

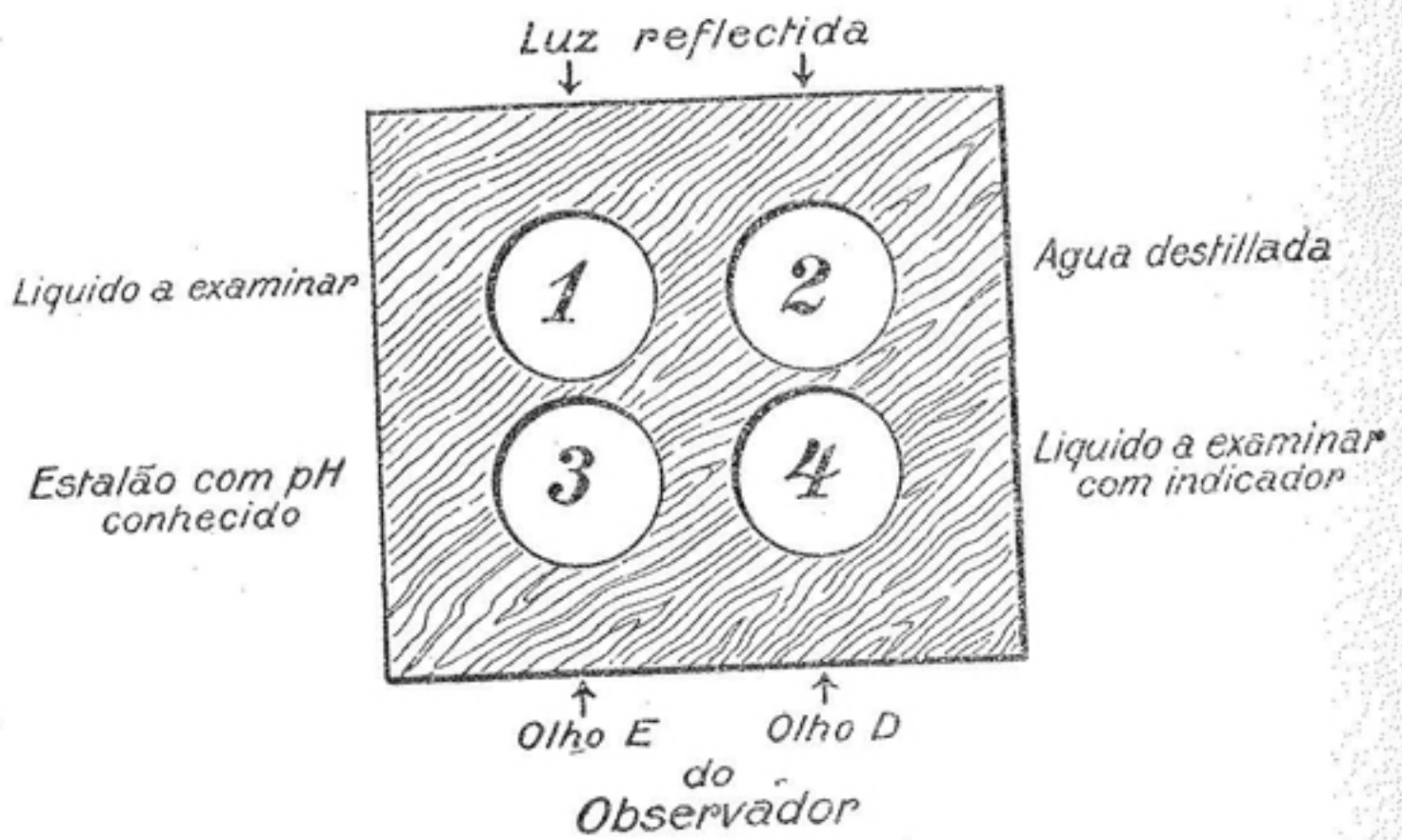
da, combina-se com a determinada pelo indicador e dahi surge um contratempo na comparação colorimetrica.

E' verdade que os liquidos biologicos são soluções tampões de modo que, sem inconveniente, se pode diluil-os em agua destillada, porém, nem sempre essa diluição resolve o problema.

Para remover tal difficuldade, Walpole empregou seu bloco comparador que é uma engenhosa criação, proposta em 1910, e aperfeiçoada mais tarde por Hurwitz, Meyer e Astenberg.

