

# CRÍTICA DELS MÈTODES DE VALORACIÓ DE L'OXIGEN ABSENT URINARI

per

A. FOLCH I PI

Quan, sota la direcció del professor doctor A. Pi i Suñer, emprenguérem la sèrie de determinacions del quocient *oxigen absent* : *nitrogen* en una llarga sèrie de malalts de la nutrició, amb objecte de determinar el paral·lelisme que poguéss tenir amb la presència en l'orina de l'aldehid pirúvic — signe de catabolia insuficient —, se'ns presentà, abans que tot, el problema de dominar la tècnica adequada. Ens dirigírem al mètode de Müller (1) que ja havia estat objecte d'estudi en aquest mateix Institut de Fisiologia de Barcelona, i després de diverses experiències de comprovació (primera setmana de novembre del 1932), arribàrem a obtenir dobles determinacions bones, i amb errors del 2 al 6 per 100 solament respecte a les xifres teòriques calculades per a diversos cossos (lactosa, àcid oxàlic). Com és sabut, aquest mètode consisteix en posar en bany de sorra, i en un Erlenmeyer de 500, una quantitat exacta de iodat potàssic, un excés d'àcid sulfúric i l'orina o la substància a investigar. Es procura que la temperatura no passi d'uns 200° (el iodat es descompon a 300°), el sulfúric ataca el iodat en la mesura necessària per a deixar lliure la

quantitat d'oxigen precisa per a oxidar totes les substàncies orgàniques presents en l'orina. Es determina després la quantitat de iodat que queda sense atacar, i per una sèrie de càlculs que no esmentem ací per no fer massa llarga aquesta nota, se sap quina quantitat de IOK ha calgut ésser destruïda, i per tant, quant oxigen ha pres el conjunt de cossos oxidables presents en el líquid problema. Tant Müller com els que han utilitzat el seu mètode — i entre nosaltres, J. Pi Suñer i Bayo (2) —, com nosaltres mateixos, en les experiències de control hem trobat una concordança perfecta dintre el marge d'error experimental dels mètodes químics volumètrics (el iodat es titula al final de l'experiència, alliberant-ne el iode amb IK, i es titula aquest amb hiposulfit). Així les coses, emprenguérem la sèrie de determinacions que són objecte d'un altre treball, en col·laboració amb el doctor A. Pi i Suñer.

La primera cosa, però, que ens cridà l'atenció ben aviat fou com, malgrat treballar exactament en les mateixes condicions que ho havíem fet per a les determinacions de lactosa i àcid oxàlic, o sigui en aquelles que se'ns havien demostrat bones — i que eren exactament les recomanades per Müller —, les xifres de nitrogen obtingudes en el líquid al final de l'experiència, eren massa baixes pel que era d'esperar del règim seguit pels malalts, clínicament amb aparell renal sà. Efectivament (de totes les experiències n'extreurem solament unes dades), dubtant dels resultats obtinguts, férem, ensems que la determinació segons Müller, una determinació paral·lela del nitrogen total de les orines estudiades, seguint el mètode de Kjeldahl. Ens sorprengueren força els resultats : el 15 de gener del 1933, l'orina que pel Müller donava 4'90 gr. de nitrogen per 1000, donava directament 12 gr. per 1000. La del dia 19 de febrer del 1933

donava, respectivament, les xifres de 4'48 i 8'40 gr. per 1000 en una mostra, i en la d'una altra micció, 3'92 i 8'90 gr. per 1000 (malaltes, vuit dones; sala del doctor J. M. Bellido, de l'Hospital Clínic). El fet de seguir al peu de la lletra totes les indicacions donades per l'autor — i recolzats en els bons resultats trobats per a l'oxidació de cossos químics purs esmentats —, ens féu dubtar, i valoràrem diverses mostres de sulfat amònic: els nostres reactius estaven en perfecte estat, i l'error fou d'1 per 100. Tenim, doncs, la certesa que l'oxidació obtinguda amb el mètode de Müller no era prou intensa per a transformar en sulfat amònic tot el nitrogen present en l'orina. A partir d'aquell moment, seguirem, per a l'estudi del valor O/N, la determinació de Müller per a l'oxigen, però el nitrogen el valoràrem directament de l'orina, segons la tècnica clàssica.

