasas por el jugo pancreático es, tanto en el organismo como fuera de él, una saponificación parcial: solamente una pequeña cantidad de materia grasa es descompuesta. La formación de jabones es igualmente poco considerable. De manera que si se hace obrar el jugo pancreático sobre una materia grasa neutra, se obtiene una masa que contiene aún muchas grasas neutras no transformadas y una pequeña cantidad de jabones alcalinos, de ácidos grasos libres y glicerina.

Hemos estudiado precedentemente las grasas fosforadas, las *lecitinas*, en la constitución de las cuales entran la glicerina, los ácidos grasos, el ácido fosfórico y una base nitrogenada, la

colina. Por la influencia del jugo pancreático, estas lecitinas son saponificadas: son descompuestas en ácido fosfoglicérico, colina y ácidos grasos libres.

Por último, el jugo pancreático posee la propiedad de *desdoblar*, por su diastasa esteapsina, *cierto número de éteres*, desdobla la tribenzoicina o éter tribenzoico de la glicerina; desdobla el succinato de fenilo en fenol y ácido succínico; desdobla el salol en ácido salicílico y fenol. Estos desdoblamientos de éteres no tienen un gran interés fisiológico; los señalamos, sin embargo, para demostrar que el poder saponificante del jugo pancreático no es más que un caso particular de una propiedad más general: propiedad de desdoblar los éteres en sus constituyentes, ácido y alcohol (1).

Estudiando las materias grasas, hemos dicho lo que es una *emulsión;* hemos indicado alguna de las condiciones que favorecen la *estabilidad* de las *emulsiones;* hemos dicho en particular que una emulsión obtenida por agitación de un aceite con un líquido alcalino es una emulsión estable, o por lo menos más estable que la obtenida por la agitación del mismo aceite con agua. Hemos dicho que un aceite que tenga en solución ácidos libres forma emulsiones muy estables, y hemos dicho, por último, que los jabones favorecen la emulsión de las grasas

Ahora bien, el jugo pancreático es viscoso; es alcalino; transforma en ácidos grasos libres, en jabones y en glicerina una parte de las materias grasas con la que está en contacto. Posee, pues, propiedades que le hacen eminentemente propio para mantener estables las emulsiones de las materias grasas.

El jugo pancreático, por su *viscosidad natural*, por su *reacción* y por su *acción química sobre las grasas neutras*, es un jugo *emulsivo*.

III. — TRIPSINA O DIASTASA PROTEOLITICA

El jugo pancreático natural, obtenido por la fístula del conducto de Wirsung no posee en general actividad proteolítica,

(1) Actualmente se tiende a admitir que el jugo pancreático desdobla todos los éteres, tanto si se trata de los éteres de la glicerina, del glicol, del alcohol o los alcoholes aromáticos, como de los éteres grasos saturados o no saturados, normales o isonormales, hidroxilados o cetónicos, igual que los éteres solubles o insolubles en el agua, líquidos o sólidos; el jugo pancreático los desdobla todos.

Se había propuesto distinguir en el jugo pancreático tres esteapsinas distintas: una eterasa que obraba sobre los éteres ordinarios, una lipasa que obraba sobre las grasas derivadas de la glicerina, una fenolasa que obraba sobre los éteres fenólicos; pero nada prueba actualmente que esta concepción sea exacta.

por lo menos sobre la albúmina coagulada, sobre el tejido muscular y sobre las albúminas del suero; pero la adquiere, y muy enérgica, cuando se le mezcla con el jugo intestinal o con una maceración acuosa intestinal. Se dice que el jugo pancreático puro, tal como existe en los conductos pancreáticos, no contiene *tripsina*, sino solamente una *protripsina* o *tripsinógeno*, transformable en tripsina por la enterocinasa del jugo intestinal o de la mucosa intestinal.

Por otra parte, hemos indicado precedentemente alguno de los procedimientos empleados para preparar los líquidos trípticos.

He aquí uno que proporciona líquidos activos en extremo:

El tejido pancreático picado, agotado por el alcohol durante varias semanas, después por el éter, desecado en el vacío a baja temperatura y pulverizado, es puesto en maceración durante algunas horas a 40° en una solución al 1 por 1.000 de ácido salicílico timolado (para evitar el desarrollo de microorganismos). El tejido, separado del extracto salicílico, es puesto en maceración algunas horas a 40° en una solución al 5 por 1.000 de carbonato de sosa timolada. Las dos soluciones, salicílica y carbonatada, se juntan y su mezcla constituye un jugo pancreático artificial dotado de un poder proteolítico extremadamente enérgico (1).

El jugo pancreático natural, como hemos dicho, contiene substancias albuminosas; los extractos pancreáticos contienen los productos de digestión pancreática del mismo tejido pancreático. Si se quieren estudiar las transformaciones de una substancia albuminosa por la tripsina, es preciso preparar esta diastasa tan pura como sea posible, o sea que es preciso preparar líquidos libres de substancias albuminosas o de los productos de transformación pancreática de estas substancias albuminosas. Se ha podido realizar esta transformación por distintos procedimientos inútiles de describir aquí.

La acción proteolítica del jugo pancreático natural o artificial o de las soluciones de tripsina se verifica bien, en particular, cerca de los 40°. Se realiza en un medio neutro, muy ligeramente ácido o alcalino; la reacción alcalina (en particular 0,5 por 100 de carbonato sódico) es principalmente favorable. La reacción ácida es, por el contrario, poco favorable; la acción de la tripsina no se ejerce ya en presencia del 2 por 1.000 de ácido clorhídrico.

(1) Se puede substituir ventajosamente el timol por el fluoruro sódico. Se fluoruran los líquidos al 1 por 100.

Sometidas a la acción del jugo pancreático o de los líquidos tríptico, las substancias albuminosas son transformadas en *proteosas*. Supongamos que se hace obrar sobre la fibrina a una temperatura de 40° una solución de tripsina: la fibrina se disuelve. El líquido contiene proteosas. Como en el caso de la digestión péptica, el líquido contiene en un principio principalmente proteosas primarias (protoproteosa y heteroproteosa) y muy poca deuteroproteosa y peptona. Como en el caso de la digestión péptica, por la acción prolongada de la diastasa, las proteosas primarias se transforman en proteosa secundaria y ésta en peptona.

Pero la acción de la tripsina sobre las substancias albuminosas es más enérgica que la acción de la pepsina; el último término de las transformaciones producidas por la pepsina es la peptona; la peptona no es el último término de las transformaciones producidas por la tripsina. Si se hace obrar la tripsina durante suficiente tiempo (algunos días, por ejemplo), se ven aparecer en el líquido masas blanquecinas que, examinadas al microscopio, se presentan constituídas por muy numerosas y muy finas agujas cristalinas agrupadas en fascículos; estas agujas cristalinas son la *tirosina*. Cuando se evapora el líquido de la digestión tríptica, en el que empiezan a posarse los cristales de tirosina, se ven formar nuevos depósitos de tirosina y otros formados por masas nodulosas de *leucina*.

Finalmente, en el líquido se puede manifestar, por reacciones de coloración o manipulaciones químicas convenientes, la presencia de aminoácidos diversos, *triptófano*, *cistina*, etc.

La leucina, la tirosina, el triptófano, la cistina, etc., *no son ya substancias albuminosas;* no presentan las reacciones de coloración de las substancias albuminosas, o, más exactamente, no presentan todas las reacciones de coloración de las substancias albuminosas; no presentan las reacciones de precipitación de estas substancias; no son substancias coloides como las substancias albuminosas. Son *aminoácidos*, cuya composición y constitución químicas han sido establecidas, cuya síntesis química ha sido realizada. La leucina es un ácido aminocaproico:

$$C^5H^{10}NH^2COOH;$$

la tirosina es un ácido oxifenilaminopropiónico:

$$HO\text{-}C^6H^4\text{-}C^2H^3NH^2\text{-}COOH;$$

el triptófano es un ácido indolaminopropiónico, etc.

Al lado de la leucina y de la tirosina se han encontrado, en los productos de la digestión tríptica, otros aminoácidos, como el ácido aspártico (ácido aminosuccínico)

$$(CO^2H)CH(NH^2)\text{-}CH^2\text{-}CO^2H,$$

el ácido glutámico (ácido aminoglutárico)

$$CO^2H\text{-}CH(NH^2)\text{-}CH^2\text{-}CH^2CO^2H,$$

etcétera (v. Cap. V, pág. 108) (1).

Estas substancias aminoácidas, de las cuales hemos señalado la producción en la descomposición de las substancias albuminosas por los agentes de hidratación, constituyen el grupo de los *productos abiuréticos* de la digestión pancreática, que no dan la reacción del biuret, mientras que las proteosas y peptonas, que dan la reacción del biuret, forman el grupo de los *productos biuréticos*.

Las peptonas no se transforman, por otra parte, inmediatamente en ácidos aminados. En los líquidos de digestión tríptica se puede manifestar la presencia de productos que presentan con los polipéptidos las más numerosas y sorprendentes analogías. Se puede, pues, admitir que en la proteólisis tríptica hay una fase polipéptida, precedente a la fase de ácido aminado.

Supongamos que se ha agotado la acción de la tripsina sobre una substancia albuminosa, o sea que se ha hecho obrar la diastasa hasta que no se produce ya ninguna transformación en el líquido. Examinemos entonces la constitución de este líquido. Encontraremos peptona, polipéptidos y aminoácidos. Separemos esta peptona del líquido, disolvámosla de nuevo en agua y volvámosla a tratar por la tripsina, y no encontraremos modificación alguna. De todo lo cual puede deducirse la siguiente conclusión:

Por la influencia de la tripsina, las substancias albuminosas son transformadas en proteosas primarias, éstas en proteosa secundaria, la proteosa secundaria en peptona y por último la peptona es transformada, pero sólo parcialmente, en aminoácidos (leucina, tirosina, etc.). La peptona pancreática, formada a expensas de la deuteroproteosa, no es, pues, una substancia única, ya que solamente una parte es transformada

(1) Haciendo obrar una solución de tripsina sobre las protaminas, se obtienen primeramente peptonas análogas a las proteosas, después bases hexónicas, arginina, lisina, histidina.

en amidoácidos: es una *anfopeptona*. Esta anfopeptona se comporta frente al jugo pancreático como si estuviese formada por una mezcla de dos peptonas, una transformable por el jugo pancreático en aminoácidos y otra inatacable (1) por este jugo. La peptona inatacada por el jugo pancreático, la que se puede separar de los líquidos de digestión tríptica prolongada, ha recibido el nombre de *antipeptona*, y la peptona que es transformable por el jugo pancreático se conoce con el nombre de *hemipeptona*.

¿La anfopeptona es una substancia químicamente definida? ¿O bien es una mezcla de hemipeptona y antipeptona? Nada sabemos de ello. El jugo pancreático que obra sobre la anfopeptona, ¿la desdobla en hemipeptona y antipeptona, o bien en antipeptona, polipéptidos y amidoácidos? Nada sabemos de ello.

La peptona obtenida por la acción de la pepsina sobre las substancias albuminosas es una anfopeptona, porque si se hace obrar la tripsina sobre esta substancia, se obtienen polipéptidos, amidoácidos y antipeptona.

Diremos, pues, que el *último término de las transformaciones pépticas* de las substancias albuminosas es la *anfopeptona* y que los *últimos términos de las transformaciones tripticas* de estas mismas substancias son la *antipeptona* y los *aminoácidos*. La pepsina no llega a transformar las substancias albuminosas en ninguna substancia que no pertenezca al grupo albuminoso; la tripsina transforma parcialmente las substancias albuminosas en substancias que no son albuminosas. La pepsina no produce más que substancias biuréticas; la tripsina produce substancias biuréticas y substancias abiuréticas.

De la digestión péptica que no produce tirosina y de la digestión tríptica que la produce, se pueden distinguir sus productos por el empleo de una diastasa, la *tirosinasa*, que existe en los extractos de diversos hongos, en particular de los *Russula* y de los *Lactaria*. Por la influencia de esta diastasa, la tirosina se ennegrece. Por lo tanto, si tratando los productos de una digestión por la tirosinasa (maceración acuosa o glicérica de rúsulas, por ejemplo), se produce un ennegrecimiento

(1) Muchos autores tienden a admitir que la antipeptona no es absolutamente inatacable por el jugo pancreático; sería sencillamente muy difícil y muy penosamente atacable por el jugo pancreático. Esto importa poco; lo que es preciso recordar es que las peptonas que se derivan de la proteólisis péptica o tríptica constituyen dos grupos claramente distintos por su diferente resistencia a la tripsina.

del líquido, se puede admitir que estos productos contienen tirosina, procedente de una digestión tríptica (1).

La tripsina puede obrar sobre la gelatina transformándola en *gelatosa*, en *gelatinopeptona* y *aminoácidos* (*leucina*, *glicocola*, etc.). Esta producción de glicocola (ácido aminoacético CH^2NH^2COOH) a expensas de la gelatina (2) es notable porque encontramos en los jugos orgánicos la glicocola en dos formas: el ácido glicocólico en la bilis (resultante de la combinación del ácido colálico y la glicocola) y el ácido hipúrico en la orina (resultante de la combinación del ácido benzoico y la glicocola).

Por la influencia de la tripsina, los núcleoproteidos son desdoblados en substancias albuminosas y nucleínas; las nucleínas son desdobladas en substancias albuminosas y ácidos nucleicos. Es verosímil que los ácidos nucleicos también son modificados por la tripsina, pero no son descompuestos por ella en sus componentes elementales, bases xánticas, bases pirimídicas, etc.

Notemos, por último, el interesante hecho de que la tripsina pancreática obra sobre los polipéptidos naturales y sobre algunos polipéptidos sintéticos para desdoblarlos en amidoácidos.

Un líquido proteolítico ¿debe esta propiedad a la presencia de la pepsina o de la tripsina? Es ésta una cuestión fácil de resolver. Si el líquido disuelve en un medio ácido las substancias albuminosas coaguladas; si no las ataca en un medio neutro o alcalino; si entre los productos de transformación no se encuentran más que productos biuréticos y no productos abiuréticos, y en particular no se encuentra tirosina (que se reconoce por la forma de los cristales, finas agujas birrefringentes agrupadas en fascículos típicos, y por la coloración negra que da por la acción de la tirosinasa), el líquido contiene pepsina. Si el líquido disuelve las substancias albuminosas

(1) Es mejor preparar un extracto glicérico de rúsulas, que se puede conservar durante mucho tiempo. A este efecto se trituran 250 gramos de rúsulas, se las pone en maceración algunas horas en 750 gramos de glicerina y se separa la glicerina haciéndola pasar por un lienzo fino.

Por la influencia de la tirosinasa, la tirosina o sus soluciones se coloran sucesivamente en rosa, rojo granate, rojo caoba y moreno; si entonces se añaden al líquido sales alcalinas o alcalinotérreas, en particular sulfato de magnesia, la coloración pasa al negro tinta y la materia negra se precipita dejando el líquido descolorado.

(2) Por otra parte, se forma glicocola en la proteólisis de otras proteínas además de la gelatina (v. Cap. V, pág. 117), pero la gelatina es la que proporciona la mayor cantidad de glicocola.

coaguladas en un medio alcalino, neutro o muy ligeramente ácido (con la máxima actividad en un medio alcalinizado con carbonato de sosa al 5 por 1.000); si no las ataca en un medio francamente ácido (4 por 1.000 de ácido clorhídrico, por ejemplo); si entre los productos de transformación se encuentran substancias abiuréticas, aminoácidos y, en particular, tirosina, el líquido contiene tripsina.

Se ha descubierto en los vegetales cierto número de diastasas proteolíticas, entre las cuales las más conocidas son la *papaína* o *papayotina*, que se puede extraer del carica papaya, y la *bromelina*, que se puede extraer del fruto de la ananasa sativa. ¿Qué son estas diastasas? ¿Son pepsina o tripsina? ¿Son diferentes de la pepsina y de la tripsina? La papaína no es una pepsina, porque produce la proteólisis tanto en un medio neutro o alcalino como en un medio ácido; la papaína no es una tripsina porque no lleva la proteólisis más que a la fase de proteosapeptona, sin formar leucina, tirosina u otros amidoácidos. Por las condiciones de su actividad se aproxima a la tripsina; por los productos de su actividad se aproxima a la pepsina. La papaína es, pues, una diastasa distinta de la pepsina y de la tripsina. El estudio de la bromelina está menos adelantado; únicamente se puede decir que se diferencia de la papaína en que puede formar leucina y tirosina.

Para comparar la actividad tríptica de varios jugos pancreáticos naturales o artificiales, se puede recurrir a diversos procedimientos calcados de los que hemos indicado precedentemente respecto al jugo gástrico (v. Cap. XX, pág. 376).

Nos limitaremos en este asunto a las siguientes indicaciones complementarias:

En todos los ensayos de actividad péptica se opera en medios fuertemente ácidos y, por consiguiente, asépticos por el hecho de esta acidez. En las pruebas de la actividad tríptica, siendo los medios alcalinos, neutros o débilmente ácidos, son esencialmente sépticos, y las transformaciones observadas son debidas al hecho de la intervención de los microbios tanto como de la tripsina, si no los elimina. En general, se elimina dicha acción saturando los líquidos de cloroformo, o mejor aún disolviendo en los líquidos el 1 por 100 de fluoruro sódico. Todos estos ensayos serán hechos, pues, en medios cloroformados, o fluorurados al 1 por 100 (se añade a dichos líquidos un tercio de su volumen de una solución de fluoruro sódico al 4 por 100).

Las determinaciones mediante la fibrina o los cubos de albúmina se practican como para la pepsina.

Las determinaciones por el procedimiento de Mette se practican como para la pepsina; pero también se pueden substituir los cilindros de albúmina, cuya disolución se verifica lentamente, por cilindros de gelatina, que se peptonizan mucho más rápidamente. Se introduce en los tubos de Mette una solución de gelatina al 10 ó al 20 por 100, colorada por algunas gotas de violado de metilo en agua fluorurada al 1 por 100, mantenida a 40°; se deja gelatinizar por enfriamiento; se divide el tubo en fragmentos de igual longitud y se hacen obrar los líquidos trípticos a una temperatura inferior a la temperatura de licuefacción de la gelatina.

Las determinaciones por el procedimiento colorimétrico se verifican con la fibrina teñida con el rojo Magdala, en lugar de serlo por el carmín; por lo demás, se opera igual que con la pepsina.

Se puede aquí emplear ventajosamente en el análisis de una proteólisis tríptica un procedimiento que se funda en la propiedad que poseen los productos proteolíticos de volverse ácidos cuando se los trata por el formol (v. pág. 140). Hemos dicho ya por qué el grado de acidez de tal líquido indica el trabajo proteolítico.

Supongamos un líquido de digestión tríptica de ovalbúmina cruda, de caseína, etc. Se le neutraliza exactamente; se añade el formol neutralizado también si hay lugar a ello. Se titula la acidez del líquido con una solución titulada de sosa.

Comparando la acidez de dos líquidos de digestión tríptica se podrá juzgar su poder proteolítico, en igualdad de las demás condiciones, en cuanto a las substancias transformadas, a las duraciones de la transformación y a las temperaturas de digestión.

El tejido pancreático no contiene tripsina, sino un profermento capaz de transformarse en tripsina en diversas circunstancias y por diversas influencias.

Este *tripsinógeno* es soluble en la glicerina y se puede extraer del tejido pancreático por este líquido sin transformarse en tripsina. Es transformado en tripsina por la acción del oxígeno del aire, de los ácidos muy diluídos (por ejemplo, ácido salicílico al 1 por 1.000), de la enterocinasa del jugo intestinal (v. Cap. XXII, pág. 404), etc.

Actualmente está establecido de una manera cierta que la tripsina pancreática, tal como la hemos estudiado, no es una

diastasa única, sino una diastasa doble, un mezcla de dos diastasas, proteolíticas las dos por otra parte, pero que no obran sobre las mismas substancias proteicas y no derivan de un mismo origen.

El jugo pancreático puro, tal como sale de una fístula del conducto de Wirsung, no obra ni sobre la ovalbúmina coagulada, ni sobre las albúminas del suero, ni sobre las albúminas de la carne; por lo tanto, no contiene tripsina; contiene solamente un protripsina transformable en tripsina por la influencia de la enterocinasa intestinal.

Pero este mismo jugo pancreático puro obra sobre la fibrina cruda, sobre la gelatina, sobre la caseína, sobre las álcalialbúminas, sobre las ácidalbúminas y sobre las proteosas para hidrolizarlas. Contiene, pues, una diastasa proteolítica capaz de obrar sin ser activada previamente por los líquidos intestinales. Se dice que esta diastasa es una erepsina, y no ciertamente porque sea la misma que la que se encuentra en el jugo intestinal, sino porque, como ella, no obra sobre la mayoría de albúminas naturales y obra sobre la caseína y sobre las proteosas.

El estudio que hemos hecho de la manera de obrar de la tripsina sobre las proteínas deberíamos repetirlo, y sería importante distinguir lo que en las transformaciones observadas es debido a la acción de la tripsina verdadera y lo que es debido a la acción de la erepsina pancreática. Pero actualmente este estudio no está hecho.

Haremos notar únicamente los siguientes hechos: si sobre cubos de ovalbúmina coagulada hacemos obrar el jugo pancreático puro no activado, no se produce ninguna proteólisis en absoluto; por el contrario, se produce una proteólisis, y enérgica, cuando este jugo ha sido activado por la enterocinasa. Según que se haya hecho intervenir la enterocinasa o no, es *todo* o *nada*.

Si hacemos obrar el jugo pancreático puro no activado sobre masas filamentosas de fibrina cruda, se produce una proteólisis; si se hace obrar sobre la misma fibrina el jugo pancreático activado por la enterocinasa intestinal, se produce una proteólisis más rápida que precedentemente. Pero aquí, según que se haya activado el jugo pancreático o no, no se puede decir, como en el caso anterior, es todo o nada; sino que diremos *es más* o *es menos*. Antes de activar, la fibrina era proteolizada por la erepsina pancreática solamente; después

de activar, es proteolizada a la vez por la erepsina y por la tripsina.

A esta conclusión se podrá objetar sin duda que no es necesario imaginar dos diastasas distintas para dar cuenta de los hechos observados. ¿No sería mucho más sencillo admitir que el tripsinógeno, inactivo sobre la ovalbúmina coagulada, es activo sobre la fibrina y sobre las proteosas, siendo, sin embargo, su actividad menor que la de la tripsina sobre las mismas substancias? No, es preciso admitir la existencia de dos diastasas distintas e independientes una de la otra, y he aquí por qué: El jugo pancreático puro contiene protripsina, ya que, activado por la enterocinasa intestinal, puede digerir la ovalbúmina coagulada; el mismo jugo pancreático puro dializado largamente en presencia de agua destilada, no contiene protripsina, ya que la adición de enterocinasa no lo vuelve activo sobre la ovalbúmina coagulada. Pero después, como antes de esta diálisis, este jugo obra sobre la fibrina, la caseína y las proteosas. Por lo tanto, debe esta actividad a un agente que no es la protripsina.

¿Cuál es el papel respectivo de la tripsina y la erepsina pancreáticas en la proteólisis pancreática? No lo sabemos aún. La tripsina lleva adelante la destrucción proteica hasta la fase de amidoácido o sencillamente hasta la fase peptona, siendo debidas las transformaciones en productos abiuréticos a la acción de la erepsina; es posible que así sea, pero en la actualidad no lo sabemos.

Sea como fuere, la erepsina pancreática no es equivalente a la erepsina intestinal—y es sensible, desde el momento que se le ha dado el nombre de erepsina—porque la erepsina pancreática no ataca la antipeptona, mientras que la erepsina intestinal la transforma en ácidos amidados.

La erepsina pancreática representa un eslabón muy importante de la cadena de las diastasas proteolíticas, pepsina, tripsina, erepsina pancreática y erepsina intestinal. La pepsina obra sobre todas las albúminas naturales (muy débilmente, sin embargo, sobre la caseína) y las transforma en proteosas, la mayor parte, y una pequeña parte en peptona. La tripsina obra sobre todas las albúminas naturales, comprendida la caseína, y las transforma en peptonas (y también en ácidos aminados en parte). La erepsina pancreática no obra sobre todas las albúminas naturales, pero no obstante ataca a muchas, en particular la caseína y la fibrina cruda, y las transforma en

proteosas, y éstas en amidoácidos, pero su acción sobre las peptonas es limitada, ya que no transforma la antipeptona. La erepsina intestinal, por último, no obra, entre las albúminas naturales más que sobre la caseína; pero obra sobre todas las proteosas, sobre todas las peptonas (y polipéptidos), y las transforma íntegramente en ácidos aminados (v. pág. 402).

CAPITULO XXII

EL JUGO INTESTINAL Y LA MUCOSA INTESTINAL

SUMARIO.—I. JUGO INTESTINAL y mucosa intestinal.
La invertina; la maltosa; la lactasa; la erepsina.
La enterocinasa; la prosecretina y la secretina.
II. CONTENIDO INTESTINAL.

I. — JUGO INTESTINAL Y MUCOSA INTESTINAL

El jugo intestinal secretado por las innumerables glándulas contenidas en la pared del intestino no puede ser obtenido puro sino con muchas dificultades. En la cavidad intestinal desaguan constantemente, además del jugo intestinal, la bilis, el jugo pancreático y los alimentos parcialmente digeridos por el jugo gástrico. Para obtener el jugo intestinal puro es preciso resecar un asa de intestino, respetando el mesenterio que le proporciona los vasos y los nervios, soldar las extremidades con la piel y restablecer, mediante una sutura, la continuidad intestinal para asegurar la vida al animal (fístulas de Thiry y de Vella). El asa resecada produce un líquido claro que se puede recoger y estudiar: es el jugo intestinal puro.

La composición química del jugo intestinal no ofrece ninguna particularidad interesante: es un líquido alcalino (su alcalinidad corresponde a 4 ó 5 por 1.000 de carbonato de sosa) que contiene en solución abundantes materias proteicas (sobre el 8 por 1.000) y materias salinas, en particular carbonatos alcalinos, cloruros, fosfatos y algunas substancias orgánicas.

Los estudios hechos sobre el jugo intestinal puro, sólo se remontan a algunos años; por esto la mayor parte de los resultados adquiridos se han obtenido con maceraciones de mucosa intestinal. Por esta razón se buscan las diastasas intestinales ya en el jugo puro, ya en las maceraciones de mucosa.

El jugo intestinal y la mucosa intestinal contienen una diastasa capaz de desdoblar la sacarosa en glicosa y levulosa, una *invertina*.

La invertina tiene la propiedad de transformar la sacarosa, con fijación de agua, en azúcar invertido, constituído, como hemos dicho al estudiar los azúcares, por una mezcla en iguales pesos de glicosa y de levulosa; la invertina intestinal es

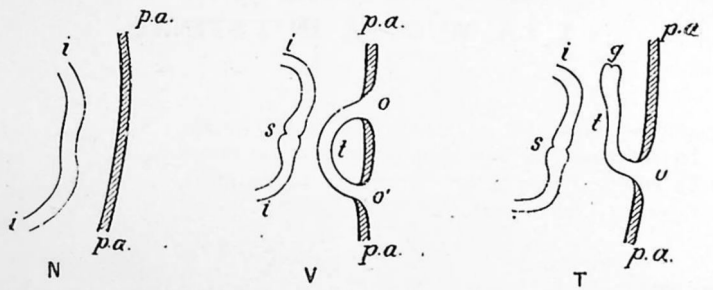


Fig. 95. — Esquema de las operaciones practicadas para obtener el jugo intestinal puro. N, animal normal: *p. a.*, pared abdominal. — *i. i.*, asa intestinal. — V, fístula de Vella: *p. a.*, pared abdominal. — *i. i.*, intestino suturado en *s.* — *t.*, asa resecada soldada a la piel en *O* y *O'*. — T, fístula de Thiry: *p. a.*, pared abdominal. — *i. i.*, intestino suturado en *s.* — *t.*, asa resecada, cerrada por una sutura en *g*, soldada a la piel en *O*.

idéntica a la invertina que se encuentra en los líquidos o que se desarrolla en la levadura de cerveza; la primera fase de la fermentación alcohólica de la sacarosa consiste, como es sabido, en una inversión de este azúcar.

Las maceraciones intestinales contienen una segunda diastasa capaz de desdoblar la maltosa en dos moléculas de glicosa, una *maltasa*. Esta maltasa, por otra parte, no es específica de la mucosa intestinal; se encuentra en distintos tejidos del organismos, pero en ninguno es tan abundante como en la mucosa intestinal; las maceraciones intestinales transforman más enérgicamente la maltosa en glicosa, que las maceraciones hepáticas y pancreáticas, por ejemplo.

Los fisiólogos han establecido que la lactosa de la leche debe sufrir un desdoblamiento para ser asimilada, y han buscado en los diversos jugos digestivos la presencia de una *lactasa* capaz de desdoblar la lactosa en glicosa y galactosa. Esta diastasa no existe ni en la saliva, ni en el jugo gástrico, ni en la bilis, ni en el jugo pancreático; debería existir en el jugo

intestinal. Ahora bien, si la lactasa ha sido señalada a veces en el contenido intestinal de algunos animales y en particular de los mamíferos jóvenes alimentados con leche, no parece ser un constituyente constante del jugo intestinal. El jugo intestinal puro obtenido por la fístula intestinal de Thiry o de Vella no contiene lactasa. La maceración acuosa aséptica (fluorada al 1 por 100) de mucosa intestinal, librada por una vigorosa centrifugación de todos los elementos celulares en suspensión, no contiene lactasa. Pero si a una maceración fluorada al 1 por 100 de mucosa intestinal que contenga el picadillo de mucosa, se añade un solución de lactosa, se comprueba que se produce una hidrólisis de la lactosa a 40°, pero con cierta lentitud. Para evidenciar la transformación de la lactosa, se pone sobre un filtro, se coagulan las substancias proteicas por el calor y se transforman los azúcares del resultado de la filtración en osazonas por la acción del acetato de fenilhidracina al baño de María hirviente. Después de enfriamiento se recogen las osazonas sobre un filtro y se las caracteriza fácilmente: la lactosazona es soluble en el agua hirviendo y en la acetona diluída en su volumen de agua, y la glicosazona y la galactosazona son insolubles en estos disolventes. La lactasa intestinal es, pues, verosímilmente una diastasa endocelular localizada en las células o en ciertas células de la mucosa intestinal.

