

Folia Biologica

Publicación del personal técnico del Instituto Bacteriológico
del Departamento Nacional de Higiene

Dirección y Administración: VELEZ SANSFIELD 563

Folia Biol. - Buenos Aires, Enero, Febrero y Marzo 1934 - Nos 34-35-36

TRABAJOS ORIGINALES

Preparación de soluciones de oro coloidal para utilizarlas en la reacción de Lange

Por R. WERNICKE y L. R. GAMBINO

Todos los métodos preconizados para obtener aerosoles utilizables en la reacción de LANGE ofrecen la desventaja de ser inseguros y de proporcionar aerosoles de propiedades variables.

Nosotros hemos establecido que la causa de esta inseguridad reside en la calidad variable del agua: con agua recién bidestilada no se pueden obtener aerosoles rojos por la acción reductora del formol, pues este reactivo es incapaz de formar « gérmenes coloidales ». Para que se produzca la reducción es indispensable que el agua contenga una cierta proporción de impurezas reductoras que inician la reacción, formando los « gérmenes coloidales » que luego aumentan de volumen por la acción del formol.

Estas « impurezas » a que nos hemos referido, las incorpora el agua tan pronto es mantenida en contacto con el aire, razón por la cual el « agua bidestilada y estacionada » suele proporcionar buenos aerosoles rojos. Pero si el estacionamiento es muy prolongado o el aire en contacto muy impuro, el agua incorpora excesivas impurezas y pierde su aptitud para dar buenos aerosoles.

La imposibilidad de graduar la *calidad* y *cantidad* de impurezas reductoras de un agua destilada nos explica la irregularidad de los resultados que con ellas se obtienen, pues la calidad del oro coloidal depende del número de gérmenes que se forman, cantidad que fluctúa de acuerdo a la proporción de dichas impurezas.

Por lo tanto, al preparar un aerosol empleando un agua destilada cualquiera, es el caso que ésta introduce en la operación un *factor indeterminado* que influirá en forma decisiva sobre la calidad del sol obtenido.

Sólo es posible obtener aerosoles con características previstas, cuando se emplea un *agua libre de substancias reductoras* a la que se le agregará en el instante de la reducción y a fin de que el formol desarrolle su acción, una *cantidad determinada* de « gérmenes coloidales », es decir, un volumen conveniente de un aerosol con micelas amicroscópicas.

Para liberar al agua destilada de sus impurezas reductoras basta con someterla a la acción de un oxidante conveniente. Hemos ensayado varios de ellos (Cl_2 , Br_2 , H_2O_2 , $\text{Mn O}_4\text{K}$, etc.) y hemos optado finalmente por el permanganato en medio ácido, reactivo que no influye sobre la sensibilidad y conservación de los aerosoles.

La solución de gérmenes coloidales, es decir, un aerosol de micelas tan pequeñas que no son observables al ultramicroscopio, se prepara fácilmente em-

pleando como reductor el fósforo en medio alcalino, de acuerdo a la técnica de FARADAY, perfeccionada por ZSIGMONDY.

Suprimido el factor indeterminado que acarrea toda agua destilada consigo, e introducido el factor « cantidad de gérmenes » en proporción graduada a voluntad, sólo queda tomar algunas otras precauciones ya conocidas, para conseguir el aerosol deseado. La más importante de ellas consiste en agregar la cantidad conveniente de álcali (CO_3K_2) a la solución de ácido cloroáurico, a fin de darle una sensibilidad apropiada al aerosol. Más adelante explicamos cómo se soluciona este punto.

El método por nosotros aconsejado es de técnica simple, no requiere elementos extraordinarios para su ejecución y permite obtener constantemente aerosoles directamente utilizables para efectuar la reacción de LANGE, sin necesidad de someterlos previamente a los controles habituales con líquidos céfalo-raquídeos normales y patológicos, a fin de verificar su sensibilidad.

Además, esta técnica permite utilizar las aguas destiladas suficientemente buenas que hay habitualmente en los laboratorios y facilita la obtención de varios litros de aerosol en una sola operación.

Reactivos necesarios. — La obtención de aerosoles requiere disponer de los siguientes reactivos:

- 1) Agua destilada.
- 2) Solución de cloruro de oro con 6 ‰ de metal.
- 3) Solución de carbonato potásico 0,18 N.
- 4) Solución de formol al 1,2 %.
- 5) Solución etérea saturada de fósforo.
- 6) Solución de permanganato potásico N/1000.
- 7) Solución de ácido sulfúrico N/1000.

