très peu d'ammoniaque, celle-ci augmentant dans le sang hors des vaisseaux (donc, l'ammoniaque urinaire est d'origine rénale). Partant, nous pouvons faire le dosage sans la correction d'ammoniaque, en opérant immédiatement après la prise du sang; l'erreur sera inférieure à 0,5 mgr. de N par litre. Avec le formol, qui ne réagit pas sur l'urée, aucune correction n'est nécessaire.

Conclusions — Les méthodes de dosage de l'azote aminé ne peuvent être appliquées directement au sang, car les réactifs agissent aussi sur l'azote protéique. L'acide trichloracétique possède les conditions nécessaires pour la désalbumination du sang dans le but d'un dosage de l'azote aminé. Pour le dosage de l'azote aminé du sang il n'est pas nécessaire de faire la correction d'ammoniaque, pourvu qu'on opère aussitôt après la prise du sang. Pour le dosage de l'azote aminé du sang par la méthode au formol, il est nécessaire d'amener le liquide jusqu'à une coloration intense de la phénolphthaléine (Sørensen).

O doseamento da glucose urinária pelo processo de Causse-Bonnans

POR

Dr. Armando Laroze

Assistente da Faculdade de Farmácia do Porto

Para o doseamento clínico da glucose urinária tem-se usado bastante o processo preconizado por Causse, com a pequena modificação proposta por Bonnans. Em nossa opinião, êste método, merece ralmente a honra dessa larga aceitação; não tendo o rigor de outros métodos, como por exemplo o de Bertrand, o qual preferimos para o doseamento da glucose sanguínea, êle alia a um rigor suficiente, a vantagem de ser eminentemente prático e rápido.

As suas causas de erro são em parte conhecidas de todos os analistas: são os defeitos inerentes ao método donde deriva, — o de Fehling: seja-me permitido, aqui, recordá-los sumariamente e passar em revista as numerosas tentativas que se têm feito para modificar e melhorar a técnica do doseamento da glucose com o emprego do chamado «licor de Fehling», pondo portanto de parte todos os demais processos que se não baseiem no emprego dêste licôr.

Há porém, no processo de Causse-Bonnans, um outro pequeno inconveniente, que sendo talvez pouco conhecido nunca se procurou evitar. Tendo procedido, com cuidado, ao estudo dêste método e tendo podido por um meio muito simples debelar êsse pequeno defeito, é sobretudo sobre êste método que recairá a nossa atenção.

*

* * *

A glucose, que segundo o critério estabelecido no Congresso de Genebra em 1892, se deve designar hexana-pentol-al, é, como todos os hidratos de carbono, um composto não ionizado, mas, contudo, susceptível de se combinar com os metais, formando glucosatos ou com diversos compostos (sais e ácidos minerais por exemplo) formando complexos, e é igualmente redutível com formação de manita ou de dulcite. Mas a propriedade química que nos interessa aqui (pois que nenhuma dessas propriedades apontadas se prestam para um doseamento) é a fácil oxidabilidade dêste composto. Assim, (e para não falar em outros oxidantes mais enérgicos) os óxidos de ouro, de prata, de mercúrio, de platina, de cobre, de bismuto, de ferro, de chumbo e de manganésio, o ferrociano de potássio, o ácido pícrico, o azul de metileno, etc., oxidam, sobretudo a quente e em meio alcalino, a glucose, dando produtos diferentes conforme o oxidante empregado.

Com o hidróxido de cobre diz-nos Habermann e Hönig que se forma, anidrido carbónico e ácido fórmico; mas Claus afirma formar-se além do ácido fórmico, o oxálico e o acético. Com o licôr de Fehling, enquanto o composto cúprico é reduzido a óxido cuproso, a glucose sofre uma série complicada de transformações, pois que, não só êsse composto reage directamente com a glucose, como reage também com os produtos resultantes da acção do álcali, contido no licôr, sobre êsse hidrato de carbono.