Algunos autores describen una diastasa amilolítica del jugo intestinal capaz de sacarificar el almidón, como la diastasa amilolítica de la saliva. Todos los tejidos y todos los líquidos orgánicos, el músculo, la sangre, la linfa, los trasudados, etc., poseen un poder amilolítico débil, pero fácil de evidenciar. Igual ocurre con las maceraciones de mucosa intestinal. No creemos, por lo tanto, necesario describir una diastasa amilolítica intestinal. Dos líquidos orgánicos únicamente poseen un poder amilolítico enérgico y específico: la saliva y, principalmente, el jugo pancreático.

El jugo intestinal y las maceraciones intestinales no contienen diastasas proteolíticas análogas a la pepsina o a la tripsina, o sea capaces de peptonizar las substancias albuminosas naturales; pero contienen una diastasa, la *erepsina*, capaz de obrar sobre las proteosas para transformarlas en productos abiuréticos (v. pág. 391).

Se prepara una maceración de mucosa intestinal de perro o de gato en agua salada al 7 por 1.000, o en sangre diluída mediante agua salada al 7 por 1.000, o en el líquido de Ringer (agua, 1.000; NaCl, 8,5; CO^3NaH, 0,2; $CaCl^2$, 0,1; KCl, 0,075).

A esta maceración, vuelta antiséptica mediante toluol o timol, se añade bien peptona del comercio o bien proteosas purificadas, y se deja esta mezcla durante algunas horas a 40°. Se hace hervir para coagular las substancias albuminosas coagulables y se coloca sobre un filtro; el resultado de la filtración no da la reacción del biuret; no contiene, pues, proteosas; éstas han sido transformadas en productos abiuréticos. El líquido precipita además por el ácido fosfomolíbdico, como las soluciones primitivas de proteosas; pero el precipitado producido no es amorfo, sino cristalino. Por último, si se dosifica el nitrógeno total contenido en el líquido, se encuentra igual al contenido en las proteosas empleadas. Por lo tanto, bajo la influencia de una substancia contenida en la maceración intestinal, las proteosas han sido transformadas en productos abiuréticos.

Las maceraciones intestinales hervidas pierden su acción sobre las proteosas. Por esto hay la tendencia a admitir que esta acción es una acción diastásica; y la diastasa de que tratamos ha sido llamada *erepsina*.

La erepsina obra sobre las proteosas en medios neutros y también, pero con menos energía, en un medio débilmente alcalino; no obra en medios ácidos. Es destruída a la temperatura de ebullición; por otra parte, es ya destruída parcialmente por calentamiento prolongado a 65°. Es alterada por el alcohol. Se la puede precipitar de las maceraciones intestinales, que la contienen, por el sulfato amónico disuelto a 3/4 de saturación (60 por 100), y esto permite separarla de casi la totalidad de substancias proteicas que la acompañan en la maceración intestinal. A este efecto, se añade a esta maceración sulfato amónico hasta que el líquido contenga el 60 por 100; se separa por centrifugación (o por filtración) el precipitado producido en copos; se pone en suspensión en agua y todo se coloca en un dializador para eliminar el sulfato amónico retenido en el precipitado; casi la totalidad de las substancias albuminosas quedan precipitadas sobre el dializador, y el líquido contiene la erepsina.

El jugo intestinal puro, obtenido mediante las fístulas de Thiry y de Vella, se comporta como las maceraciones intestinales; la erepsina es, pues, una diastasa normal del jugo intestinal.

La erepsina obra sobre todas las proteosas, proteosas propiamente dichas y peptonas; y obra más rápidamente sobre las

protoproteosas, sobre las deuteroproteosas y sobre las anfopeptonas; obra menos rápidamente, pero, sin embargo, más claramente, sobre las heteroproteosas y sobre las antipeptonas.

En la acción de la erepsina sobre las proteosas se forman múltiples substancias; se ha reconocido la presencia de la leucina, de la tirosina, de la lisina, de la histidina, de la arginina y de otros amidoácidos.

Como la tripsina, como hemos indicado precedentemente, conduce la proteólisis hasta los productos abiuréticos, y como se han señalado los productos arriba nombrados en los líquidos de las digestiones tríptica, se puede preguntar si la diastasa de las maceraciones intestinales y del jugo intestinal no es pura y sencillamente la tripsina fijada sobre la mucosa, o enturbiando el jugo.

No hay duda de que la erepsina y la tripsina son dos diastasas distintas, y de ello tenemos pruebas fisiológicas y pruebas químicas.

Si se examina una mucosa intestinal de un asa secuestrada según los procedimientos de Thiry o de Vella, después de días o semanas de la operación, se encuentra la erepsina en ella y en cantidad tan grande como en los segmentos intestinales recorridos por los alimentos.

La tripsina obra en medios neutros, en medios débilmente ácidos y en medios ligeramente alcalinos, siendo su máxima actividad en los medios muy ligeramente alcalinos. La erepsina no obra en un medio ácido, obra en un medio neutro o ligeramente alcalino, viéndose su actividad aumentada en un medio neutro.

La tripsina obra sobre las substancias albuminosas naturales para transformarlas en proteosas y sobre las proteosas para transformarlas en productos abiuréticos. La erepsina no obra sobre las substancias albuminosas naturales; no transforma ni la fibrina, ni la miosina, ni la ovalbúmina, ni la sueroalbúmina, ni la sueroglobulina; transforma las proteosas, y diríamos que transforma únicamente las proteosas, si no hubiese tres importantes excepciones que señalar. Además de las proteosas, la erepsina tranforma: 1.°, las caseínas; 2.°, las protaminas; 3.°, los ácidos nucleicos (estos últimos no son transformables por la tripsina pancreática).

Recientemente se ha descrito en la mucosa intestinal una nueva diastasa, la *arginasa*, que descompone la arginina, resultante de la acción de la tripsina o de la erepsina, en ornitina

y urea. Esta arginasa es, por otra parte, distinta de la tripsina y de la eripsina, que, una y otra, son inactivas sobre la arginina.

Las maceraciones intestinales y el jugo intestinal puro poseen la propiedad de exaltar el poder proteolítico de las maceraciones del tejido pancreático, o de hacer aparecer el poder proteolítico del jugo pancreático puro recogido por el cateterismo del conducto de Wirsung.

Supongamos, por ejemplo, que se ha preparado una maceración acuosa, o mejor una maceración fluorada al 1 por 100 de tejido pancreático y que se la hace obrar a 40°, por ejemplo, sobre fibrina o sobre cubos de albúmina; la proteólisis se producirá y, al cabo de cierto tiempo, la substancia proteica estará disuelta completamente. Si a la maceración pancreática se añade cierta proporción de una maceración intestinal o de jugo intestinal puro, se comprueba que esta mezcla posee un poder proteolítico mucho más enérgico que la maceración pancreática. Puesto que la maceración intestinal o el jugo intestinal no tienen de por sí ninguna acción proteolítica, se puede afirmar, pues, que las maceraciones intestinales exaltan el poder proteolítico de las maceraciones pancreáticas.

Supongamos que a un jugo pancreático puro recogido por el cateterismo del canal de Wirsung, y que no posee, como se sabe, ningún poder proteolítico (sobre la ovalbúmina coagulada), se añade una maceración intestinal, o jugo intestinal puro; se comprueba que esta mezcla posee un enérgico poder proteolítico; es una mezcla formada, por ejemplo, de nueve partes de jugo pancreático y una parte de jugo intestinal, los cubos de albúmina se disuelven muy rápidamente a la temperatura de 40°. Se puede, pues, afirmar que el jugo intestinal hace aparecer el poder proteolítico del jugo pancreático.

La substancia que, contenida en la mucosa intestinal o en el jugo intestinal, obra sobre el jugo pancreático, ha recibido el nombre de *enterocinasa*.

La enterocinasa es destruída por una ebullición de algunos minutos; es alterada y finalmente destruída por un calentamiento prolongado a 70°. Posee las propiedades generales de las diastasas. ¿Es preciso considerarla como una diastasa verdadera? En la actualidad tal vez sería imprudente, ya que ignoramos su modo de acción; la colocaremos, preferentemente, en el grupo de los encimoides.

Se admite generalmente que la enterocinasa obra sobre el tripsinógeno del tejido pancreático o del jugo pancreático para transformarlo en tripsina activa. Pero es sabido que esta misma transformación puede verificarse bajo otras influencias: los ácidos muy diluídos (ácido salicílico al 1 por 1.000, por ejemplo), transforman en tripsina el tripsinógeno del tejido pancreático. Se verifica también por la acción de diversos tejidos o de sus maceraciones, leucocitos, ganglios linfáticos, por ejemplo. Se ha sacado la conclusión de que los leucocitos y los ganglios linfáticos contienen enterocinasa; pero esta conclusión no tendrá ningún valor hasta que se haya establecido la identidad química y fisiológica de los principios activos de los leucocitos y los principios activos de la mucosa intestinal, cosa que en la actualidad no se ha hecho. Sin negar que puedan existir numerosos productos capaces de transformar el tripsinógeno en tripsina, reservaremos el nombre de enterocinasa al producto de éstos que se encuentra localizado en la mucosa intestinal.

Por último, la mucosa intestinal (pero no el jugo intestinal) contiene una substancia muy importante desde el punto de vista fisiológico, la *prosecretina*, transformable en *secretina* por los ácidos diluídos.

Los fisiólogos han demostrado que la secreción pancreática de los carnívoros, eminentemente intermitente, se produce cuando el contenido ácido del estómago se derrama al duodeno por el píloro entreabierto, y han llegado a establecer el mecanismo de esta secreción. Han demostrado que no resulta de una acción nerviosa refleja, que tenga por punto de origen la mucosa duodenal y por punto terminal la glándula pancreática; resulta de la acción directa ejercida sobre las células pancreáticas por una substancia engendrada en el duodeno por la acción de los ácidos del jugo gástrico sobre la mucosa duodenal, resorbida y llevada al páncreas por la sangre circulante.

En efecto, si se prepara una maceración de mucosa duodenal en ácido clorhídrico al 3 por 1.000, por ejemplo, y si después de neutralizarla se inyecta dentro del torrente circulatorio de un animal, se determina una abundante secreción pancreática. Esta acción no es debida a la maceración acuosa de mucosa duodenal; es debida, pues, a una substancia que se ha llamado *secretina*, formada por la acción del ácido clorhídrico muy diluído sobre una substancia de por sí inactiva, contenida

en la mucosa duodenal, que se ha calificado con el nombre de *prosecretina*.

Los diversos ácidos minerales y orgánicos fuertes, muy diluídos, pueden substituir el ácido clorhídrico para transformar la prosecretina en secretina.

Las expresiones prosecretina y secretina podrían dar lugar a una equivocación; se podría creer que se trata de una prodiastasa y de una diastasa. Ahora bien, la secretina no es ninguna diastasa, puesto que no resiste en absoluto a la ebullición.

II. — CONTENIDO INTESTINAL

El contenido intestinal está constituído por los productos de la digestión de las materias alimenticias, por los residuos alimenticios no atacados, por las secreciones de las glándulas digestivas (saliva, jugo gástrico, bilis, jugo pancreático, jugo intestinal), por los productos de las fermentaciones microbianas intraintestinales.

Las materias digeridas, solubles y asimilables son resorbidas poco a poco en el intestino delgado; las materias no absorbidas sufren, poco a poco, durante su trayecto por el intestino, fermentaciones microbianas; por consiguiente, la constitución del contenido intestinal varía no solamente según la naturaleza de los alimentos ingeridos, sino también según la región intestinal considerada.

Nos limitaremos a indicar sumariamente las substancias que se pueden encontrar en el intestino:

1.° Glicosa, maltosa, dextrinas; materias grasas neutras, ácidos grasos, glicerina, jabones; proteosas, gelatosas, elastosas y los diversos productos abiuréticos de la proteólisis, leucina, tirosina, histidina, etc.; estas diferentes substancias son procedentes de las transformaciones digestivas de los hidrocarbonos, grasas neutras y proteínas.

2.° Celulosa, gomas, resinas, fragmentos de tejido cartilaginoso, córneo, tendinoso, nucleínas, etc.; estas diferentes substancias están contenidas en los alimentos y no son atacadas por los jugos digestivos.

3.° *Productos de las fermentaciones microbianas*, entre las que citaremos el *indol* y el *escatol*, que absorbidos por la pared intestinal, se combinan con el ácido sulfúrico procedente

de la desintegración de las proteínas de los tejidos para eliminarse por la orina en estado de indoxilsulfatos; y los *gases intestinales*, procedentes de la fermentación de la celulosa y de las substancias albuminosas; estos gases son gas carbónico, hidrógeno, protocarburo de hidrógeno, hidrógeno sulfurado y nitrógeno.

CAPITULO XXIII

ORINA

SUMARIO.—Reacción de la orina.

I. SALES MINERALES DE LA ORINA.—*a. Cloruros.* Dosificación volumétrica de los cloruros. *b. Fosfatos.* Dosificación volumétrica de los fosfatos. *c.* Origen de las sales de la orina.

II. SALES DE ÁCIDOS SULFOCONJUGADOS O FENILSULFATOS URINARIOS.—¿Qué es un ácido sulfoconjugado, un fenilsulfato? Sulfatos y fenilsulfatos de la orina. Separación y dosificación. Origen de los fenilsulfatos de la orina.

III. SUBSTANCIAS NITROGENADAS DE LA ORINA.—El nitrógeno de la orina; el procedimiento de Kjeldahl. *a. Urea.* Naturaleza y relaciones químicas de la urea. Propiedades de la urea. Dosificación de la urea. Origen de la urea. *b.* Amoníaco y sales amoniacales urinarias. *c.* Acido *úrico y uratos.* Solubilidades. Reacción de la murexida. Dosificación del ácido úrico. Algunas reacciones de descomposición del ácido úrico. *d. Acido hipúrico y sus sales.* Propiedades, descomposición y síntesis. Acido hipúrico y ácido glicocólico. Origen del ácido hipúrico. *e. Creatinina.*

IV. SUBSTANCIAS DIVERSAS.—*a. Pigmentos urinarios.* La urobilina: urobilina y bilirrubina. *b.* No dosado urinario o indosado urinario. *c. Diastasas de la orina.* Amilasa. Pepsina. Fermento lab.

V. ORINAS PATOLÓGICAS.—*a.* Orinas albuminosas; prueba por la ebullición, prueba por el ácido nítrico; prueba por el ferrocianuro acético; las proteosas en la orina. *b.* Orinas azucaradas; prueba por el licor de Fehling; prueba por la solución de bismuto; prueba por fermentación. Orinas sanguinolentas. *d.* Orinas biliares. *e.* Orinas acetónicas. *f.* Cálculos urinarios: cálculos úricos; cálculos fosfáticos; cálculos oxálicos.

Tomaremos como tipo de orina la orina humana.

Un hombre adulto, sano, de peso mediano y con una regular alimentación, excreta en veinticuatro horas alrededor de 1.500 centímetros cúbicos de orina, cuya densidad está comprendida generalmente entre 1,015 y 1,020.

Se suele determinar la densidad de la orina mediante areómetros especiales llamados *pesaorinas*. Se poseen en general dos pesaorinas, una gradudo de 1,000 a 1,020, y otro graduado de 1,020 a 1,040, sirviendo, respectivamente, según que la densidad sea inferior o superior a 1,020.



Fig. 96
Pesaorinas.

Cuando la alimentación es mixta, es decir, compuesta de alimentos de origen animal y alimentos de origen vegetal, la *reacción de la orina* es francamente ácida al tornasol; expresada en ácido clorhídrico, es, término medio, de 1,4 por 1.000. Esta reacción ácida no es debida a la presencia de un ácido libre, sino a la presencia de *fosfatos mineles ácidos* PO^4MH^2. He aquí la prueba: los ácidos minerales descomponen hiposulfito de sosa y determinan la producción de un precipitado pulverulento de azufre; la orina se mantiene clara hasta cuando se le añade hiposulfato de sosa; luego la orina no contiene ácidos minerales. Los ácidos orgánicos, como el ácido hipúrico y el ácido úrico, poseen la propiedad de volver azul el rojo congo; el gas carbónico libre lo vuelve violado; la orina no modifica su coloración; por lo tanto, la orina no contiene ni ácido hipúrico ni ácido carbónico libre. La orina debe la reacción ácida a sus fosfatos ácidos.

Cuando la alimentación es principalmente vegetal (es decir, cuando en la reacción predominan materias de origen vegetal y mejor aún frutas ácidas), la reacción de la orina puede volverse neutra y aun alcalina, como consecuencia del aumento considerable de los carbonatos alcalinos eliminados. La orina de los herbívoros, la del conejo, por ejemplo, abundantemente nutrido de materias vegetales, es normalmente alcalina; no es ácida sino cuando el conejo está privado desde algunas horas de alimentación y vive de sus reservas.

No se puede pensar en determinar exactamente la acidez de una orina por simple dosificación acidimétrica mediante un álcali en presencia de un indicador colorado, como el tornasol, por ejemplo, porque la orina contiene fosfatos monometálicos que por la adición creciente de álcali se transforman progresivamente en fosfatos dimetálicos, y la mezcla de estas dos categorías de fosfatos da una reacción anfótera, es decir, que enrojece el papel azul, igualmente que

vuelve azul el papel rojo de tornasol, no pudiéndose indicar con claridad el momento en que la reacción se vuelve neutra o alcalina (1).

Se admite que la orina debe su acidez a los fosfatos ácidos o sea a los fosfatos monometálicos que contiene, y en lugar de determinar su acidez por dosificación acidimétrica, se determina la cantidad de estos fosfatos monometálicos, lo que permite calcular la acidez correspondiente. Para conocer la cantidad de estos fosfatos se procede de la siguiente manera.

Supongamos conocida la cantidad total de ácido fosfórico contenida en un volumen dado de una orina determinada—indicaremos más abajo los procedimientos empleados en química fisiológica para dosificar los fosfatos de una orina—y determinemos la cantidad de álcali necesaria para transformar estos fosfatos monometálicos y dimetálicos en fosfatos trimetálicos, y tendremos ya todos los elementos de la solución.

Supongamos el ácido fosfórico de la orina expresado en PO^4H^3, y en Q la cantidad contenida en un volumen dado de orina. Es sabido que 118 gramos de ácido fosfórico, PO^4H^3, necesitan 40 gramos de sosa, NaOH, para formar fosfato monosódico, 80 gramos para formar fosfato disódico y 120 gramos para formar fosfato trisódico; por consiguiente, Q gramos de ácido fosfórico necesitan $\frac{40\,Q}{118}$, $\frac{80\,Q}{118}$ y $\frac{120\,Q}{118}$, para formar los fosfatos monosódico, disódico y trisódico. Para transformar Q gramos de ácido fosfórico en estado de fosfato disódico en fosfato trisódico es preciso, pues, emplear $\frac{40\,Q}{118}$ gramos de sosa cáustica.

Supongamos que en nuestra determinación hemos tenido que emplear una cantidad de sosa igual a S; según nuestra hipótesis (mezcla de fosfatos monometálicos y dimetálicos), $S > \frac{40\,Q}{118}$, y la diferencia $S - \frac{40\,Q}{118}$ representa la cantidad de sosa empleada en transformar el fosfato monometálico en fosfato dimetálico. Son necesarios 40 gramos de sosa para transformar 118 gramos en estado de fosfato monometálico en fosfato dimetálico; por lo tanto, 1 gramo de sosa transforma $\frac{118}{40}$ gramos de ácido fosfórico, y la cantidad que acabamos de obtener, $S - \frac{40\,Q}{118}$, transforma

$$\left(S - \frac{40\,Q}{118}\right) \times \frac{118}{40}, \text{ o sea } \frac{118\,S}{40} - Q.$$

Esto supuesto, para determinar la cantidad de sosa S necesaria para transformar los fosfatos de un volumen dado de orina en fosfatos trimetálicos, se procede de la siguiente manera: Se añade a un

(1) Si solamente se quiere conocer aproximadamente la acidez urinaria, a 10 cent. cúb. de orina se añaden algunas gotas de una solución al 1 por 100 de fenolftaleína en alcohol al 50 por 100; después se deja caer gota a gota y agitando constantemente una solución decinormal de sosa cáustica hasta obtener una coloración rosa persistente. Se calcula la acidez correspondiente en ácido clorhídrico.

volumen dado de orina una cantidad conocida de una solución dosificada de sosa cáustica, cantidad más que suficiente para producir la transformación de los fosfatos (la mezcla debe ser claramente alcalina). Se precipita entonces el líquido por el cloruro de bario, que transforma los fosfatos trimetálicos en fosfatos tribaríticos insolubles; se los separa por filtración, y, en el líquido, se dosifica, mediante una solución proporcionada de un ácido, el exceso de álcali que contiene; por diferencia con la cantidad empleada, se tiene la cantidad de álcali utilizada para transformar los fosfatos urinarios en fosfatos trimetálicos.

COMPOSICIÓN MEDIA DE LA ORINA HUMANA NORMAL POR UN LITRO

	Gramos
Agua	954
Residuo seco	46
Materias orgánicas	28
» minerales	18
Urea	22
Acido úrico	0,5
» hipúrico	0,6
Creatinina	0,9
Diversos	4,0
Cloruro sódico	10,0
Sulfatos alcalinos	3,0
Fosfatos alcalinos	1,5
» alcalinotérreos	0,8
Sales amoniacales	0,7

Una ojeada a este cuadro permite comprender cuán justa es la definición química de la orina: la orina es esencialmente una solución salada de urea.

Si se admite que la cantidad de orina es 1.500 c. c. en veinticuatro horas, se calculará fácilmente la cantidad de substancias eliminadas por la orina, multiplicando por 1,5 las cifras de este cuadro.

Los elementos contenidos en la orina son, unos minerales, otros orgánicos, y entre estos últimos, los más importantes son los nitrogenados.

I. — SALES MINERALES DE LA ORINA

Las *sales de la orina* son:

- Cloruros
- Fosfatos
- Sulfatos y fenisulfatos
- Carbonatos y bicarbonatos

de álcalis y de tierras alcalinas.

Hemos descrito precedentemente (Cap. I, pág. 10) las principales propiedades de las sales minerales, e indicado los principales procedimientos de dosificación en peso de estos compuestos.

Aquí nos limitaremos a indicar los procedimientos volumétricos generalmente empleados para dosificar en las orinas los cloruros y los fosfatos.

a) *Dosificación volumétrica de los cloruros*

La *dosificación volumétrica de los cloruros* de la orina se puede hacer de dos maneras diferentes:

Primer método (método de Mohr). — El fundamento de este procedimiento es el siguiente: Si a una solución que contenga cloruros y cromato de potasa (el cromato hace aquí el papel de indicador) y que presenta una reacción neutra, se echa gota a gota una solución de nitrato de plata, se precipitan en seguida los cloruros y no el cromato. Solamente después de la total precipitación de los cloruros, el cromato es precipitado; el cromato de plata tiene una coloración muy fuerte de rojo ladrillo, muy fácil de reconocer. Se advierte cuándo la precipitación de los cloruros está terminada, porque el fino precipitado blanco producido en el líquido sometido a análisis se tiñe de rojo. Conociendo la proporción de la solución de plata se puede deducir la cantidad de cloruros disueltos en el líquido analizado.

No se puede emplear directamente este procedimiento cuando se trata de la orina. La solución de plata, en efecto, puede precipitar ciertas substancias orgánicas contenidas en la orina (ácido úrico y substancias xánticas) antes de precipitar el cromato alcalino. Es preciso, pues, destruir estas materias orgánicas antes de efectuar la titulación. Por consiguiente, hay que incinerar la orina (1). Si no se hiciera por descuido, y se aplicara directamente el método de la orina, se encontraría evidentemente un número demasiado elevado para los cloruros.

(1) Se ha propuesto desembarazar la orina de estas substancias precipitables por la solución de plata, para poder enseguida titular los cloruros sin necesidad de incinerar la orina. A este efecto se ha propuesto agitar la orina con negro animal. Pero el resultado no siempre es bueno; depende esencialmente de la naturaleza del negro animal empleado; conviene pues asegurar que la muestra de que se dispone es apta para fijar.

Se procede de la siguiente manera:

Dentro de un crisol de porcelana o de níquel, a 10 c. c. de orina se adicionan 1 gramo de carbonato de sosa puro (destinado a impedir la pérdida de ácido clorhídrico, que puede resultar de la acción de los fosfatos sobre los cloruros a alta temperatura) y de 1 a 2 gramos de nitrato potásico puro (1) (para favorecer la combustión de las materias orgánicas de la orina). Esta mezcla es evaporada, después incinerada a la temperatura más baja posible, al rojo naciente, para no volatilizar los cloruros. La masa fundida es disuelta en el agua previo enfriamiento. Para que la reacción de esta solución sea rigurosamente neutra, condición necesaria para una buena titulación, se empieza acidulándola ligeramente con ácido nítrico puro, y se satura el exceso de ácido añadiéndole un exceso de carbonato de cal puro pulverizado; queda en suspensión un exceso de carbonato de cal insoluble, que no perjudica el análisis. Se añaden algunas gotas de una solución de cromato neutro de potasa y se echa gota a gota la solución de nitrato de plata hasta que se produce un tinte rojo persistente.

La solución de nitrato de plata generalmente empleada es tal, que un centímetro cúbico es capaz de precipitar exactamente un centigramo de cloruro sódico. Una solución tal contiene 29,075 gr. de nitrato de plata por litro.

Supongamos que se ha operado con 10 c. c. de orina y que la cantidad de solución de plata necesaria para precipitar la totalidad de los cloruros sea de 5,3 cm.^{3}: los 10 c. c. de orina contienen una cantidad de cloruros que expresada en cloruro sódico es igual a 5,3 centigramos y por consiguiente la orina contiene 5,30 gramos de cloruros expresados en cloruro sódico por litro.

Segundo método (método de Volhardt). — Este procedimiento puede aplicarse directamente a la orina, es decir, sin necesidad de ninguna preparación previa de ésta con tal que no sea albuminosa y no contenga compuestos yodados ni bromados.

El fundamento de este procedimiento es el siguiente: Si a una solución de cloruros acidulada por el ácido nítrico se añade una solución de nitrato de plata en exceso (2) y se separa por filtración el precipitado del líquido en el que se ha formado, se tendrá un líquido que contiene un exceso de

(1) Puro significa aquí no contener cloruro.

(2) Se juzgará que hay exceso de nitrato cuando una nueva adición de nitrato de plata al líquido filtrado no produzca precipitado.

la sal de plata. Si este exceso es conocido, se puede deducir la cantidad de sal de plata precipitada al estado de cloruro. Así se ha reducido la cuestión de la dosificación de los cloruros a una cuestión de dosificación de las sales de plata; y esta dosificación se puede hacer volumétricamente de una manera fácil.

Si a una solución de nitrato de plata acidulada con ácido nítrico se añade una solución de una sal de hierro, y, gota a gota, una solución de sulfocianuro potásico, la plata es precipitada en estado de sulfocianuro de plata insoluble, y solamente cuando la precipitación de la plata es total, el sulfocianuro obra sobre el hierro en solución para formar el sulfocianuro de hierro, fácil de reconocer por su coloración roja.

Para hacer la titulación es preciso preparar:

a. Una solución de nitrato de plata conteniendo 29,075 gr. de esta sal por litro. Un centímetro cúbico de esta solución precipita exactamente un centigramo de cloruro sódico (o sea que corresponde a 0,00607 gramos de cloro).

b. Una solución saturada, a la temperatura ordinaria, de alumbre de hierro o de hierro puros.

c. Una solución de ácido nítrico puro, de 1,20 de densidad.

d. Una solución de sulfocianuro potásico, que contenga 8,30 gr. de sal por litro. Dos centímetros cúbicos de esta solución precipitan exactamente la plata contenida en un centímetro cúbico de solución *a*.

En un recipiente graduado de 100 c. c. se introducen 10 c. c. de orina, 5 c. c. de la solución de ácido nítrico *c*, 50 c. c. de agua y 20 c. c. de la solución de nitrato de plata. Se agita y se llena de agua hasta completar los 100 c. c. Se coloca sobre un filtro para separar el precipitado de cloruro de plata. Se toma la mitad, o sean 50 centímetros cúbicos del líquido filtrado: se añaden 3 centímetros cúbicos de la solución férrica *b*, y se echa la solución *d* de sulfocianuro: se forma un precipitado; se deja entrar esta solución *d* hasta que el líquido, al fondo del cual se forma el precipitado, tome una coloración roja persistente.

Supongamos, por ejemplo, que se necesitan añadir 5,2 cm.^{3} de la solución de sulfocianuro potásico. Para la totalidad del líquido, 100 c. c., y no 50 c. c., serían necesarios 10,4 cm.^{3} de la solución de sulfocianuro. Estos 10,4 cm.^{3} de la solución de sulfocianuro son capaces de precipitar 5,2 cm.^{3} de la solución de nitrato de plata *a*, como hemos dicho. Por lo tanto, después de la precipitación de los cloruros de 10 c. c. de orina por 20 c. c. de la solución de nitrato de plata, queda un exceso de 5,2 cm,^{3} de esta solución. Se han empleado, pues 14,8 cm.^{3} de nitrato de plata para precipitar los cloruros de 10 c. c. de orina. Estos 10 c. c. de orina contienen 14,8 cgr. de cloruros expresados en cloruro de sodio. La orina analizada contiene, por consiguiente, 14,80 gr. de cloruros por litro.

b) *Dosificación volumétrica de los fosfatos*

Hemos indicado (Cap. I, pág. 16) un procedimiento de dosificación de los *fosfatos* en peso; se les puede dosificar volumétricamente. En general, *la dosificación de los fosfatos de la orina se verifica volumétricamente.*

El fundamento de este procedimiento es el siguiente: Una solución caliente de fosfatos que contenga ácido acético libre, da, por adición de una solución de una sal de urano, un precipitado blanco amarillento de fosfato de urano insoluble en el ácido acético, pero soluble en los ácidos minerales. Una solución de ferrocianuro potásico, adicionada de una solución de una sal de urano, forma, ya un precipitado moreno rojizo, ya un líquido rojizo según las circunstancias. Si una solución contiene a la vez ácido acético, fosfato y ferrocianuro potásico, la sal de urano precipita primeramente sólo los fosfatos sin obrar sobre el ferrocianuro potásico, y únicamente obra sobre este último cuando la precipitación de los fosfatos es total, dando una coloración o una precipitación morena de ferrocianuro de urano.

Recordadas estas nociones se ve que para hacer una dosificación volumétrica de los fosfatos por una sal de urano es necesario:

1.° Operar en caliente.

2.° Operar en presencia de ácido acético libre.

3.° Operar en ausencia de ácidos minerales libres, para evitar la redisolución por estos ácidos del precipitado de fosfato de urano, condición necesaria que se realiza añadiéndole el líquido de acetato de sosa en gran exceso. Efectivamente, es sabido que el acetato de sosa en presencia de ácidos minerales es descompuesto en ácido acético libre y en sal de ácido mineral; en otras palabras, que los ácidos minerales separan al ácido acético de sus combinaciones salinas.

