

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

Reacciones diferenciales de cisteína, cistina y metionina con mezcla vanádico-sulfúrica

M. Solsona

Recibido para publicar el 12 de febrero 1956)

En un trabajo precedente de este Laboratorio (1) se apreció que los aminoácidos azufrados cisteína, cistina y metionina reducen el ácido vanádico a sal de vanadilo en presencia de ácido sulfúrico, cuando éste se encuentra en el reactivo en la proporción de nueve c. c. de sulfúrico ($d = 1'84$) para un c. c. de agua.

Nos hemos planteado la posibilidad de diferenciar los tres aminoácidos indicados variando la concentración del ácido sulfúrico basándonos en la diferente resistencia hacia dicho ácido de las uniones S-S y S-CH₃.

Material y métodos

Se ha operado con aminoácidos puros, cisteína, cistina y metionina (MERCK), en solución al 1 por mil (en ClH al 2 por ciento). Después de varios ensayos se ha adoptado la siguiente composición de los tres reactivos, que sólo varían en su proporción en ácido sulfúrico.

- | | |
|--------------|--|
| Reactivo I: | 200 mg. de vanadato amónico |
| | 40 c. c. de ácido sulfúrico ($d = 1'84$) |
| | 60 c. c. de agua |
| Reactivo II: | 200 mg. de vanadato amónico |
| | 70 c. c. de ácido sulfúrico ($d = 1'84$) |
| | 30 c. c. de agua |

Reactivo III: 200 mg. de vanadato amónico
 90 c. c. de ácido sulfúrico ($d = 1.84$)
 10 c. c. de agua

La reacción se practica agregando en un tubo de ensayo a un c. c. de la solución del aminoácido al 1 por mil otro c. c. del reactivo; el color aparece rápidamente y la lectura debe hacerse antes de los treinta minutos. Mas a la larga (12 a 24 horas) desaparecen las diferencias de color propias de los aminoácidos, tomando todos ellos el color azul.

Resultados

Los resultados obtenidos se recogen en el siguiente cuadro.

Aminoácidos	Reactivo I	Reactivo II	Reactivo III
Cisteína	Azul	Azul	Azul
Metionina	Amarillo	Azul	Azul
Cistina	Amarillo	Amarillo	Azul

La sensibilidad de la reacción no es inferior a $1/4$ de mg. de aminoácido por c. c., si se desean obtener colores bien diferenciados. Para esto es también condición precisa que no haya un exceso de vanádico, pues el color amarillo de éste, agregado al azul, convierte en verde más o menos amarillento la reacción primitiva.

Discusión

La reacción precedente permite diferenciar los tres aminoácidos cuando en el líquido problema se encuentra sólo uno de ellos, siempre que su concentración sea de $1/4$ a $1/2$ por c. c. como mínimo; en este caso la reacción azul con el reactivo I, que se trata de cisteína; con el II de metionina y con el III de cistina.

Cuando están presentes en el problema dos o los tres en concentración superior a la umbral, nos encontramos ante los casos siguientes: si existe cisteína, no podrá denotarse la presencia de los otros dos, puesto, que las tres reacciones serán positivas, existan o no metionina y cistina. Cuando se encuentren metionina y cistina, la reacción con el reactivo I será negativa.

Debe recordarse que, según se indicó en el trabajo antes citado (1), la tirosina invalida la reacción con el reactivo III por dar el mismo color, y que el triptófano impedía el desarrollo del color azul con la aparición de uno castaño. En el caso de los reactivos I y II ocurre lo mismo, por lo que la reacción positiva pudiera ser debida a la presencia de la tirosina. La presencia del triptófano nos imposibilita también la reacción.

Resumen

Se preparan tres reactivos de mezcla vanádicosulfúrica, con la siguiente composición: R-I: 20 mg. de vanadato amónico, 4 c. c. de sulfúrico (d. 1'84) y 6 c. c. de agua. R-II: 20 mg. de vanadato amónico, 7 c. c. de sulfúrico (d. 1'84) y 3 c. c. de agua. R-III: 20 mg. de vanadato amónico, 9 c. c. de sulfúrico (d. 1'84) y 1 c. c. de agua.

El reactivo I da color azul solamente con la cisteína, el II con la cisteína y la metionina y el III con la cisteína, metionina y cistina.

Summary

DIFFERENTIAL REACTIONS OF CYSTEINE, CYSTINE AND METHIONINE WITH VANADIC-SULPHURIC MIXTURE

Cystein, cystine, and methionine reduce vanadic acid to vanady salt in the presence of SO_4H_2 (I). In the present work a differential reaction is given for the three, based on the different resistance to SO_4H_2 of the unions S-S and S-CH₃.

Three reactivs are prepared of vanadic-sulphuric mixture which contain the same concentration of ammoniacal vanadate and different concentrations of SO_4H_2 . R-I: 20 mg. ammoniacal vanadate, 4 ml. sulphuric (d. 1'84) and 6 ml. of water. R-II: 20 mg. of ammoniacal vanadate, 7 ml. sulphuric (d. 1'84) and 3 ml. water. R-III: 20 mg. of ammoniacal vanadate, 9 ml. sulphuric (d. 1'84) and 1 ml. of water.

Reactive I gives a blue colour only with cysteine, II with cysteine, and methionine, and III with cysteine, methionine and cystine.

Tyrosine invalidates the reaction by giving the same colour. Tryptophane impedes the blue colour and another brown one appears.

The differentiation is good when there is present in the problem only one of the aminoacids with S.

Bibliografía

GARCÍA-BLANCO, J. y PASCUAL-LEONE, A. M.: *R. esp. Fisiol.*, **11**, 149, 1955.

