

Laboratorio de Fisiología General del C. S. I. C.
Facultad de Medicina de Valencia
(Prof. J. García-Blanco)

Diferenciación de algunos aminoácidos naturales por su capacidad reductora del ácido vanádico a sal de vanadilo

por J. García-Blanco y A. M. Pascual-Leone

(Recibido para publicar el 29 de mayo de 1955)

En un trabajo anterior (1) se pudo observar que los diversos aminoácidos naturales manifiestan una resistencia muy variable a su oxidación por el ácido crómico en solución sulfúrica. Por analogía, se pensó que pudieran obtenerse resultados análogos substituyendo el ácido crómico por el ácido vanádico, teniendo en cuenta que en su primer grado de reducción el vanadato en solución sulfúrica se transforma en sales de vanadio tetravalentes (probablemente catión vanadilo), que por su brillante color azul permite denotar con facilidad el proceso reductor.

Material y métodos

Se ha operado con los aminoácidos puros: metionina, alanina, ácido glutámico, ácido aspártico, glicocola, cisteína, cistina, valina (de Merck). Serina, leucina, isoleucina, tirosina y lisina (de B. D. H.). Arginina y fenilalanina (de Hoffman-La Roche).

Los aminoácidos se disolvían en agua (agregando cantidades mínimas de ClH en los poco solubles), practicando soluciones

acuosas de concentraciones comprendidas entre 0'125 mg. por c. c. y 40 mg. por c. c.

El reactivo utilizado se prepara en la forma siguiente: se mezclan íntimamente 10 mg. de vanadato amónico con 1 c. c. de agua y a la masa así formada se le añaden lentamente 9 c. c. de sulfúrico ($d=1'80$). El ácido añadido se va coloreando en naranja, formándose un precipitado rojo que acaba por entrar en solución.

Aminoácidos	Color azul	Concentración límite
Cisteína	positivo	0'250 mg. a 0'125 mg. con 1 mg. de vanadato
Cistina	positivo	0'500 mg a 0'250 mg. con 1 mg. de vanadato
Metionina	positivo	0'500 mg. a 0'250 mg. con 1 mg. de vanadato
Tirosina	positivo	2 mg. con 0'5 mg. de vanadato

En unos minutos, veinte aproximadamente, ayudado de agitación, se logra la solución total, con lo que queda terminada la preparación del reactivo. En otros casos hemos realizado la reacción utilizando 20 mg. de vanadato en 9 c. c. de sulfúrico y 1 c. c. de agua para obtener doble concentración de vanadato en el mismo volumen.

La reacción se practicaba agregando 1 c. c. de la solución vanádica a 1 c. c. de la solución del aminoácido. Se produce el natural aumento de temperatura, y cuando la reacción es positiva, aparece un color azul. En caso contrario, el líquido toma un color amarillo más débil, igual que si se le agrega el reactivo a un volumen igual de agua.

Resultados

Operando con concentraciones hasta de 40 mg. por c. c., se obtienen resultados negativos con glicocola, alanina, serina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, lisina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico e histidina. Son, por el contrario, reductores del ácido vanádico, la cisteína, cistina, metionina y ti-

rosina. Las concentraciones mínimas de aminoácidos y de ácido vanádico en que se obtiene color azul se indican en el cuadro adjunto.

El triptófano, con el reactivo utilizado, da un color castaño obscuro muy intenso, apreciable hasta una concentración del aminoácido de 0'125 mg. por c. c. con 1 mg. de vanadato; usando diluciones mayores se va debilitando el color obscuro a amarillo más o menos claro en una concentración tal como 0'0312 mg., semejante a la coloración que da el triptófano con sulfúrico solo.

La presencia de triptófano en una solución de cisteína, cistina o metionina impiden que se aprecie el color azul, por predominar el castaño debido al triptófano. Basta la concentración de 0'0312 mg. por c. c. de triptófano con el color amarillo débil que antes se indicó, para invalidar el reconocimiento del color azul.

Comentario

La reacción antes descrita permite resolver de forma sencilla algunos problemas diferenciales de aminoácidos.

En una solución de un solo aminoácido en concentración mínima de medio mg. por c. c., la narración positiva azul, característica, nos demostrará que se trata de uno de los aminoácidos siguientes: cisteína, cistina, metionina o tirosina, quedando excluidos los demás. La reacción negativa, por tanto, permitirá excluir que el aminoácido en cuestión sea uno de los previamente citados.

En una mezcla de aminoácidos en la que esté excluido el triptófano, la reacción positiva demostrará la presencia de uno o varios de los citados cisteína, cistina, metionina, tirosina, puesto que los demás no interfieren la reacción coloreada.

Por el contrario, si en la mezcla de aminoácidos, a más de los que dan reacción positiva, se encuentra el triptófano, no podrá demostrarse la presencia de los citados cisteína, cistina, tirosina y metionina.

Resumen

Los aminoácidos cisteína, cistina, metionina y tirosina, en concentraciones de 0'125 mg. por c. c. reducen el vanadato amónico en solución sulfúrica a sal de vanadilo, de color azul. El triptófano en concentración de 0'125 mg. por c. c. da color castaño. La glicocola, alanina, leucina, isoleucina, valina, fenilalanina, arginina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico e histidina, no dan color alguno con el reactivo ni a concentración

de 40 mg. por c. c. Se discute las posibilidades de diferenciación de amino-ácidos por el reactivo empleado [1 mg. de vanadato amónico disuelto en un c. c. de sulfúrico ($d = 1.80$)].

Summary

The aminoacids cystin, methionine and thyroxine, in concentrations of 0,125 mgs to 2 mgs per c.c. reduce amonium vanadate in a sulphuric salution to vanadile salt of a blue colour. Tryptophan in concentrations of 0,125 mgs per c.c. produces a brown colour. Glycocola, alanine, leucine, isoleucine, valine, phenylalanine, arginine, lysin. aspartic acid, glutamic acid and histidine produce no colour whatever with the reactive, nor at concentrtrions of 40 mgs per c.c. The possibilities are discussed of a differentiation of aminoacids by the reactive employed [1 mgr of vanadate of amonium dissolved in une c.c. of sulphuric ($d = 1.80$)].

Bibliografía

- (1) GARCÍA-BLANCO, J. y PASCUAL-LEONE, A. M. : *R. esp. Fisiol.*; **11**, 143, 1955.