Era lògic, però, quedar-se amb el dubte : des del moment que l'atac de les substàncies nitrogenades no era perfecte, potser succeïa el mateix per al iodat; en altres paraules : ¿Estàvem certs que l'atac del iodat es feia en la mesura precisa per a poder assegurar que les matèries a oxidar disposaven d'oxigen en la quantitat precisa? Les determinacions fetes amb cossos purs ofereixen, indubtablement, condicions d'experiència força diferents de les que s'efectuen en orina, on el nombre de cossos a atacar, el dosat i l'indosat, és probablement força més elevat del que suposem, i que al costat dels fàcilment oxidables, altres han d'ésser-ho amb força més dificultat. De totes maneres, com sigui que en realitat no podem concloure experimentalment quina és la xifra certa per a poder estar segurs de la bondat del mètode, seguirem treballant i partirem de la base que si error hi havia en les orines del mateix malalt, el marge havia d'ésser paral·lel, i com que el que es tractava de deter-

minar eren xifres comparables, fins a cert punt, tots els resultats obtinguts amb un mètode que creïem defectuosos conservaven llur vàlua.

Convençuts, però, que no havien passat per alt al propi Müller aquestes falles del seu mètode (ell recomana servir-se del filtrat obtingut en la forma esmentada per a la determinació, no solament del iodat, sinó del nitrogen), cercàrem en les publicacions que teníem a mà per veure si en algun lloc es parlava de la dificultat en què ens trobàvem nosaltres.

Efectivament, el propi Müller (3) es veié obligat a modificar el seu mètode. Deia que en el bany de sorra els valors obtinguts eren massa baixos, perquè quedaven substàncies sense atacar; ho atribuïa també, en part, a la poca concentració del sulfúric (resultava d'un 66 per 100 en vol.). Intentà de treballar augmentant la concentració del sulfúric, fent l'experiència de major duració, i afegint a l'orina sals de metalls que actuïn com a catalitzadors. De les seves determinacions arriba a concloure'n que mentre la concentració de l'àcid no passi de 80 per 100 no s'obtenen valors en la determinació en blanc. Queda, doncs, amb aquesta nova tècnica : concentració més elevada de sulfúric, duració major de l'experiència i opera amb matrassos o amb els mateixos Erlenmeyers d'abans, però provistos de refrigerant de reflux, per a evitar — diu — la pols de l'aire, que pot ésser causa d'errors. Reconeix que amb aquest mètode, però, no són certs els resultats obtinguts per al nitrogen. (Per al primer, en canvi, no constatava aquest error, o almenys no el manifesta.) Remarca que «malgrat que Bickel, Goldschmidt, etc., hagin treballat amb el meu mètode i hagin obtingut resultats apreciables, i que les dobles determinacions siguin perfectes, etc.», no pot estar segur de la bondat de les xifres obtingudes, ja que «en l'orina

no sabem quins resultats hem de trobar...». El que li fa dubtar dels valors obtinguts primitivament és el fet que, en treballar amb major concentració d'àcid i durant més estona, troba que l'oxigen absent de l'orina estudiada augmenta.

Amb aquest segon mètode, Müller troba una sèrie de resultats concordants en els dobles, i, com en el cas del primer, les xifres obtingudes amb cossos purs estan d'acord amb les calculades. Però certament les xifres de l'orina són de vegades massa elevades. Treballant en aquestes condicions obtenim nosaltres diverses vegades una coloració verdosa lleugera de la barreja, que és deguda a què el iodat es descompon molt abans d'arribar a 300 graus (primera setmana del mes de gener del 1933). Si es treu el matràs de seguida, s'obtenen xifres elevades. Deixant-lo fins que la coloració desapareixi, tot el iodat es descompon.

Següirem, doncs, treballant amb el Müller I. I aleshores aparegué un article de B. Kanitz (4), en el que, per motius purament teòrics (treballant amb el Müller I i després amb el II, troba errors en el paral·lelisme que hauria d'existir entre els valors dels cocients  $C/N$  i  $O/N$ ), dedueix que ha d'haver-hi error en la determinació de l'oxigen absent. Aquest autor preconitza un mètode que nosaltres hem utilitzat repetidament, i que, en síntesi, és el següent. Comença per tenir preparada una solució amb iodat potàssic en sulfúric, que conserva el seu títol durant molt temps. Un cop preparada, es titula una vegada per totes. Una quantitat donada d'aquest reactiu, amb 1 cc. d'orina i aigua destil·lada, es posa a bullir en matrassos de 100 cc., amb perla de vidre durant tres minuts i refrigerant de reflux. El desprendiment de iode es fa ràpidament. Rebullint amb excés d'aigua s'elimina el iode que pogués quedar, i després es titula

el iode lliurat mitjançant IK, amb hiposulfit. Aquest mètode, en definitiva, s'assembla més al Müller I que al II. Té l'avantatge que, en cosa de mitja hora, permet una valoració, que amb els mètodes que nosaltres utilitzàvem de Müller necessitàvem gairebé tota una tarda. Dóna unes dobles determinacions francament bones. Al seu autor li ofereix xifres de nitrogen idèntiques a les obtingudes per kjeldahlització directa.