Sobre os produtos que resultam destas reacções, não reina entre as opiniões emitidas pelos que se têm ocupado dêste estudo, uma grande concordância, naturalmente devido à variabilidade do decorrer da reacção segundo as condições em que se opera. Reichardt, Felko e Beyer, dizem formar-se além dos ácidos acima apontados, ainda um outro, de fórmula $C^3H^2O^5$ a que chamaram gúmico. Nef afirma que 87 a 88 % dos produtos formados são constituídos por alcoois ácidos, como sejam os ácidos: glucólico, glucónico, glicérico, trioxibutírico etc., e Albin e Gand encontraram por sua vez os ácidos: lactico, oxifenil e dioxifenil-propiónico, glúcido e tartrónico e ainda pirocatequina.

Em vista desta complicação de produtos formados nestas reacções, era lógico concluir que o licôr de Fehling não se prestaria a

um doseamento da glucose; e se teoricamente não se trata duma reacção quantitativa, a prática veio demonstrar a possibilidade dêsse doseamento.

O poder redutor da glucose para com os compostos cúpricos, especialmente o que se obtém com o sulfato em meio alcalino, isto é, o seu hidrato, foi observado primeiramente por Bequerel e mais tarde detalhadamente estudado por Leegen, Neubauer, Barreswill e sobretudo por Trommer. A sensibilidade dessa reacção é notável. Wormüller obteve uma reacção positiva com 0^{gr},00000833 de glucose dissolvidos em 1^{cc} de água.

Muitos solutos cúpricos foram experimentados e propostos para a pesquisa da glucose: sulfato de cobre em meio fortemente alcalino (Jcery), acetato de cobre misturado com acetato de chumbo (Campani), acetato de cobre acetico (Barfoëd), tartarato cúprico amoniacal etc., mas o que ficou na prática corrente foi o soluto aquoso, fortemente alcalino, de tartarato de potássio e sódio adicionado de sulfato de cobre e que é conhecido por «licór de Fehling».

Não foi contudo Fehling quem indicou a fórmula que hoje se usa geralmente para obter êsse licór, pois que empregava o tartarato neutro de potássio que só mais tarde Bødeker substituiu pelo sal de Seignette. As pequenas modificações propostas para a sua preparação tem sido em número muito notável. Podíamos indicar para cima de 30 fórmulas diferentes tendo todas por base o tartarato e o cobre, e sem falarmos portanto naquelas em que o ácido tartárico é substituído pela gliceerina, o ácido cítrico, a manita. etc.

Mas mesmo a fórmula, hoje mais adotada e que é a proposta por Soxhlet, vem indicada nos livros de análise com umas pequenas diferenças nas percentagens dos seus componentes.

Fehling, a quem cabe a honra de ter estabelecido, em 1849, as bases do doseamento químico da glucose pelo cobre, supoz haver uma proporcionalidade certa entre o sulfato de cobre reduzido e a glucose que o reduzia — uma molécula de glucose para cinco moléculas de óxido de cobre formado.

Infelizmente porém, para a utilidade dêste processo de análise, esta proporcionalidade não foi confirmada absolutamente; Mulder, Claus, Neubauer e outros mostraram que essa equivalência variava com a concentração em álcali do soluto cúprico e que só operando

exactamente nas mesmas circunstâncias em que operou Fehling, se chegava a êsse resultado.

O próprio licôr de Fehling aquecido à ebulição e diluído, é susceptível duma alteração que o oxigénio de ar auxilia, podendo depositar carbonato e tartarato cúpricos. O seu título pode ainda variar pela acção prolongada dum álcali, sem que haja mesmo qualquer deposição; Kjeldahl, Loew e outros apontaram como causa a oxidação do ácido tartárico pelo oxigénio absorvido.

O vidro, o próprio pó da atmosfera, são causas de alteração dêste licôr. Foi, para obviar a esta espontânea alteração que Staedler, Graeger e Soxhlet tiveram a feliz lembrança da preparação em separado, dos dois solutos que pela mistura dão o licôr de Fehling.