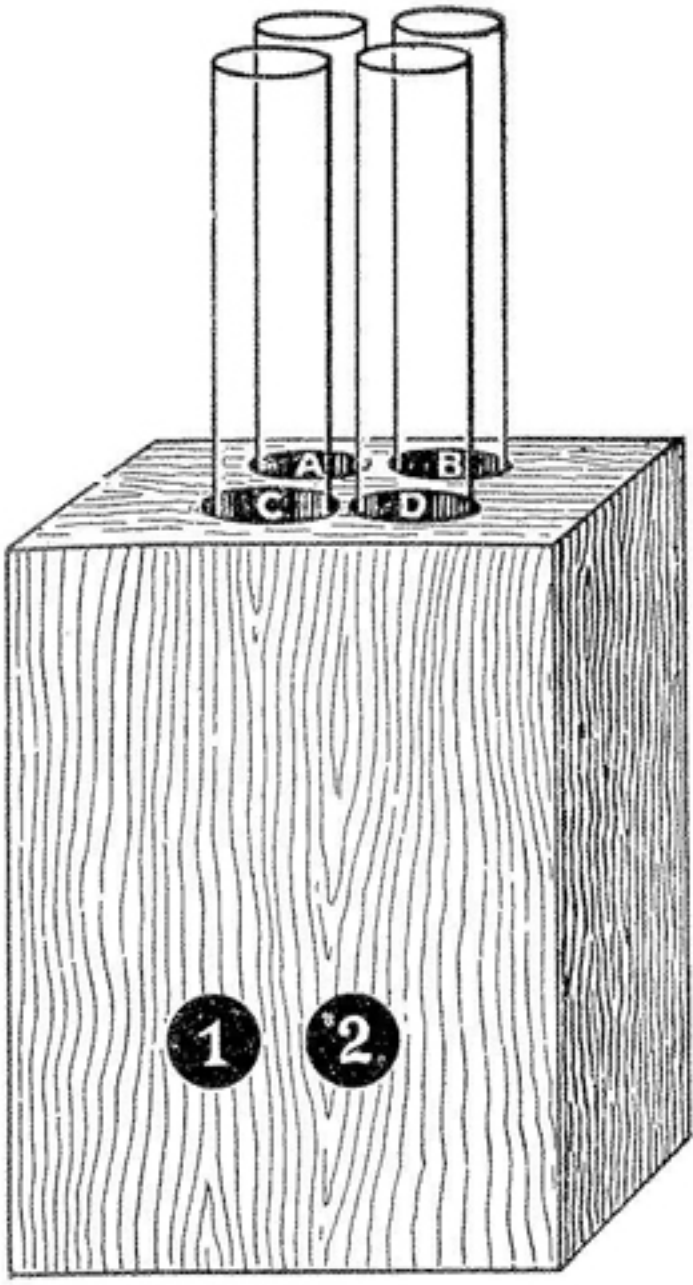
Compõe-se o aparelho de um bloco de madeira com 2 ou 3 pares de oroficios de diametro sufficiente para a introdução dos tubos empregados, na parte inferior do bloco existem 2 ou 3 orificios dirigidos no sentido antero-posterior e que permitem ver, por transporencia, devido a collocação dos tubos um atraz do outro, cada um dos pares separadamente.

No esquema verifica-se claramente a disposição dos tubos e o conteudo delles.