4.° Añadir al líquido a analizar una solución de ferrocianuro potásico.

5.° Hacer caer gota a gota una solución titulada de acetato de urano, hasta que el líquido tome una coloración morenorrojiza.

A este efecto se preparan:

a. Una solución de acetato de urano: se disuelven 35 gr., poco más o menos, de acetato de urano en agua acidulada con un poco de ácido acético y se añade agua hasta completar el litro.

b. Una solución de acetato de sosa acética: se disuelven 100 gramos de acetato de sosa cristalizado en un poco de agua; se añaden 100 c. c. de ácido acético glacial, y se completa el litro mediante la adición de agua.

c. Una solución de ferrocianuro potásico.

Para practicar la dosificación de los fosfatos es necesario conocer la titulación de la solución de acetato de urano. Para conocer esta titulación se procede a la dosificación volumétrica de una solución de fosfato de sosa que contenga una cantidad conocida de fosfato de sosa calcinado, operando como indicaremos ulteriormente. Se determina la cantidad de la solución de acetato de urano necesaria para precipitar totalmente el fosfato contenido en un volumen dado de la solución de fosfato de sosa calcinado y se deduce por un sencillo cálculo la titulación de la solución.

La solución *a*, preparada como hemos dicho, es tal, que 20 c. c. corresponden a 0,100 gramos (un centímetro cúbico corresponde, pues, a 5 miligramos) de anhídrido fosfórico, P^2O^5. Supongamos que la titulación de esta solución haya conducido exactamente a este resultado.

Para dosificar los fosfatos de la orina se mezclan en un vaso cilíndrico de Bohemia 50 c. c. de orina filtrada y 5 c. c. de la solución acética de acetato de sosa *b*, y se calienta al baño de María hirviente. Se echa, gota a gota, la solución de acetato de urano y se forma un precipitado que aumenta gradualmente. Cuando este precipitado no aumente ya, se mezclan en una cápsula de porcelana muy blanca una gota de la solución de ferrocianuro potásico y una gota de la mezcla analizada; si se produce una coloración rojomorena, se añade a la orina un exceso de acetato de urano; en el caso contrario, se añaden algunas gotas más de la solución de urano, y se repite la prueba hasta que se forme la coloración rojomorena. (En lugar de emplear una solución de ferrocianuro potásico, es mejor emplear la sal triturada y humedecerla con una gota de líquido analizado.) En el momento en que empieza a mostrarse esta coloración, la precipitación de los fosfatos es total. Supongamos que para precipitar totalmente los fosfatos contenidos en 50 c. c. de orina sea preciso añadir 24 c. c. de la solución de acetato de urano. Sabemos que 1 c. c. corresponde a 5 miligramos de P^2O^5, y, por lo tanto, 24 c. c. corresponden a 120 miligramos de P^2O^5; 50 c. c. de orina contienen 120 miligramos de P^2O^5, y 100 c. c. de orina contienen 240 miligramos, y 1 litro, 2,4 gr. de P^2O^5.

No existe ningún procedimiento volumétrico sencillo que permita dosificar exacta y rápidamente los carbonatos y los sulfatos.

Para *dosificar los sulfatos* se empleará el procedimiento indicado en Capítulo I, página 17. Véase más adelante para la dosificación del ácido sulfúrico total, página 426.

Indicaremos más adelante, página 420, un procedimiento simplificado para el análisis de los sulfatos.

Para *dosificar los carbonatos* (1), o más exactamente el ácido carbónico de los carbonatos y bicarbonatos de la orina, es preciso tratar está última por un ácido y determinar la cantidad de gas carbónico puesto en libertad. Se recogen a la temperatura de ebullición los gases de la orina acidulada.

c) *Origen de las sales de la orina*

Los *cloruros de la orina* son cloruros introducidos en el organismo bajo la forma de cloruros minerales: no se conocen en los alimentos combinaciones orgánicas cloradas.

Los *fosfatos de la orina* provienen, por una parte, de los fosfatos de los alimentos, pero, por otra parte, también se forman a expensas de las combinaciones fosforadas del organismo. Hemos señalado en el organismo la presencia de combinaciones fosforadas, las lecitinas y los núcleoproteidos. Estas substancias son oxidadas en los tejidos, y entre los productos de desasimilación resultantes de esta oxidación se encuentra el ácido fosfórico, el cual, en presencia de los carbonatos alcalinos contenidos en los tejidos, forma los fosfatos.

Los *carbonatos de la orina* provienen, por una parte de los carbonatos de los alimentos, pero, por otra parte, también de las sales ácidas orgánicas de los alimentos: ciertos alimentos, particularmente las frutas y las legumbres, son ricas en lactatos, malatos, tartratos, etc., de potasa y de sosa; estas sales, oxidadas en la economía, producen los carbonatos y los bicarbonatos.

Los *sulfatos de la orina* pueden proceder, en parte, de sulfatos absorbidos con los alimentos, pero solamente en una parte muy pequeña, porque los alimentos son ordinariamente muy pobres en sulfatos. Proceden en su mayor parte de la oxidación de las substancias sulfuradas de la economía. Las substancias albuminosas, los proteidos, la substancia colágena, son substancias sulfuradas; por oxidación producen ácido sulfúrico, que, en presencia de los carbonatos alcalinos de los tejidos, forma los sulfatos y el gas carbónico.

He aquí el análisis de las sales minerales de una orina de

(1) Las orinas ácidas no contienen carbonatos.

hombre de peso mediano, regularmente alimentado. Los números se refieren a la cantidad total de la orina eliminada en veinticuatro horas:

	Gramos
Acido sulfúrico	2,00
» fosfórico	3,15
Cloro de los cloruros	7,00
Amoníaco	0,75
Potasio	2,50
Sodio	11,50
Calcio	0,25
Magnesio	0,20

II. — SALES DE ACIDOS SULFOCONJUGADOS O FENISULFATOS URINARIOS

Al lado de las substancias que acabamos de estudiar, que son las verdaderas sales minerales, es conveniente colocar una serie muy importante de substancias, las sales de *ácidos sulfoconjugados*, los *fenilsulfatos*.

¿Qué es un ácido sulfoconjugado? ¿Qué es un fenilsulfato?

El *ácido sulfúrico* SO^4H^2 es un *ácido bibásico;* forma *dos series de sales:*

Los sulfatos neutros, como SO^4Na^2 y SO^4Ca;
Los sulfatos ácidos o bisulfatos, como SO^4HNa.

Del mismo modo, el ácido sulfúrico puede formar con los alcoholes *dos series de éteres*, como:

El sulfato dietílico $SO^4\begin{cases}C^2H^5\\C^2H^5\end{cases}$

que es dos veces éter, y

El sulfato monoetílico $SO^4\begin{cases}H\\C^2H^5\end{cases}$

o ácido sulfovínico, que es una vez éter y también una vez ácido; este último compuesto puede formar sales, sulfovinatos, que responden a la fórmula

$$SO^4\begin{cases}Na\\C^2H^5.\end{cases}$$

Con los fenoles aromáticos, el ácido sulfúrico forma *dos series de éteres*, por ejemplo:

El sulfato de fenilo $SO^4\begin{cases}C^6H^5\\C^6H^5\end{cases}$

que es dos veces éter, y

El sulfato monofenílico $SO^4\begin{cases}H\\C^6H^5\end{cases}$

o ácido fenilsulfúrico, que es una vez éter y una vez ácido. Las sales, los fenilsulfatos, responden a la fórmula

$$SO^4\begin{cases}Na\\C^6H^5.\end{cases}$$

Estos son los compuestos que se encuentran en la orina: los *ácidos sulfoconjugados de la orina* son, pues, *sulfatos ácidos de fenoles*, monosulfatos de fenoles. Están en la orina en estado de sales alcalinas, principalmente en estado de sales de potasa.

Los fenilsulfatos alcalinos son solubles en el agua; el fenilsulfato de bario es soluble en el agua.

Estas sales en solución acuosa neutra no son descompuestas por la ebullición.

Cuando se añade a su solución acuosa un ácido orgánico, el ácido acético, por ejemplo, se forma un acetato y ácido sulfoconjugado libre; pero este ácido libre no es descompuesto por la ebullición en presencia del ácido acético. Cuando se añade a su solución acuosa un ácido mineral, ácido clorhídrico, por ejemplo, son descompuestos: en frío, en cloruro y ácido sulfoconjugado libre; a la temperatura de ebullición, el ácido sulfoconjugado libre es descompuesto; se forma entonces, por fijación de una molécula de agua, ácido sulfúrico y un fenol.

$$SO^4\begin{cases}K\\C^6H^5\end{cases} + ClH + H^2O = ClH + SO^4\begin{cases}K\\H\end{cases} + C^6H^5OH$$

La orina contiene *sulfatos* y *fenilsulfatos*. El sulfato de bario es insoluble en el agua, los fenilsulfatos de bario son solubles en agua. Por consiguiente, si se acidula la orina con ácido acético (1 c. c. de ácido acético glacial por 50 c. c. de orina), se lleva a la ebullición y se añade un exceso de cloruro

de bario, se precipita, en estado de sulfato de bario, todo el ácido sulfúrico de los sulfatos y únicamente este ácido sulfúrico.

La orina contiene sulfatos y fenilsulfatos, descomponibles estos últimos en fenol y sulfatos ácidos por la ebullición en presencia del ácido clorhídrico. Si se acidula, pues, la orina con ácido clorhídrico (2 c. c. de ácido clorhídrico concentrado por 50 c. c. de orina), se lleva a la ebullición y se añade un exceso de cloruro de bario, se precipita, en estado de sulfato de barita, la totalidad del ácido sulfúrico de los sulfatos y de los fenilsulfatos.

Si después de haber precipitado en estado de sulfato de barita la totalidad del ácido sulfúrico de los sulfatos de la orina acidulada por el ácido acético, se separa de este precipitado el líquido que contiene en solución la totalidad de los fenilsulfatos, se pueden precipitar estos últimos en estado de sulfato de barita: hasta acidular dicho líquido por el ácido clorhídrico y llevarlo a la ebullición en presencia de un exceso de cloruro de bario.

Así se puede, pues, obtener en estado de sulfato de bario, el ácido sulfúrico total, el ácido sulfúrico de los sulfatos y el ácido sulfúrico de los fenilsulfatos. Para la dosificación, basta separar por filtración los precipitados de sulfato de bario, desecarlos, calcinarlos y pesarlos.

El procedimiento del peso puede ser substituído por un procedimiento volumétrico, algo menos exacto, pero suficiente en exceso para las investigaciones clínicas. Se aplicará este procedimiento a la orina acidulada por el ácido acético si se quiere determinar solamente el ácido sulfúrico de los sulfatos minerales; se aplicará a la orina acidulada por el ácido clorhídrico y hervida, si se quiere determinar el ácido sulfúrico total, o sea el de las sales minerales y el de los fenilsulfatos a la vez.

Hay que disponer de dos líquidos: 1.°, una solución de cloruro de bario (en un litro de agua se disuelven 57,5 gr. de cloruro de bario cristalizado y desecado por compresión entre dos hojas de papel filtro), de la cual un centímetro cúbico precipita un centigramo de ácido sulfúrico anhidro SO^3; 2.°, una solución de sulfato de sosa al 1 por 100.

A 50 centímetros cúbicos de orina se añaden algunos centímetros cúbicos de ácido clorhídrico concentrado, o ácido acético glacial (según se quiera determinar el ácido sulfúrico total, o únicamente el de los sulfatos minerales). Se calienta al baño de María. Se echa gota a gota la solución de cloruro de bario, hasta que se forme manifiestamente un precipitado. Cuando se ve que una nueva gota ya no

forma más precipitado, se deja posar este último y se extrae una gota del líquido claro que sobrenada, colocándola sobre una placa de vidrio negro al lado de una gota de la solución de sulfato de sosa. Si estas dos gotas, mezclándose, no forman precipitado, el líquido no contiene cloruro de bario y, por consiguiente, la totalidad del ácido sulfúrico no ha sido precipitada. Se echa de nuevo cloruro de bario gota a gota, hasta que la prueba de las dos gotas forme precipitado, o una turbiedad. En este momento, la totalidad del ácido sulfúrico ha sido precipitada. Conociendo el volumen empleado de la solución de cloruro de bario, se puede calcular muy fácilmente la cantidad correspondiente de ácido sulfúrico.

Los principales fenilsulfatos de la orina son el *fenilsulfato* y el *paracresilsulfato de potasa.*

La cantidad de ácido sulfúrico en estado de compuestos sulfoconjugados en la orina humana de veinticuatro horas es de

0,09 gr. a 0,60 gr., promedio de 0,25 gr.

El ácido *fenilsulfúrico* puede ser considerado como resultante de la unión del ácido sulfúrico y el fenol C^6H^5OH. Su fórmula es, pues, $SO^4HC^6H^5$.

El ácido *paracresilsulfúrico* resulta de la combinación del paracresol y el ácido sulfúrico:

$$SO^4H^2 + C^6H^4\begin{cases}CH^3\\OH\end{cases} = H^2O + SO^4\begin{cases}H\\C^6H^4\text{-}CH^3.\end{cases}$$

El *fenol* y el *paracresol* son volátiles a la temperatura de ebullición; si se destila, pues, orina acidulada con ácido clorhídrico se encuentran en el resultado de la destilación fenoles, que se pueden caracterizar por su *reacción bromada:* efectivamente, los fenoles poseen la propiedad de formar con el agua de bromo (1) compuestos cristalizables insolubles en el agua, *tribromofenoles*, cuyas fórmulas son:

Tribromofenol $C^6H^2Br^3OH$,
Tribromoparacresol $C^6HBr^3OHCH^3$.

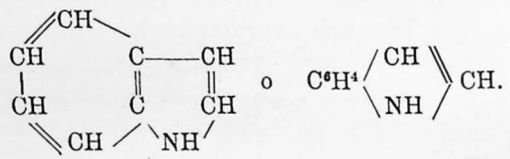
Se ha propuesto mediante estos compuestos dosificar la cantidad de fenoles de la orina: la orina acidulada con ácido clorhídrico es sometida a destilación, el producto es tratado

(1) Se emplea la solución saturada de bromuro, que se obtiene colocando bromo en un frasco lleno de agua y agitando.

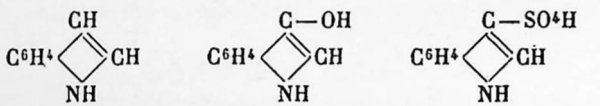
por el agua de bromo; el precipitado, separado por filtración, es lavado, desecado en vacío y pesado. Hemos de hacer observar, sin embargo, que este procedimiento no da sino resultados aproximados.

Al grupo de los fenilsulfatos pertenece el *indoxilsulfato de potasa*, contenido en pequeña cantidad en la orina.

El *ácido indoxilsulfúrico* (llamado alguna vez, aunque impropiamente, indicán urinario) debe ser considerado como resultado de la unión del ácido sulfúrico con una substancia fenólica, el *indoxilo;* esta última substancia puede ser considerada como resultado de la oxidación del *indol*. Es sabido que el indol es un compuesto químico que se podría llamar fenopirrol, considerando su fórmula de constitución, que resulta del enlace de las fórmulas del benzol y el pirrol.

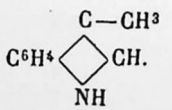


Las tres substancias aquí indicadas son:



indol — indoxilo — ácido indoxilsulfúrico.

Hay la costumbre de describir en los tratados de química fisiológica un ácido escatoxilsulfúrico, que resultaría de la unión del ácido sulfúrico con un escatoxilo, que sería un producto de la oxidación del escatol o metilindol. El *escatol* es conocido; corresponde a la fórmula de constitución:



Pero no se conocen ni el escatoxilo homólogo del indoxilo, ni el ácido escatoxilsulfúrico homólogo del ácido indoxilsulfúrico.

Si, en general, todo el indol urinario está en estado de ácido indoxilsulfúrico, algunas veces se presenta (en estos casos la orina está muy cargada de indol) donde existe, además, en estado de *ácido indoxilglicurónico*, resultando de la unión del indoxilo con el ácido glicurónico CHO-(CHOH)^4-CO^{2}H, del cual son conocidas las íntimas relaciones con las glicosas

CHO-(CHOH)^4-CH^{2}OH

(véase pág. 97).

Cuando se tratan los ácidos indoxilconjugados por el acido clorhídrico concentrado se desdobla su combinación y se regenera el indoxilo, puesto que este indoxilo, bajo la influencia de los agentes de oxidación, se transforma en substancias colorantes, que son la indigotina y la indirrubina contenidas en el índigo natural. Pero es preciso, para que estos dos pigmentos no sean transformados, que la oxidación sea corta en extremo; en caso contrario, serían transformados en un pigmento amarillo débilmente colorado, la isatina.

La indigotina y la indirrubina son solubles en el cloroformo; no se las puede separar del cloroformo, ni por agitación con agua destilada, ni por agitación con agua acidulada, ni por agitación con agua alcalinizada.

Por la influencia de los oxidantes muy débiles, según recientes investigaciones, el indoxilo no produciría directamente indigotina ni indirrubina, sino una substancia llamada hemiindigotina, pigmento azul como la indigotina, soluble como ella en el cloroformo, diferenciándose por algunos caracteres, principalmente por su solubilidad. Esta hemiindigotina al polimerizarse produciría ya indigotina, ya indirrubina. La hemiindigotina en solución clorofórmica ácida se polimerizaría lentamente en indirrubina; en solución clorofórmica alcalina se polimerizaría instantáneamente en indigotina.

Podemos ahora ya indicar cómo se practica y cómo debe practicarse la reacción, impropiamente llamada reacción del indicán urinario, que debería llamarse mejor *reacción del indoxilo urinario*, destinada a manifestar en la orina la presencia del indoxilo conjugado, bien con el ácido sulfúrico solo, bien con el ácido sulfúrico, bien con el ácido glicurónico. Es preferible tratar primeramente la orina por el subacetato de plomo; la práctica ha demostrado que este tratamiento quita las substancias que dificultan la oxidación del indoxilo o disminuyen la pureza de los pigmentos clorofórmicos obtenidos. Además, es mejor suprimir todos los oxidantes que no sean el oxígeno del aire, por lo menos en la mayoría de casos.

A 50 c. c. de orina se añaden 50 c. c. de una solución acuosa de subacetato de plomo; se agita y se filtra. En un tubo de ensayo se mezclan partes iguales del líquido filtrado y de ácido clorhídrico puro, y se añaden algunos centímetros cúbicos de cloroformo: debe quedar, en la parte alta del tubo, sitio para algunos centímetros cúbicos de aire. Se agita muy violentamente, y después se deja salir el cloroformo. Este está colorado de azul, en general. Cuando, por excepción, es

incoloro, es conveniente añadir a la mezcla una o dos gotas de agua oxigenada a 10 volúmenes, diluídas en 10 volúmenes de agua, y volver a empezar la agitación.

El cloroformo cargado de pigmento azul y separado de la capa acuosa y agitado con una solución de sosa al 1 por 1.000 queda indefinidamente azul; conservado tal cual (ácido, por lo tanto), pasa lenta, pero progresivamente, del azul al violado, al púrpura y al rojo.

¿De dónde proceden los fenilsulfatos? En el contenido intestinal hemos visto la presencia del indol y del escatol (o metilindol), substancias que resultan de las fermentaciones microbianas de las proteínas (1) o de sus productos de transformación digestiva. Este indol y escatol son resorbidos por lo menos parcialmente. Se comportan, pues, como la bencina y otros hidrocarburos: son oxidados. (Cuando se inyecta bencina en el organismo, se comprueba una oxidación de este hidrocarburo y una formación de fenol.) El indol se transforma verosímilmente en indoxilo; en cuanto al escatol, produce igualmente indoxilo por oxidación, perdiendo su grupo metilado.

No se ha comprobado en el organismo la presencia del indoxilo, substancia poco estable. Es probable que se conjugue en el momento de su formación con el ácido sulfúrico resultante de la oxidación de las substancias sulfuradas, principalmente de las proteínas del organismo (1).

(1) Hemos indicado (Cap. V, pág. 116) la existencia de un núcleo triptófano en la molécula albuminosa y sus relaciones con el indol. Veamos ahora cómo pueden representarse las sucesivas transformaciones que del triptófano conducen al indol y al escatol:

$$\left.\begin{array}{l} NH{=}C^8H^5-CH^2-CHNH^2-CO^2H+H^2O \\ \quad \text{triptófano} \\ {=}NH^3+NH{=}C^8H^5-CH^2-CHOH-CO^2H. \\ \quad \text{ác. escatoloxiacético} \end{array}\right\} \quad (1)$$

$$\left.\begin{array}{l} NH{=}C^8H^5-CH^2-CHOH-CO^2H+O^2 \\ \quad \text{ác. escatoloxiacético} \\ {=}NH{=}C^8H^5-CH^2-CO^2H+CO^2+H^2O. \\ \quad \text{ác. escatolcarbónico} \end{array}\right\} \quad (2)$$

$$NH{=}C^8H^5-CH^2-CO^2H{=}NH{=}C^8H^5-CH^3+CO^2 \quad (3)$$
ác. escatolcarbónico — escatol

$$NH{=}C^8H^5-CH^3+O^2{=}NH{=}C^8H^5-CO^2H+H^2O. \quad (4)$$
escatol — ác. indolcarbónico

$$NH{=}C^8H^5-CO^2H{=}NH{=}C^8H^6+CO^2. \quad (5)$$
ác. indolcarbónico — indol

$$NH{=}C^8H^6+O{=}NH{=}C^8H^5-OH. \quad (6)$$
indol — indoxilo

(2) El ácido indoxilsulfúrico es menos importante por su cantidad en la orina (hay por término medio un centigramo por litro) que por su significación fisiológica: en efecto, el indol contiene un núcleo mixto benzopirrol, puesto que se ha podido, partiendo de los pigmentos sanguíneos, obtener una serie de productos de transformación que conduce al hemopirrol, conteniendo también un núcleo pirrol. Con el tiempo tal vez conoceremos las relaciones entre los pigmentos sanguíneos y el ácido indoxilsulfúrico.

Sin embargo, la producción del ácido indoxilsulfúrico no está necesariamente ligada a una fermentación microbiana intestinal; sabemos que bajo la influencia de los jugos pancreático e intestinal, el triptófano contenido en la molécula proteica es liberado y puede sufrir las transformaciones que le conducen al estado de indol. Del mismo modo el indol puede proceder de la desintegración de las proteínas de los tejidos.

Se puede decir que el ácido indoxilsulfúrico indica la existencia de una desintegración proteica, sin poder indicar la naturaleza de esta desintegración.

El *fenol*, el *paracresol*, y otros fenoles se producen en la cavidad intestinal por fermentaciones microbianas de las proteínas (que contienen, como acabamos de decir, constituyentes aromáticos, tirosina, fenilalanina) (1). Estos fenoles se conjugan con el ácido sulfúrico resultante de la desasimilación del azufre de los tejidos y forman ácidos sulfoconjugados.

Sin embargo, la producción del ácido fenilsulfúrico y del ácido paracresilsulfúrico no está necesariamente relacionada con una fermentación microbiana intestinal; sabemos que por la influencia de los jugos pancreático e intestinal, la tirosina y la fenilalanina contenidas en la molécula proteica son libertadas y pueden sufrir las transformaciones que les conducen al estado de fenol y de paracresol. Cierta cantidad se deriva también de la desintegración de las proteínas de los

(1) He aquí cómo se pueden representar las sucesivas transformaciones que de la tirosina conducen al cresol y al fenol:

$$\left.\begin{array}{l} OH-C^6H^4-CH^2-CHNH^2-CO^2H+H^2O \\ \quad \text{tirosina} \\ {=}NH^3+OH-C^6H^4-CH^2-CHOH-CO^2H. \\ \quad \text{ác. paraoxifeniloxipropiónico} \end{array}\right\} \quad (1)$$

$$\left.\begin{array}{l} OH-C^6H^4-CH^2-CHOH-CO^2H+H^2O \\ \quad \text{ác. paraoxifeniloxipropiónico} \\ CO^2+H^2O+OH-C^6H^4-CH-CO^2H. \\ \quad \text{ác. paraoxifenilacético} \end{array}\right\} \quad (2)$$

$$OH-C^6H^4-CH^2-CO^2H{=}CO^2+OH-C^6H^4-CH^3. \quad (3)$$
ác. paraoxifenilacético — cresol

$$OH-C^6H^4-CH^3+O^2{=}OH-C^6H^4-CO^2H+H^2O. \quad (4)$$
cresol — ác. paraoxibenzoico

$$OH-C^6H^4-CO^2H{=}CO^2+OH-C^6H^5. \quad (5)$$
ác. paraoxibenzoico — fenol

tejidos. Se puede decir que los ácidos fenilsulfúrico y paracresilsulfúrico demuestran la existencia de una desintegración proteica, sin que se pueda indicar la naturaleza de esta desintegración.

Estos fenilsulfatos se encuentran más abundantes en la orina de los herbívoros que en la de los carnívoros, ahora bien, se demuestra que los compuestos aromáticos son más abundantes en general en las proteínas vegetales que en las proteinas animales.

Se admite que la combinación de los fenoles y el ácido sulfúrico se verifica en el hígado, o por lo menos principalmente en el hígado: efectivamente, se ha encontrado en el tejido hepático una cantidad de fenilsulfatos mayor que en la sangre. Los fenoles, substancias tóxicas producidas en el intestino y absorbidas por las ramas de la vena porta, se transformarían en fenilsulfatos, substancias no tóxicas, en el hígado, que ejercería con respecto a los fenoles tóxicos el papel de protección contra los agentes tóxicos que en la actualidad hay tendencia a asignarle.

Los sulfatos y fenilsulfatos no representan la totalidad de las combinaciones sulfuradas de la orina. Se encuentran en la orina diversos compuestos que contienen del 10 al 20 por 100 del azufre total de la orina.

Algunas veces puede haber interés en conocer el azufre total de la orina. Se puede evaporar en una cápsula de platino un volumen conocido de orina (25 c. c., por ejemplo) adicionada de algunos gramos de nitrato potásico y de algunos gramos de potasa cáustica, y calentar hasta la fusión, de manera que se obtenga un líquido claro. Se deja enfriar; se añade poco a poco ácido clorhídrico hasta que la reacción sea ácida. Y se dosifican los sulfatos en peso o volumétricamente (véanse páginas 17 y 420). Mediante este tratamiento, todo el azufre urinario ha sido transformado en sulfato.

Aunque aquí no se trata de compuestos sulfurados, es conveniente señalar la presencia constante en la orina de fenilglicuronatos, que son combinaciones equivalentes a los fenilsulfatos, siendo en los primeros el fenol conjugado con el ácido glicurónico y en los segundos con el ácido sulfúrico. Los principales fenilglicuronatos descritos en la orina son los derivados glicurónicos del fenol y del indoxilo: su cantidad es, por otra parte, extremadamente débil en la orina normal. Diferentes substancias medicamentosas introducidas en el organismo se conjugan, directamente o después de transformarse, con el ácido glicurónico: así es como el alcanfor y el cloral forman, respectivamente, las combinaciones glicurónicas ácido canfoglicurónico y ácido uroclorálico, que pasan a la orina.

III. — SUBSTANCIAS NITROGENADAS DE LA ORINA

La orina contiene combinaciones nitrogenadas orgánicas. De una manera general, se puede decir que los productos de la desasimilación nitrogenada de los tejidos son eliminados por la orina.

El fisiólogo puede tener necesidad de conocer las modificaciones de la eliminación nitrogenada: se consigue fácilmente, determinando el nitrógeno total de la orina, en sus diversas formas, urea, ácido úrico, amoníaco, etcétera.

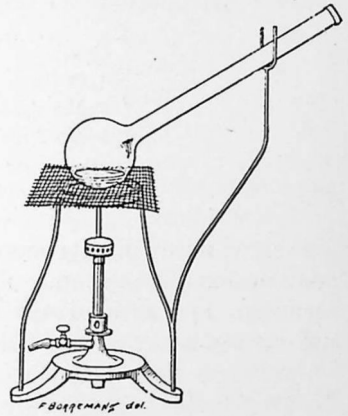


Fig. 97

La dosificación del *nitrógeno total de la orina* se verifica por el *procedimiento de Kjeldahl*, del que precedentemente hemos indicado las líneas generales (página 312.).

En el caso particular de la orina se puede proceder de la manera siguiente:

En un matraz de 800 c. c. de capacidad se introducen 5 c. c. de orina, 15 c. c. de ácido sulfúrico de Nordhausen (equivalente a la mezcla de ácido sulfúrico y ácido fosfórico, pág. 314) y 1,50 gr. de mercurio metálico, poco más o menos: se mantiene en ebullición moderada hasta algo después que la decoloración sea completa; para fijar las ideas, podemos decir tres o cuatro horas.

Enfriado este líquido, se añaden dentro del matraz (1) 500 c. c.,

(1) El ataque por el ácido sulfúrico y todas las ulteriores operaciones se verifican en un mismo matraz de vidrio de Jena, sin transvasarlo. Por esto se emplea un matraz de 800 cent. cúb., aunque el volumen del líquido es solamente de 20 cent. cúb. Por otra parte, se podría verificar sin gran inconveniente la operación en un matraz de largo cuello, de 100 cent. cúb. y transvasar en seguida en el matraz de 800 cent. cúb. el contenido y las aguas de lavado del matraz pequeño.

poco más o menos, de agua, adicionando también un gramo de hipofosfito de sosa (1).

La elevación de temperatura resultante de la mezcla de agua y ácido sulfúrico basta para la disolución del hipofosfito de sosa y para la precipitación del mercurio; para más seguridad, se puede, por otra parte, calentar la mezcla durante 10 minutos a 80°.

Se deja enfriar; se añade entonces por pequeñas fracciones, para evitar toda elevación notable de temperatura, sosa cáustica, para neutralizar el ácido sulfúrico en exceso y después para alcalinizar el líquido; se junta el matraz con un aparato de destilación y condensación del amoníaco y se calienta, etc.

Las principales substancias nitrogenadas normalmente contenidas en la orina del hombre son las siguientes:

Urea,
Amoníaco y sus sales,
Acido úrico y los uratos,
Acido hipúrico y los hipuratos,
Creatinina, etc.

