

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica
Sección de Fisiología Animal de Barcelona
(Prof. Francisco Ponz)

Sobre la determinación colorimétrica de la digitoxina. Aplicación del sistema colorimétrico de Sols.

por J. LARRALDE

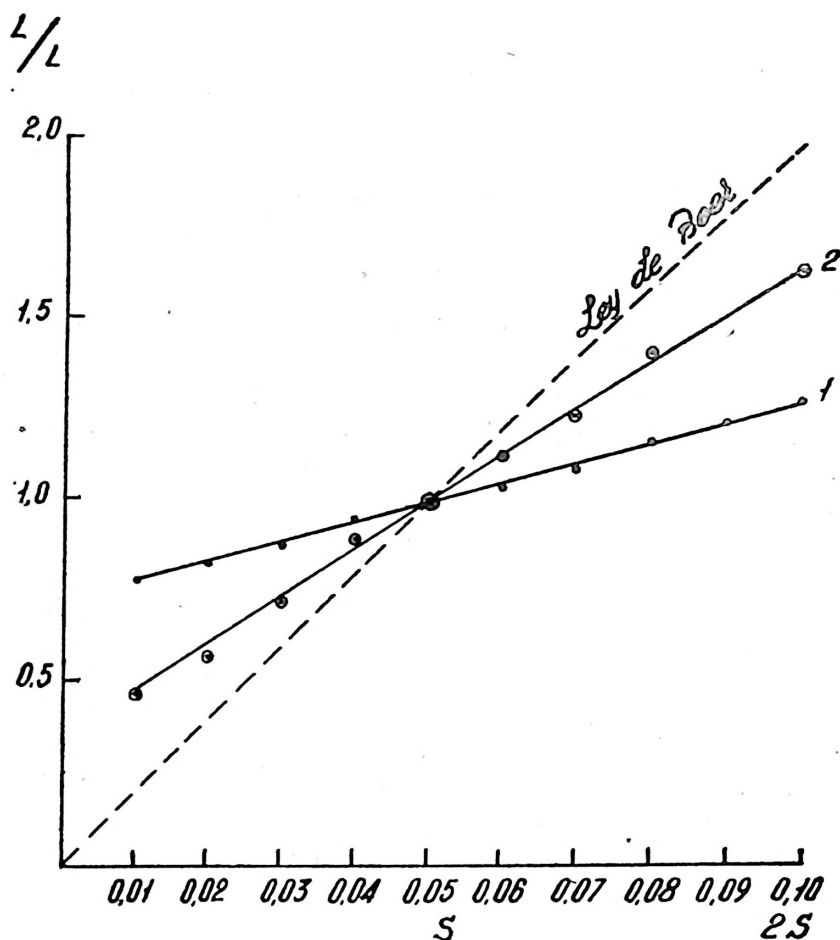
(Recibido para publicar el día 2 de Octubre de 1947)

Desde que BALJET dió (1) a conocer la reducción del picrato alcalino por los glucósidos cardíacos, muchos investigadores han tratado de utilizar esta reacción para la valoración de extractos o soluciones de glucósidos aislados. En el primer caso hacen falta tratamientos previos (KNUDSON y DRESBACH, 2) y los resultados son contradictorios (SNELL, 3).

En el segundo la reacción es utilizable para determinaciones cuantitativas entre ciertos límites (NEUMANN, 4; BIEHLER y RIST, 5; LENDLE, 6); la técnica se reduce a mezclar a partes iguales la solución de glucósido y picrato alcalino. Recientemente se ha revisado este problema utilizando el colorímetro de comparación (SELLÉS y DEL POZO, 7) y el electrofotómetro (BELL y KRANTZ, 8). No hay acuerdo en los trabajos citados sobre la desviación a la ley de BEER en estas reacciones, así como en el procedimiento para obviar tal dificultad. SOLS (9), ha estudiado recientemente la desviación a la ley de BEER de la reacción de JAFFÉ para la creatinina, encontrando una corrección prácticamente perfecta de los errores a ella debidos, mediante la aplicación de su sistema colorimétrico de dos standards. La semejanza de esta reacción, con la reducción del picrato alcalino con un glucósido, nos indujo a ensayar tal sistema en la valoración de concentraciones débiles de digitoxina.

PARTE EXPERIMENTAL

Hemos empleado digitalina Nativellé a diluciones seriadas. Reactivo, de picrato alcalino preparado por mezcla inmediata antes de uso de 95 c. c. de solución alcohólica de ácido pícrico



«Probus» al 1 % con 5 c. c. de hidróxido sódico al 10 %. Cinco centímetros cúbicos de cada dilución de glucósido se mezclaban con igual volumen de reactivo, efectuando las comparaciones a los 20 minutos en colorímetro, tipo Duboscq, empleando como tipo el correspondiente a la concentración 0,05 ‰.

Hemos encontrado que a bajas concentraciones (0,01-0,1 ‰) la manifiesta desviación a la ley de BEER puede ser corregida mediante el sistema colorimétrico de SOLS, mientras que a concentraciones mayores aparece una desviación que escapa a dicho sistema. Pero este margen de concentraciones es más que suficiente para los fines de valoración.

Por otra parte de series de observaciones hechas en distintas ocasiones, resulta que aun dentro del margen señalado como utilizable, por ser la desviación rectilínea, cuando se relacionan las concentraciones y los cocientes de las lecturas colorimétricas dentro de una serie (SOLS, 10), la desviación no es siempre igual para cada serie; esto depende, al menos en parte, del empleo de un reactivo — el picrato alcalino — que es inestable, y debe prepararse en el momento. Recogemos los dos casos extremos obtenidos de desviación máxima y mínima en la gráfica 1. Los valores correspondientes calculados aplicando el sistema de SOLS y por el método ordinario se consignan en las Tablas I y II.