Estos reactivos se obtienen en la siguiente forma:

1. *Agua destilada.* — Es utilizable cualquier agua destilada común de buena calidad, que no sea capaz de reducir, por litro, más de 5-10 cm^3 MnO_4K N/1000. En caso necesario se usará agua bidestilada.

2. *Solución de cloruro de oro.* — Se puede utilizar indistintamente la sal amarilla o la sal oscura de MERCK, o la de POULENC. Es fácil prepararse la sal, uno mismo, a partir del oro metálico, pues basta disolverlo en agua regia y evaporar la solución en baño maría agregando HCl para eliminar totalmente el NO_3H . La solución concentrada se deja enfriar en secador, en el vacío, en presencia de potasa cáustica. Cualquiera de estas sales se disuelve en el agua de manera de obtener el título de 6 g de oro metálico por litro. El ácido cloro-áurico comercial (cristales amarillos o cristales pardos) contiene 49-51 % de oro metálico. La solución reactivo se obtiene disolviendo un gramo de la sal en 83 cm^3 de agua.

3. *Solución de carbonato potásico 0,12 N.* — Disolver 1,24 g de CO_3K_2 puro anhidro en 100 cm^3 de agua.

4. *Formol al 1,2 %.* — En 100 cm^3 de agua se disuelven 1,2 cm^3 de solución de formol comercial.

5. *Solución etérea saturada de fósforo.* — En un frasco caramelo de boca ancha se introducen trocitos de fósforo blanco, lavados con alcohol y luego con éter, y se los cubre con éter, que conviene sea muy poco hidratado. A las 24 horas puede utilizarse la solución fosforada: se conserva bien.

6. *Solución de permanganato potásico N/1000.* — En el momento de usarlo se lleva a este título cualquier solución de las que habitualmente hay en los laboratorios.

7. *Solución de ácido sulfúrico N/1000.* — En el momento de usarla se lleva a este título cualquier solución de la que se disponga en el laboratorio.

Advertencia. — Ninguna de estas soluciones requiere tener un título exacto, pues basta con que conserven una cierta relación entre ellas. Conviene prepararlas con agua recién bidestilada y conservarlas fuera del contacto del aire. Se asegura la constancia de los resultados conservando las soluciones distribuidas en ampollas cerradas, o en frascos de pequeño volumen; pero esta precaución referente al envase si bien es conveniente no es indispensable.

Material necesario. — Matracas de vidrio común o de Jena, Murano, etc. de capacidad mayor, en un 50 % por lo menos, al volumen de solución que se desea obtener. Surtido de pipetas graduadas de 1, 5 y 10 cm³. Todo este material debe ser lavado con mezcla sulfocrómica. Para el calentamiento puede utilizarse cualquiera de los dispositivos comunes: pico Bunsen, llama de alcohol, calentador eléctrico, etc. El líquido debe ser llevado a una ebullición franca, sin que sea excesivamente tumultuosa.

Preparación de la solución de aerosol. — Un litro de agua destilada es llevado a la ebullición, previa adición de 1 cm³ de MnO₄K N/1000 y 1 cm³ de SO₄H₂ N/1000. Si el líquido se decolora se agregan nuevas cantidades iguales de ambos reactivos hasta conseguir que adquiera un debilísimo tinte rosado persistente, aún después de 1-2 minutos de ebullición.

En el agua hirviendo se vierten 10 cm³ de solución de oro y la cantidad determinada, en la forma que más adelante diremos, de solución de carbonato de potasio. A continuación se agrega un volumen apropiado (ver más adelante) de la solución de gérmenes, que es aproximadamente de 3 cm³, y finalmente se adicionan 10 cm³ de la solución de formol. La ebullición se prolonga hasta un par de minutos después de que la masa líquida ha adquirido su máxima coloración roja, lo que sucede 1-2 minutos después de echar el formol.

Se deja enfriar la solución y se completa a un litro, quedando en condiciones de ser utilizada directamente para hacer la reacción de LANGE.