É também a Soxhlet que devemos um estudo aprofundado do modo de comportamento dêste licôr no doseamento da glucose. Em 1880, mostrou êste autor, que o poder redutor da glucose aumentava com a concentração dêsse licôr. Assim, uma molécula de glucose anidra, num soluto a 1 % reduz 5,26 moléculas de óxido de cobre e 5,055 se diluirmos o licôr de Fehling com quatro vezes o seu volume de água.

Soxhlet indicou, então, quais as condições em que se pode obter o máximo de rigor num doseamento desta natureza, as quais, em última análise, consistem em operar a redução do licôr exactamente nas mesmas condições de diluição e de tempo de fervura como aquelas em que se determina o seu título. O seu processo é porém pouco prático; demanda uma série de ensaios e a verificação do final de reacção, pela pesquisa do cobre que resta por reduzir, complica êsses ensaios.

Seria longo narrar aqui detalhadamente as numerosíssimas modificações que êste método sofreu. Consistem, dum modo geral, no seguinte: misturar uma porção certa do licôr de Fehling, com um volume, também sempre igual, da solução açucarada, levar à ebulição durante um tempo determinado e que deve ser pelo menos de 2 minutos, — tempo considerado suficiente e necessário para a redução se dar integralmente no caso da glucose, (certos autores fazem o aquecimento a banho-maria o que demanda mais tempo, 20 ou 30 minutos). Em seguida faz-se um doseamento. Assim, Carlos Conti (*Boll. Chim. Farm.*, 1907) doseia o cobre que resta em solução pelo cianeto de potássio; Litterscheid e Bornemann (*Zeitschr.*

f. Ang. Chem., 1909), medem por meio do anidrido arsenioso, o iodo que esse cobre liberta do iodeto de potássio; Bertrand (*Bull. de la Soc. chim.*, 35, pág. 1285 — 1906) doseia o óxido cuproso formado, medindo por meio do permanganato de potássio a quantidade de sulfato férrico que, actuando sobre este óxido, passa a sal ferroso; Goiffon e Nepreux (*C. R. Soc. Biol.*, 1919) fazem passar este óxido cuproso a ferrocianeto de cobre coloidal, que doseiam colorimetricamente; Mackenzie, Wallis e Gallagher tratam o licor de Fehling após a redução, pelo ácido fosfo-molíbico e, enquanto a cor azul do sal cúprico desaparece, forma-se pela acção deste ácido sobre o óxido cuproso uma nova coloração azul que se doseia colorimetricamente; Folin e Wu procedem idênticamente, usando o óxido fosfo-tungsto-molíbico, num processo micro-químico; Bruhns (*Zeitr. bl. f. Zukerind.*, 1919) faz actuar sobre o licor, ácido sulfúrico e iodeto de potássio e mede o iodo libertado pelo sulfato cúprico por meio do hipossulfito de sódio; Ageo Angiolani (*Giorn. Farm. Chim.*, 1921) mede simplesmente por colorimetria o cobre que resta em solução; Siedersky (*Zeitschr. der Ver. der Deutsch. Zukerind.*, 32, 779) dissolve o óxido cuproso em ácido clorídrico titulado, faz passar o cloreto cuproso formado a cloreto cúprico por meio do cloreto de potássio e verifica a perda de título desse ácido; Radlberger e Siegmund (*Osterr. Ung. Zeitschr. f. Zukerind.*, 1913 pág. 16) doseiam o cobre que resta em solução, fazendo actuar sobre ele cloreto titanoso titulado que passa a titânico, sendo o termo de reacção dado por uma pequena porção de sulfocianeto férrico, que cora o líquido de vermelho e descora quando o cloreto estanoso, em excesso, o reduz; Geduldt (*Monit. scient.*, 2, 62, 1890) faz passar o oxidulo de cobre a cloreto cúprico, por meio do cloreto de prata amoniacal e doseia esse cloreto pelo nitrato de prata; etc.

Outros autores apelam para os métodos da análise ponderal e doseiam o óxido cuproso formado, tal qual, no estado de óxido cúprico ou no de cobre metálico (Maerker, Allihn, Plüger), ou o fazem passar a sulfureto cuproso (Reale).