Los fisiólogos, y principalmente los patólogos, tienen interés en conocer las proporciones de la urea y de los otros compuestos nitrogenados de la orina. Por esto necesitan determinar la cantidad de nitrógeno eliminado en forma de urea y compararlo con la cantidad total del nitrógeno urinario. La relación de estas dos cantidades es conocida con el nombre de *relación o coeficiente azoúrico*. Para establecer dicho coeficiente es necesario determinar: 1.°, el nitrógeno de la urea; 2.°, el nitrógeno total.

Para determinar el nitrógeno de la urea se multiplica por 0,4666 ó $\frac{28}{60}$ el peso de la urea encontrada mediante uno de los procedimientos de análisis de este cuerpo. Para determinar el nitrógeno total se puede recurrir al procedimiento de Kjeldahl.

El coeficiente azoúrico es aproximadamente 0,85.

En estado normal, en 100 partes de nitrógeno total urinario en un hombre con una alimentación mixta regular, se encuentra de 84 a 87 por 100 de nitrógeno de la urea, 4 a 6 por 100

(1) Es mejor substituir esta substancia por el monosulfuro sódico para precipitar el mercurio: así se evita la producción de cuerpos sulfurados volátiles que dificultan la titulación. El hipofosfito de sosa precipita el mercurio en estado metálico.

de nitrógeno del amoníaco, 1 a 3 por 100 de nitrógeno del ácido úrico y, por último, 4 a 11 por 100 de nitrógeno perteneciente a las otras substancias nitrogenadas de la orina.

a. — *Urea*

1. La *urea* puede ser considerada como la *carbamida* (1). ¿Qué es la carbamida?

Los carbonatos neutros responden a una fórmula como

$$CO^3\begin{cases}Na\\Na\end{cases}$$

el ácido carbónico teórico es, pues:

$$CO^3\begin{cases}H\\H\end{cases}$$

compuesto que no se conoce, pero que podemos imaginar porque es necesario para la demostración. El gas carbónico CO^2 es el anhídrido carbónico obtenido quitando H^2O al ácido carbónico verdadero, del mismo modo que el anhídrido sulfúrico SO^3 se obtiene quitando H^2O al ácido sulfúrico SO^4H^2.

Las *amidas* pueden ser consideradas como resultantes de la substitución del grupo atómico NH^2 por el grupo atómico OH en los ácidos; por consiguiente, la carbamida responde a la fórmula:

$$CO\begin{cases}NH^2\\NH^2\end{cases}$$

Es la fórmula de la urea.

Entre el ácido carbónico teórico y la urea hay el cuerpo

$$CO\begin{cases}OH\\NH^2\end{cases}$$

que es el *ácido carbámico* (2).

(1) Se la puede preparar sintéticamente por todos los procedimientos generales de preparación de las amidas.

(2) No se conoce el ácido carbámico libre (se descompone inmediatamente en ácido carbónico y amoníaco); pero se conocen cierto número de sus sales, en particular el carbamato amónico, el carbamato de cal, etc. Estas sales son solubles en el agua, pero insolubles en el alcohol; el alcohol las precipita de sus soluciones acuosas. Las soluciones acuosas de los carbamatos son, por otra parte, muy instables;

Es sabido, por otra parte, que las *amidas* y las *sales amoniacales* presentan íntimas relaciones: las amidas pueden ser consideradas como sales amoniacales deshidratadas y las sales amoniacales como amidas hidratadas.

Así consideremos el ácido oxálico:

$$COOH — COOH.$$

La oxamida es:

$$CONH^2 — CONH^2,$$

y la sal amoniacal correspondiente, el oxalato amónico, es:

$$CO^2NH^4 — CO^2NH^4.$$

Se ve que:

$$[CONH^2]^2 + 2H^2O = (CO^2NH^4)^2.$$

Oxamida — Oxalato amónico.

Del mismo modo:

$$CO(NH^2)^2 + 2H^2O = CO^3(NH^4)^2.$$

Carbamida Urea — Carbonato amónico.

La urea es una substancia soluble, a la temperatura de 25°, en su peso de agua, o en cinco veces su peso de alcohol. Es más soluble en caliente en el alcohol o en el agua, y cristaliza por enfriamiento de sus soluciones acuosas o alcohólicas en largas agujas incoloras prismáticas del sistema rómbico.

Es soluble en el alcohol-éter, soluble en el éter acuoso, insoluble en el éter absoluto.

La urea forma con varios ácidos combinaciones cristalinas: las más importantes son el *nitrato* y el *oxalato de urea*, que son poco solubles en el agua. Si se trata una solución acuosa concentrada de urea (o sea que no contenga menos del 10 por 100 de urea a la temperatura de 15°) por el ácido nítrico fuerte, añadido en exceso, se produce un precipitado cristalison pocos solubles en el agua. Si se trata una solución acuosa concentrada de urea por una solución saturada de ácido oxálico, se produce un precipitado cristalino de oxalato de urea.

los carbamatos se descomponen en carbonatos y amoníaco. Se pueden, sin embargo, estabilizar las soluciones acuosas de carbamatos añadiéndoles amoníaco: los carbamatos son estables en líquidos amoniacales.

Notemos que el carbamato amónico ha sido encontrado entre los productos de oxidación de las proteínas por el permanganato potásico y que es uno de los precursores de la urea en el organismo, en el cual deriva de la desintegración de las proteínas de los tejidos.

Estas dos sales se disuelven, por otra parte, bastante bien en agua hirviente, de la que se precipitan parcialmente por enfriamiento en estado cristalino (1).

La urea en estado sólido presenta una reacción de coloración característica llamada *reacción de Schiff*. Los cristales de urea tratados por una solución concentrada de furfurol y por el ácido clorhídrico toman una serie de coloraciones (amarillo, verde, azul y violado) que terminan

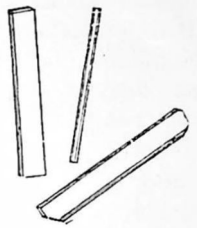


Fig. 98. — Urea (según Funke).

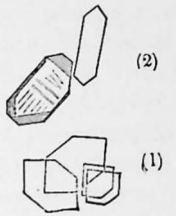


Fig. 99. — Nitrato (1) y oxalato de urea (2).

en el violado púrpura. Prácticamente, a 2 c. c. de una solución concentrada de furfurol, se añaden 5 gotas de ácido clorhídrico concentrado; y en esta mezcla, que no debe colorarse de rojo, se sumerge un cristal de la substancia que se supone puede ser urea; en algunos minutos se produce la coloración violada púrpura.

La urea o sus soluciones son descompuestas por algunos *agentes oxidantes*, como el *hipobromito sódico*, en gas carbónico y nitrógeno, en volúmenes iguales de ambos gases:

$$CO(NH^2)^2 + 3NaOBr = 3NaBr + CO^2 + N^2 + 2H^2O.$$

Por la influencia de ciertos microorganismos, la urea sufre una fermentación llamada *fermentación amoniacal:* dos moléculas de agua son fijadas sobre una molécula de urea; la urea es transformada en *carbonato amónico*. (Se obtiene la misma transformación con diversos agentes de hidratación y también con el agua sobrecalentada a 140°.) Se comprende sin dificultad

(1) El nitrato de urea es mucho menos soluble en el ácido nítrico que en el agua; el oxalato de urea es menos soluble en el ácido oxálico que en el agua: por este motivo se recomienda emplear un exceso de estos ácidos en solución concentrada cuando se quieren precipitar, partiendo de la urea, el nitrato o el oxalato de urea. Cuando se ha obtenido, por enfriamiento de la solución acuosa de nitrato u oxalato de urea, un depósito cristalino, se puede aumentar considerablemente este depósito añadiendo al líquido ácido nítrico o ácido oxálico en solución concentrada.

esta transformación, si se tiene presente lo que hemos dicho sobre el parentesco químico de la urea y el carbonato amónico.

En esta transformación de la urea, los microorganismos intervienen como productores de una diastasa llamada *ureasa*, capaz de hidrolizar la urea.

La orina dejada al aire sufre también la fermentación amoniacal: el fermento figurado, o, más exactamente, los fermentos figurados capaces de producir esta transformación, son abundantes en el polvo de la atmósfera. El carbonato amónico tiene reacción alcalina; la urea tiene reacción neutra. Cuando la urea sufre, pues, la transformación amoniacal, la orina toma una reacción alcalina cada vez más marcada.

Por último, vamos a presentar las tres siguientes reacciones que encuentran su aplicación en la dosificación exacta de la urea.

La urea es precipitada de sus soluciones por la adición de una solución diluída de nitrato de mercurio, y el cuerpo que se precipita, combinación de urea y nitrato de mercurio, tiene, por lo menos en circunstancias bien determinadas, una composición definida: $CO(NH^2)^2 + 2HgO$.

La urea calentada a alta temperatura, en un tubo cerrado, en presencia de una solución alcalina de cloruro de bario, se transforma en carbonato amónico.

La urea tratada por el cloruro de magnesio, o por el cloruro de litio, fundidos e hirvientes, se transforman en carbonato amónico.

Se puede extraer la urea pura de la orina humana. Para ello se evapora la orina hasta consistencia de jarabe; se añade ácido nítrico en exceso; se separa por filtración el nitrato de urea precipitado; se escurre por medio de una centrífuga, o bien se deseca entre dos hojas de papel secante; se vuelve a disolver en un poco de agua; se neutraliza el ácido nítrico que retiene por adición de carbonato de barita; se evapora a saciedad; se agota el residuo con alcohol absoluto; se coloca sobre un filtro; se concentra por evaporación en caliente el líquido alcohólico; la urea cristaliza por enfriamiento.

Entre los numerosos procedimientos que han sido propuestos para dosificar la urea de la orina, unos dan resultados imperfectos, y son aplicables a las investigaciones clínicas aproximadas; otros se han ensayado con resultados más exactos y se utilizan para los trabajos científicos y las investigaciones clínicas exactas.

Dosificación de la urea por el hipobromito de sosa. — Entre los primeros indicaremos el siguiente, que se funda en la descomposición de la urea en nitrógeno y gas carbónico por el hipobromito de sosa.

Supongamos que se añade a una solución de urea, a la orina, por ejemplo, un gran exceso de hipobromito de sosa y de lejía de sosa cáustica (1): la urea es descompuesta en gas carbónico y nitrógeno; el gas carbónico es retenido por la lejía de sosa cáustica y el nitrógeno es puesto en libertad solo.

$$NH^2 — CO — NH^2 + 3BrONa + 2NaOH = CO^3Na^2 + 3NaBr + N^2 + 3H^2O.$$

Se admite, y por esto el procedimiento no es exacto, puesto que esta hipótesis tampoco lo es, que la totalidad de la urea de la orina es transformada, y que la urea solamente, entre las substancias urinarias, es transformada en hipobromito de sosa.

Si se mide el volumen de nitrógeno desprendido se puede calcular la cantidad correspondiente de urea; 100 gramos de urea contienen 46,66 gramos de nitrógeno; 100 gramos de nitrógeno corresponden a 214,28 gramos de urea.

Prácticamente, se puede operar de la manera siguiente: un tubo AB, llamado *tubo de Yvon* (fig. 100), formado de dos partes A y B, unidas por una espita R, graduadas en décimas de centímetro cúbico, se coloca dentro de una probeta llena de mercurio M. La parte B del tubo se llena de mercurio. En la parte A se coloca la orina a analizar. Levantando el tubo de manera que la espita quede por encima del mercurio M, y abriendo esta espita, se hace penetrar en la parte B del aparato cierta cantidad de orina, cantidad que se puede conocer leyendo el descenso de nivel de la orina en la parte A del aparato. Se extrae con un papel secante lo que queda de líquido en A; se pone en su lugar la solución de hipobromito de sosa y se hace penetrar en la parte B, mediante la misma precedente maniobra, un volumen de esta solución igual a muchos volúmenes de la orina introducida. El desprendimiento gaseoso se produce; se lee en la parte B el volumen del gas: sea V este volumen, T la temperatura, H la presión atmosférica, F la tensión máxima del vapor de agua a la temperatura T, α el coefi-

(1) La solución de hipobromito de sosa que se emplea corrientemente se prepara como sigue: Se mezclan 60 cent. cúb. de agua y 120 cent. cúb. de sosa cáustica pura, al 30 por 100. Se deja enfriar y se añaden por pequeñas porciones, agitando sin cesar, 10 cent. cúb. de bromo. (Es preciso añadir el bromo muy lentamente, para evitar el calentamiento, que determinaría la formación de bromato, en lugar de hipobromito.)

ciente de dilatación cúbica de los gases; siendo el peso del litro de nitrógeno 1,256 gr., el peso del nitrógeno desprendido es:

$$p = V \times \frac{1}{1+aT} \times \frac{H-F}{700} \times 1{,}256$$

De donde se puede calcular el peso de urea P:

$$P = p \times \frac{214{,}28}{100},$$

o bien,

$$P = 2{,}1428p.$$

Se puede substituir el tubo de Yvon por el *tubo de Frédéricq* representado en la figura 101. La ampolla B sirve para medir los 2,5 c. c. de orina con los que se opera; el tubo DEF está graduado en la parte estrecha únicamente, E; la ampolla D tiene un volumen de 5, 15 ó 25 c. c. (hay que disponer de tres tubos, que se emplean según la riqueza respectiva de la orina en urea). El tubo estrechado E está graduado para 5 c. c.

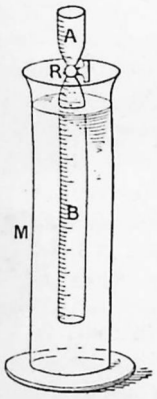


Fig. 100

Si no se dispone de la cubeta de mercurio se puede emplear un aparato dispuesto como indica la figura 102 (aparato de Regnard).

Dos pequeños matraces A y B están unidos por un tubo de vidrio encorvado T: los orificios *a* y *b* están cerrados, el uno por un tapón *a*, y el otro por un tapón *b* taladrado, en cuyo taladro se enchufa un tubo *t* (vidrio y caucho) que comunica con una pequeña campana *c*, graduada en décimas de centímetro cúbico y sumergida en el agua. Quitando los tapones *a* y *b*, se introduce en A la orina, 2 centímetros cúbicos, por ejemplo, y en B la solución de hipobromito de álcali alcalino, 10 c. c., por ejemplo; se cierra *a*, se fija el tubo en *b* y se lee el nivel del agua en la campana *c*, puesto que los niveles del agua tienen la misma altura en el interior que en el exterior de la campana. Inclinando el aparato AB se mezclan ambos líquidos: se produce un desprendimiento de nitrógeno; el nivel del agua baja dentro de la campana graduada *c*. Levantando la campana para que el nivel del líquido sea el mismo en el interior de la campana que en el exterior, se lee el nuevo nivel: de esta manera se sabe el aumento del volumen del gas contenido en el aparato, y, por consiguiente, el del nitrógeno desprendido. Se puede calcular su peso según la fórmula dada precedentemente. En general, bastan unas tablas que se venden con el aparato, las cuales dan, para cada temperatura, la cantidad de urea correspondiente a un aumento de volumen leído en el aparato.

Aun hay otro aparato más sencillo, que consiste en substituir los

matraces gemelos A-B por un frasco de vidrio de ancha abertura A, al fondo del cual se coloca la solución de hipobromito de sosa. En este frasco se introduce un tubo de vidrio que contiene la orina, tubo que se dispone de manera que no se verifique la mezcla de los dos líquidos. Se coloca el tapón de manera que el nivel del agua llegue dentro de la campana a la división 0. Se invierte el frasco A para que se verifique la mezcla de la orina y el hipobromitos (fig. 103).

La solución de hipobromito de sosa empleada se prepara mezclando 60 c. c. de lejía de sosa cáustica comercial, 140 c. c. de agua y 7 c. c. de bromo (pág. 433, nota).



Fig. 101. — Tubo ureométrico de Frédéricq.

Todos los procedimientos de dosificación de la urea mediante el hipobromito de sosa son reprochables de causas graves de error por las siguientes razones: 1.° La descomposición de la urea por el hipobromito de sosa no es integral; en general, no se recoge más del 92 por 100 del nitrógeno que contiene; el resto pasa al estado de ácido ciánico, que en presencia del exceso de sosa del reactivo forma cianato de sosa. 2.° El hipobromito de sosa descompone, por lo menos parcialmente, las sales amoniacales, el ácido úrico, las bases nucleicas, la creatinina, que acompañan siempre a la urea en la orina. Se ha propuesto para corregir estas causas de error, en lo concerniente a la primera de ellas, multiplicar el resultado obtenido por $\frac{100}{92}$ ó 1,087; en lo concerniente a la segunda causa de error, multiplicar el resultado después de la primera corrección por 0,955, porque en las orinas de composición mediana, por lo menos, el nitrato procedente de la destrucción de los compuestos nitrogenados que no sean la urea representa alrededor de 0,045 (o sea 1,000 — 0,955) del nitrógeno de la urea. Las dos correcciones, por otra par-

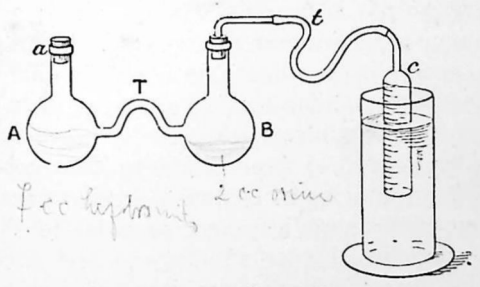


Fig. 102. — Aparato de Regnard.

te, se podrían hacer simultáneamente: bastaría multiplicar el resultado encontrado en la determinación por el número 1,087 × 0,955 ó 1,038. Pero las otras que hemos aceptado como representativas del error del análisis son únicamente promedios, y, por lo tanto, las correcciones no tienen sino un valor aproximativo.

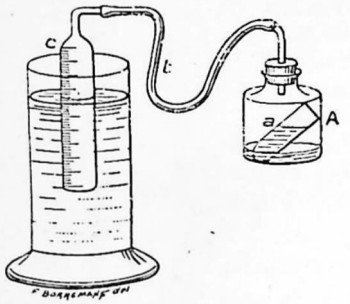


Fig. 103. — Disposición para dosificar la urea por el hipobromito. A, frasco de vidrio de ancha abertura, al fondo del cual se ha puesto la solución de hipobromito. — *a*, tubo que contiene un volumen conocido de orina. — *c*, campana graduada descansando sobre el agua y comunicando por el tubo de caucho *t* con el aparato A.

Se han propuesto modificaciones técnicas para suprimir estas causas de error. En lo concerniente a la primera, se ha propuesto añadir a la orina analizada azúcar de glicosa (por ejemplo, volúmenes iguales de orina y de una solución de glicosa al 20 por 100): en estas condiciones la totalidad de la urea es descompuesta y deja en libertad su nitrógeno. En lo concerniente a la segunda causa de error, antes de practicar el análisis, se trata la orina por el ácido fosfotúngstico, que precipita el ácido úrico, la creatinina y las sales amoniacales. (A 10 c. c. de orina se añaden 10 c. c. de agua destilada, 1 c. c. de ácido clorhídrico concentrado y 5 c. c. de ácido fosfotúngstico del comercio; se deja posar veinticuatro horas; se pone sobre un filtro; se lava el precipitado con agua y se juntan las aguas de lavado y el líquido filtrado. Se neutraliza mediante la sosa cáustica; se añade agua destilada hasta completar los 100 c. c. por ejemplo. Finalmente, se dosifica el hipobromito.)

Gracias a estas modificaciones, el procedimiento del análisis de la urea por el hipobromito es lo bastante preciso para lo que se necesita en la práctica médica, aun para la determinación del coeficiente azoúrico.

Sin embargo, para las investigaciones precisas, es preferible emplear un procedimiento más seguro. Los fisiólogos, en particular, han abandonado casi en absoluto el procedimiento del hipobromito, para servirse únicamente de alguno de los procedimientos que siguen, y bastantes clínicos imitan el ejemplo de los fisiólogos. De estos procedimientos, indicaremos únicamente los rasgos generales de los dos primeros; describiremos de una manera precisa el tercero, que nos parece el de elección para los fisiólogos y para los clínicos.

1.° **Método de titulación por el nitrato de mercurio.** — El nitrato de mercurio forma con la urea, en determinadas condiciones, una combinación definida que es insoluble en la orina. Se determina la cantidad de solución titulada de nitrato de mercurio que es necesario añadir a la orina para precipitar la urea. El compuesto de urea y de nitrato de mercurio es blanco: para saber si la precipitación es total, se pueden emplear substancias que forman con las sales de mercurio combinaciones coloradas (como el carbonato de sosa, o agua hervida con bicarbonato de sosa, que con las sales de mercurio forman una coloración amarilla o morenoamarilla). Sencillo en teoría, este procedimiento resulta en extremo complicado prácticamente, porque entre las substancias disueltas en la orina, la urea no es la única que se precipita por el nitrato de mercurio: los fosfatos y los cloruros principalmente, se combinan con la sal mercurial. Es necesario, pues, antes de proceder a la titulación de la urea, librar la orina de sus fosfatos y cloruros; ello complica extraordinariamente la operación.

2.° **Método barítico.** — La urea calentada a alta temperatura en un tubo cerrado, con una solución alcalina de cloruro de bario, se descompone en ácido carbónico y amónico. Basta, por lo tanto, una vez terminada esta descomposición, dosificar, bien el ácido carbónico o el amoníaco formados. Es conveniente, sin embargo, para obtener resultados exactos, librar previamente la orina de los productos nitrogenados que contenga, con excepción de la urea: se consigue de una manera suficiente tratando la orina por el ácido clorhídrico y el ácido fosfomolíbdico. Después de filtración se alcaliniza ligeramente con una lechada de cal, y después se calienta en un tubo cerrado. El amoníaco se dosifica haciendo salir mediante la magnesia y por titulación alcalimétrica. Así, aun resulta complicado este procedimiento, porque, además de las manipulaciones previas indicadas, es preciso tener en cuenta el amoníaco preexistente en la orina y dosificarlo separadamente (1).

3.° **Método por el cloruro de magnesio (procedi-**

(1) Para la práctica de estos procedimientos, véanse los tratados de química analítica, que indican todos los detalles para que el análisis sea rigurosamente exacto.

miento de Folin). — Es el *método de elección* para los fisiólogos y clínicos.

Se funda en que la urea es transformada en carbonato amónico cuando es calentada a la tempertura de ebullición del cloruro de magnesio fundido. De todas las materias urinarias, la urea es la única que produce amoníaco en estas condiciones; el ácido úrico, el ácido hipúrico y la creatinina principalmente no producen ni indicios de él. Es conveniente, para que el amoníaco no se pierda durante el calentamiento, añadir ácido clorhídrico (no impidiendo, por otra parte, la hidrólisis de la urea por el cloruro de magnesio fundido). El amoníaco se dosifica en seguida, como en la determinación del nitrógeno total, por desplazamiento por la sosa cáustica, destilación y recepción en una solución ácida titulada.

Se procederá, pues, de la manera siguiente:

En un pequeño matraz de ensayo, de cuello muy largo (fig. 97), de 150 a 200 c. c. de capacidad, se introducen 5 c. c. de orina, 35 gramos de cloruro de magnesio cristalizado (1) y 5 c. c. de ácido clorhídrico concentrado. Se calienta hasta la ebullición, disponiendo la llama de manera que la condensación de los vapores se verifique en la mitad inferior del largo cuello del matraz inclinado a 45°. La temperatura de la mezcla es de 160-165°. Se mantiene en ebullición durante una hora; después se deja enfriar; se añade agua y se transvasa al aparato de destilación del amoníaco, dispuesto como hemos indicado en la página 427.

Para obtener buenos resultados es recomendable que la cantidad de líquido a destilar no sea superior a 250 c. c. A este líquido se añade por pequeñas porciones sosa para neutralizar el exceso de ácido clorhídrico, y después unos 5 c. c. de una lejía de sosa al 25 por 100 (unos 30° Baumé). Se destila lentamente, de modo que sólo pasen de 15 a 20 gotas por minuto, durante 30 ó 40 minutos (resultan unos 30 centímetros cúbicos destilados) (2). El amoníaco destilado es condensado en 20 c. c. de ácido sulfúrico 1/5 normal (9,8 gramos de ácido sulfúrico SO^4H^2 por litro). Se titula en seguida el ácido con una solución decinormal de amoníaco (1,7 gr. de NH^3 por litro) en presencia del tornasol indicador.

(1) Se ha propuesto reemplazar el cloruro de magnesio por el cloruro de litio anhidro para la transformación de la urea en carbonato amónico: la experiencia ha demostrado que la destilación del amoníaco que termina el análisis se verifica con más regularidad en un líquido que tenga en solución litina disuelta, que en un líquido que tenga magnesia en suspensión. En este caso se opera con 5 centímetros cúbicos de orina, a los que se añaden 15 gramos de cloruro de litio y 3 centímetros cúbicos de ácido clorhídrico.

(2) Cuando el producto de la destilación no contiene amoníaco, se verifica mediante el reactivo de Nessler (véase pág. 442).

Procediendo así, se determina el amoníaco resultante de la hidrólisis de la urea y el amoníaco preexistente en la orina en estado de sales amoniacales. O sea, que para terminar el análisis de la urea, se debe determinar la cantidad de amoníaco contenida en la orina (v. pág. 443) y restar el número así obtenido del análisis precedente.

Ejemplo de cálculo.

Supongamos que para neutralizar el ácido en el cual se ha hecho la condensación amoniacal (para 20 c. c. de ácido puro 1/5 normal es preciso emplear 40 c. c. de amoníaco décimonormal) sea preciso añadir 6 c. c. de la solución décimonormal de amoníaco. Se ha destilado el equivalente de 34 c. c. de una solución décimonormal de amoníaco. Puesto que 1 c. c. de una solución décimonormal de amoníaco contiene 0,0017 gr. de amoníaco, se han destilado, pues, $0{,}0017 \times 34$, o sea 0,0578 gr. Supongamos que la orina examinada contenga 0,0035 gr. de amoníaco; la diferencia 0,0578—0,0035, o sea 0,0543 gr., representa el amoníaco resultante de la hidrólisis de la urea. Y puesto que a un gramo de amoníaco corresponden $\frac{60}{34}$ gr., o sea 1,765 gr. de urea; la cantidad de urea contenida, pues, en los 5 c. c. de orina analizada es de 0,0543 por 1,765, o sea 0,0958 gr.; la cantidad contenida en un litro es 200 veces mayor, o sea 19,16 gr.

La cantidad de urea excretada normalmente por la orina de un hombre adulto de peso regular y alimentándose regularmente con alimentación mixta, en parte animal y en parte vegetal, es de 30 gramos poco más o menos en las veinticuatro horas. Varía considerablemente según la alimentación.

La urea, substancia azoada, ¿es necesariamente un *producto de desasimilación de las substancias nitrogenadas del organismo*, o sea de las substancias proteicas? ¿Se forma directamente, o bien no es más que el último término de una serie de transformaciones sucesivas?

Los químicos han obtenido, por diversos procedimientos, productos de descomposición de las proteínas. Entre estos productos de descomposición, hemos señalado los amidoácidos, glicocola, leucina, tirosina, ácidos aspártico y glutámico, arginina, lisina, etc. Podemos señalar también el gas carbónico, el amoníaco, etc.

No vamos a examinar aquí más que la cuestión en el orden puramente fisiológico de la formación de la urea en el organismo. Por lo tanto, nos contentaremos con fijar los siguientes puntos.

El organismo de los mamíferos posee la propiedad de transformar en urea el carbonato amónico, el carbamato amónico y, en general, las sales amoniacales que pueden transformarse en carbonato amónico en el organismo (1) (la transformación del carbonato y del carbamato amónicos en urea se verifica en el hígado); puesto que se ha podido señalar la presencia en los tejidos y en la sangre de substancias amoniacales y de carbonatos y carbamatos alcalinos. Por otra parte, los fisiólogos han demostrado que en caso de supresión patológica o experimental del hígado, la proporción de urea en la masa de los compuestos nitrogenados de la orina disminuye, al mismo tiempo que la proporción del amoníaco aumenta (disminuye el coeficiente azoúrico) (2).

(1) Son transformadas en carbonatos dentro de la economía las sales alcalinas de ácidos orgánicos, como los acetatos, los tartratos, los malatos, los citratos, etc. No son transformadas en carbonatos dentro de la economía las sales alcalinas de ácidos minerales y las sales alcalinas derivadas de los ácidos láctico, oxibutírico y acetilacético.

(2) En las primeras ediciones de esta obra escribíamos:

«El conocimiento del coeficiente azoúrico, o sea de la relación $\frac{\text{nitrógeno total}}{\text{nitr. de la urea}}$ ha adquirido desde algunos años una importancia considerable, desde el punto de vista del establecimiento del diagnóstico de las insuficiencias hepáticas. No obstante, no creemos que esta determinación sea la más importante entre todas las que para esto se pueden elegir. Para la insuficiencia hepática, refiriéndose principalmente al valor relativo de la urea y del amoníaco, creemos que es preferible determinar la relación $\frac{\text{Nitrógeno de la urea}}{\text{Nitróg. de la urea+Nitr. del NH}^3}$ o la relación complementaria $\frac{\text{Nitrógeno del NH}^3}{\text{Nitr. de la urea+Nitr. del NH}^3}$. Esta determinación puede hacerse, por otra parte, mediante dos análisis (1.° amoníaco de la urea+amoníaco preformado; 2.°, amoníaco preformado), suprimiendo el análisis del nitrógeno total. Permitiría, además, suprimir los cálculos suplementarios, porque las dos relaciones aquí arriba indicadas podrían ser reemplazadas por las relaciones iguales $\frac{\text{Amoníaco de la urea}}{\text{Amoníaco total}}$ y $\frac{\text{Amoníaco preformado}}{\text{Amoníaco total}}$. Sólo faltaría encontrar un nombre convenientemente escogido para tener el éxito seguro.»

Nuestro deseo así formulado ha sido realizado. Se ha estudiado en particular la relación:

$$\frac{\text{Nitrógeno del NH}^3}{\text{Nitr. del NH}^3\text{+Nitr. de la urea}},$$

y también la relación:

$$\frac{\text{Nitr. del NH}^3 + \text{Nitr. de los amidoácidos}}{\text{Nitr. de la urea + Nitr. del NH}^3 + \text{nitr. de los amidoácidos}};$$

desde que se ha reconocido la presencia en la orina de cantidades no despreciables de ácidos aminados. La substitución por esta última relación de la precedente es recomendable, ya que el nitrógeno de los ácidos aminados, como el del amoníaco, es ureificable.

El valor de estos diversos coeficientes varía en el hombre normal de una manera muy sensible, según el régimen alimenticio. El valor medio del coeficiente azoúrico es de 0,85 (de 0,81 a 0,92).