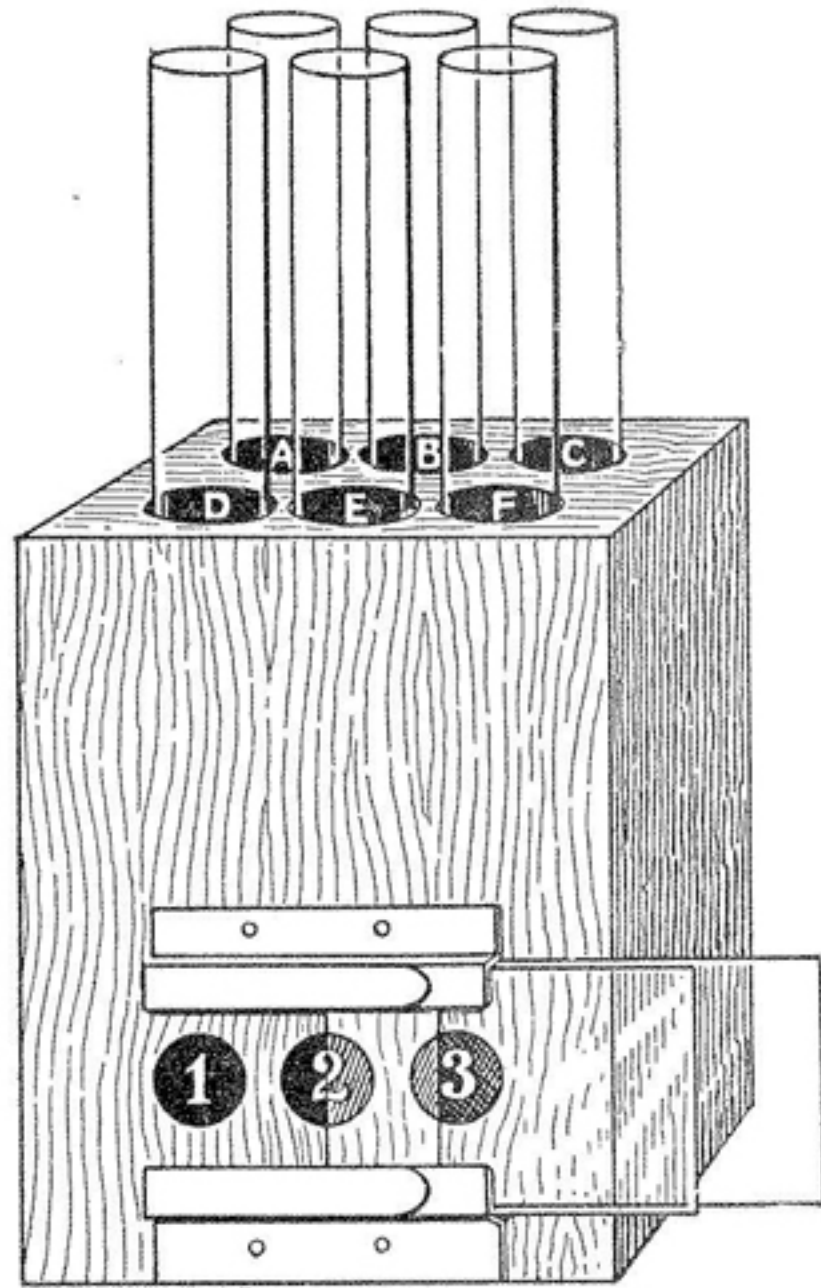


Os tubos empregados devem ser iguaes.

Tendo por base o comparador de Walpole tem-se cons-



Comparador de dois orifícios



Comparador de tres orifícios

truido varios modelos de aparelhos seguindo o mesmo principio e do qual não são mais do que engenhosas modificações.

*O de Robinson* compõe-se de uma caixa com uma serie de tubos estalões, cujo pH vae de 6,0 a 8,4, corados com vermelho de phenol; na frnte dos tubos estalões deslisa um supporte com logar para tubos com agua destillada e liquido a examinar.

Na parte inferior da caixa existem oroficios através dos quaes se observa, por transporencia a côr, permittindo a comparação.

A iluminação é feita por meio de uma lampada electrica.

*A roleta compensadora da casa La Motte and Cy* permite a verificação com facilidade e optimos resultados.

Cabe aqui citar a engenhosa modificação da roleta compensadora, suggerida e effectuada, no Instituto Pereira Filho, pelo Dr. Oscar Pereira e descripto em seu importante trabalho "A ionimetria nos meios culturaes" apresentado á Faculdade de Medicina de Porto Alegre, para livre docente da cadeira de Microbiologia.

Consta o referido aparelho de uma caixa, no interior da qual existe um circulo movel provido de 54 orificios destinados a receber tubos com soluções estalões e agua destillada, dispostos alternadamente. De sorte que metade dos tubos contém os solutos padrões e a outra metade agua destillada.

Num bloco de madeira, embutido em uma das paredes da caixa, se acham dois orificios destinados a receber um, o tubo com liquido á examinar, outro um tubo com agua destillada.

Dentro da caixa, no centro do circulo movel, está collocada uma lampada que illumina os tubos.

O observador, collocado na frente do bloco, faz girar o circulo e vae comparando a côr do liquido a examinar adicionado do indicador que serviu para o preparo das soluções

estalões com a coloração dos tubos, contendo as referidas soluções padrões.

Graças a um prisma de reflexão, o aparelho se torna de grande sensibilidade e fácil verificação das cores, porque o prisma justapõe, no campo de uma luneta, os raios luminosos que passam através dos tubos.

O autor da modificação usa os seguintes indicadores: o vermelho de methyla, o purpura de bromocresol, o azul de bromothymol e o vermelho de phenol que cobrem a zona útil de pH correntemente usada na technica laboratorial.

Os tubos empregados devem ser do mesmo calibre.

#### *Methodos das Gottas:*

Os processos que até agora descrevemos exigem, para o exame, uma quantidade regular de liquido.

Ora, nem sempre dispomos de abundante material para fazer taes medidas; afim de resolver esse problema, Hass, em 1919, descreveu um processo para a determinação do pH em pequenas quantidades de liquido.

