

Instituto de Fisiología. — Facultad de Medicina. — Barcelona  
Prof. J. Jiménez-Vargas

## Nuevo micrométodo para la determinación directa de acetona en sangre

por J. Monche y S. Vidal Sivilla

(Recibido para publicar el día 18 de enero de 1950)

Entre los temas de estudio que debían ser objeto de futuros trabajos, propusimos en uno anterior (1), la aplicación del fenoltaleín-*alfa*-hidroxisulfonato sódico a la microdeterminación colorimétrica cuantitativa de la acetona, directamente en sangre total. Y conforme expusimos entonces, los inconvenientes que ofrecía nuestro reactivo obedecen a su sensibilidad extraordinaria a las variaciones de pH del líquido problema, debidas no solamente a la técnica empleada en la desalbuminización de la sangre, sino también a causas dependientes de la composición de la misma. Ambos factores influyen desfavorablemente por su tendencia a mantener el pH del líquido problema entre límites inferiores a los óptimos para la aplicación del reactivo, según se recordará. Habiendo solventado ambos inconvenientes, proponemos el nuevo micrométodo descrito seguidamente.

### Parte experimental

DESALBUMINIZACIÓN DE LA SANGRE. — Tratamos la sangre con polvo de borato de cinc, según técnica original de LETONOFF (2), modificada por nosotros para aplicarla al caso presente.

a) OBTENCIÓN DEL BORATO DE CINCO: Lo obtenemos precipitándolo por doble descomposición entre el acetato de cinc y el borato sódico. Para ello se disuelven 35 g. de borato sódico ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) previamente pulverizado en un mortero, en 800 c.c. de agua destilada, mediante calefacción de la misma

hasta la total disolución del producto. Se deja enfriar entonces a la temperatura ambiente y se le añade lentamente y con agitación (\*) una disolución de 20 g. de acetato de cinc ( $\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$ ,  $2\text{H}_2\text{O}$ , en 200 c.c. de agua destilada, pero dando por terminada la adición cuando el pH del medio oscila entre 7 y 8, determinado mediante un papel indicador universal. Se deja reposar durante un mínimo de media hora el precipitado formado, para que se sedimente y decantar cuidadosamente de este modo la mayor parte de la capa líquida. Se agita entonces el sedimento con el líquido restante y la suspensión correspondiente se vierte inmediatamente en un embudo dispuesto para filtración a la trompa. Después de lavado el precipitado sobre el filtro cuatro veces con agua destilada y finalmente con algo de alcohol y éter para secarlo, se coloca el mismo en un papel de filtro para guardarlo durante unos días en un desecador al vacío sobre cloruro cálcico fundido granulado. Una vez seco el producto se pulveriza en un mortero y se le pasa después por un tamiz muy fino. Queda en forma de polvo blanco, cuyo peso oscila alrededor de los 10 g.

b) TÉCNICA DE LA DESALBUMINIZACIÓN: 0,2 c.c. de sangre aspirada directamente mediante una micropipeta de una ligera incisión practicada al efecto, se vierten en 2 c.c. de agua destilada contenida en un tubo de centrifuga. Acto seguido se introduce directamente en el tubo 0,1 g. de polvo de borato de cinc y se sacude el mismo de vez en cuando durante un minuto para centrifugar. El líquido centrifugado, que queda así por completo incoloro y transparente, se vierte mediante cuidadosa decantación, en un tubo de ensayo, casi en su totalidad, para aspirar seguidamente 1 c.c. de líquido con una pipeta aforada (dos aforos) e introducirlo en un tubo de ensayo que contenga 4 c.c. de una disolución 1/15 molar de fosfato disódico (11,875 g.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $2\text{H}_2\text{O}$  por litro), con lo que quedarán en conjunto 5 c.c. de líquido problema dispuesto para el análisis.