El valor medio de la relación $\frac{\text{Nitr. del amoníaco}}{\text{Nitr. del amon.+Nitr. de la urea}}$ es de 0,06.

El valor medio de la relación $\frac{\text{Nitr. de la urea}}{\text{Nitr. de la urea+Nitr. del amon.}}$ es de 0,94.

Es conveniente hacer notar que el conocimiento de estos coeficientes urinarios no se manifiesta siempre en una conclusión clínica única. La disminución del coeficiente azoúrico y el aumento del coeficiente $\frac{\text{Nitr. del NH}^3}{\text{Nitr. del NH}^3\text{+Nitr. de la urea}}$ se manifiestan, por lo menos, en dos circunstancias: 1.°, cuando el hígado no transforma en la misma proporción que en el hombre normal los compuestos nitrogenados generadores de la urea, habiendo entonces insuficiencia hepática; 2.°, cuando el organismo fabrica en superabundancia los ácidos estables fijadores de amoníaco, que se substraen a la acción ureogénica del hígado, existiendo entonces hiperacidosis, o sencillamente acidosis. Corresponde en cada caso al clínico escoger entre las dos conclusiones posibles que llevan las variaciones de los coeficientes urinarios.

Por consiguiente, estamos autorizados para afirmar que una parte de la urea producida en el organismo deriva de la transformación intrahepática de los compuestos amoniacales, y en particular de los carbonatos y carbamatos formados por un mecanismo, que por otra parte ignoramos, en los tejidos.

El organismo de los mamíferos posee la propiedad de transformar en urea los ácidos monoaminados, en particular la leucina y la glicocola: la transformación se verifica en el hígado. Investigaciones delicadas han permitido, además, reconocer la presencia de estos ácidos monoaminados libres en la sangre y en los tejidos, y se ha señalado su presencia en pequeña cantidad en la orina. Además, sabemos, por una parte, que la glicocola existe combinada con el ácido colálico en la bilis, y combinada con el ácido benzoico en la orina, y por otra parte, que las moléculas albuminosas están esencialmente constituídas por la reunión de los núcleos de los aminoácidos; por consiguiente, la hipótesis de una producción temporal de aminoácidos libres y de su transformación en urea por el hígado es, si no cierta, por lo menos muy racional.

Los fisiólogos demuestran que una parte de la urea producida deriva necesariamente de los tejidos sin pasar por la forma amoniacal o carbámica. Hemos visto precedentemente que por la influencia del agua de barita, la arginina forma urea; hemos visto que por la influencia de una diastasa de la mucosa intestinal, la arginasa, la arginina forma ornitina y urea; puesto que la arginina es un elemento de la constitución fundamental de la molécula albuminosa, estamos autorizados para suponer que en el organismo de los mamíferos

una parte de la urea producida se deriva del núcleo arginina de la armazón protamínica de las substancias albuminosas.

b) *Amoníaco y sales amoniacales urinarias*

El amoníaco libre es un gas de olor característico, muy soluble en el agua. La solución acuosa de amoníaco tiene una reacción fuertemente alcalina; pierde la totalidad de su amoníaco a la temperatura de ebullición; a la temperatura ordinaria, pierde amoníaco en cantidad más o menos grande según su riqueza.

El amoníaco, base enérgica, se combina directamente con los ácidos para formar sales bien definidas, cristalizables, equivalentes a las sales correspondientes de potasio y de sodio. Estas sales son desdobladas por los álcalis cáusticos o por las tierras alcalinas: el amoníaco es puesto en libertad, y se forma una sal alcalina o alcalinotérrea.

Se puede caracterizar el amoníaco por su olor, por su reacción alcalina, por el humo blanco que forma con los vapores de ácido clorhídrico, etc., y, por último, con el *reactivo de Nessler*.

Se prepara este reactivo de la manera siguiente: se disuelven 2 gramos de yoduro potásico en 60 centímetros cúbicos de agua; se añade yoduro rojo de mercurio calentando ligeramente, hasta que esta sal no se disuelva ya; se añaden 60 centímetros cúbicos de agua. A este líquido se añade volumen y medio de una solución concentrada de potasa cáustica; y, si se ha producido algo de precipitado, se filtra. Hay que conservar el reactivo en frascos bien tapados.

El reactivo de Nessler precipita el amoníaco en negro; esta reacción es muy sensible.

Para reconocer la presencia del amoníaco o de sus sales en un líquido o en un tejido del organismo que contenga una proporción notable de él, se añade sosa cáustica en exceso y se calienta ligeramente. El amoníaco se revela por su olor característico; hace volver azul el papel de tornasol humedecido, expuesto a la acción de sus vapores; forma, con los vapores que se desprenden de un frasco abierto de ácido clorhídrico, humaredas blancas.

Cuando la cantidad de amoníaco o de sales es pequeña, es preferible proceder de la manera siguiente: Se disponen uno detrás de otro tres burbujeadores de bola; el primero contiene ácido sulfúrico concentrado; el segundo, el líquido a examinar, adicionado de sosa cáustica o de una lechada de cal; el tercero, el reactivo de Nessler; todo está en relación con un aspirador. El aire, atravesando el ácido sulfúrico, se libra del amoníaco que podía contener; atravesando el líquido a examinar, absorbe amoníaco y lo arrastra hacia el reactivo de Nessler, que se colora de negro o precipita en negro, según la cantidad de amoníaco arrastrado.

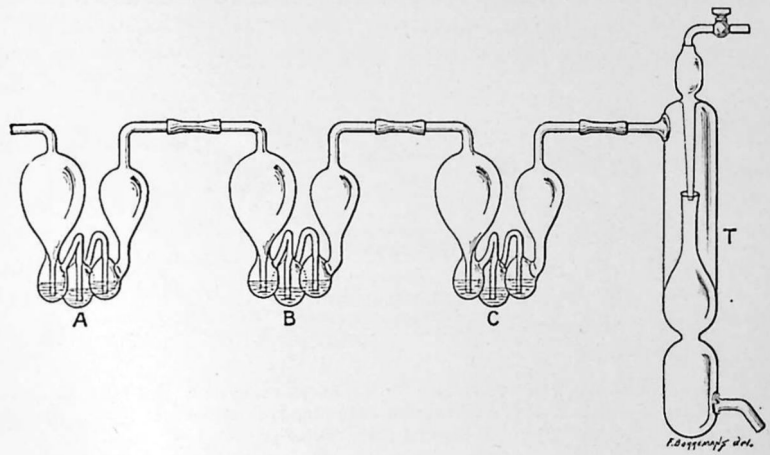


Fig. 104. — A, aparato de bolas que contiene ácido sulfúrico concentrado. — B, aparato que contiene el líquido alcalinizado. — C, aparato que contiene el reactivo de Nessler. — T, trompa de agua.

Para dosificar el amoníaco de la orina se han propuesto muchos procedimientos; el más recomendable de todos, el *procedimiento de elección* para fisiólogos y clínicos, es el procedimiento de Schloesing ligeramente modificado. He aquí cómo hay que proceder:

En un cristalizador de vidrio de unos 10 centímetros de diámetro se introducen 25 centímetros cúbicos de orina y 6 centímetros cúbicos de una lechada de cal al 10 por 100 (cal, 10; agua, cantidad suficiente para 100 centímetros cúbicos). El cristalizador y su contenido se colocan bajo una campana bien esmerilada que cierre exactamente; encima de este cristalizador se coloca sobre un triángulo una cápsula de cristal que contenga 10 centímetros cúbicos de ácido sulfúrico 1/4 normal (12,25 gramos de ácido sulfúrico por litro). Se deja todo durante tres días a la temperatura ordinaria. En estas condiciones, todo el amoníaco contenido en la orina en estado de amoníaco o de sales amoniacales se ha desprendido y ha sido absorbido por el ácido sulfúrico. Basta titular el ácido, por ejemplo, con una solución décimonormal de sosa (4 gra-

mos NaOH por litro), para poder calcular la cantidad de amoníaco producida por los 25 centímetros cúbicos de orina.

Este procedimiento de dosificación del amoníaco, notable por su extremada sencillez, tiene el inconveniente de no proporcionar el resultado sino tres días después de empezado el análisis. Es de temer que durante estos tres días de espera, una parte de la urea contenida en la orina haya sufrido, no obstante la alcalinidad de la mezcla (orina y lechada de cal), una ligera fermentación amoniacal y que los resultados del análisis sean ligeramente alterados por la introducción del amoníaco neoformado. Se ha propuesto fluorar la orina; pero en presencia de la lechada de cal, el fluoruro es precipitado, y su acción antiséptica queda suprimida; sería preferible, seguramente, en el caso presente, asegurar la asepsia de la mezcla saturándola de cloroformo; se podrían, por ejemplo, añadir a la orina algunas gotas de cloroformo y agitar vigorosamente al comienzo del análisis, colocando debajo de la campana *c*, al lado del cristalizador *a* (fig. 105), un platillo con un poco de cloroformo para asegurar la saturación clorofórmica de todo el contenido de la campana.

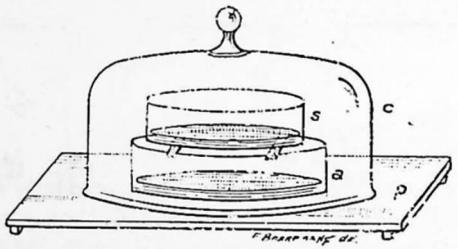


Fig. 105. — Dosificación del amoníaco. *c*, campana esmerilada descansando sobre un plano de cristal P. — *a*, cristalizador conteniendo la mezcla de orina y lechada de cal. — *s*, cristalizador conteniendo ácido sulfúrico.

Ejemplo. Terminada la operación, supongamos que se han necesitado 20 centímetros cúbicos de sosa décimonormal para neutralizar el ácido. Como que son necesarios 25 centímetros cúbicos de esta solución para neutralizar los 10 centímetros cúbicos de ácido sulfúrico 1/4 normal, una parte de este ácido ha sido neutralizada por una cantidad de amoníaco equivalente a 5 centímetros cúbicos de la solución décimonormal de sosa, y equivalente, por consiguiente, a $0{,}004 \times 5$ gramos, o sea 0,02 gramos de sosa cáustica. Puesto que el examen de las fórmulas químicas de la sosa NaOH y del amoníaco NH^3 enseña que 40 gramos de sosa son químicamente equivalentes a 17 gramos de amoníaco; que 1 gramo de sosa es químicamente equivalente a $\frac{17}{40}$, o sea 0,425 gramos de amoníaco; por lo tanto, 0,02 gramos de sosa corresponden a 0,02 por 0,425 gramos, o sea 0,0085 gramos de amoníaco. Si, pues, 25 centímetros cúbicos de orina contienen 0,0085 gr. de amoníaco, un litro, que contiene 40 veces más, contendrá $0{,}0085 \times 40$, o sea 0,340 gramos.

Se han descrito otros muchos procedimientos, que, más rápidamente que el precedente, producen resultados exactos; pero ninguno de estos procedimientos responde tan bien como el precedente a los deseos de sencillez del fisiólogo. Por ello no creemos útil exponerlos aquí.

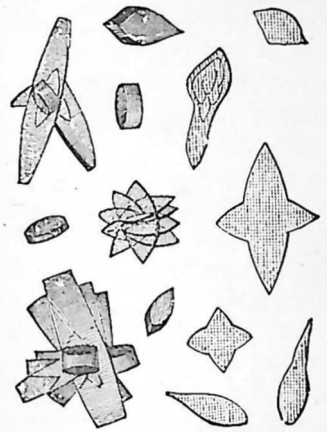


Fig. 106. — Ácido úrico hidratado precipitado de la orina por los ácidos.

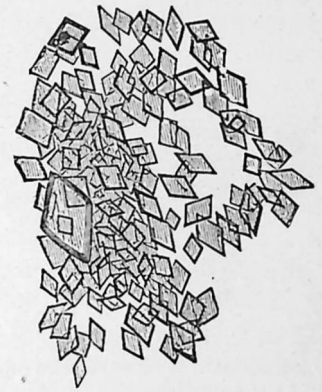
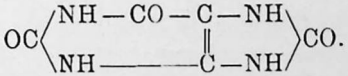


Fig. 107. — Otro aspecto del ácido úrico hidratado posado en la orina.

c) *Acido úrico y uratos*

El *ácido úrico* $C^5H^4N^4O^3$ se encuentra en la orina en estado de uratos. El ácido úrico es en extremo poco soluble en el agua: se disuelve en unas 2.000 partes de agua hirviente y en unas 15.000 partes de agua fría. Es insoluble en el éter.

Su fórmula de constitución es



Es una trioxipurina (v. Cap. V, pág. 150).

El ácido úrico, ácido bibásico, forma dos series de sales, los *uratos* y los *biuratos*, como:

$C^5H^2N^4O^3Na^2$, urato de sosa,
$C^5H^3N^4O^3Na$, biurato de sosa.

Los uratos neutros, siendo poco solubles en el agua, sin embargo, lo son mucho más que el ácido úrico: el urato neutro de sosa se disuelve a la temperatura ordinaria en 75 partes de

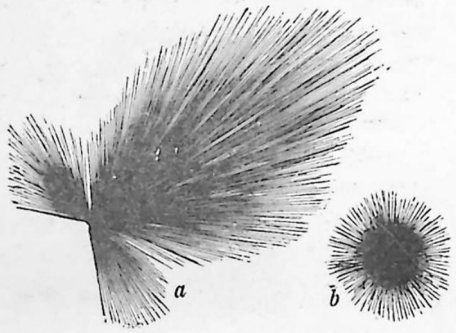


Fig. 108.—Urato amónico ácido, cristalizado por enfriamiento de su solución en agua caliente.

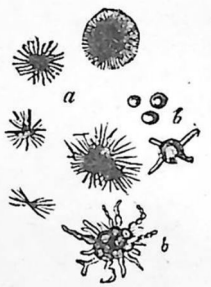


Fig. 109. — Urato ácido de sosa en agujas y esférulas.

agua; el urato neutro de potasa, en 40 partes de agua; el urato neutro de cal, en 1.500 partes de agua.

Los biuratos son, en general, menos solubles que los uratos neutros; el biurato de sosa se disuelve en 1.200 partes de agua; el biurato de potasa se disuelve en 800 partes de agua; el biurato amónico, en 1.600 partes de agua, y el biurato de cal, en 600 partes de agua.

Debido a que se combina directamente con los álcalis para formar los uratos alcalinos más solubles en el agua que el ácido úrico, alguna vez se dice que este último es soluble en los álcalis; se disuelve en ellos, es verdad, pero transformándose en uratos.

La orina humana contiene principalmente urato neutro de sosa y algo de urato neutro de potasa (la orina de los pájaros y de los reptiles contiene principalmente biurato amónico).

Los uratos son descompuestos por los ácidos minerales, como el ácido clorhídrico; se forma ácido úrico y una sal de ácido mineral, como un cloruro.

Los uratos poseen la propiedad de reducir el licor de Fehling formando un precipitado blanquecino de urato de cobre; pero no poseen la propiedad de reducir en presencia de los álcalis las sales de bismuto (1).

El ácido úrico y los uratos presentan dos reacciones de coloración (la reacción de la murexida y la reacción de Denigès) que debemos señalar:

Reacción de la murexida. — Si en una pequeña cápsula de porcelana se echan sobre una pequeña cantidad de ácido úrico o de uratos sólidos algunas gotas de ácido nítrico y se calienta, se produce un abundante desprendimiento gaseoso, al mismo tiempo que el ácido úrico se disuelve. Si se evapora al baño de María hirviente el líquido así obtenido, deja un residuo amarillo. Si después de enfriamiento se añaden a este residuo algunas gotas de amoníaco, la coloración se vuelve rojo púrpura; si en lugar de amoníaco se añade potasa, la coloración se vuelve azul o azul violada. Este conjunto de reacciones de coloración es lo que constituye la reacción conocida con el nombre de murexida (2). (Lám. color V, figs. P_1, P_2, P_3.)

Reacción de Denigès. — Si en una pequeña cápsula de porcelana se calienta unos instantes hasta la ebullición una pequeña cantidad de ácido úrico o de uratos sólidos, con agua y un poco de ácido nítrico, si se evapora a poca temperatura y se añaden al residuo 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico, y otro tanto de bencina comercial (3), se produce una coloración azul; este color pasa a moreno cuando se evapora la bencina por el calor, y se reproduce cuando se añaden de nuevo algunas gotas de bencina.

Para *dosificar aproximadamente el ácido úrico* de un líquido que contiene uratos, y de la orina en particular, hay que fundarse en la descomposición de los uratos por un ácido mineral y en la insolubilidad del ácido úrico.

A 200 centímetros cúbicos de orina se añaden 10 centímetros cúbicos de ácido clorhídrico de 1,12 de densidad, y se deja la mezcla en un lugar fresco durante cuarenta y ocho horas. El depósito de ácido úrico no se hace inmediatamente; pero al cabo de veinticuatro horas (generalmente al cabo de algunas horas) se ve formarse en las paredes y en el fondo del vaso un precipitado cristalino, fuertemente colorado, de

(1) Este hecho presenta un interés evidente, desde el punto de vista de la investigación de la glicosa en la orina: enseña que en caso de ligera reducción del licor de Fehling por una orina, es preciso, antes de afirmar que esta orina contiene azúcar, obtener un resultado positivo con la solución de bismuto.

(2) La reacción de la murexida no es rigurosamente característica del ácido úrico: se obtiene igualmente con la xantina, la cistosina, etc.

(3) No debe emplearse la bencina purificada, pues la bencina comercial no interviene en la reacción más que por una impureza que contiene, el tiofeno.

ácido úrico. Se echa sobre un filtro, se lava el precipitado con un poco de agua, se deseca en el vacío y se pesa (1).

Para dosificar con más exactitud el ácido úrico se pueden emplear numerosos procedimientos. Entre estos procedimientos explicaremos únicamente el siguiente, recomendable al fisiólogo y al médico por su suficiente exactitud y por su fácil ejecución.

A 300 centímetros cúbicos de orina se añaden, para precipitar una substancia mucoide cuya presencia alteraría el resultado del análisis, 75 centímetros cúbicos de un reactivo conveniente (agua, 650 centímetros cúbicos; ácido acético al 10 por 100, 60 centímetros cúbicos; sulfato amónico, 500 gramos; acetato de uranio, 5 gramos). Se agita y se deja en reposo 5 minutos; se pone sobre un filtro y se recoge el líquido filtrado, para dosificar el ácido úrico. A 125 centímetros cúbicos de este líquido se añaden 5 centímetros cúbicos de amoníaco concentrado; se agita, se deja descansar veinticuatro horas: el ácido úrico se posa en estado de urato amónico. Se pone sobre un filtro sin pliegues y se lava el urato de amoníaco posado mediante una solución acuosa de sulfato amónico al 10 por 100. Se hace pasar luego el precipitado del filtro en un vaso de Bohemia para análisis, mediante un pequeño chorro de agua hirviente débilmente alcalinizada por el carbonato de sosa, y se añade suficiente cantidad hasta completar los 100 centímetros cúbicos. Se deja enfriar y se añaden por pequeñas porciones 15 centímetros cúbicos de ácido sulfúrico concentrado. Se termina titulando el ácido úrico con una solución N/20 de permanganato potásico (que contenga 1,582 gramos de permanganato por litro) a una temperatura de 50-60°, que se va añadiendo hasta que la coloración del permanganato añadido no desaparezca ya. Cada centímetro cúbico de esta solución decolorada corresponde a 3,75 miligramos de ácido úrico.

La cantidad de ácido úrico contenida en la orina del hombre adulto, con una alimentación mixta, en veinticuatro horas varía de 0,2 gramos a 1,25 gramos, cifras que representan los extremos en estado normal, oscilando generalmente alrededor de 0,7 gramos. Esta cantidad aumenta considerablemente en los casos de leucemia; en este caso puede llegar a 4 gramos. Aumenta también bajo la influencia de una alimentación rica en núcleoproteidos.

En las *aves* y en los *reptiles*, el ácido úrico representa la mayor parte de la excreción urinaria nitrogenada: la urea está muy escasa. La abundancia de uratos poco solubles en la orina de las aves y de los reptiles explica el estado de la orina de estos seres: estas orinas son en parte sólidas.

(1) Existen dos procedimientos de dosificación más precisos, de los cuales se encontrará la descripción en los tratados de química analítica. Indicamos más adelante un procedimiento que permite dosificar el nitrógeno púrico (nitrógeno del ácido úrico y de las bases xánticas).

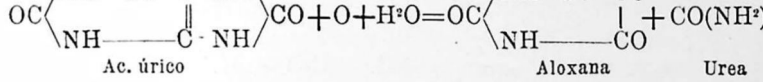
Entre las *principales reacciones de descomposición* del ácido úrico, señalaremos la siguiente, que presenta cierto interés para el fisiólogo.

Por la influencia de agentes oxidantes, como el ácido nítrico, el permanganato de potasa, etc., el ácido úrico se descompone y forma diversos productos, entre los cuales se encuentra la *urea*.

1.° Haciendo obrar sobre el ácido úrico el ácido nítrico en frío o el cloro (estas dos substancias intervienen como agentes oxidantes) se han obtenido urea y aloxana

$$C^5H^4N^4O^3 + O + H^2O = C^4H^2N^2O^4 + CO(NH^2)^2$$

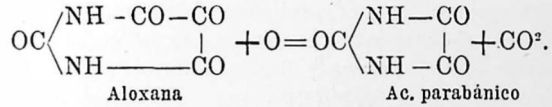
o



Haciendo obrar el ácido nítrico caliente (este ácido interviene como agente oxidante) sobre la aloxana, se transforma en ácido parabánico y ácido carbónico

$$C^4H^2N^2O^4 + O = C^3H^2N^2O^3 + CO^2$$

o



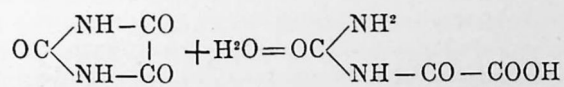
El ácido parabánico, por hidratación (la ebullición con agua basta para obtener este resultado), forma primeramente ácido oxalúrico, después ácido oxálico y urea

$$C^3H^2N^2O^3 + H^2O = C^3H^4N^2O^4 \text{ (ácido oxalúrico)}$$

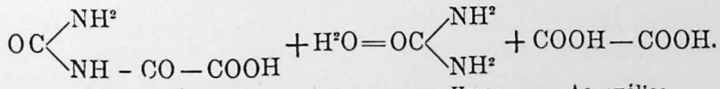
y

$$\underset{\text{Ac. oxalúrico}}{C^3H^4N^2O^4} + H^2O = \underset{\text{Urea}}{CO(NH^2)^2} + \underset{\text{Ac. oxálico}}{C^2O^4H^2}$$

o



y

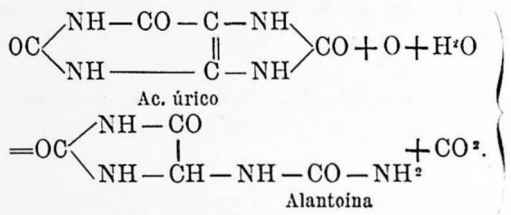


2.° Haciendo obrar sobre el ácido úrico permanganato de potasa, o en ebullición el bióxido de plomo, se forman alantoína y ácido carbónico

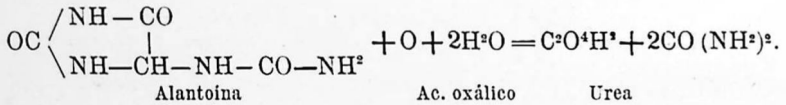
$$C^5H^4N^4O^3 + O + H^2O = C^4H^6N^4O^3 + CO^2$$

Ac. úrico — Alantoína

o



La acción prolongada de los oxidantes descompone, por otra parte, la alantoína en ácido oxálico y urea



Como los agentes oxidantes permiten obtener la urea partiendo del ácido úrico, se ha sacado la conclusión de que en el organismo la urea podría tener como precursor al ácido úrico, en otras palabras, se ha sacado la conclusión de que el ácido úrico es un producto incompletamente oxidado de la desasimilación nitrogenada del organismo, siendo la urea el producto más oxidado. Se ha comprobado, además, que la inyección de ácido úrico o de uratos determina un aumento de la excreción de urea en los mamíferos.

Pero estas conclusiones son puramente hipotéticas, y sobre ellas se pueden formular dos objeciones capitales:

1.° En las aves, en cuyo organismo las oxidaciones son tan enérgicas como en los mamíferos, el ácido úrico domina en la orina y la urea es poco abundante en ella. Hay más: si a las aves se les inyectan ácidos amidados (leucina, glicocola, por ejemplo), y también urea, se comprueba que el ácido úrico aumenta en la orina y que la urea no aumenta.

2.° En las enfermedades en que hay desarreglos de la respiración pulmonar o de la respiración íntima de los tejidos, después de hemorragias, en atmósferas confinadas o pobres en oxígeno, no se pueden comprobar el aumento del ácido úrico en la orina y la disminución de la urea en los mamíferos.

Hemos indicado precedentemente (pág. 150) las íntimas relaciones químicas que unen el ácido úrico y las bases xánticas, que hemos encontrado entre los productos de la descomposición de los ácidos nucleicos, de las nucleínas y de los núcleoproteidos. Es un hecho de importancia capital: los fisiólogos y los clínicos reúnen todos estos cuerpos en un grupo al que dan el nombre de *grupo de los derivados de la purina.*

El ácido úrico y las bases xánticas son considerados, en efecto, actualmente, como derivados próximos de la purina: el ácido úrico es una trioxipurina; las bases xánticas son: la adenina, una amidopurina; la hipoxantina, una oxipurina; la guanina, una amidooxipurina, y la xantina, una dioxipurina (véase Cap. V, pág. 150).

Estas relaciones son interesantes de conocer porque permiten suponer que el ácido úrico producido en el organismo de los mamíferos se deriva del núcleo nucleico de los núcleoproteidos de los tejidos, aunque los químicos no hayan podido obtener el ácido úrico *in vitro*, entre los productos de descomposición de los núcleoproteidos. Nuestra hipótesis se apoya por otra parte en el hecho del aumento de la eliminación úrica después de una abundante ingestión de núcleoproteidos.

Los fisiólogos y los patólogos pueden determinar la cantidad de nitrógeno eliminada en forma de ácido úrico y de bases xánticas, o sea la cantidad de *nitrógeno de las purinas*, por el siguiente procedimiento:

100 centímetros cúbicos de orina no albuminosa (o libre de la albúmina por coagulación) se llevan a la ebullición, adicionados de 10 centímetros cúbicos de una solución de bisulfato de sosa al 50 por 100 e inmediatamente después de 10 centímetros cúbicos de una solución de sulfato de cobre al 10 por 100; se lleva todo a la ebullición. En estas condiciones se produce una combinación insoluble de oxídulo de cobre y purinas (ácido úrico y bases xánticas). Para favorecer la precipitación, se añaden 5 centímetros cúbicos de una solución acuosa de cloruro de bario al 10 por 100 que forma un precipitado de sulfato de barita que arrastra la combinación cupropúrica. Se deja reposar dos horas; se pone sobre un filtro y se lava con agua templada. No falta sino dosificar por el procedimiento de Kjeldahl el nitrógeno del precipitado (se tratan el filtro y el precipitado, a reserva de determinar el nitrógeno contenido en un filtro idéntico): es el nitrógeno de las purinas.

Para dosificar el nitrógeno de las purinas existen otros procedimientos, que se encontrarán expuestos en los tratados de química analítica.

Si se quiere distinguir en este conjunto la parte procedente del ácido úrico y la procedente de las bases xánticas, lo que puede interesar para ciertas investigaciones, es preciso dosificar exactamente el ácido úrico, calcular el nitrógeno correspondiente y excluirlo del nitró-

geno de las purinas, para obtener el nitrógeno de las bases xánticas. En este caso el ácido úrico debe ser dosificado con mucha exactitud.

La cantidad de purinas de la orina (no comprendiendo el ácido úrico) es, para el hombre, de 15 a 45 miligramos por día.

El ácido úrico y los uratos que son eliminados por la orina en los mamíferos no representan verosímilmente más que una parte del ácido úrico formado por los tejidos, porque el hígado posee la propiedad de transformarlos en urea.

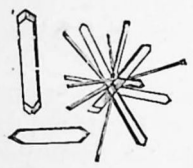


Fig. 110—Ácido hipúrico (según Funke).

Los fisiólogos demuestran, por el contrario, que en las aves, el ácido úrico y los uratos urinarios tienen un doble origen: una parte proviene directamente de la desintegración de las substancias proteicas de los tejidos, pero otra parte proviene asimismo de la transformación intrahepática de las sales amoniacales y de la urea producida por los tejidos.

d) *Acido hipúrico y sus sales*

La orina humana, y en particular la de los mamíferos herbívoros, contiene *ácido hipúrico* o más exactamente *hipuratos*.

El ácido hipúrico es una substancia que cristaliza en prismas rómbicos alargados, poco soluble en el agua (soluble en 600 partes de agua fría), algo más soluble en agua caliente; difícilmente soluble en alcohol frío, algo más en alcohol caliente: muy difícil y débilmente soluble en el cloroformo, el sulfuro de carbono, bencina, éter de petróleo (1).

El ácido hipúrico es un ácido monobásico que forma sales cristalizables.

Los hipuratos alcalinos o de tierras alcalinas son solubles en el agua y en el alcohol.

Hervido con ácidos minerales o con álcalis cáusticos, el ácido hipúrico es desdoblado, con fijación de agua, en ácido benzoico y glicocola (este desdoblamiento del ácido hipúrico se produce igualmente en la orina sometida a la acción de los microorganismos de la putrefacción: la orina putrificada contiene benzoatos y glicocola).

(1) La insolubilidad del ácido hipúrico en el éter de petróleo permite separarlo del ácido benzoico que se disuelve bien en él.

Inversamente, una mezcla de ácido benzoico y glicocola, calentada en un tubo cerrado, forma ácido hipúrico con pérdida de agua.

El ácido hipúrico es, pues, *benzoato de glicocola* o ácido benzoilamidoacético.

$$C^6H^5COOH + NH^2CH^2COOH = H^2O + C^6H^5CONHCH^2COOH.$$

Ac. benzoico — Glicocola — Ac. hipúrico

Estudiando la bilis, hemos visto que el ácido glicocólico, que se encuentra en la bilis humana y en la bilis del buey, es un colalato de glicocola. La glicocola se produce por la acción de los álcalis a alta temperatura, o por la acción del jugo pancreático, o por la acción de los microbios de la putrefacción sobre las proteínas que contiene el núcleo glicocola, y en particular las substancias gelatinosas. Se puede admitir que en el organismo, entre los productos de desasimilación de estas proteínas y más en particular de estas substancias gelatinosas, se encuentra la glicocola; pero esta glicocola jamás está libre; se conjuga, o bien con el ácido colálico, o bien con el ácido benzoico.