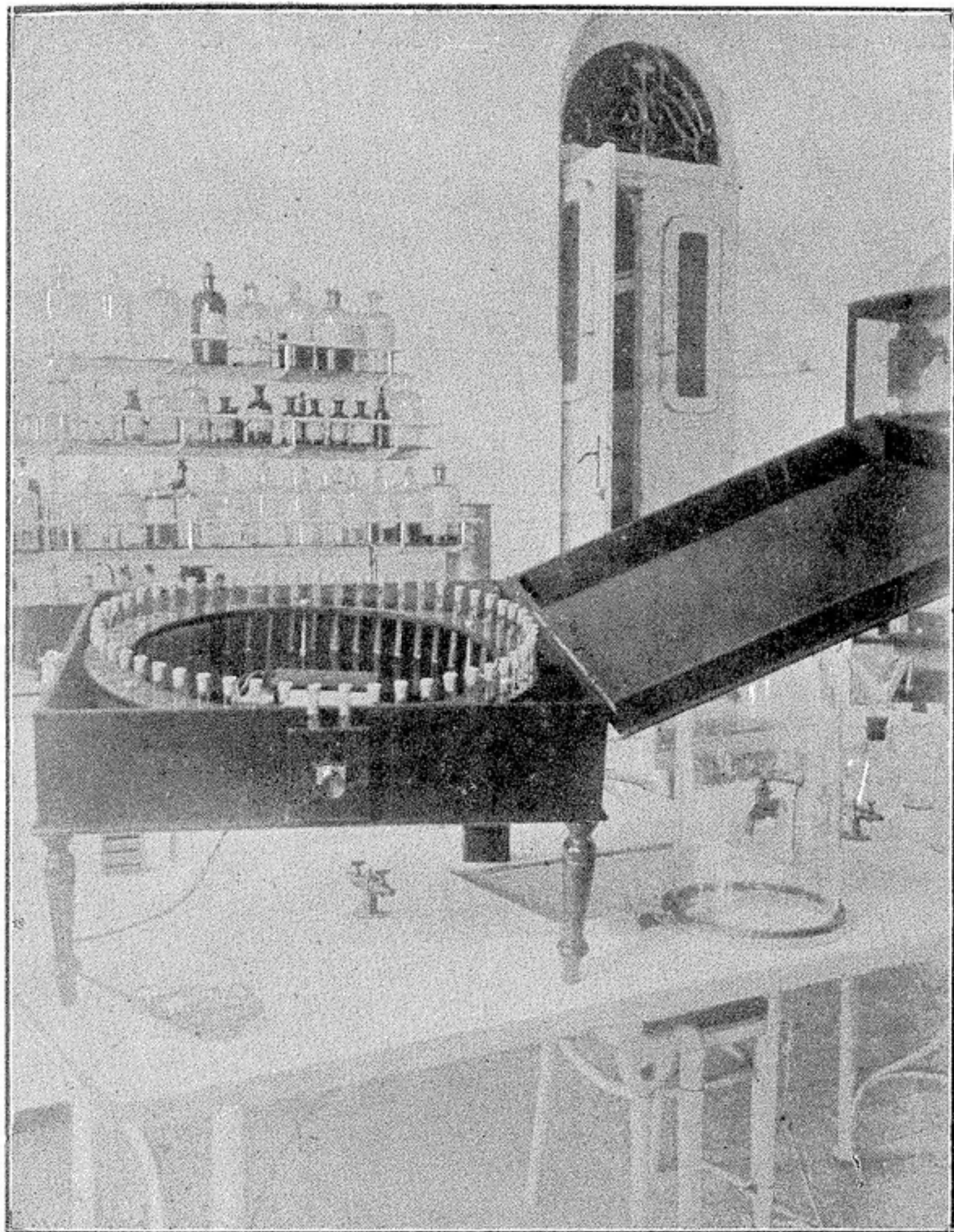
Para o mesmo fim existe o processo de Felton.

*Hass e Felton* em seus methodos são quasi identicos, aquelle manda que se colloque uma ou varias gottas do liquido a examinar na cavidade de uma placa de porcellana e ahi se junte o mesmo numero de gottas de indicador.

Compara-se depois o matiz a uma mesma quantidade de solução padrão collocada em outra cavidade igual.

Felton usa uma placa de porcellana que depois de bem lavada recebe uma serie de gottas de liquido a examinar na sua superficie, uma ao lado da outra.

Proximo a estas gottas são collocadas outras de indicadores.



Ionimetro

Homogenisa-se o liquido a examinar mais indicadores e faz-se a comparação com testemunhas que são collocados na placa.

Baseado nos ensinamentos fornecidos pelos processos de Hass e de Felton, Brown descreveu um methodo aperfeiçoado, para determinação do pH em pequena quantidade de liquido.



Compõe-se o aparelho de Brown de:

- a) uma serie de cellulas redondas de vidro com 15 m/m. de diametro e 3 m/m. de altura.
- b) uma serie de solutos estalões.
- c) solutos alcoolicos de indicadores em vidros contagottas.

d) uma placa de porcellana, com inscrições de pH (4,8 á 8,4).

e) agua destillada.

f) alça de platina.

g) pipetas de Pasteur.

Os solutos estalões mais usados são: o vermelho de methyla (0,02%), o purpura de bromocresol (0,04%) e a phenolphtaleina (0,03%).

A technica para determinação do pH pelo processo de Brown é a seguinte: enche-se uma serie de cellulas com agua destillada, deita-se uma gotta de soluto estalão em cada uma dellas e uma gotta de indicador (vermelho de phenol).

Em outra serie de cellulas cheias de agua destillada junta-se uma gotta de liquido a examinar e uma gotta do mesmo indicador (vermelho phenol).

Não resta mais do que comparar a côr dos liquidos da segunda serie com a dos liquidos da primeira que são os testemunhos.

Si ao deitarmos o vermelho de phenol a côr fica amarella significa que o pH é inferior a 7,0. Junta-se então uma gotta do indicador purpura de bromocresol e compara-se ás soluções testemunhas coradas pelos dois indicadores (vermelho de phenol e purpura de bromocresol.)

Caso o liquido seja mais acido do que o pH 6,0, prepara-se uma nova amostra e usa-se o vermelho de methyla como indicador.

Terminada a medida deve-se limpar tudo rigorosamente, não misturar as pipetas conta-gottas; as que forem utilizadas para os indicadores serão sempre para os ditas substancias, o mesmo acontecendo para as da agua e as das soluções padrões.

Si a côr do liquido submettido ao exame ficar entre cores adjacentes tira-se a media.