Nosaltres hem utilitzat aquest mètode. Hem de dir que les xifres de nitrogen que ens dóna són lleugerament inferiors a les obtingudes determinant-lo en l'orina, però el mateix Kanitz ja diu que es determini d'aquesta darrera manera. Els resultats obtinguts amb substàncies pures són francament satisfactoris. (Exemple : el 16 de març del 1933 l'oxigen absent calculat d'una solució d'àcid oxàlic era 369 mgr., i se'n trobaren 350; per a una solució de lactosa calculada en 21'06 mgr., se'n trobaren 20'7.). En les determinacions a buit no obtenim variacions del títol de la solució (quatre determinacions en dies diferents, 9 a 16 de març del 1933, variacions màximes de 617 a 623 mgr. de iodat), però hem observat que si l'ebullició és gaire intensa, ve la descomposició del iodat. En el Müller I no ha de passar-se gens de 200 graus; ací podem dir solament que ha d'allunyar-se el Bunsen cada cop que es comença el desprendiment de iode (abans d'un minut de començat l'escalfament). Després, un cop escalfat a poc gas i aclarit amb aigua, pot fer-se bullir impunement; la dilució que ha experimentat el sulfúric permet d'operar sense que hi hagi perill de descomposició de iodat.

Finalment, hem trobat exactament els mateixos valors amb refrigerant de reflux com sense. Però per a seguir la tècnica tal com l'aconsella l'autor, hem seguit fent les determinacions amb el refrigerant. Aquest mètode

tode, però, si abreuja molt la durada de la determinació és molt delicat, ja que l'ebullició amb tela metàl·lica amiantada fàcilment eleva massa la temperatura, la qual cosa era més fàcil de controlar en el Müller I.

És aquest mètode segur? No en sabem res, i probablement trigarem molt de temps en saber-ho. Mentre no tinguem idea de la quantitat de l'indosat urinari, i haguem d'acontentar-nos amb mètodes de valoració d'oxigen absent que donin dobles determinacions bones, els resultats seran sempre discutibles. Però per a les determinacions comparatives guarda tot el seu valor. El dia que la determinació del carbó sigui menys complicada i sobretot doni resultats absolutament certs, no tindrem de dirigir-nos a reaccions indirectes com en el nostre cas.

Si haguéssim de resumir, diríem:

1.<sup>r</sup> Que el mètode de Müller I, malgrat donar dobles determinacions bones, no ataca prou bé les substàncies presents en l'orina, ja que de vegades arriba a deixar gairebé la meitat del nitrogen sense transformar en sulfat amònic.

2.<sup>n</sup> El mètode modificat o Müller II (com l'anomena Kanitz), dóna xifres massa altes, i mai es té la certesa que, poc o molt, no s'hagi descompost el iodat. La prova és que a buit dóna valors.

3.<sup>r</sup> El mètode de Kanitz, que ell anomena semi-micromètode, té l'avantatge de la rapidesa (una mitja hora), dóna dobles determinacions bones, però, segons la nostra experiència, ha de portar-se a cap amb tota minuciositat, ja que, per mica que l'ebullició sigui forta, s'obtenen valors massa elevats, per descomposició del iodat. De tots tres potser és el que més fàcilment dóna valors erronis si no s'opera amb molta cura. En canvi, treballant com indiquem, dóna tan bons resultats com els anteriors.

4.<sup>t</sup> Mentre no coneguem la qualitat i la quantitat dels cossos orgànics susceptibles d'oxidar-se en l'orina, no podrem mai certificar la bondat de cap mètode de determinació indirecta, com és, en el nostre cas, el de valoració de l'oxigen absent. Per tant, tractant-se solament de comparar resultats, en el qual cas qualsevol mètode pot donar, si s'opera amb meticulositat, resultats valuosos, ens decidim pel de Kanitz, però fent-ne sempre doble determinació i vigilant sobretot durant els tres o quatre minuts que dura la primera ebullició.

*Clinica de Malalties de la Nutrició.  
i Institut de Fisiologia.  
Facultat de Medicina. Barcelona.*

#### BIBLIOGRAFIA

1. H. Müller, Bioch. Zeitsch., CLXXXVI, 451; 1927.
2. J. Pi-Sunyer Bayo, Trab. del Inst. de Fisiol. de Barcelona, III, 101; 1929-1930.
3. H. Müller, Bioch. Zeitsch., CLXXXVIII, 156; 1927.
4. B. Kanitz, Bioch. Zeitsch., CCXLIX, 235; 1932.