¿De dónde viene el ácido benzoico?

Se encuentran los hipuratos en la orina de los animales en ayunas; por lo tanto, a lo menos en parte, el ácido benzoico es un producto de desasimilación de los tejidos. Por otra parte, entre los productos de la putrefacción de las substancias alimenticias, principalmente de las substancias vegetales, se ha reconocido la presencia de productos que, como el ácido fenilpropiónico, son transformables en el organismo en ácido benzoico.

Se admite, pues, que el ácido benzoico, que pasa a la orina en estado de ácido hipúrico, tiene su origen en los productos aromáticos de la desintegración proteica en el intestino o en los tejidos. Estos productos son transformados dentro de la economía en ácido benzoico que se conjuga con la glicocola, producto de la desasimilación de las proteínas de los tejidos.

Estas consideraciones están apoyadas en los hechos siguientes: En un animal dado, la cantidad de ácido hipúrico de la orina, en igualdad de las demás condiciones, disminuye cuando se reduce su ración nitrogenada. La cantidad de ácido hipúrico es importante en los herbívoros, o sea en los animales que se nutren con substancias capaces de producir en su desintegración ácido benzoico o substancias precursoras de dicho

ácido, en mayor cantidad que las proteínas animales. Por último, se ha señalado el hecho de que mientras el ternero joven

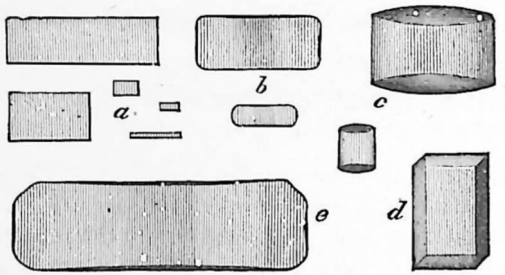


Fig. 111. — Creatinina (según Robin y Verdeil).

se nutre exclusivamente con leche, se encuentra el ácido úrico en su orina y no, a lo más muy poco, ácido hipúrico; desde



Fig. 112. — Clorhidrato de creatinina.

que se nutre con hierba, el ácido hipúrico aparece en cantidad importante, al mismo tiempo que el ácido úrico.

La cantidad de ácido hipúrico excretada en veinticuatro horas por un hombre adulto, con alimentación mixta, es algo menor de un gramo: oscila alrededor de 0,7 gramos.

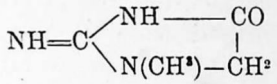
Notemos incidentalmente el siguiente hecho interesante: si se inyecta en el organismo de las aves ácido benzoico, se le encuentra en la orina en estado de *ácido ornitúrico* o benzoato de ornitina. La ornitina, que en los pájaros ocupa en esta reacción el lugar de la glicocola de los mamíferos, es, como sabemos, un ácido diamidovaleriánico, del que hemos señalado precedentemente (pág. 112) las relaciones íntimas con la arginina, núcleo principal de la molécula albuminosa.

e) *Creatinina*

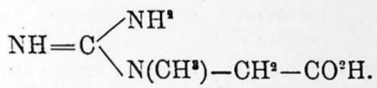
Señalemos, entre los productos nitrogenados de la orina, la *creatinina*. Estudiando el músculo, hemos indicado las estrechas relaciones que unen la creatinina con la creatina del músculo. Hemos dicho que la creatina hervida con ácido clorhídrico diluído pierde una molécula de agua y se transforma en creatinina. Es, por consiguiente, probable, si no cierto, que la creatinina de la orina tiene como precursora a la creatina, producto de desasimilación de la substancia muscular.

La creatinina es una substancia cristalizable algo soluble (8 a 9 por 100) en el agua fría, bastante soluble en el agua caliente muy poco soluble (1 por 100) en el alcohol absoluto frío, más soluble en el alcohol absoluto caliente; casi completamente insoluble en el éter.

Responde a la fórmula $C^4H^7N^3O$ o a la fórmula desarrollada



la creatina responde a la fórmula $C^4H^9N^3O^2$ o a la desarrollada



La cantidad de creatinina eliminada en veinticuatro horas por un hombre adulto es de un gramo, poco más o menos.

IV. — SUBSTANCIAS DIVERSAS

a) *Pigmentos urinarios*

Los pigmentos urinarios no han sido todos estudiados metódicamente. Se conoce solamente con alguna precisión la *urobilina*, pigmento amarillo, que se encuentra en abundancia principalmente en las enfermedades febriles. Esta substancia, lo hemos dicho ya precedentemente, presenta íntimas relaciones con la bilirrubina, substancia colorante de la bilis. Hemos indicado que bajo la influencia de los agentes hidrogenantes, la bilirrubina y también la biliverdina son transformadas en hidrobilirrubina, substancia que es considerada generalmente como idéntica a la urobilina:

$C^{32}H^{36}N^4O^6$, Bilirubina — $C^{32}H^{40}N^4O^7$. Urobilina

Al lado de la urobilina se encuentra generalmente en la orina su cromógeno, el *urobilinógeno*, substancia incolora que

por la influencia de diversos agentes se transforma en urobilina. Se obtiene particularmente esta transformación añadiendo a la orina que contiene urobilinógeno ácido sulfúrico, o ácido clorhídrico, o ácido acético, o solución yodoyodurada (yodo, 1 gramo; yoduro potásico, 2 gramos; agua 200 centímetros cúbicos): algunas gotas de cualquiera de los líquidos enumerados son suficientes para 10 centímetros cúbicos de orina.

Como el urobilinógeno tiene la misma significación clínica que la urobilina, y como por otra parte en algunas orinas existe solo, con exclusión de la urobilina, es conveniente, cuando se debe proceder a la investigación de la urobilina, transformar primeramente el urobilinógeno en urobilina, por uno de los procedimiento antes indicados.

Para manifestar la presencia de la urobilina en la orina, se han indicado diferentes procedimientos, todos los cuales se fundan en la propiedad que posee la urobilina, disuelta en un líquido que contenga sales de cinc, de formar un líquido fluorescente dicroico, verde por reflexión y rosa pálido por transparencia. De entre todos los procedimientos indicados tan tólo describiremos el siguiente, que nos parece el más sensible.

Se preparan un reactivo A y un reactivo B. El reactivo A se obtiene vertiendo con precaución 20 centímetros cúbicos de ácido sulfúrico concentrado sobre 100 centímetros cúbicos de agua, disolviendo en esta mezcla 5 gramos de óxido amarillo de mercurio y filtrando. El reactivo B se obtiene disolviendo 100 centigramos de acetato de cinc en 100 centímetros cúbicos de alcohol de 95° y añadiendo algunas gotas de ácido acético para clarificarlo.

A 30 centímetros cúbicos de orina se añaden 200 centímetros cúbicos del reactivo A; se deja en reposo cinco minutos y se filtra. Al líquido filtrado se añaden 5 centímetros cúbicos de cloroformo y se agita vigorosamente. Se separa el líquido acuoso; se filtra el cloroformo, se añade gota a gota el reactivo B mientras se produzca una turbiedad (unas 10 gotas). En el momento en que el líquido se clarifica, se ve aparecer una fluorescencia verde característica si la orina contiene urobilina.

Este procedimiento es también aplicable a las orinas cargadas de pigmentos biliares y ricas en indoxilo, sin necesidad de eliminar previamente estas substancias, como hay que hacer cuando se emplean otros procedimientos.

Se puede recurrir también accesoriamente al examen espectroscópico. Con este examen la solución clorofórmica de urobilina así obtenida produce un espectro de absorción que presenta una ancha banda situada en la región de la raya F del espectro solar, pasando algo hacia el violado y mucho hacia la otra extremidad del espectro, pero sin llegar a la raya *b*.

El líquido fluorescente obtenido después de la adición del reactivo B produce un espectro de absorción que presenta una ancha banda situada entre las rayas E y F del espectro solar, sin alcanzar ni la una ni la otra.

El pigmento amarillo de la orina ha sido llamado *urocromo;* el pigmento rojizo de los sedimentos urinarios ha sido llamado *uroeritrina*. El estudio de estos dos pigmentos y de algunos otros que se han encontrado en la orina no está hecho, y su significación fisiológica no ha sido reconocida.

b) *Indosificado urinario*

Si se determina, en una orina dada, por una parte el residuo seco, y por otra parte la suma de las cenizas, de la urea, del ácido úrico, del amoníaco, del ácido hipúrico, de la creatinina, se encuentra siempre una diferencia notable entre las dos cifras: el residuo seco de la orina de veinticuatro horas pasa en muchos gramos de la suma indicada. Es que existe, pues, además de las substancias dosificadas, cierto número de las que no se tiene noticia alguna en la actualidad en los análisis. La suma de estas substancias representa lo que se puede llamar *indosificado urinario*.

Este indosificado urinario oscila, según los casos, en la orina de veinticuatro horas de un hombre adulto, entre 5 y 20 gramos; comprende de 16 a 38 por 100 de las materias orgánicas de la orina y del 2 al 10 por 100 del nitrógeno total. Comprende el tercio del carbono total de la orina poco más o menos.

¿Qué substancias constituyen el indosificado urinario? Actualmente sólo tenemos sencillas indicaciones. Notemos solamente el hecho siguiente: si se dializa durante largo tiempo orina humana en presencia de agua corriente, hasta la desaparición de todo indicio de ácido amidado, y si sobre el residuo seco del contenido del dializador evaporado entre los productos de la hidrólisis, glicocola, alanina, fenilalanina, leucina, ácido glutámico, todas las substancias que son los amidoácidos que hemos encontrado entre los productos de hidrólisis de las substancias albuminosas. ¿Qué conclusión se puede sacar sino la de que pasan a la orina en estado normal frag-

mentos bastante voluminosos de la molécula albuminosa? ¿En qué forma? Es lo que el porvenir nos revelará.

c) *Diastasas de la orina*

Se ha señalado en la orina normal la presencia de diastasas generalmente en pequeña cantidad, variable, por otra parte, según el momento de la observación. La orina del hombre contendría amilasa capaz de sacarificar el almidón, pepsina capaz de peptonizar las substancias proteicas en presencia del ácido clorhídrico diluído, fermento lab capaz de caseificar la leche. No se ha encontrado la tripsina en la orina.

V. — ORINAS PATOLOGICAS

La orina puede contener, además de las substancias que hemos descrito, otras substancias que se presentan bajo la influencia de diversos estados patológicos.

Las principales substancias (1) que se pueden encontrar en la orina son:

1.° Substancias albuminosas;
2.° Azúcar;
3.° Sangre y hemoglobina;
4.° Pigmentos y ácidos biliares;
5.° Substancias acetónicas, etc.

Una orina que contenga substancias albuminosas es llamada albuminosa; hay *albuminuria.*

(1) Además de las substancias indicadas cuya determinación es de gran utilidad para el médico, citaremos las siguientes: los amidoácidos, la cistina, la alcaptona.

¿La orina normal del hombre sano contiene ácidos aminados? Es posible que contenga indicios; pero es evidente que la cantidad de estos ácidos aminados es siempre pequeñísima. Pero se encuentran (en particular la leucina, la tirosina y la glicocola) en gran cantidad en diversas enfermedades o intoxicaciones y sobre todo en la atrofia aguda del hígado y en la intoxicación fosfórica.

En ciertos individuos, y fuera de todo estado morboso, la orina contiene cistina (hay *cistinuria*); la contiene constantemente y durante toda la vida; a veces contiene una cantidad tan grande que se forman en la vejiga depósitos de cistina, que constituyen cálculos blanquecinos, lisos o granulosos, cuya consistencia recuerda la de la parafina enfriada.

En otros individuos, fuera de todo estado morboso, y durante toda la vida, la orina contiene constantemente alcaptona (hay *alcaptonuria*). Las orinas alcaptonúricas, alcalinizadas mediante sosa cáustica y dejadas al aire, se coloran en moreno obscuro o en negro; reducen el licor de Fehling; pero no reducen el subnitrato de bismuto y no fermentan por la levadura de cerveza. La alcaptona no

Una orina que contenga azúcar se llama azucarada; hay *glicosuria.*

Si la orina contiene sangre, hay *hematuria;* si contiene no ya la sangre total, sino únicamente la materia colorante de la misma, hay *hemoglobinuria.*

Una orina que contenga substancias biliares, en particular pigmentos biliares, es llamada *ictérica.*

Si la orina contiene substancias acetónicas, hay *acetonuria.*

Indicaremos brevemente los procedimientos empleados para reconocer en la orina la presencia de elementos anormales.

a) *Orinas albuminosas*

Las orinas albuminosas pueden contener las substancias siguientes:

Sueroalbúmina,
Sueroglobulina,
Proteosas.

La presencia de las dos primeras substancias puede ser revelada por las siguientes reacciones:

1.° **Prueba de la ebullición.** — La orina sometida a análisis puede ser alcalina, neutra o ácida. Es conveniente acidular muy ligeramente las orinas alcalinas y neutras mediante

representa un individuo químico, sino una mezcla de dos substancias, el ácido homogentisínico y el ácido uroleucínico, el primero siempre más abundante que el segundo. El ácido homogentisínico es un ácido dioxifenilacético:

$$C^6H^3\begin{cases}OH & (3)\\ CH & (5)\\ CH^2-CO^2H. & (4)\end{cases}$$

el ácido uroleucínico es un ácido dioxifenil α láctico, que responde a la fórmula

$$C^6H^2\begin{cases}OH & (3)\\ OH & (5)\\ CH^2-CHOH-CO^2H. & (4)\end{cases}$$

El parentesco químico de estos dos cuerpos se manifiesta claramente por estas fórmulas. Derivan verosímilmente del agrupamiento fenilalanina

$$C^6H^5-CH^2-CH(NH^2)-CO^2H$$

contenido en las moléculas proteicas, por desamidación y por oxidación; pero no tienen probablemente relaciones íntimas con la tirosina, ocupando el agrupamiento oxhidrilado de ésta otra posición

$$C^6H^4\begin{cases}OH & (1)\\ CH^2-CH(NH^2)-CO^2H. & (4)\end{cases}$$

el ácido acético, para evitar una precipitación, a la temperatura de ebullición, de fosfato tricálcico disuelto en la orina, gracias a la presencia de gas carbónico (se acidula al 2, al 1 por 1.000 y aun al 0,5 por 1.000; por ejemplo, se añaden 2 c. c. ó 1 c. c. de ácido acético al 1 por 100 a 10 c. c. de orina) (1).

La orina así acidulada se lleva a la ebullición; se produce un precipitado. Este precipitado no puede ser un precipitado de fosfatos térreos, ya que la orina es ácida: es un coágulo albuminoso. Si se quiere comprobar, se separa este coágulo por filtración, se lava con agua y se comprueba que da las reacciones de coloración de las substancias albuminosas: reacción del biuret, reacción de Millon y reacción glioxílica.

La orina contiene en este caso una substancia albuminosa coagulable, sueroalbúmina o sueroglobulina.

2.° **Prueba por el ácido nítrico.** — Si en un vaso de precipitados se vierte ácido nítrico fuerte (2) y por encima una capa de orina, de manera que los dos líquidos no se mezclen, se verá, cuando la orina es albuminosa, formarse en el contacto de los líquidos un anillo blanco nebuloso, debido a la precipitación de la substancia albuminosa.

El ácido nítrico precipitaría, además de las substancias albuminosas, las núcleoalbúminas y las proteosas, si la orina las contuviese, y el ácido úrico en el caso en que la orina estuviese cargada en extremo de uratos. Si la prueba del ácido nítrico da, pues, un precipitado, es preciso comprobar que este precipitado no es debido a una núcleoalbúmina, a una proteosa o al ácido úrico, o por lo menos que no es debido exclusivamente a uno u otro de estos tres cuerpos. Las núcleoalbúminas son precipitadas por el ácido acético; se tratará, pues, una pequeña porción de orina por dicho ácido (1 a 2 por 1.000); si no se forma precipitado, la orina no contiene núcleoalbúmina; si se forma, se pone sobre un filtro y se repite la prueba del ácido nítrico con el líquido filtrado. Las proteosas forman un precipitado con el ácido nítrico en frío, pero este precipitado se disuelve cuando se calienta el líquido en el cual está en suspensión. Se tratará, pues, una pequeña porción de orina por el ácido nítrico en un tubo de ensayo y se calentará progresivamente. Si el precipitado se disuelve, es un precipitado de proteosas. En cuanto al ácido úrico, no se precipita sino cuando la orina está en extremo cargada de uratos. No se precipitaría si antes de practicar la prueba con el ácido nítrico se diluyese la orina añadiéndole 3 ó 4 volúmenes de agua.

(1) Si en seguida de la adición del ácido acético se produce en la orina un ligero precipitado, es que la orina contiene núcleoalbúmina; se separa este precipitado por filtración.

(2) Se empleará siempre que sea posible ácido nítrico que marque por lo menos 40° Baumé, o sea que tenga una densidad por lo menos igual a 1,383, lo que permite realizar con más facilidad la superposición sin que se mezclen las dos capas líquidas.

3.° **Prueba por el ferrocianuro potásico acético.** — Si se añade a la orina el 5 por 100 de ácido acético (20 c. c. de orina y 1 c. c. de ácido acético glacial) y algunas gotas de una solución de ferrocianuro potásico (10 a 15 gotas de la solución al 5 por 100, por ejemplo), se ve formar, cuando la orina es albuminosa, un precipitado. Se puede separar este precipitado por filtración, lavarlo y comprobar si da las reacciones de coloración de las substancias albuminosas (v. pág. 102).

Se puede practicar la prueba, como se ha hecho con el ácido nítrico, con una copa: se vierte en ésta la orina acidulada al 5 ó al 10 por 100 con ácido acético, después se deja derramar lentamente por el borde de la copa la solución de ferrocianuro potásico al 5 por 100, de manera que ambos líquidos se superpongan sin mezclarse. La presencia de la albúmina se revela por el precipitado que se forma a nivel de la separación de los dos líquidos.

El ferrocianuro potásico acético precipita, además de las albúminas coagulables, las núcleoalbúminas y las proteosas. Será, pues, conveniente aquí también, antes de afirmar que un precipitado es debido a la presencia de albúmina, comprobar que la orina no precipita por el ácido acético al 2 por 1.000 (núcleoalbúmina) y que el precipitado producido por el ferrocianuro potásico acético no se disuelve en caliente (proteosas).

4.° **Prueba por el reactivo de Tanret.** — El reactivo de Tanret, solución acética de yoduro doble de mercurio y de potasio (pág. 130), precipita las substancias albuminosas coagulables por el calor, las proteosas y las núcleoalbúminas.

El reactivo de Tanret precipita, como los dos precedentes, además de las albúminas, las núcleoalbúminas y las proteosas.

Se procederá como hemos indicado más arriba, para saber si el precipitado obtenido es debido a las albúminas y no a los núcleoproteídos o a las proteosas.

Importa hacer resaltar que los alcaloides, que pueden ser eliminados por la orina después de la administración de un medicamento, precipitan por el ferrocianuro potásico acético y por el reactivo de Tanret. El médico deberá, pues, tener en cuenta esta posible eventualidad. Fuera de toda medicación alcaloidea, las precauciones aquí indicadas son suficientes para evitar todo error.

La orina albuminosa presenta las reacciones de coloración de las substancias albuminosas. Da la reacción del biuret, pero esta reacción puede ser menos clara debido a la coloración de la orina: por ello es conveniente, en general, diluir la orina para disminuir la intensidad de su coloración (la reacción del biuret se produce en los líquidos albuminosos muy diluídos: para que esta reacción no se produzca, el líquido tiene que contener menos de un diezmilésimo de la substancia albuminosa). Da la reacción xantoproteica; pero la coloración de la orina hace difícil el poder ver la primera parte de la reacción, o sea la coloración amarillo de canario, producida por el ácido nítrico en los líquidos albuminosos. Da la reacción de Millon; pero es preciso añadir un gran exceso del líquido de Millon, porque como los cloruros y fosfatos de la orina precipitan la sal de mercurio del reactivo, podría ser que no formase la coloración roja de ladrillo en el líquido albuminoso, si la totalidad de la sal mercurial hubiese sido precipitada.

De estas tres reacciones colorantes, la del biuret es la más característica: las dos restantes reacciones son menos demostrativas, porque la orina puede contener otras substancias, a más de las proteínas que den estas reacciones.

Por estas razones, la investigación de las substancias albuminosas de la orina no debe hacerse, o por lo menos exclusivamente, con los reactivos colorantes. Las cuatro reacciones de precipitación precedentemente indicadas, comprobadas en dos casos (coagulación por el calor, precipitación por el ferrocianuro potásico acético) por las reacciones de coloración del precipitado, son los verdaderos procedimientos de investigar las substancias albuminosas de la orina.

La orina contiene a veces una *substancia mucinoide*, por otra parte mal conocida, que se podría confundir con las substancias albuminosas, si no se tomaran ciertas precauciones. Es importante, pues, saber que la orina con mucina no se coagula cuando es hervida si no se le añade ningún reactivo; pero si se le ha añadido una pequeña cantidad de un ácido cualquiera, ácido acético, por ejemplo, forma ya en frío un precipitado muy fino, que no desaparece ni disminuye por la ebullición.

Se pueden, por otra parte, completar y confirmar las conclusiones sacadas de las pruebas que acabamos de indicar, por los siguientes experimentos hechos con ácido nítrico fuerte y con una solución de ácido cítrico obtenida disolviendo 75 gramos de ácido en 100 gramos de agua.

Se vierte la orina en un vaso de reacciones, y después ácido nítrico o ácido cítrico en su superficie. Si la orina contiene substancia mucinoide sin substancias albuminosas, se forma en el contacto del ácido cítrico una zona nebulosa; en el contacto del ácido nítrico no se forma el anillo, pero aparece una zona nebulosa a cierta distancia por encima del plano de separación. Si la orina contiene substancias albuminosas sin substancia mucinoide no se produce nada con el ácido cítrico; con el ácido nítrico se forma un anillo en el contacto inmediato del ácido. Si la orina contiene las dos substancias, se forma en el contacto del ácido cítrico una zona nebulosa, y en el contacto del ácido nítrico un anillo sobrepuesto de una zona nebulosa.

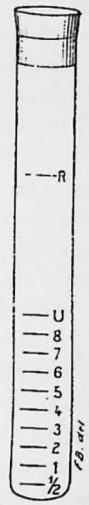


Fig. 113. — Tubo de Esbach

La dosificación de las substancias albuminosas coagulables contenidas en la orina puede hacerse de una manera aproximada, suficiente para los datos clínicos, o de una manera precisa, necesaria para ciertas investigaciones científicas.

La *dosificación clínica* se verifica generalmente con el *aparato* y el *reactivo de Esbach*, o *reactivo picrocítrico* (1). El aparato está esencialmente compuesto de un tubo que lleva dos señales U y R. Se llena el tubo hasta la señal U con la orina albuminosa, y se vierte hasta la segunda señal R el reactivo. Este reactivo se obtiene disolviendo en 100 gramos de agua 2 gramos de ácido cítrico y 1 gramo de ácido pícrico. Se cierra el tubo con un tapón de caucho; se invierte varias veces para mezclar, evitando se forme espuma, y se deja en reposo durante veinticuatro horas. La albúmina precipitada se posa: una graduación de la parte inferior del tubo indica en gramos la cantidad aproximada de albúmina contenida en un litro de orina.

Este procedimiento es de aproximación, y da solamente resultados mediocres. Para perfeccionarlo algo, teniendo en

(1) El reactivo picrocítrico puede ser empleado para la investigación cualitativa de la albúmina. Se mezclarán en este caso un volumen de orina y dos volúmenes de reactivo: la albúmina es precipitada.

Se puede hacer también la reacción en una copa, en la que se pone la orina, y verter lentamente en el borde de la copa el reactivo, de manera que haya superposición de ambos líquidos sin que se mezclen.

Como que este reactivo precipita las proteosas y las núcleoalbúminas, es conveniente comprobar que no las contiene la orina, como se ha indicado antes (página 460).

cuenta que la capa del precipitado varía de grosor, para una misma cantidad de albúmina, según la densidad de la orina analizada y según la cantidad de albúmina que contiene, se recomienda: 1.°, diluir la orina si es necesario para que su densidad no pase de 1,008 (medida con el densímetro); 2.°, diluir la orina si una primera prueba ha enseñado que contiene más del 4 por 1.000 de albúmina y diluirla suficientemente para que la orina diluída no contenga más del 4 por 1.000.

Hay que notar, por último, que si la orina contiene menos del medio por 1.000 de albúmina, verificándose mal la sedimentación, los resultados son muy imperfectos.

Para las *dosificaciones exactas*, se puede recurrir al *procedimiento de la coagulación*. Se acidula la orina con el ácido acético, añadido en cantidad conveniente para que la mezcla contenga el 1 por 1.000 de dicho ácido. Si se forma un precipitado de núcleoalbúmina, se separa por filtración y se opera con el líquido filtrado. Se calienta hasta la ebullición durante dos a tres minutos para aglomerar bien el precipitado y se pone sobre un filtro tarado en seco. Hay que asegurarse de que toda la albúmina ha sido coagulada, sometiendo a la prueba del ácido nítrico el líquido filtrado (si aún contiene albúmina, hay que volver a empezar la preparación acidulando algo más la orina). Se lava sobre el filtro el precipitado, primeramente con agua y después con éter. Se desecan el filtro y el precipitado a la estufa a 105°, hasta un peso constante, y se pesa.

Para *dosificar separadamente la albúmina y la globulina* urinarias se satura la orina de sulfato de magnesia; se coloca sobre un filtro tarado; se lava con una solución saturada de sulfato de magnesia; se someten el filtro y su contenido a 110° para coagular la globulina retenida; se lava con agua para arrastrar el sulfato de magnesia que impregna el filtro y el coágulo, después con alcohol y con éter. Se deseca y se pesa. Se obtiene el peso de la globulina. Por diferencia entre el peso total de las substancias albuminosas coagulables y el peso de la globulina se tiene el peso de la albúmina.

Para reconocer en la orina la presencia de *proteosas* es preciso separar de la misma las substancias albuminosas coagulables que pueda contener, haciéndola hervir después de haberla acidulado muy ligeramente con ácido acético. El líquido filtrado da la reacción del biuret, contiene proteosas. No es posible comprobar esta reacción del biuret mediante las

reacciones de precipitación de las proteosas: el alcohol, el sublimado, el tanino, el ácido fosfomolíbdico y el ácido fosfotúngstico precipitan, en efecto, substancias que existen normalmente en las orinas no albuminosas. No es posible emplear, por la misma razón, los precipitantes de las proteosas como el ácido pícrico, porque el ácido pícrico precipita la creatinina.

Cuando la orina contiene proteosas primarias se puede comprobar la reacción del biuret por las reacciones propeptónicas (v. Cap. V, pág. 137). Si la orina precipita en frío por el ácido nítrico, o por el ferrocianuro potásico acético, o por el cloruro sódico acético, siendo el precipitado formado soluble a la ebullición para volverse a formar por enfriamiento, la orina contiene proteosas.

Estas reacciones propeptónicas no son claras más que con las proteosas primarias; las proteosas secundarias no las dan francamente; las peptonas no las dan en absoluto. En el caso de las proteosas secundarias y de las peptonas sólo hay la reacción del biuret.

En la investigación de las proteosas de la orina se puede proceder también de la manera siguiente: a 10 c. c. de orina, sea o no albuminosa, se añaden 8 gramos de cristales de sulfato amónico, y se calienta hasta la ebullición, que se sostiene algunos segundos: las substancias albuminosas y las proteosas han sido, las primeras coaguladas y las segundas precipitadas en estas condiciones. Se centrifuga mediante un centrifugador pequeño de mano para aglomerar el precipitado en el fondo del tubo; se decanta el líquido; se añaden al precipitado 10 c. c. de agua destilada y se lleva a la ebullición; las substancias albuminosas coaguladas no se disuelven, las proteosas precipitadas sí. Se pone sobre un filtro y se investigan en el resultado de la filtración las proteosas mediante la reacción del biuret o por la precipitación por el tanino acético de Almen.

Las substancias albuminosas más frecuentemente contenidas en la orina son la *sueroalbúmina* y la *sueroglobulina*, principalmente la sueroalbúmina. Las proteosas no se encuentran en ella más que en algunos casos raros.

b) *Orinas azucaradas*

La orina puede contener una cantidad más o menos considerable de *glicosa*. Hemos estudiado (Cap. IV, pág. 74) las pro-

piedades de la glicosa e indicado los medios de caracterizarla y dosificarla en un líquido. Damos a continuación las indicaciones especiales relativas a su empleo en el análisis de las orinas.

a. **La glicosa es una substancia dextrógira.** — La orina azucarada debe, pues, poseer la propiedad de desviar hacia la derecha el plano de polarización de la luz. Pero la orina puede contener substancias patológicas que posean un poder rotatorio: tales son las substancias albuminosas, los ácidos biliares, etc.; estas substancias son levógiras: si una orina desvía, pues, el plano de polarización a la derecha, se puede afirmar de manera casi cierta que contiene glicosa (1).

b. **La glicosa es un azúcar reductor:** reduce el licor de Fehling formando óxido rojo de cobre; reduce también, en presencia de los álcalis, las sales de bismuto, formando un depósito negro de bismuto metálico.

Para investigar la presencia de la glicosa en la orina se puede llevar a la ebullición una mezcla de orina y licor de Fehling (debe comprobarse que el licor de Fehling que se emplea no está reducido ya cuando se hace hervir). Si se produce un precipitado de óxido de cobre, la orina contiene azúcar.

A veces se produce únicamente un cambio de coloración: la mezcla de orina y licor de Fehling pasa a amarillo obscuro rojizo, sin que sea posible ver el precipitado. Otras veces se produce un precipitado, pero este precipitado no es rojo, es blanquecino o azulado. En estos dos casos no se puede afirmar la presencia del azúcar, pero tampoco se puede negar su existencia. La orina contiene normalmente substancias, como la creatinina, que poseen la propiedad de mantener en solución una pequeña cantidad de óxido de cobre—pasando el líquido al amarillo rojizo—y substancias (sales amoniacales y otras) que forman, bajo la influencia de la sosa, unas en frío ya y otras a la ebullición, amoníaco capaz de disolver del mismo modo el óxido de cobre. Por otra parte, la orina contiene normalmente substancias que, como el ácido úrico y también la creatinina, son capaces, según la proporción de las mismas y las condiciones de la ebullición, de reducir el licor de Fehling formando precipitados blanquecinos y aun pardorojizos.