Determinación de la cantidad apropiada de solución de CO₃K₂ 0,18 N. — En un tubo de ensayo se vierte exactamente 1 cm³ de solución de cloruro de oro, 1 cm³ de solución de carbonato de potasio 0,18 N y unos 8-10 cm³ de agua. Se hierve y enfría y se le agrega a la mezcla dos gotas de una solución hidroalcohólica de fenolftaleína. Si la solución permanece incolora se repite la operación aumentando ligeramente la cantidad de la solución de carbonato de potasio. Si la solución toma una coloración vivamente rosada, se repite también la operación, pero reduciendo el volumen de esta misma solución de CO₃K₂. Se llega así a establecer la cantidad de solución de CO₃K₂ 0,18 N, necesaria para que agregada a 1 cm³ de la solución de cloruro de oro, hervida la mezcla y enfriada, proporcione un líquido al que dos gotas de solución de fenolftaleína le imprimen una débil coloración rosada, apenas, pero netamente perceptible. En la proporción así establecida deben agregarse las soluciones de oro y álcali para obtener los aerosoles, de manera que si hemos hallado que 1 cm³ de solución de cloruro de oro necesitan 0,97 cm³ de CO₃K₂ 0,18 N para que la mezcla diluida con agua, hervida y enfriada sea apenas alcalina a la fenolftaleína, al agregar 10 cm³ de solución de oro corresponde agregar 9,7 cm³ de CO₃K₂ 0,18 N, para obtener un litro de aerosol.

Preparación de la solución de oro germen. — En 100 cm³ de agua recién bidestilada se agrega 1 cm³ de la solución de cloruro de oro y la cantidad apropiada (ver más arriba) de solución de CO₃K₂ 0,18 N. A continuación se le agre-

ga gota a gota y agitando continuamente 0,5-1.0 cm³ de la solución etérea saturada de fósforo, diluida al 1/5 (1 cm³ solución saturada + 4 cm³ de éter). Se agita un instante la mezcla y al cabo de unos minutos se la lleva a la ebullición, que se prolonga hasta que los vapores que emite el líquido no tengan olor a éter. La solución ha tomado un vivo color rojo con un tinte anaranjado pardusco y es perfectamente diáfana, por transparencia y por reflexión. Conviene hacer circular por ella y durante un hora, una corriente de aire, filtrado por algodón, que oxidará el resto de fósforo que puede quedar en solución. Aconsejamos esterilizar este aerosol y envasarlo en ampollas de 1-2 cm³, pues fácilmente se contamina con hongos cuando está en contacto con el aire, con lo que pierde sus buenas cualidades.

Cantidad de oro germen que se empleará. — Conviene determinarlo de una vez para siempre (para cada partida de oro germen) preparando 100 cm³ de aerosol. Se lleva a ebullición los 100 cm³ de agua se le agrega MnO₄K N/1000 y SO₄H₂ N/1000 hasta débil coloración rosada persistente y luego 1 cm³ de solución de oro y la cantidad apropiada de CO₃K₂ 0.18 N. Se agrega ahora 0.3 cm³ de la solución de germen y luego el formol, operando hasta el fin en la forma anteriormente descrita. Si se ha agregado la cantidad conveniente de oro germen, el aerosol resultante debe ser de un vivo color rojo (quizás con ligero tinte púrpura), por transparencia, pero por incidencia debe presentar un marcado velo pardusco o puede comprobarse también que ofrece un acentuado efecto TYNDALL.

Si el velo es poco marcado (poco efecto TYNDALL) conviene utilizar menor cantidad de oro germen y si el velo es excesivo deberá aumentarse su proporción. La cantidad de oro germen agregada debe ser suficiente para que proporcione un aerosol con marcado «velo» pardusco por incidencia. De manera que si operando sobre 100 cm³ de agua con 1 cm³ de solución de oro hemos conseguido este efecto con 0.35 cm³ de solución de oro germen, al preparar un litro de aerosol empleando 10 cm³ de solución de oro deberemos agregar 3.5 cm³ de solución de oro germen.

Nota. — Este método permite obtener en una sola operación varios litros de aerosol. Evidentemente deberá conservarse para todo el volumen la proporción de reactivos que hemos indicado para un litro. También permite obtener aerosoles más concentrados, bastando sólo conservar las proporciones indicadas de las soluciones de oro, de álcali y de gérmenes que se emplean.