PRÁCTICA DE LA DETERMINACIÓN. — Mezclado dicho líquido con 1 c.c. de nuestro reactivo (1), se procede al examen fotocolorimétrico en la forma ya descrita en trabajos anteriores (3), pudiéndose efectuar determinaciones en serie, a lo que se presta perfectamente el método, conforme se deducirá de cuanto antecede.

---

(\*) Agitación a mano, operando en un Erlenmeyer, o bien mediante una varilla de vidrio, si se emplea un vaso de precipitados.

### Discusión

La sensibilidad extraordinaria de nuestro reactivo a las variaciones de pH del líquido problema, constituían un grave inconveniente para la aplicación del mismo a la microdeterminación directa cuantitativa de la acetona en sangre, conforme hemos hecho constar en un trabajo anterior (1).

Las dos causas determinantes de dicho inconveniente obedecen a la reacción ácida excesiva del líquido problema, que resulta de desalbuminizar la sangre según los métodos y técnicas usuales más generalizados y a variaciones de la reserva alcalina — íntimamente relacionadas, como es sabido, con las cetosis —, según puede comprobarse al emplear el alcohol etílico o el metílico absolutos como agente desalbuminizante, puesto que carecen fundamentalmente de influencia alguna sobre el pH del líquido problema resultante; hecho este ya examinado previamente por nosotros (1).

Pero la desalbuminización con alcohol resulta insuficiente, por lo menos en las condiciones prácticas de aplicación a nuestro reactivo, puesto que se obtienen líquidos problema apreciablemente opalinos.

El polvo de borato de cinc reúne en nuestro caso las condiciones ideales como agente desalbuminizante enérgico y carente al propio tiempo de influencia alguna manifiesta sobre el pH del líquido problema resultante.

Por otra parte, el empleo del fosfato disódico corrige toda posible variación de pH, puesto que actuando de mezcla amortiguadora en presencia de los demás componentes del líquido problema, mantiene constantemente el pH dentro del valor óptimo más elevado que requiere el desarrollo de color por nuestro reactivo.

Ensayos comparativos ampliamente efectuados por nosotros sustituyendo la disolución de fosfato disódico por cantidades idénticas de agua destilada, o sea suprimiendo el fosfato disódico, nos han permitido confirmar plenamente lo expuesto.

La cantidad de sangre a emplear inicialmente en cada determinación, dependerá evidentemente de la sensibilidad del colorímetro utilizado para las lecturas fotométricas.

### Resumen

Se describe un nuevo micrométodo fundado en la aplicación del fenoltaleín-*alfa*-hidroxisulfonato sódico a la determinación colorimétrica cuantitativa de la acetona, directamente en sangre total. La desalbuminización de la sangre se efectúa tratándola con borato de cinc y eliminándose después toda causa capaz de modificar el

pH del líquido problema y de influir, por lo tanto, en la coloración del reactivo, recurriendo al empleo de una disolución de fosfato disódico, que actúa de mezcla amortiguadora en presencia de los demás componentes del líquido problema y mantiene el pH del mismo en las condiciones óptimas de desarrollo de color por el reactivo.

### Summary

A new micromethod based on the application of the phenolphthalein-sodium-*alpha* hydroxysulfonate to the quantitative colorimetric microanalysis of acetone, directly in total blood, is described. Blood is deproteinized by treating it with zinc borate and eliminating then all cause susceptible to bear influence on the pH of the problem and therefore on the colour developed by the reagent. In this way, a solution of disodium phosphate, acting as a buffer against the other components of the problem, is added and the pH of the same is thus fixed in the best conditions of colour development.

### Bibliografía

1. — MONCHE, J. y VIDAL-SIVILLA, S.: *R. esp. Fisiol.*, 5, 229-230.
2. — LENOFF, T. V.: *J. Labor. a. clin. Med.* 20, 1293-1296 (1935); *Berichte Ges. Physiol. und Exp. Pharmakol.*, 90, 460 (1936).
3. — MONCHE, J. y VIDAL-SIVILLA, S.: *R. esp. Fisiol.*, *loc cit.*; id, id., 5, 155-168 (1949).