## METHODOS COLORIMETRICOS SEM SOLUTOS

### TAMPÕES

Preconizado este methodo por Barnett e Chapmann para o vermelho de phenol, foi generalizado para os outros indicadores por Gillepsie.

*Principio do methodo* — Os indicadores empregados apresentam uma zona de viragem progressiva num limite determinado da escala de pH.

Uns são incolores em meio acido e corados em meio alcalino.

Outros tem uma côr, geralmente a amarella, em meio acido e côr differente em meio alcalino, commumente a vermelha.

Os incolores num meio acido vão pouco a pouco se tornando corados, quando entram na zona alcalina.

Com os bicolores observa-se que, quando entram na zona de viragem, a intensidade da côr augmenta na razão directa da alcalinidade.

Num determinado ponto a mistura é formada de partes iguaes de matiz acido e matiz alcalino, é o *chamado ponto virante de Soerensen*, neste ponto o pH do liquido é igual a constante de dissociação do indicador.

Dahi resulta que com o conhecimento da constante de dissociação do indicador pode-se determinar o pH da solução em que elle se acha.

Está baseado neste principio o methodo colorimetrico para determinação do pH sem soluto tampão.

Os processos empregados são: o de Barnett e Chapmann, o de Mchaelis, o de Gillepsie e o de Medalia.



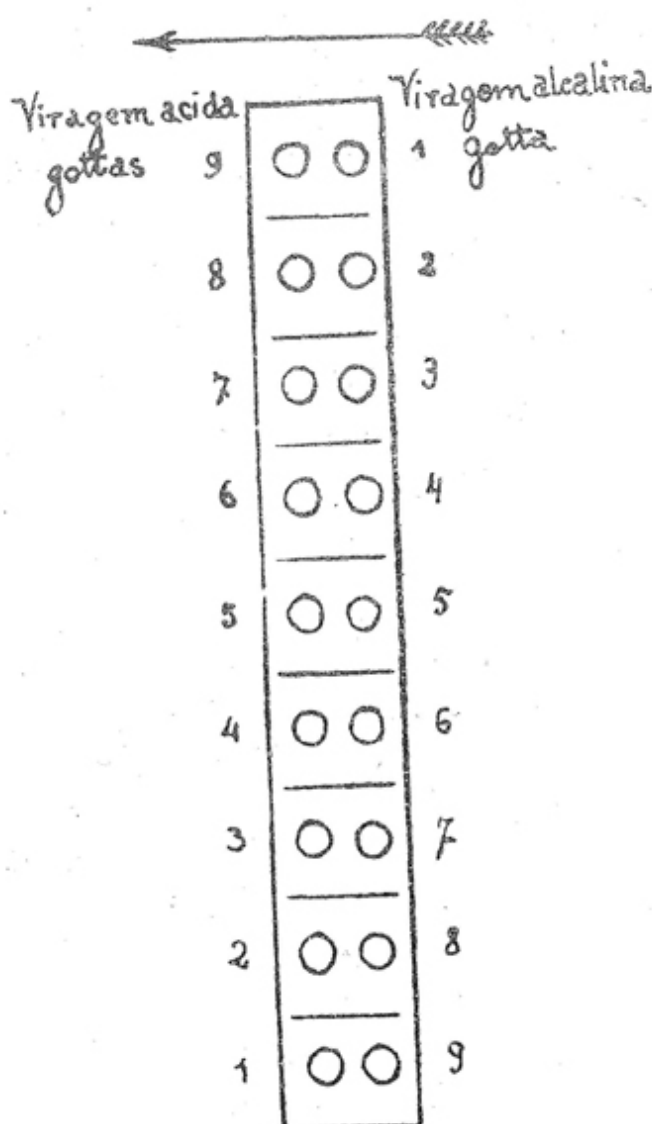
*Processo de BARNETT e CHAPMANN*

O indicador empregado é o bicolor (vermelho de phenol).

A côr apresentada por este indicador quando é collocado num liquido é apenas o resultado da mistura de côres vermelha (alcalina) e amarella (acida).

O mesmo matiz pode ser obtido, si examinarmos na luz reflectida dois tubos, um contendo solução com côr acida, outro com côr alcalina, nas mesmas proporções que se usou para a mistura.

*Technica do methodo:*



tomamos duas fileiras de tubos de ensaios identicos, contendo cada um delles 10 cc de agua neutra.

Seguindo o esquema ficará mais facil a explicação. Escolhido o indicador, delle tomamos duas partes fazendo virar a primeira com côr francamente acida, a segunda com côr francamente alcalina; o numero de gottas de indicador será em cada par de tubos igual a 10.

Quando quizermos examinar um soluto juntamos 10 gottas de indicador ao mesmo numero de cc. do liquido a examinar e associamos este tubo a um de agua neutra. Procuramos entre os tubos testemunhas um par que ofereça o mesmo matiz da so-

lução submettida ao exame associada á agua neutra.