Se comprende, por consiguiente, que una orina con una fuerte proporción de creatinina pueda hacer pasar al pardo rojizo, sin precipitación, la mezcla de orina y licor de Fehling (una parte de la creatinina reduce la sal de cobre y el exceso de creatinina mantiene el óxido de cobre en solución). Se comprende que una orina que contenga una débil proporción de azúcar se pueda comportar igualmente: el azúcar reduce la solución de cobre y el precipitado cúprico queda disuelto gracias a la presencia de creatinina o de amoníaco.

(1) Cuando se investiga el azúcar de la orina, no hay que olvidar la posible eliminación por la orina de medicamentos dotados de poder rotatorio.

Por otra parte, la formación de un precipitado poco abundante, blanquecino o blanco amarillento, puede resultar de la reducción del licor de cobre por el ácido úrico. Pero si el líquido contiene poco azúcar y mucho ácido úrico, el precipitado puede presentar las mismas apariencias: el azúcar forma el óxido de cobre rojo; el ácido úrico forma un precipitado a menudo blanquecino: la mezcla de los dos constituye un precipitado blanquecino.

En resumen, no se debe afirmar la presencia del azúcar en la orina sino cuando se observa un precipitado claramente rojizo de óxido cobre; no se debe negar la presencia del azúcar de la orina sino cuando la mezcla de orina y licor de Fehling no cambia de coloración por la ebullición y no forma precipitado (1).

Para investigar la presencia de glicosa en la orina se puede, en lugar de la solución de cobre, emplear una solución bismútica. Es sabido que en presencia de los álcalis cáusticos las sales de bismuto son reducidas a la ebullición por la glicosa. La solución bismútica generalmente empleada se prepara disolviendo 4 gramos de sal de Seignette en 100 c. c. de una solución de sosa cáustica al 10 por 100, y haciendo digerir al baño de María en este líquido 2 gramos de subnitrato de bismuto (*reactivo de Nylander*).

Para reconocer el azúcar mediante este líquido se añade 1 c. c. de él a 10 c. c. de orina, y se hace hervir por lo menos durante dos minutos. Si la orina contiene azúcar se produce una coloración amarilla, después amarillomorena, y por último el líquido se enturbia y se vuelve negro; poco a poco se va produciendo un poso negro, que generalmente se considera como constituído por el bismuto metálico pulverulento.

Esta reacción no presenta las causas de error que señalamos a propósito de la reacción con el licor de Fehling: en

(1) Cuando se investiga el azúcar de la orina, es preciso no olvidar la posible eliminación por ella de medicamentos reductores.

efecto, ni el ácido úrico ni la creatinina reducen la solución de bismuto. No obstante, la orina puede contener, por lo menos accidentalmente, substancias capaces de reducir la solución de bismuto (1). Por esto es conveniente, para obtener una certeza absoluta, comprobar esta reacción con otra cualquiera, de la misma manera que es necesario comprobar la reacción que da el licor de Fehling.

c. **La glicosa es un azúcar fermentable.** — Una solución azucarada, adicionada de levadura de cerveza, fermenta. Esta fermentación se pone de manifiesto por el desprendimiento de burbujas de gas carbónico. Si se añade, pues, a una orina (que se acidula a menudo muy ligeramente con ácido tartárico para favorecer la fermentación) levadura de cerveza, y se comprueba un desprendimiento muy claro de gas carbónico, se puede afirmar la presencia de azúcar en la orina.

d. Se ha propuesto reconocer el azúcar urinario mediante la *fenilhidracina*. El procedimiento no se puede emplear, por otra parte, más que si la orina contiene por lo menos el 2 por 100 de azúcar; es seguramente menos sensible que el procedimiento químico por reducción.

Se introducen en un tubo de reacciones 5 c. c. de orina, 10 gotas de fenilhidracina, 20 gotas de ácido acético glacial y 2 c. c. de una solución saturada de sal marina. Se calienta esta mezcla, sea al baño de María hirviente, sea directamente sobre la llama. La osazona se deposita tanto más rápidamente cuanto más rica en azúcar es la orina. Se comprueban los cristales al microscopio (v. pág. 90).

En la investigación del azúcar de la orina es conveniente, principalmente cuando la cantidad de azúcar es débil, librarla de sus pigmentos, de la albúmina que pueda contener, del ácido úrico, etc.

A 100 c. c. de orina se añaden 10 c. c. de una solución acuosa de subacetato básico de plomo al 2 por 100 y se agita.

Se forma un precipitado blanco que contiene la albúmina, los uratos, los pigmentos urinarios, los sulfatos, los fosfatos etc.

(1) La solución de bismuto es reducida, no solamente por el azúcar, sino que también por diversas substancias sulfuradas, como las albúminas y la cistina, que se pueden encontrar a menudo en la orina. Por consiguiente, cuando la reacción bismútica ha dado resultado positivo (formación de un depósito negro), es preciso comprobar que no se debe a estas substancias sulfuradas. A este efecto, a una pequeña porción de orina se añaden sosa cáustica y acetato de plomo: si la orina contiene las substancias orgánicas aquí nombradas, se forma por la ebullición sulfuro de plomo negro: en este caso el resultado positivo obtenido en la reacción del bismuto no permite afirmar la presencia del azúcar en la orina. Es necesario practicar otra prueba.

Entonces se añaden 2 gramos de carbonato de sosa para precipitar en estado de carbonato de plomo el exceso de plomo contenido en el líquido. Se filtra.

El filtrado así obtenido sirve con preferencia a otros reactivos para la investigación y dosificación del azúcar en la orina.

La *dosificación del azúcar* de la orina se verifica por los procedimientos que hemos indicado someramente en el capítulo IV (pág. 78). Estos procedimientos se dividen en tres grupos: procedimientos físicos: determinación del poder rotatorio; procedimiento químicos: determinación del poder reductor; procedimientos biológicos: determinación de la cantidad de gas carbónico desprendido en la fermentación. En las obras especiales de análisis de orinas se encontrarán las indicaciones necesarias para practicar un análisis rigurosamente exacto.

c) *Orinas sanguinolentas y orinas con hemoglobina*

La orina contiene frecuentemente los elementos de la sangre; el microscopio permite en este caso comprobar en la orina la presencia de los elementos figurados de la sangre; el análisis químico demuestra en la orina la presencia de substancias albuminosas coagulables por el calor, y el examen espectroscópico demuestra la presencia de oxihemoglobina.

La orina puede contener solamente hemoglobina o los derivados de la misma, en particular metahemoglobina. El examen espectroscópico (v. Cap. VIII, pág. 227 y siguientes) permite reconocer en la orina la presencia de substancias derivadas de las materias colorantes de la sangre. El examen químico permite practicar la misma investigación: basta hacer con el extracto seco de orina la preparación de cristales de hemina, reconocibles al examen microscópico.

d) *Orinas biliares*

Los elementos de la bilis, sales biliares y pigmentos biliares, pueden pasar a la orina. (Lám. col. V, figs. Q'_1, Q'_1, E'_2, Q'_2.)

Las sales biliares pueden ponerse de manifiesto por la reacción de Pettenkofer que hemos estudiado precedentemente (página 289).

En el caso particular de la orina se toman 10 c. c. de orina,

se añaden algunas gotas de solución de sacarosa al 10 por 100, y después, por pequeñas porciones, agitando y evitando que la temperatura de la mezcla pase de 70°, 5 c. c. de ácido sulfúrico. Cuando hay sales biliares, se produce una coloración rojopurpúrea en la cual se puede comprobar el espectro de absorción.

Los pigmentos biliares son buscados generalmente por la reacción de Gmelin (pág. 297). Pero esta reacción no es muy recomendable en el caso de la orina, porque la gama de los colores de Gmelin se encuentra alterada por los colores urinarios preexistentes o por los que se forman por la adición del ácido nítrico.

El procedimiento más recomendable es el siguiente: A 10 c. c. de orina se añaden 5 c. c. de una solución de cloruro de bario al 10 por 100, se agita vigorosamente y se centrifuga. El precipitado que se forma contiene sulfato, fosfato y eventualmente bilirrubinato de bario. Se diluye en 4 c. c. de alcohol de 90° con el 5 por 100 de su volumen de ácido clorhídrico. Se lleva al baño de María hirviente durante un minuto; se deja en reposo, centrifugando, si es necesario, para separar el precipitado, y se examina el líquido que sobrenada. Si es incoloro, no había pigmentos biliares; si está colorado de azul verdoso o verde obscuro, había pigmentos biliares; si está colorado de pardo, es dudoso. En este último caso, se añaden 2 gotas de agua oxigenada (a 10 volúmenes) y se vuelve de nuevo al baño de María durante un minuto. Si aparece la coloración verde, había pigmentos biliares; si no, no los había.

e) *Orinas acetónicas*

Durante el curso de ciertas enfermedades, y, en particular, aunque no exclusivamente, en el curso de la diabetes, se ha señalado la presencia en la orina de *ácido β-oxibutírico*, de *ácido acetilacético* (o diacético) y de *acetona*, tres substancias que se agrupan a menudo bajo el nombre general de *substancias acetónicas*.

Por el examen de sus fórmulas de constitución se puede establecer fácilmente su indiscutible parentesco químico: por oxidación del ácido β-oxibutírico se pasa al ácido acetilacético.

$$\underset{\text{Ac. β-oxibutírico}}{CH^3—CHOH—CH^2—CO^2H} + O = \underset{\text{Ac. acetilacético}}{CH^3—CO—CH^2—HCO^2} + H^2O.$$

Quitando CO^2 al ácido acetilacético se obtiene la acetona

$$\underset{\text{Ac. acetílico}}{CH^3—CO—CH^2—CO^2H} = \underset{\text{Acetona}}{CH^3—CO—CH^3} + CO^2.$$

En las orinas acetónicas se encuentran generalmente la acetona y acetilacetatos, o sea las substancias que contienen el agrupamiento cetónico -CO-; el ácido β-oxibutírico, por el contrario, falta muy frecuentemente.

El origen y la significación patológica de las substancias acetónicas de la orina no son conocidos exactamente.

Diversos procedimientos se han propuesto para caracterizar, aislar y dosificar estas substancias en la orina. Nos limitaremos aquí a indicar un procedimiento sencillo, que permite al médico caracterizar en una orina la acetona y los acetilacetatos, sin distinguir entre una y otros, lo que no hace falta en absoluto, y sin tener en cuenta el ácido β oxibutírico, lo que generalmente no presenta ningún inconveniente.

Por la influencia de los ácidos muy diluídos, el ácido acetilacético es puesto en libertad en la orina que contiene acetilacetatos, y es por estos mismos ácidos descompuesto en caliente en ácido carbónico y acetona. Serán, pues, fáciles de obtener bajo la forma acetona los dos cuerpos acetónicos esenciales, y bastará caracterizar la acetona.

La acetona es fácilmente volátil; se tendrá desde luego una discutible ventaja destilando las orinas acetónicas e investigando la acetona en el resultado de la destilación, porque de este modo se han eliminado diversas substancias urinarias cuya presencia dificultaría la realización de las pruebas destinadas a poner de manifiesto la acetona.

Se acidulan ligeramente 250 c. c. de orina mediante el ácido sulfúrico o el ácido acético (1 c. c. de ácido acético glacial por 100 c. c. de orina): se destila; se recogen las primeras porciones que pasan (20 c. c. bastan, porque toda la acetona está contenida en ellos, siempre que la destilación se haya verificado lentamente), y con el resultado de esta destilación se verifican las siguientes pruebas:

1.° Se comprueba que esta destilación, igual que la orina que la ha producido, tiene olor a acetona.

2.° Se añade un poco de álcali y algunas gotas de solución yodo-yodurada (solución de yodo en yoduro potásico, pág. 94), y se calienta: si hay acetona, se forma yodoformo, que se reconoce por su olor y por la forma de los cristales microscópicos que deposita.

3.° Se añade algo de álcali y algunas gotas de una solución acuosa de nitroprusiato de sosa: si hay acetona, se produce una coloración rojo rubí.

4.° Se añade una solución saturada de ortonitrobenzaldehido con sosa: si hay acetona, se produce una coloración amarilla, después

verde, y finalmente se deposita índigo, que se puede aislar agitando con cloroformo, que se colora de azul.

f) *Cálculos urinarios*

Los cálculos urinarios más comunes en el hombre son, por orden de frecuencia:

Los cálculos de ácido úrico y uratos.
Los cálculos de fosfatos.
Los cálculos de oxalatos, etc.

Los cálculos de ácido úrico, calcinados sobre un lámina de platino, se queman sin dejar residuo notable; dan la reacción



Fig. 114. — Cálculo de ácido úrico.



Fig. 115. — Cálculo de fosfato de cal depositado alrededor de un núcleo precedentemente roto de ácido úrico (según Arm. Gautier).

de la murexida (v. pág. 447); tratados por la lejía de sosa cáustica en ebullición, no desprenden amoníaco. Los cálculos de urato amónico arden sin dejar residuo notable; dan la reacción de la murexida y desprenden vapores amoniacales, cuando son tratados por la lejía de sosa cáustica en ebullición.

Los *cálculos de fosfatos* no arden, se disuelven por el ácido clorhídrico y acético sin efervescencia, y su solución da las reacciones conocidas de los fosfatos (v. Cap. I pág. 14).

Los *cálculos de oxalatos* se disuelven en el ácido clorhídrico sin efervescencia, pero no se disuelven en el ácido acético; después de calcinados, son disueltos por el ácido acético con efervescencia (transformados en carbonatos por la calcinación).

Los cálculos urinarios están raramente compuestos de una

sola substancia; en general son mezclas en las que dominan algunas substancias; por esto se obtienen en general reacciones poco claras, cuando se intenta estudiar mediante una prueba sencilla su constitución, y ordinariamente es preciso recurrir a un análisis más delicado y más preciso.

Por último se encuentran otros cálculos que los que hemos señalado (cálculos de cistina, cálculos de xantina, etc.), de los que nos basta haber indicado su existencia. Son muy raros; pero estas substancias se encuentran frecuentemente en los cálculos uráticos, fosfáticos y oxálicos.

ÍNDICE ANALÍTICO

Abiuréticos (productos), 391.
Aceites, 57.
Acética (fermentación), 161.
Acetilacético (ácido), 470.
Acetona, 470.
Acetónicas (substancias), 470.
Acetonuria, 459.
Acidimetría, 26.
Acidoalbuminoides, 136.
Acido carbónico, 22.
— carbónico de la sangre, 255.
Acidos, 26, 54.
— amidados, 107.
— (compuestos) del jugo gástrico, 359.
— diamidados, 111.
— grasos, 63.
— minerales (precipitación de las substancias albuminosas por los), 126.
— monoamidados, 108.
Acroleína, 61.
Acroodextrina, 97, 354.
Adenasa, 150.
Adenina, 150.
Adrenalina, 304.
Aglutininas, 179.
Agua de los tejidos, 4.
Aire espirado, 259.
Alanina, 109.
Alantoico (ácido), 111.
Alantoína, 111, 450.
Albúminas, 132.
Albuminoides (substancias), 100.
Albuminosas (clasificación de las substancias), 126.
— (reacciones de coloración de las substancias), 102.
— (reacciones de precipitación de las substancias), 126.
— (substancias), 100.
— (substancias) coaguladas, 135.
— (substancias) desnaturalizadas, 135.
— (substancias) naturales, 126.
— (substancias) de transformación, 135.
Albuminuria, 458.
Albumoides (substancias), 156.
Albumosas, 136.
Alcalialbuminoides, 136.
Alcalimetría, 25.
Alcaptona, 458.
Alcohol, 81, 160.
Alcoholasa, 168.
Alcoholes, 55.
Alcohólica (fermentación), 80, 160.
Aldosas, 74.
Alexina, 187.
Alimentos, 310.
Almidón, 93.
— animal, 95.
— soluble, 353.
Aloxana, 449.
Amidas, 429.
Amicrones, 125.
Amidoacético (ácido), 109.
Amidoácidos, 107, 390.
— aromáticos, 113.
— heterocíclicos, 115.
— sulfurados, 113.
Amidocaproico (ácido), 110.
Amidoglutárico (ácido), 111.
Amidoisovaleriánico (ácido), 109.
Amidopropiónico (ácido), 109.
Amidosuccínico (ácido), 110.
Amigdalina, 74.
Amilasa, 353.
Amilocelulasa, 356.
Amilocelulosa, 95, 356.
Amilodextrina, 354.
Amilolítica (diastasa) del páncreas, 386.
— (diastasa) de la saliva, 353.
Amilopectasa, 356.
Amilopectina, 95, 356.
Amilopsina, 386.
Amilosas, 92.
Amoniacal (fermentación), 431.
Amoniacales (sales), 442.
Amoníaco, 442.
— (dosificación del), 443.
— urinario, 442.
Amónicomagnésico (fosfato), 16.
Anfipeptona, 392.
Anfótero, 108, 332.

Antifibrinofermento, 217.
Antipeptona, 392.
Antitoxinas, 178.
Antitrombina, 217.
Antropoglicocólico (ácido), 293.
Arginasa, 112, 403.
Arginina, 112, 119.
— (grupo de la), 111.
Aspártico (ácido), 110.
— (grupo del ácido), 108.
Azoúrico (coeficiente), 428, 440.
Azúcar de caña, 84.
— de frutas, 82.
— del hígado, 286.
— invertido, 85.
— de leche, 87.
— de la sangre, 219.
— de uva, 74.
— virtual, 220.
Azúcares, 73.
Azul indigo, 422.

Bacteriolisinas, 186.
Bacteriólisis, 186.
Bases, 54.
— hexónicas, 119.
— nucleínicas, 149.
— pirimídicas, 149.
— púricas, 149.
— xánticas, 149.
Benzoico (ácido), 453.
Benzopirrol, 425.
Bicarbonatos, 18.
Biliares (ácidos), 288.
— (pigmentos), 294.
— (sales), 288.
Bilicianina, 298.
Bilifeína, 294.
Bilifulvina, 294.
Bilirrubina, 294.
Bilirrubinatos, 295.
Bilis, 287.
— cristalizada de Plattner, 289.
Biliverdina, 297.
Biliverdinatos, 296.
Biuratos, 445.
Biuret, 103.
— (reacción del), 103.
Biuréticos (productos), 391.
Bloque de Maquenne, 84.
Bomba de mercurio, 256.
Bromelina, 394.
Butírica (fermentación), 87.
Butírico (ácido), 88.
— (fermento), 87.

Cabellos, 271.
Cadaverina, 112.
Calcio (sales de), 20, 213.
Cálculos biliares, 302.
Cálculos urinarios, 427.
Caldo, 317.
Calorífico (valor) de los alimentos, 316.
Calostro, 342.
Cambios gaseosos, 247.
Canfoglicurónico (ácido), 427.
Cápsulas suprarrenales, 304.
Carbamatos, 429.
Carbámico (ácido), 429.
Carbamida, 429.
Carbonato amónico, 431.
Carbonatos, 18, 417.
Carbonadas (substancias), 2.
Carbónico (ácido), 22.
— (ácido) de la sangre, 255.
Carbonización, 7.
Carboxihemoglobina, 238.
Carboxilo, 54.
Carne, 316.
Cartílago, 265.
Caseificación, 337.
Caseína, 335.
Caseínas, 334.
Caseinógeno, 335.
Caseógeno, 341.
Cáseum, 339.
Catálisis, 166.
Céfalorraquídeo (líquido), 263.
Cenizas, 10.
Centrifugación, 196.
Cereales, 324.
Cerebrina, 269.
Cetosas, 74.
Cianamina, 281.
Cianhemoglobina, 240.
Ciclopterina, 118.
Ciprinina, 118.
Cisteína, 113.
Cistina, 113, 458.
Cistinuria, 458.
Citosina, 149.
Cítrico (ácido), 332.
Clara de huevo, 320.
Clorhídrico (ácido), 360.
Clorofila, 246.
Cloruros, 412.
Clupeína, 118.
Coagulación de la leche, 333.
— de la linfa, 261.
— muscular, 274.
— de la sangre, 203.
— de las substancias albuminosas, 131.
Coágulo linfático, 260.
— muscular, 277.
— sanguíneo, 190.
Cociente respiratorio, 59, 72.
Coeficiente azoúrico, 428, 440.
Cola, 156.

Colágeno, 156, 265.
Colálico (ácido), 292.
Colecianina, 298.
Colepirrina, 294.
Colesterina, 300.
Coletelina, 298.
Colina, 66.
Coloides (substancias), 93, 119.
Colorímetros, 233.
Complemento, 187.
Compuestos clorados del jugo gástrico, 363.
Concentración de una solución, 30.
Condrina, 265.
Condrógeno, 265.
Condromucoide, 266.
Congelación (punto de), 32.
Conjuntivo (tejido), 264.
Contenido gástrico, 382.
— intestinal, 406.
Corteza del coágulo, 190.
Creatina, 280.
Creatinina, 281, 454.
Crema, 58, 328.
Crenilabrina, 118.
Crioscopia, 32.
Cristales de Teichmann, 243.
Cristaloides (substancias), 120.
Cromoproteido, 142.
Cuajo, 337, 378.
Cuaternarias (substancias), 1.
Cuernos, 271.
Cutáneas (producciones), 272.

Descalcificado (plasma), 197.
Desecación, 5.
Deuteroproteosas, 138.
Dextrinasa, 355.
Dextrinas, 96, 354.
Dextrosa, 75.
Diálisis, 50, 119.
Diamidados (ácidos), 111.
Diamidoacético (ácido), 111.
Diamidocaproico (ácido), 111.
Diamidovaleriánico (ácido), 112.
Diastasa amilolítica, 353, 386.
— de la cebada en germinación, 356.
— de la orina, 458.
— de la sangre, 221.
Diastasas, 162.
Diastásicas (fermentaciones), 162.
Dientes, 267.
Dipéptidos, 141.
Diproteidos, 147.
Disacáridos, 84.
Disociación, 247.
Dispeptona, 373.

Elastina, 157, 265.
Elastinopeptona, 375.
Elastosas, 375.
Electrólitos, 42.
Emulsión, 59, 388.
Emulsoides, 124.
Encimoides, 173.
Encimos, 163.
Endocelulares (diastasas), 168.
Endósmosis, 50.
Energético (valor) de los alimentos, 316.
Engrudo de almidón, 93.
Enranciamiento de las grasas, 59.
Enterocinasa, 404.
Epinefrina, 304.
Equimoleculares (soluciones), 39.
Erepsina, 404.
Eritrodextrina, 97, 354.
Eritropsina, 269.
Escatol, 116, 406, 224.
Escatolcarbónico (ácido), 116, 424.
Escatolacético (ácido), 116.
Escatoloxiacético (ácido), 424.
Escleroproteínas, 156.
Escombrina, 118.
Espectrofotómetros, 234.
Espectroscopio, 228.
Esteapsina, 386.
Esteárico (ácido), 63.
Esturina, 118.
Eteres, 55.
Eudiométrico (método), 25.
Euglobulina, 201.
Exocelulares (diastasas), 168.
Exósmosis, 50.
Extractivas (substancias) del músculo, 278.
Extracto de carne, 318.
— etéreo de las substancias alimenticias, 315.
Exudados, 261.

Fermentación alcohólica, 80, 160.
— amoniacal, 431.
— diastásica, 159.
— de la glicosa, 80, 160.
— de la sacarosa, 87, 162.
Fermentaciones, 159.
— vitales, 159.
Fermento acético, 161.
Fenilacético (ácido), 114.
Fenilalanina, 113.
Fenilamidopropiónico (ácido), 113.
Fenilglicosazona, 83.
Fenilglicuronatos, 426.
Fenilhidracina, 83, 90.
Fenilmaltosazona, 90.
Fenilsulfatos, 418.
Fenilsulfúrico (ácido), 421.
Fenol, 421.
Fenolftaleína, 25.

Fenómeno de las bandas, 236.
— de Pfeiffer, 186.
Fermento amilolítico, 353, 386.
— butírico, 87.
— figurado, 160.
— glicolítico, 220.
— inversivo, 162, 400.
— lab, 170.
— láctico, 87, 161, 333.
— saponificante, 386.
— soluble, 162.
Ferrocianuro acético, 127.
Fibrina, 205.
Fibrinofermento, 211.
Fibrinógeno, 201.
Fibrinoglobulina, 209.
Fibrinoplástica (substancia), 201.
Filoporfirina, 246.
Fístulas gástricas, 357.
— intestinales, 399.
— pancreáticas, 383.
Fluorado (plasma), 197.
Fluorhídrica (hidrólisis), 107.
Fluoruro sódico, 163.
Formol, 140.
Fosfáticas (granulaciones), 328.
Fosfato amónicomagnésico, 16.
— de hierro, 20, 21.
Fosfatos, 13, 14.
Fosfoalbuminosas (substancias), 156.
Fosfocarbonato de cal, 15.
Fosfoglicérico (ácido), 66.
Fosfomolíbdico (ácido), 129.
Fosfoproteínas, 156.
Fosforadas (grasas), 66.
— (substancias), 4.
Fósforo (absorción del oxígeno por el), 25.
Fosfotúngstico (ácido), 129.
Fructosa, 82.
Frutas, 325.

Galactosa, 82.
Gas, 22.
— carbónico, 22, 255.
— de la sangre, 252.
— de los tejidos, 22.
Gases intestinales, 407.
Gástrico (jugo), 357.
Gelatina, 156, 265.
Gelatinopeptona, 375, 393.
Gelatosas, 375.
Glicosa, 74.
Glicosamina, 118.
Globina, 241.
Glóbulos del calostro, 343.
— de la leche, 327.
— de la sangre, 221.
Globulinas, 133.
Globulosas, 136.
Glutámico (ácido), 111.
Glutina, 156.

Harina, 324.
Hematina, 241.
Hematógeno, 323.
Hematoidina, 299.
Hematólisis, 188, 222.
Hematolisinas, 188.
Hematoporfirina, 243.
Hematoscopio, 235.
Hematuria, 459.
Hemiindigotina, 423.
Hemina, 241.
Hemipeptona, 392.
Hemipermeables (membranas), 43.
Hemocronógeno, 244.
Hemoglobina, 230.
— oxicarbonada, 238.
— oxinitrogenada, 238.
Hemoglobinuria, 459.
Hemólisis, 188, 224.
Hemolisinas, 188.
Hemopirrol, 246, 299.
Hepático (tejido), 283.
Heteroproteosas, 138.
Hexónicas (bases), 119.
Hidratos de carbono, 72.
Hidrazonas, 83.
Hidrobilirrubina, 295.
Hidrocarbonos, 72.
Hidrólisis de las proteínas, 107.
Hierro (fosfato de), 20, 21.
— (óxido de), 20, 22.
— (sales de), 21.
Hígado, 283.
Hiocolálico (ácido), 293.
Hioglicocólico (ácido), 293.
Hiotaurocólico (ácido), 293.
Hiperglicemia, 219.
Hipertónicas (soluciones), 46.
Hipoglicemia, 219.
Hipotónicas (soluciones), 46.
Hipoxantina, 150.
Hipuratos, 452.
Hipúrico (ácido), 453.
Hirudina, 198.
Histidina, 117.
Histona, 153.
Histonas, 153.
Homogeneizada (leche), 329.
Homogentisínico (ácido), 459.
Hueso, 266.
Huevo, 320.
Humor acuoso, 262.

Imidazol, 117, 151.
Incineración, 8.
Indicán, 422.
Indice de yodo, 57.

Indigotina, 423.
Indirrubina, 423.
Indol, 116, 406, 434.
Indolalanina, 109, 116.
Indolamidopropiónico (ácido), 116.
Indolcarbónico (ácido), 424.
Indoxilglicurónico (ácido), 423.
Indoxilo, 422.
Indoxilsulfatos, 422.
Indoxilsulfúrico (ácido), 422.
Inmunisinas, 187.
Inosita, 279.
Intestinal (jugo), 399.
Inulina, 95.
Invertido (azúcar), 85.
Invertina, 162, 400.
Ionización, 42.
Iones, 42.
Isatina, 423.
Isoleucina, 110.
Isotónicas (soluciones), 47.

Jabones, 62.
— de plomo, 62.
Jugo gástrico, 357.
— — artificial, 371.
— — puro, 364.
— intestinal, 399.
— pancreático, 383.
— — artificial, 384.

Kefir, 333.
Kumis, 333.

Labfermento, 170.
Lacado de la sangre, 222.
Lactalbúmina, 336.
Lactasa, 87, 400.
Láctico (ácido), 87, 280, 360.
Lácticos (fermentos), 88, 161, 333.
Lactoglobulina, 336.
Lactoplasma, 332.
Lactosa, 87, 332.
Lactosuero, 338.
Lactosueroproteosa, 340.
Lana, 271.
Leche, 58, 318, 327.
— de burra, 346.
— de cabra, 345.
— condensada, 319.
— esterilizada, 319.
— homogeneizada, 329.
— de mujer, 347.
— de oveja, 345.
— de perra, 346.
— de yegua, 346.
Lecitinas, 66.
Legumbres, 325.
Leguminosas, 325.
Leuceínas, 101.
Leucina, 109.
— (grupo de la), 108.
Leucinas, 101.
Leuconucleína, 153.
Levadura de cerveza, 80, 160.
Levulosa, 82.
Licor de Brücke, 129.
— de Fehling, 77.
— — al ferrocianuro, 79.
— yodoyodurado, 94.
Linfa, 260.
Lipocromas, 69.
Lipoides, 70.
Líquido cefalorraquídeo, 263.
— de hidrocele, 210, 261.
Lisina, 111.
Lisinas, 189.
Luteínas, 69.

Magnesia (sales de), 20.
Maltasa, 400.
Maltosa, 88, 354.
Maltosazona, 90.
Manteca, 328.
Margarina, 59.
Metahemoglobina, 237.
Metalbúmina, 145.
Metalorgánicas (substancias), 2.
Metilnaranja, 26.
Método de Kjeldahl, 313, 427.
Mezclas refrigerantes, 34.
Minerales (materias), 1.
Mioalbúmina, 275.
Miocoágulo, 276.
Mioglobulina, 275.
Miohematina, 277.
Mioplasma, 274.
Miosina, 275.
Miosinofermento, 276.
Miosinógeno, 275.
Miosinosas, 136.
Miosuero, 275.
Monoaminoácidos, 108.
Monobutirinasa, 221.
Mononucleótido, 152.
Monosacáridos, 74.
Mucina salival, 350.
Mucinas, 143.
Mucinoide (substancia) de la orina, 462.
Mucinoides, 145.
Mucoide del huevo, 321.
Mucoides, 145.
Mucosa intestinal, 399.
Murexida (reacción de la), 447.
Musculina, 276.
Músculo, 273.