Feitos estes doseamentos, calcula-se, como seria óbvio dizer, a quantidade de glucose existente no soluto ensaiado, desde que conheçamos a correspondência, entre a quantidade de glucose e os valores encontrados nesses ensaios.

Estes diversos processos, alguns deles mais rigorosos que o de Fehling, permitindo operar a redução do licor nas melhores condi-

ções, têm todos eles o inconveniente de serem mais demorados, mais trabalhosos, precisando um maior número de reagentes, alguns difíceis de conservar, e têm ainda o inconveniente de, para serem aplicados à urina com o rigor que lhes é próprio, obrigarem a uma defecação mais completa, pelo mercúrio, o que complica ainda mais o ensaio. Uma das razões dessa obrigação, é a de que os sais amoniacais da urina, que só com êsse defecante se eliminam, dissolvem óxido cuproso que se torna dêste modo fâcilmente oxidável pelo oxigénio do ar.

Temos ainda a considerar que o êrro derivado do facto de não operarmos a redução do licôr, num tempo certo e numa diluição sempre a mesma, sendo geralmente pequeno, pode considerar-se desprezível nas análises clínicas da urina. Por tôdas estas razões, o processo primitivo e muito conhecido de Fehling em que o termo de reacção é dado pelo desaparecimento da côr azul do licôr, é ainda um método a aproveitar.

Tem porém um defeito de outra ordem — o seu termo de reacção é difícil de observar, devido ao óxido cuproso que fica em suspensão; e, embora êste óxido se aglomere melhor nas proximidades dêsse termo, é sempre preciso, após cada fervura do líquido, uns segundos de repouso para a observação, o que avoluma as causas de êrro apontadas. Por outro lado, a defecação da urina, torna-se necessário fazer, em certos casos, pelo mercúrio, visto que a creatinina dificulta a formação do óxido cuproso.

A verificação do termo de reacção por meio do ferrocianeto de potássio, além de pouco prática, necessita, por razões já apontadas, igualmente uma defecação mais completa.

Alguns investigadores lembraram-se de provocar mais rapidamente a deposição do óxido cuproso, pela adição ao licôr de sulfato de alumínio, ou de cloreto de zinco, ou ainda de cloreto de cálcio, mas melhor lembrança foi a de outros autores, que propozeram evitar a formação dêsse óxido, combinando-o à medida que se forma, com outros compostos de modo a dissolvê-lo. W. Pavy (*Chem. Centralbl.*, 1879, 406) propôs, para êsse fim, o amoníaco, e o seu processo é hoje usado segundo as modificações de Kinoshita, Kumagava e Suto, de Vernon e de Sahli que o applicou ao doseamento da glucose sanguínea. Êste método tem vários inconvenientes que seria longo descrever aqui (Veja-se Deniges, *Ch. Anal.*, pág. 535). Gerrard (*Journ. Ph. et Chim.*, T. III, pág. 250, 1896) em-

pregou o cianeto de potássio, mas êste processo torna-se mais complicado, visto que êste composto também actua sobre o cobre existente no licôr de Fehling. Por sua vez Causse (*Bull. de la Soc. Chim. de France*, 50, 625, 1888) usou o ferrocianeto de potássio que, como êste autor observou, tem a vantagem, sobre o cianeto, de não reagir com o licôr de Fehling, enquanto que, com o oxidulo de cobre, forma ferrocianeto cuproso solúvel.

O modo porque procedia era o seguinte: tomava 10 c.c. do licôr a que adicionava 20 c.c. de água e 4 c.c. de ferrocianeto em soluto a 1/20. A adição de soluto açucarado, a esta mistura levada à ebulição, era continuada, como no processo de Pavy, até ao desaparecimento da côr azul, ficando o líquido de côr amarelo-clara.