TABLA I

Concentraciones g. ‰	Lecturas colorimétricas	Resultados calculados en función de los tipos 0,05 y 0,1 ‰ (s. SOLS)		Resultados según cálculo ordinario	
		Conc. g. ‰	% de error	Conc. g. ‰	% de error
0,100	15,6	—	—	0,064	36
0,090	16,4	0,089	1,1	0,061	32
0,080	17,2	0,079	1,2	0,058	27
0,070	18,3	0,067	4,2	0,055	21
0,060	19,1	0,059	1,6	0,052	13
0,050	20,0	—	—	—	—
0,040	21,0	0,041	2,5	0,048	20
0,030	23,2	0,026	13,5	0,043	43
0,020	24,5	0,018	10,0	0,041	105
0,010	25,8	0,010	0,0	0,039	290

Así, pues, la desviación a la ley de BEER existe, es considerable y es, además, inconstante, extremo este último que dificulta el empleo de una tabla de calibración, por obligar a un cuidado extremo en conservar constantes todas las condiciones de trabajo, cosa problemática, o a preparar cada vez la curva de calibración con gran número de tipos, o a preparar sólo

unos pocos, conformándose con efectuar comparaciones entre tipos y problemas algo parecidos. Esta última circunstancia de la variabilidad de la desviación, hace decisivo el empleo del sistema de SOLS, que puede dar resultados constantemente correctos con sólo dos tipos.

TABLA II

Concentraciones g. ‰	Lecturas colorimétricas	Resultados calculados en función de los tipos 0,05 y 0,1 ‰ (s. Sols)		Resultados según cálculo ordinario	
		Conc. g. ‰	% de error	Conc. g. ‰	% de error
0,100	12,2	—	—	0,082	10
0,090	13,5	0,088	2,2	0,074	17
0,080	14,2	0,082	2,5	0,070	12
0,070	16,1	0,069	1,4	0,062	11
0,060	17,8	0,060	0,0	0,056	6,6
0,050	20,0	—	—	—	—
0,040	22,6	0,041	2,5	0,044	10
0,030	27,4	0,029	3,3	0,036	20
0,020	34,9	0,017	15	0,029	45
0,010	43,5	0,008	20	0,023	130

En consecuencia, proponemos el empleo de dos tipos de digitoxina a 0,05 y 0,1 ‰ de los que se utilizará el primero como tipo propiamente dicho para comparar con él los problemas, y el segundo como tipo auxiliar para definir la desviación en cada caso. El cálculo se efectúa con arreglo a las fórmulas o tablas de SOLS (9). Teniendo en cuenta que no deben admitirse resultados superiores a 0,1-0,15 ‰, por lo que de antemano debe diluirse el problema lo suficiente para que quede por debajo de 0,1 ‰. Si esto no es posible por completo desconocimiento del orden de concentración de la solución a investigar, al encontrarnos con lecturas correspondientes a estas excesivas concentraciones, habrá que diluir el líquido ya coloreado con una mezcla diluidora compuesta del mismo picrato alcalino utilizado diluido al 1/2. (SOLS, 11.)

Este procedimiento a la par que simplifica la determinación por no exigir extremada pureza ni conservación del reactivo, permite obtener mejores resultados que los hasta ahora conseguidos por otros medios, por ser el único capaz de adaptarse a las circunstancias de cada caso.

Resumen

Se estudia la valoración colorimétrica de la digitoxina con picrato alcalino, encontrando siempre una desviación a la ley de BEER sistemática, aunque no constante, en cada serie de determinaciones, razones ambas que aconsejan el empleo del sistema de colorimetría de dos standards de SOLS. Con este procedimiento se obtienen resultados exactos a concentraciones comprendidas entre 0,01 y 0,1 $\frac{g}{100}$.

Summary

The colorimetric estimation of digitoxin with alkaline picrate is investigated. There is a systematic and inconstant deviation to Beer's law. For these motives the employ of SOLS' *two-standards* colorimetry is advisable. With this procedure exact results are obtainable within concentrations comprised between 0.01 and 0.1 o/oo.

Bibliografía

1. BALJET, H. — Schweiz. Apoth. Ztg., 56,71 y 84 (1918); Pharm. Weekblad, 55, 457 (1918).
2. KNUDSON, A. y DRESBACH, M. — J. Pharmacol. Exp. Therap. 19, 268 y 20, 205 (1922).
3. SNELL, F. D. y SNELL, C. T. — Colorimetric Methods of Analysis. Vol. II, 551 (1936-1945). New York.
4. NEUMANN, W. — Z. Physiol. Chem. 240, 241 (1936).
5. BIEHLER, W. y RIST. — Arch. f. Exper. Path. 102, 139 (1924).
6. LENDLE, L. — Handb. d. exp. Pharmakol., Vol. 1, 63 (1935).
7. SELLÉS, E. y DEL POZO, A. — Farmacognosia, 3, 70, 1944.
8. BELL, F. K. y KRANTZ, J. C. — J. Pharmacol. Exp. Therap. 83,213 (1945).
9. SOLS, A. — R. esp. Fisiol., 1, 355 (1945).
10. SOLS, A. — An. Fis. Quim. (Madrid), 42, 855 (1946).
11. SOLS, A. — R. esp. Fisiol., 2, 167 (1946).