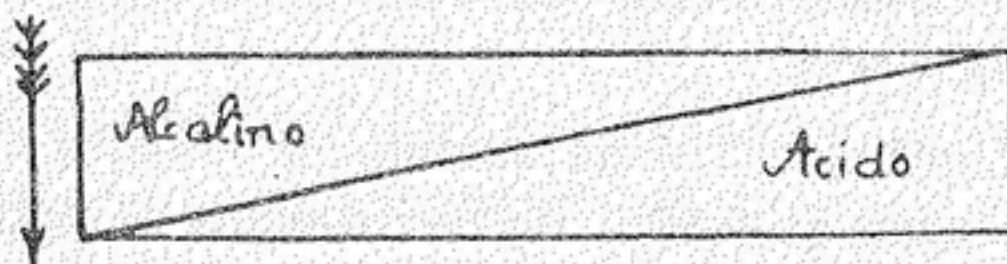
O pH será verificado recorrendo-se a taboas especialmente construídas para esse fim.

G. D. e G. W. Barnett em vez de tubos empregam um dispositivo especial que consiste em uma cuba de vidro e que lhes dá uma variação contínua.

Uma lamina de vidro disposta diagonalmente divide a cuba, que é retangular, em dois compartimentos.

Em cada compartimento, cheio d'água neutra é collocado, num, soluto alcalino, noutro, soluto acido, adicionando-se aos dois a mesma quantidade de soluto indicador. Vistos transversalmente os dois liquidos, observa-se da esquerda para a direita uma escala crescente duma côr e decrescente de outra. Em toda extensão da cuba a espessura é a mesmo, somente quando augmenta a camada alcalina diminue a acida e vice-versa.

O pH é dado pela leitura de uma graduação que se acha escripta no bordo inferior da cuba.



### *Processo de MICHAELIS*

Michaelis emprega no seu methodo os indicadores monochronicos alpha, beta, gamma e paranitrophenol.

Estabelece uma vez por todas as escala de cores de cada indicador determinando o pH por comparação com soluções tituladas.

Além dos numerosos methodos colorimetricos que acabamos de descrever, comprehendendo não só os que utilizam as soluções tampões como os que não se servem das propriedades



Estes tubos de referencia serão fechados á lampada e se converão indefinitamente.

No exame, quando houver difficuldade na apreciação das côres devido a turvação recorre-se ao comparador de Walpole.

Sol. á examinar				
+ V gottas de azul de bromothymol	O	O	Liquido a examinar	
Agua destillada	O	O	Tubo da escala	

### TECHNICA SIMPLIFICADA

O preparo das soluções estalões alem de ser uma operação longa, é muito delicada, exige rigorismo technico de exacta precisão, quer se use o processo de Soerensen, quer o de Clarck e Lubs.

Estas soluções obtidas com tanto trabalho alteram-se em pouco tempo, seja porque as côres vão perdendo ou transformando seu matiz, seja porque se desenvolvem micoorganismos em seu seio.

Os estalões assim modificados seriam a causa de resultados falsos que se repetiriam indefinidamente em todas as medidas.

Os autores, afim de remover taes difficuldades, atacaram o problema, procurando suprimir a manipulação dos estalões com o objectivo de simplificar o mais possivel a technica.

Clarck em sua obra "A concentração dos iontes hydrogenio", propõe uma solução muito simples.

Um quadro colorido reproduz para seus indicadores (salvo a cresolphtalei.) todas as côres para os pH indo de 1,2 a 9,8, variando de 0,2 em 0,2.

Baseados nesse principio são os processos: de Weil, Levy e Darrás e de Bierry e Lescoeur.

E' necessario se não illudir com a precisão deste metho-

do, entretanto, como os resultados se approximam muito do verificado com methodos mais aperfeiçoados, julgamos ser utilisavel e de grande proveito na pratica de laboratorio.

Partindo do seguinte principio: as differenças minimas que se afastam dos resultados reaes das reacções só influem em chimica analytica, onde a precisão deve ser pesquisada com rigor e que em chimica biologica clinica taes differenças não trazem nenhum prejuizo na interpretação dos phenomenos morbidos, resolvemos usar esta technica simplificada, servindo-nos, para termo de comparação, dos magnificos quadros coloridos, publicados na these já mencionada do Dr. Oscar Pereira, que mereceram de Kopazewsky os mais francos elogios pela perfeição dos matizes.

Nos referidos quadros estão reproduzidas as côres dos padrões em que foram usados os seguintes indicadores: vermelho de methyla, purpura de bromocresol, azul de bromothymol e vermelho de phenol, que utilizamos em nossas verificações e cuja escala de pH se estende de 4,4 a 8,0, assim distribuidos para:

O vermelho de methyla	4,4 — 6,0
O purpura de bromocresol	5,4 — 6,6
O azul de bromothymol	6,0 — 7,6
O vermelho de phenol	6,8 — 8,0

Ao dr. Oscar Pereira, agradecemos a gentileza de nos ter cedido a maioria dos clichés que illustram este capitulo.

### CAPITULO III

## CONSIDERAÇÕES EM TORNO DA REACÇÃO DA SALIVA E DA URINA

### *Saliva e sua reacção*

A bocca, inicio do tubo digestivo, é uma cavidade irregular, onde se effectuam as primeiras funcções digestivas: a mastigação e insalivação.