Como, porém, a passagem da côr azul para êsse amarelo, se dá lentamente, passando por todos os tons intermediários, Bonnans propôs para final de reacção o aparecimento brusco duma coloração acastanhada, que se obtém levando um pouco mais longe a adição do soluto de glucose.

A técnica indicada por Bonnans, e que Deniges modificou ligeiramente, vem descrita em numerosos livros de análise; não há, contudo, uma grande concordância a respeito do fenómeno que nos deve indicar o termo de reacção. Repiton diz que é o aparecimento duma coloração amarelo-dourada; para Deniges é pardo-escura; outros falam em turvação escura.

Desejando contribuir para um melhor conhecimento dêste processo de doseamento fizemos os ensaios e observações que seguem, utilizando para a preparação do licôr de Fehling-Causse, da fórmula indicada nos livros de análise química de Denigès e de Ferreira da Silva e que é a seguinte:

.Soluto A	{ Sulfato de cobre.....	35 gr.
	{ Acido sulfúrico.....	5 c.c.
	{ Agua dest. q. s. para.....	1000 c.c.
.Soluto B	{ Sal de Seignette.....	150 gr.
	{ Soda cáustica D=1,33.....	300 c.c.
	{ Agua dest. q. s. para.....	1000 c.c.
.Soluto C	{ Ferrocianeto de potássio...	50 gr.
	{ Agua dest. q. s. para.....	1000 c.c.

Observamos então o seguinte: operando nas condições indicadas nesses livros, isto é, não diluindo o licor e utilizando um soluto relativamente concentrado de glucose (cêrca de 0,25 a 1,0 %) e em que se podem gastar de 3 a 15 c.c. dêste soluto, o licor, depois de ter perdido a côr azul e ficar só levemente côrado de amarelo, turva instantâneamente com a adição duma gota, e essa turvação é dum pardo muito escuro, quási negra. Antes dessa turvação há, por vezes, o aparecimento duma ligeira côr avermelhada. Por filtração separamos êsse precipitado e notamos que êle era fâcilmente solúvel (ou para melhor dizer: dispersável) em água distilada, donde floculava pela adição de sais, sendo o seu caráter coloidal confirmado pelo exame ao ultramicroscópio. Depois de bem lavado com alcool, em que é insolúvel, a análise química revelou-nos ser constituído quási só por cobre e vestígios de ferro.

Concluimos, portanto, que se tratava de cobre coloidal (sendo o ferro apenas uma «impureza») resultante da redução, pela glucose, do ferrocianeto cuproso.

Inteiramente diverso, é o que se passa quando o licor de Causse é diluído pela adição de água (como mandava fazer Causse, e ainda num livro recente Gautrelet recomenda) ou quando se opera com uma solução fraca de glucose (menos de 0,2 %). Nestes casos o licor logo que chega ao tom esverdeado, por vezes sem chegar mesmo ao amarelo-claro, começa a avermelhar, côr que se intensifica continuando a adição do soluto açucarado ou mesmo pela simples fervura continuada, e que toma um aspecto cada vez mais acastanhado e opalescente até que por último, precipita em grandes flocos dessa côr.

Êste floculado, que também pode ser reversível com água, donde é reprecipitado pelos sais, não contém cobre, nem ferrocianetos e como metais apenas contém ferro. O ácido clorídrico N/10 que ao princípio o flocula, e redissolve quando em excesso, perde nesta acção um pouco do seu título.

O cobre, que fica em solução, é oxidado, retomando o líquido de filtração a côr azul. Provamos que esta oxidação era devida ao oxigénio do ar verificando que, cobrindo êsse líquido com uma camada de vaselina líquida ou de parafina, se evitava êsse fenómeno.

Neste caso deve passar-se e seguinte: o ferrocianeto cuproso num meio um pouco diluído, mas bastante alcalino, decompõe-se (como de resto aconteceria a muitos outros ferrocianetos) e dá por

hidrólise o hidróxido de ferro que se conserva durante algum tempo no estado de hidrosol, talvez devido à presença do ácido tartárico, mas que acaba por flocular devido à grande quantidade de sais que o licor encerra. Por sua vez o cobre transforma-se, talvez, em cupro-cianeto alcalino, forma solúvel de sal cuproso.