Nervioso (tejido), 268.
Neurina, 68.

Neuroqueratina, 268.
Nitrato de urea, 430.
Nitrogenadas (substancias), 1.
Nitrógeno, 22.
— de las purinas, 451.
— de la sangre, 255.
— total, 313, 427.
— urinario, 427.
Nitroxihemoglobina, 240.
No dosado urinario, 457.
Normales (soluciones), 27.
Nucleasa, 147, 150.
Nucleicos (ácidos), 147.
Nucleínas, 146.
Nucleínicas (bases), 149.
Núcleohistona, 153.
Núcleoprotamidas, 153.
Núcleoproteido biliar, 299.
— de la sangre, 202.
Núcleoproteidos, 145.
Nucleósido, 152.
Nucleótido, 152.

Oleico (ácido), 57, 63.
Orgánicas (substancias), 1.
Orina, 408.
Orinas acetónicas, 470.
— albuminosas, 459.
— azucaradas, 465.
— biliares, 469.
— con hemoglobina, 469.
— patológicas, 458.
— sanguinolentas, 469.
Ornitina, 112, 454.
Ornitúrico (ácido), 454.
Osazonas, 84.
Oseína, 267.
Óseo (tejido), 266.
Ósmosis, 43.
Osmótica (presión), 45.
Osonas, 83.
Ovalbúmina, 320.
Ovomucoide, 321.
Ovovitelina, 322.
Oxalatado (plasma), 196.
Oxalato de urea, 430.
Oxálico (ácido), 450.
Oxalúrico (ácido), 449.
Oxhidrilo, 54.
Oxibutírico (ácido), 470.
Oxicarbonada (hemoglobina), 238.
Óxido de hierro, 20, 22.
Oxígeno, 22.
— de la sangre, 255.
Oxihemoglobina, 223.
— (disociación de la), 247.
Oximiohematina, 278.
Oxiprolina, 115.
Oxinitrogenada (hemoglobina), 238.

Palmítico (ácido), 63.
Pan, 324.
Pancreático (jugo), 383.
Papaína, 394.
Papayotina, 394.
Parabánico (ácido), 449.
Paracaseína, 339.
Paracresilsulfúrico (ácido), 421.
Paracresol, 421.
Parafinada (sangre), 192.
Paraglobulina, 201.
Paraláctico (ácido), 279.
Paramiosinógeno, 276.
Paranucleicos (ácidos), 155.
Paranucleínas, 155.
Paranúcleoproteidos, 154.
Paraoxibenzoico (ácido), 426.
Paraoxifenilacético (ácido), 425.
Paraoxifeniloxipropiónico (ácido), 425.
Parapeptona, 373.
Pelos, 271.
Pentosas, 73, 152.
Pepsina, 370.
Pepsinógeno, 377.
Péptidos, 140.
Peptonas, 137.
— de Meissner, 373.
—de Schmidt-Mülheim, 373.
Pergamino dializador, 50.
Pesaorina, 409.
Pescado, 318.
Pícrico (ácido), 130.
Pigmentos biliares, 294.
— del músculo, 277.
— sanguíneos, 222.
— urinarios, 455.
Pirimídicas (bases), 149.
Pirimidina, 149.
Pirogalato de potasa (absorción del oxígeno por el), 24.
Pirrol, 246.
Plasma citratado, 197.
— descalcificado, 197.
— fluorado, 197.
— de la leche, 332.
— de la linfa. 260.
— muscular, 274.
— oxalatado, 196.
— peptonado, 198.
— salado, 196.
— sanguíneo, 191.
Plasmocimo, 215.
Plomo (jabones de), 62.
Plumas, 271.
Poder reductor, 76.
— rotatorio, 75.
Polarizadores, 75.
Polipéptidos, 140.
Polisacáridos, 92.
Polinucleótido, 159.

Precipitación de las substancias albuminosas, 126.
Precipitinas, 179.
Prodiastasas, 170.
Producciones cutáneas, 271.
Profermentos, 170.
Profibrinofermento, 171, 215.
Prolabfermento, 171.
Prolina, 115.
Propeptona de Schmidt-Mülheim, 373.
Propeptonas, 137.
Propeptónicas (reacciones), 137.
Prosecretina, 405.
Prostético (grupo), 142.
Protagón, 269.
Protaminas, 118.
Proteicas (substancias), 99.
Proteidos, 141.
Proteínas, 99.
— conjugadas, 141.
Proteinocromógeno, 116.
Proteoides, 156.
Proteosas, 136.
— primarias, 138.
— secundarias, 138.
— urinarias, 464.
— verdaderas, 137.
Protonas, 119.
Protoproteosas, 138.
Protripsina, 396.
Protrombina, 215.
Punto crioscópico, 33.
Púricas (bases), 149.
Purina, 150, 451.
Púrpura retinal, 269.
Pus, 263.

Queratina, 268, 271.
Quenotaurocólico (ácido), 293.
Quesos, 319.
Quilo, 261.
Quimo, 382.
Quimosina, 379.

Raíces alimenticias, 325.
Reacción de Adamkiewicz, 106.
— del biuret, 103.
— de Bottger, 77.
— de Denigés, 447.
— glioxílica, 105.
— de Gmelin, 297.
— de Hammarsten, 298.
— del indoxilo, 423.
— de la leche, 332.
— de Liebermann, 106.
— de los líquidos del organismo, 25.
— de Millon, 104.
— de Molisch, 106.
— de Pettenkoffer, 289.
— de Moore, 77.
Reacción de la murexida, 447.
— de la orina, 409.
— picrocítrica, 130, 463.
— de los pigmentos biliares, 297.
— de las sales biliares, 289.
— de Salkowski, 301.
— de Schiff, 431.
— de Trommer, 77.
— de Udanszky, 290.
— de Uffelmann, 366.
— de Vulpian, 306.
— de Widal, 180.
— xantoproteica, 102.
Reacciones de coloración de las substancias albuminosas, 102.
— de precipitación de las substancias albuminosas, 126.
— propeptónicas, 137.
Reactivo de Almen, 129.
— de Esbach, 130, 463.
— de Millon, 104.
— de Nessler, 442.
— de Nylander, 467.
— de Tanret, 130.
Residuo seco, 5.
Respiratorio (cociente), 59, 72.
Resto de ácido, 54.
Reversibilidad de las acciones diastásicas, 165.
Rigidez muscular, 276.
Rodopsina, 269.
Rosólico (ácido), 25.

Sacarificación del almidón, 353.
Sacarosa, 85.
Sacarosas, 84.
Sales, 10, 54, 55.
— amoniacales, 442.
— biliares, 288.
— de cal, 20, 213.
— de magnesia, 19.
— minerales (precipitación de las substancias albuminosas por las), 128.
— de la orina, 411.
Salicina, 73.
Saligenina, 73.
Saliva, 350.
Salmina, 118.
Salvado, 324.
Sangre, 189.
— lacada, 222.
Sanguijuelas, 198.
Saponificación, 60.
Saponificante (diastasa), 386.
Sarcoláctico (ácido), 279.
Sebácea (materia), 272.
Secretina, 405.
Semipermeables (membranas), 43.
Serina, 110.

Serocimo, 215.
Seudoglobulina, 201.
Seudomucina, 145.
— biliar, 300.
Solubilidad de los gases (coeficientes de), 253.
Soluciones normales, 27.
— (propiedades de las), 30.
Submicrones, 125.
Succínico (ácido), 81.
Sudor, 272.
Suero, 190.
— muscular, 275.
— del pus, 263.
— sanguíneo, 190.
Sueroalbúmina, 200.
Sueroglobulina, 201.
Sulfato amónico, 128.
— de magnesia, 133.
— de sosa, 129.
Sulfatos, 17, 419.
Sulfocianuros, 352.
Sulfocondroítico (ácido), 266.
Sulfoconjugados (ácidos), 419.
Sulfuradas (substancias), 3.
Suprarrenina, 304.
Surfusión, 34.
Suspensiones, 124.
Suspensoides, 124.

Tanino, 129.
Taurina, 292.
Taurocolatos, 288.
Taurocólico (ácido), 288.
Tejido cartilaginoso, 265.
— conjuntivo, 264.
— hepático, 283.
— nervioso, 268.
— óseo, 266.
Tensión de un gas disuelto, 248.
Ternarias (substancias), 1.
Tialina, 353.
Tierras alcalinas, 22.
Timina, 149.
Timonucleico (ácido), 154.
Tiroglobulina, 309.
Tiroides, 306.
Tiroidina, 307.
Tirosina, 114.
Tirosinasa, 392.
Tornasol, 25.
Toxinas, 174.
Trasudados, 261.
Tribromofenoles, 421.
Tributirina, 330.
Tricapronina, 330.
Tricloracético (ácido), 131.
Triestearina, 56.
Triglicéridos, 56.
— mixtos, 57.
Trimargarina, 59.
Trioleína, 56.
Tripalmitina, 56.
Tripsina, 388.
Tripsinógeno, 395.
Triptófano, 116.
Trombina, 211.
Trombocinasa, 215.
Trombógeno, 215.
Tubérculos, 325.
Tubo de Frédéricq, 434.
— de Yvon, 433.
Tubos de Mette, 377.

Ultrafiltración, 125.
Uñas, 271.
Uracilo, 149.
Uratos, 445.
Urea, 429.
— (dosificación de la), 433.
— (nitrato de), 430.
— (oxalato de), 430.
Ureasa, 432.
Ureómetros, 435.
Úrico (ácido), 445.
Urinarios (pigmentos), 455.
Urobilina, 455.
Urobilinógeno, 455.
Uroclorálico (ácido), 427.
Urocromo, 457.
Uroeritrina, 457.
Uroleucínico (ácido), 459.

Valina, 109.
Venenos, 176.
Ventilación (coeficiente de), 259.
Vitales (fermentaciones), 159.
Vitelinas, 134.
Vitelosas, 136.

Xánticas (bases), 149.
Xantina, 151.
Xantoproteica (reacción), 102.
Xilosa, 148.

Yema de huevo, 321.
Yodo, 307.
Yodoformo, 81, 471.
Yodotirina, 307.
Yoduro de almidón, 94.
Yugular (procedimiento de la), 191.

ÍNDICE DE MATERIAS

Págs.

PREFACIO VII

CAPÍTULO PRIMERO.—**Materias minerales** 1

I. Agua 4
a. Desecación y residuo seco. 5
b. Carbonización e incineración. . . . 7
II. Cenizas 10
a. Cloruros 11
b. Fosfatos 13
c. Sulfatos 17
d. Carbonatos 18
e. Bases 19
f. Origen de las cenizas. 21
III. Gases 22
IV. Reacción de los líquidos del organismo. . . 25

CAPÍTULO II.—**Soluciones** 30

I. Crioscopia 32
II. Osmosis 43

CAPÍTULO III.—**Las grasas o materias grasas.** 53

I. Nociones generales químicas 53
II. Grasas de los tejidos. 56
III. Lecitinas. 66
IV. Lipocromas y lipoides 69

CAPÍTULO IV.—**Hidrocarbonos o hidratos de carbono.** . . . 71

I. Glicosas o monosacáridos 74
a. Glicosa. 74
b. Levulosa 82
c. Galactosa 82

Págs.

II. Sacarosas o disacáridos. 84
a. Sacarosa 85
b. Lactosa. 87
c. Maltosa. 88
III. Amilosas o polisacáridos. 92
a. Almidón 93
b. Glicógeno. 95
c. Dextrinas. 96
IV. Glicosamina y ácido glicurónico. 97

CAPÍTULO V.—**Substancias proteicas o proteínas**. 99

I. Substancias albuminosas o albuminoides. . 100
a. Reacciones de coloración. 102
b. Acidos amidados o amidoácidos . . . 107
1. Amidoácidos acíclicos. 108
2. Amidoácidos aromáticos 113
3. Amidoácidos heterocíclicos 115
c. Protaminas 118
d. Estado coloidal de las substancias albuminosas. 119
e. Clasificación fisiológica de las substancias albuminosas. 126
1. Substancias albuminosas naturales. . 126
α. Reacciones de precipitación . . 126
β. Coagulación de las substancias albuminosas 131
γ. Albúminas y globulinas. . . . 132
2. Substancias albuminosas desnaturalizadas o de transformación. . . . 135
α. Substancias albuminosas coaguladas 135
β. Alcalialbuminoides y ácidoalbuminoides 136
γ. Proteosas. 136
δ. Polipéptidos. 140
II. Proteidos o proteínas conjugadas 141
a. Glicoproteidos 142
1. Mucinas. 143
2. Mucoides 145
b. Núcleoproteidos. 145
1. Caracteres de los núcleoproteidos. . 145
2. Acidos nucleicos. 147

Págs.

3. Núcleoprotaminas y núcleohistona. . 153
c. Paranúcleoproteidos 154
III. Substancias albuminoides o escleroproteínas o proteidos 156
a. Gelatina 156
b. Elastina. 157

CAPÍTULO VI. — **Diastasas o encimos** 159

I. Fermentaciones vitales y fermentaciones químicas o diastásicas 159
II. Propiedades de las diastasas 163
III. Diastasas exocelulares y endocelulares. . . 168
IV. Profermentos o prodiastasas. 170

CAPÍTULO VII. — **Encimoides** 173

I. Toxinas y antitoxinas 174
II. Aglutininas y precipitinas 179
III. Bacteriolisinas y hemolisinas 186

CAPÍTULO VIII. — **Sangre**. 189

I. Plasma sanguíneo. 191
a. Preparación del plasma 191
b. Substancias proteicas del plasma . . 199
II. Coagulación de la sangre. 203
III. Azúcar de la sangre. 217
IV. Diastasas de la sangre 221
V. Glóbulos rojos 221
VI. Pigmentos de la sangre. 222
A. Oxihemoglobina y hemoglobina . . . 223
1. Oxihemoglobina 223
2. Hemoglobina 223
3. Dosificación de las materias colorantes de la sangre 232
4. Metahemoglobina 237
5. Hemoglobina oxicarbonada y oxinitrogenada 238
B. Productos de la descomposición de los pigmentos sanguíneos. 240
1. Hematina y hemina 241
2. Hematoporfirina 243

Págs.

CAPÍTULO IX. — **Los gases de la sangre y los cambios gaseosos respiratorios** 247

I. Disociación de la oxihemoglobina 247
II. Gases de la sangre 252
III. Cambios gaseosos pulmonares 258

CAPÍTULO X. — **Linfa, Trasudados, Exudados** 260

I. Linfa 260
II. Trasudados y exudados 261

CAPÍTULO XI. — **Tejido conjuntivo** 264

I. Tejido conjuntivo propiamente dicho . . . 264
II. Tejido cartilaginoso 265
III. Tejido óseo 266

CAPÍTULO XII. — **Tejido nervioso** 268

CAPÍTULO XIII. — **Producciones cutáneas** 271

CAPÍTULO XIV. — **El músculo** 273

I. Mioplasma. 274
II. Pigmentos del músculo 277
III. Materias extractivas del músculo 278

CAPÍTULO XV. — **El hígado y la bilis** 283

I. Tejido hepático. 283
II. Glicógeno del hígado. 284
III. Bilis 287
a. Sales biliares 288
b. Pigmentos biliares. 294
c. Núcleoproteido biliar 299
d. Colesterina 300
e. Cálculos biliares 302

CAPÍTULO XVI. — **Cápsulas suprarrenales. Tiroides** 304

I. Cápsulas suprarrenales 304
II. Tiroides 306

CAPÍTULO XVII. — **Alimentos** 310

I. Análisis de los alimentos 312
II. Alimentos de origen animal 316

Págs.

a. Carne 316
b. Leche 318
c. Huevo de las aves 320
III. Alimentos de origen vegetal 325

CAPÍTULO XVIII. — **Leche** 327

I. Glóbulos grasos de la leche 328
II. Lactoplasma. 332
a. Azúcar de la leche 342
b. Proteínas de la leche 334
c. Caseificación de la leche 337
III. Calostro 342
IV. Leches diversas. 345

CAPÍTULO XIX. — **Saliva** 350

I. Constitución química de la saliva 350
II. Diastasa salival 353

CAPÍTULO XX. — **El jugo gástrico** 357

I. Combinaciones ácidas. 360
II. Pepsina 370
III. Fermento lab o cuajo 378
IV. Contenido gástrico 382

CAPÍTULO XXI. — **Jugo pancreático** 383

I. Amilopsina o diastasa amilolítica. 386
II. Esteapsina o diastasa saponificante 386
III. Tripsina o diastasa proteolítica 388

CAPÍTULO XXII. — **El jugo intestinal y la mucosa intestinal** 399

I. Jugo intestinal y mucosa intestinal 399
II. Contenido intestinal 406

CAPÍTULO XXIII. — **Orina** 408

I. Sales minerales de la orina 411
a. Dosificación volumétrica de los cloruros . 412
b. Dosificación volumétrica de los fosfatos . 415
c. Origen de las sales de la orina 417
II. Sales de ácidos sulfoconjugados o fenilsulfatos urinarios 418

		Págs.
III.	Substancias nitrogenadas en la orina . . .	427
a.	Urea	429
b.	Amoníaco y sales amoniacales urinarias .	442
c.	Acido úrico y uratos	445
d.	Acido hipúrico y sus sales	452
e.	Creatinina	454
IV.	Substancias diversas	455
a.	Pigmentos urinarios	455
b.	Indosificado urinario	457
c.	Diastasas de la orina	458
V.	Orinas patológicas.	458
a.	Orinas albuminosas	459
b.	Orinas azucaradas	465
c.	Orinas sanguinolentas y con hemogoblina.	469
d.	Orinas biliares.	469
e.	Orinas acetónicas.	470
f.	Cálculos urinarios	472

LÁMINA I

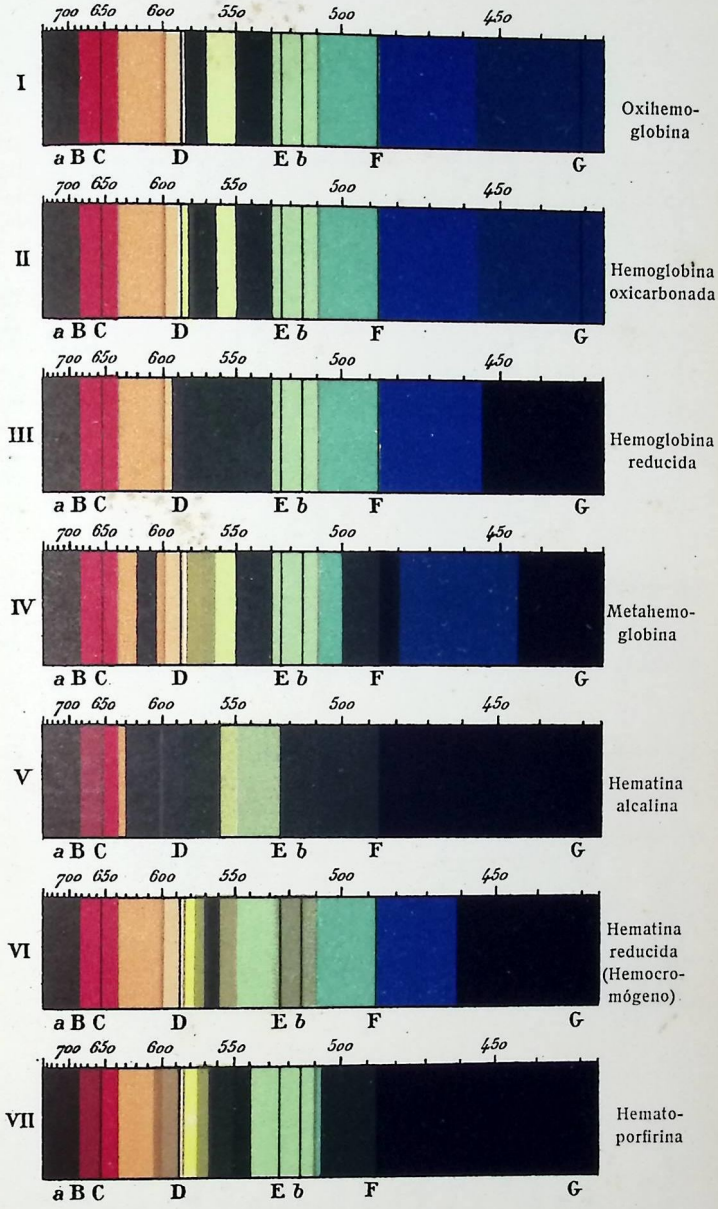


LÁMINA II

VALOR NUTRITIVO DE ALGUNOS ALIMENTOS, SEGÚN KONIG

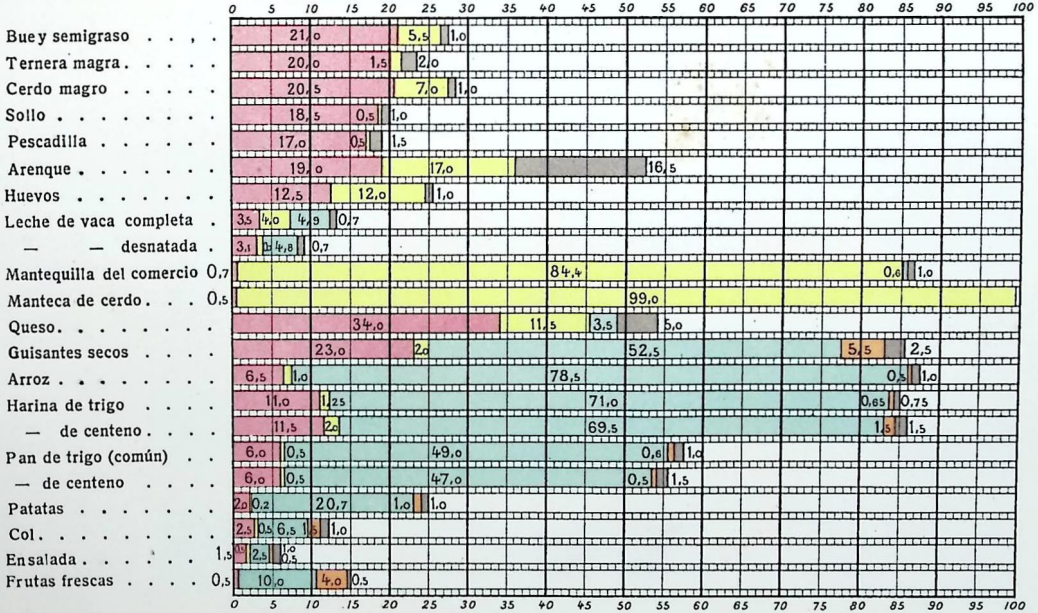


LÁMINA III

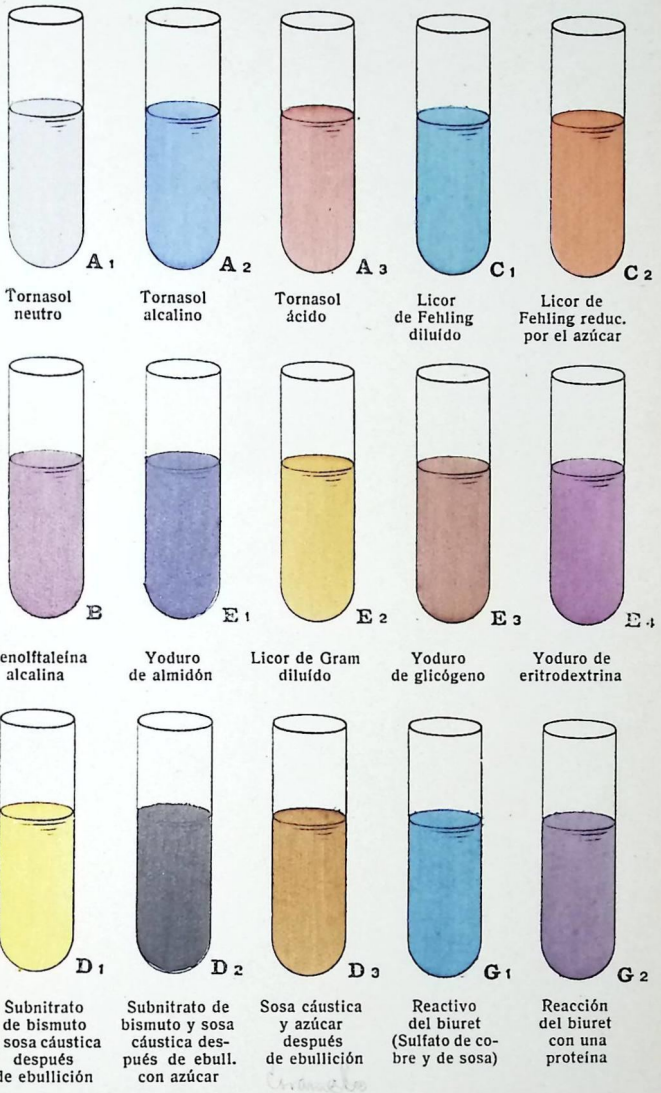
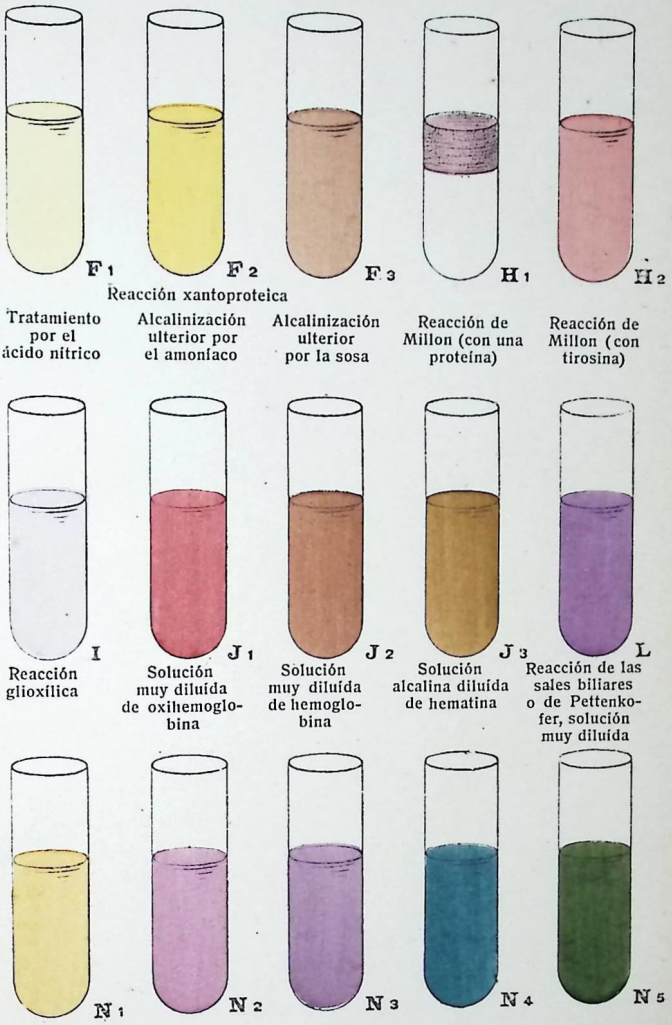
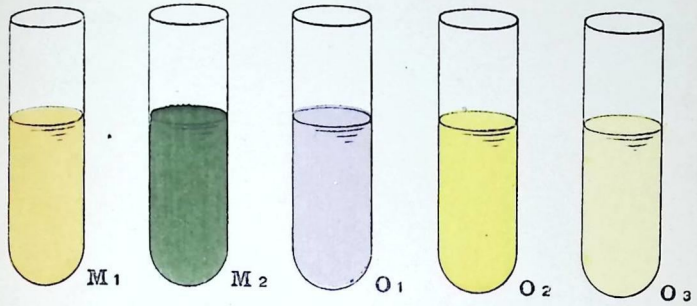

A 1
Tornasol neutro
A 2
Tornasol alcalino
A 3
Tornasol ácido
C 1
Licor de Fehling diluído
C 2
Licor de Fehling reduc. por el azúcar
B
Fenolftaleína alcalina
E 1
Yoduro de almidón
E 2
Licor de Gram diluído
E 3
Yoduro de glicógeno
E 4
Yoduro de eritrodextrina
D 1
Subnitrato de bismuto y sosa cáustica después de ebullición
D 2
Subnitrato de bismuto y sosa cáustica después de ebull. con azúcar
D 3
Sosa cáustica y azúcar después de ebullición
G 1
Reactivo del biuret (Sulfato de cobre y de sosa)
G 2
Reacción del biuret con una proteína

LÁMINA IV


F 1
F 2
F 3
H 1
H 2
Reacción xantoproteica
Tratamiento por el ácido nítrico
Alcalinización ulterior por el amoníaco
Alcalinización ulterior por la sosa
Reacción de Millon (con una proteína)
Reacción de Millon (con tirosina)
I
J 1
J 2
J 3
L
Reacción glioxílica
Solución muy diluída de oxihemoglobina
Solución muy diluída de hemoglobina
Solución alcalina diluída de hematina
Reacción de las sales biliares o de Pettenkofer, solución muy diluída
N 1
N 2
N 3
N 4
N 5
Los cinco colores de la reacción de Gmelin
Reacción de los pigmentos biliares

LAMINA V



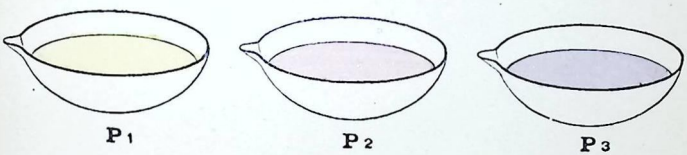
Solución clorofórmica diluída de bilirrubina

Solución alcohólica diluída de biliverdina

Reactivo de Uffelmann (fenol y percloruro de hierro)

Reacción de Uffelmann con ácido láctico

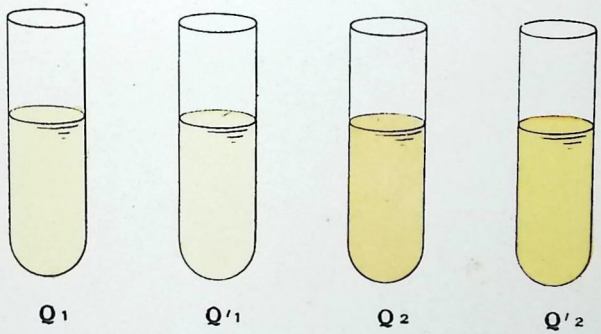
Reacción de Uffelmann con ácido clorhídrico



Reacción de la murexida
1.ª fase
Acido nítrico

Reacción de la murexida
2.ª fase
Amoníaco

Reacción de la murexida
3.ª fase
Sosa



Orinas normales

Orinas biliares