A digestão, o importante acto physiologico que assegura a assimilação desaggregando os factores constituintes dos alimentos, para formar com estes productos desaggregados as materias especificas do organismo que serão incorporadas á sua propria substancia, principia com a insalivação.

A importancia da digestão buccal é insignificante, comparada com a gastrica e a intestinal em que a complexidade das acções chimicas são accentuadas, porém, veremos que, apesar da permanencia dos alimentos ser pequena na cavidade buccal, a acção da saliva, agente activo da insalivação, continua a se exercer no proprio estomago. A saliva é o producto da secrecção das differentes glandulas salivares: as parotidas, as sub-maxillares e as sub-linguaes que se acham situadas nas vizinhanças ou nas paredes da cavidade buccal que lançam nestas, pelos seus canaes excretores, os productos que elaboram. Cada glandula produz uma secrecção que lhe é peculiar: A parotidiana muito liquida, clara e não viscosa, é a saliva da mastigação por excellencia.

A da sub-maxillar é filante, viscosa, sua secreção está ligada á gustação.

A da sub-lingual é muito espessa, viscosa e filante, auxilia a deglutição, effectuando deste modo o papel de lubrificadora do bolo alimentar. E' o producto dessas secreções com o das glandulas da mucosa buccal que constitue a saliva mixta.

*Saliva mixta* — E' um liquido incolor, limpido ou opalescente, espumoso e filante, de densidade variando entre 1002 e 1006 cujo volume varia nas 24 horas de 300 a 1500 cc; sua reacção é ligeiramente alcalina e póde, devido a certas circumstancias, tornar-se acida algumas horas após a refeição, sob a influencia da fermentação lactica de parcelas alimentares que permaneceram na bocca (Desgrez).

O acido formado pela fermentação ataca o esmalte do dente e favorece a formação da carie. A acidez da saliva tambem pode ser observada em certos estados pathologicos: diabetes, ulcera gastrica, sapinho (endomycose), tuberculose, etc., como tivemos occasião de verificar.

A saliva encerra cerca de 5 a 6 grammas de substancias dissolvidas por litro: 3 a 4 grammas de materias organicas e cerca de 2 grammas de materias mineraes, tem em suspensão microorganismos e cellulas epitheliaes.

*Composição chimica* — As proporções dos componentes em 1.000 partes da saliva mixta segundo a analyse de Schmidt e Jacobowistsh são as seguintes.

Agua	995,16
Residuo fixo	4,84
Materias albuminoides	2,09
Materias graxas e extracto alcoolicos...	indicios
Sulfocyanato de potassio	0,07
Chloreto de sodio e potassio	0,84
Phosphato de sodio	0,94
Sulfato de sodio	indicios
Cal e Magnesia	0,64

Além desses componentes temos a acrescentar os gases: que são o oxygenio, o azoto e especialmente o gaz carbonico na proporção de 15 a 20 cc. por 100 cc. de saliva. Entre as materias organicas citamos: a mucina, uma globulina, um sulfocyanato inconstante, segundo Luciani e finalmente a ptyalina. Os saes mineraes que a saliva encerra são: os chloretos e sulfatos alcalinos, o carbonato e phosphato de calcio dissolvidos a custa do gaz carbonico.

Os saes assim dissolvidos depositam-se sob a forma de uma membrana esbranquiçada, quando a saliva é abandonada ao contacto do ar, devido ao desprendimento do acido carbonico. A reacção levemente alcalina que a saliva apresenta corre por conta dos saes alcalinos acima mencionados.

Esses saes, na cavidade buccal, podem depositar-se e formar ao redor do collo dentario um inducto que constitue o tartaro.

*Variacões na composição da saliva* — Tem-se assignalado acido urico na saliva dos rheumaticos e gottosos, pigmentos biliare nos hepaticos, excesso de uréa nos brighticos e glycose nos diabeticos, substancias essas que modificam a reacção salivar.

*Funcção da saliva* — Desempenha a saliva, na digestão, um papel mechanico e uma funcção chimica. Ella facilita a mastigação, contribue para a divisão e amollecimento das materias alimentares, dissolvendo ao mesmo tempo certos productos que excitam o sentido do gosto.

A acção chimica da saliva se manifesta na bocca graças a ptyalina, porém como a permanencia dos alimentos nessa cavidade é pequena, ella se continua no estomago, porque agindo a ptyalina sómente em meio alcalino, sua actividade se conserva nas partes centraes do bolo alimentar. Si a saliva tiver reacção acida é claro que a ptyalina terá sua acção impedida.



Diz Kirk que o campo de estudo da saliva é fértil e promissor.

Para o diagnóstico preciso de um estado morbido, que não pode muitas vezes ser esclarecido com exactidão, sem esse recurso indispensável que é o laboratório, examina-se tudo: sangue, urina, bilis, succo gástrico, etc.,... mas tem-se descuidado da analyse da saliva. Talvez, com estudos mais detalhados dessa secreção, encontrem-se dados precisos para elucidação de certos problemas até hoje sem solução e de muitos factos que não tiveram ainda explicação. Quanto ao ponto que nos interessa, a verificação e influencia do pH salivar, Price tem feito estudos.