Na prática dum doseamento da glucose, e é isso o que nos interessa aqui mais particularmente, o que devemos aproveitar para nos indicar o final de reacção?

Na nossa opinião deve ser *unicamente* a turvação escura de cobre reduzido, que, nas numerosas experiências que fizemos, se manifestou sempre duma forma regular, não influenciando grandemente uma ebulição mais ou menos prolongada, sobre o volume de soluto de glucose gasto.

Os outros fenómenos que se observam com o licor diluído são incertos, as colorações vão-se formando gradualmente sendo portanto difícil de reconhecer uma viragem de côr ou um começo da floculação o que pode dar erros muito apreciáveis, quer tomemos para termo de reacção o aparecimento das côres avermelhadas (o que dá um êrro, por vezes considerável, para menos do volume gasto e portanto para mais nas percentagens de glucose) ou a floculação, o que pode aparecer tarde demais, ou um pouco cedo se prolongarmos excessivamente a fervura. O começo desta turvação é ainda mais difícil de observar que a viragem para a côr vermelha.

Creio que fica assim explicada a razão da discordância que notamos nos diversos autores, a respeito do fenómeno que nos indica o termo de reacção e o que se depreende também daqui é que, evitando essa hidrólise, melhoramos muito êste processo de análise, podendo torná-lo extensivo mesmo aos solutos fracos em glucose que, como diz Ronchese, tornam o ensaio inexacto e impossível

O modo de a evitar foi-nos sugerido por umas outras experiências que fizemos sobre a hidrólise do cloreto férrico, em solução diluída e a quente e em que observamos que a adição dum sal neutro em doses massiças, estorva dum modo muito manifesto êsse fenómeno.

É o que acontece no licor de Causse. Pela adição dumas 7 gr. ou mais de cloreto de sódio, a hidrólise deixa inteiramente de se dar, mesmo que gastemos 50 c.c. de soluto açucarado e o termo

de reacção, de que falamos, aparece com tóda a nitidez, sem collocações intermediárias.

Essa adição, que só é verdadeiramente necessária para solutos pouco concentrados em glucose, deve ser feita antes do desaparecimento da côr azul, visto que depois de começada essa hidrolise não é possível, por êste meio, fazê-la retroceder. Devemos acrescentar que os resultados obtidos, operando dêste modo, foram sempre satisfatoriamente concordantes. Com solutos de glucose submetidos a uma série de diluições, os volumes gastos conservaram-se proporcionais, salvo umas pequenas diferenças, em alguns casos, que devemos attribuir à falibilidade própria de todos estes processos que têm por base o emprêgo do licor de Fehling, mas que nunca ultrapassaram o êrro de 0,3 c.c. no volume gasto de soluto de glucose quando êsse volume atingia cifras elevadas de 40 e 50 c.c.

Se acrescentarmos que, para o doseamento clínico da glucose urinária, por êste processo, é suficiente a defecação pele reagente de Courtonne, sem eliminação do excesso de chumbo, cremos ter confirmado o que no princípio dissemos sôbre as vantagens dêste processo nas análises urológicas.

Unificação da nomenclatura físico-química

Proposta apresentada à Sociedade de Química e Física (Núcleo do Pôrto)
em sessão de 16 de Março de 1927

PELO

Prof. Alvaro R. Machado

(CONTINUAÇÃO DO N.º 1)

Sôbre certos termos eléctricos e electromagnéticos a confusão é grande. Por ex., correspondente ao francês — *conductence* —, há quem diga — *conductância*, *conductência* e *conducência* —. Parece ser êste último o preferido pelos filólogos, já consultados particularmente, para se evitar a confusão da derivação do verbo *conductar* ou *condutar*, comer (pão) com qualquer conduto.

Análogamente se debatem os termos — *inductância*, *inductência*, *inducência*; *impedância*, *impedência*, *impediência*; *reactância*, *reactência*, *reagência*; etc.