Verificou esse autor que a concentração hydrogenionica desse meio pode variar tornando-o alcalino ou ácido.

Essa modificação vem esclarecer o modo de formação da carie dentaria. Si o dente for banhado num ponto, devido a condições especiaes (deposito de particulas alimentares que fermentem), por saliva com pH ácido e o restante do ambiente salivar conservar a reacção alcalina, mesmo levissima estabelecem-se duas trocas distinctas, immediatamente. Dar-se-á uma polaridade invertida, a superficie do dente constituída pelo esmalte é positiva, positiva tambem é a zona de pH ácido onde o esmalte é atacado e dissociado o calcio em seus iontes que são repellidos pelo proprio dente em virtude de ambos, dente e iontes calcio estarem com carga electrica do mesmo nome. O augmento de acidez trará maior repulsão de calcio dos dentes.

Nas condições normaes da bocca, a saliva deve ser sufficientemente alcalina para manter um potencial constante entre o seu calcio ionico e o calcio do dente, pois só assim pode ser estavel a estructura deste ultimo.

O meio normal da bocca pode ser modificado sob a influencia de certas condições: febre, gravidez, etc.

A saliva é um meio que deve ter uma reacção fracamen-

te alcalina ou as vezes neutra, porém, a acidez constitue anormalidade; não deve ter gosto, nem cheiro.

Si qualquer modificação se verificar nessas propriedades é porque o metabolismo organico da pessoa considerada, não se está effectuando normalmente.

Conclue-se que o estudo da saliva, póde elucidar certos problemas e servir como meio de diagnostico em certas perturbações geraes, quando for considerado ao par de outros dados.

O pH da saliva normal segundo Giribaldo e H. Delaunay é de 6,7.

## URINA E SUA REACÇÃO

A urina é uma solução aquosa de crystalloides electrolytos e não electrolytos, representada na sua totalidade por saes e productos nitrogenados dos phenomenos catabolicos.

Ao rim cabe a missão de separar a urina do sangue, este orgão é por assim dizer a valvula de segurança reguladora do equilibrio acido-basico do humor circulante. Graças ao trabalho renal o sangue retém a quantidade necessaria. de saes que lhe asseguram a alcalinidade e o armazenamento de uma boa reserva alcalina, emquanto que todo o excesso é excretado pelo rim.

Nos vegetarianos a urina é alcalina logo depois das refeições, para tornar-se neutra ou levemente acida 6 a 8 horas depois.

No homem, quando submettido a uma alimentação mixta, a urina excretada apresenta reacção acida.

Façamos um retrospecto:

1.º — A urina é retirada do sangue por osmose graças á pressão deste sobre as paredes dos capillares que constituem o novello do gromerulo de Malpighi.

2.º — O sangue apresenta reacção alcalina; a urina apresenta reacção acida.

3.º — Si a urina provém do sangue e este é alcalino; como explicar o paradoxo de excretar um liquido acido?

Para Ronchese as substancias responsaveis por esta acidez urinaria são numerosas e estão incompletamente conhecidas.

Surgem em primeiro plano os phosphatos monometallicos e em segundo lugar, mas contribuindo em fraquissima proporção, o acido urico, o acido hypurico, o acido carbonico, certos pigmentos, etc.

Outr'ora alguns pesquisadores quizeram attribuir a existencia livre na urina de acidos mineraes, taes como acidos, phosphorico, chlorhydrico, sulfurico, etc. Mas essa affirmacão não resistiu á critica e o laboratorio, por meio de uma reacção elemental dos acidos mineraes, sobre o hyposulfito de sodio com libertação de enxofre, liquidou de uma vez para sempre tal questão. Ficam os phosphatos primarios, aliás saes acidos que parecem responsaveis na mór parte pela acidez urinaria. Vejamos como se processa seu mechanismo.

Os acidos, urico, hypurico, etc., normalmente productos do catabolismo organico, contribuem para a acidez urinaria.

Esses acidos organicos, reagindo sobre os phosphatos bi-metallicos alcalinos, existentes no sangue fixam uma parte da base desses saes que em virtude disso são transformados em phosphatos mono-metallicos de reacção acida.

Vem corroborar esta hypothese, a noção sediça da physiologia da excreção urinaria de que os phosphatos acidos, cuja existencia no sangue é talvez provavel, passariam mais facilmente na urina que os alcalinos, quer pela sua maior diffusibilidade, quer pela affinidade electiva do epithelio dos tubos uriniferos por elles.

Os pigmentos urinarios tambem contribuem para a producção da acidez da urina principalmente a urubilina e o urochromo, pois, Capranica verificou que, a intensidade da rea-

ção acida diminue sensivelmente, quando se retem esses pigmentos por meio do carvão animal.

Resumindo podemos admittir que a acidez urinaria corre por conta dos phosphatos mono-metallicos em primeiro logar e accessoriamente pela interferencia dos acidos, urico, hypurico e carbonico, deste negada por alguns autores a presença na urina, mas magistralmente demonstrada por Berthelot, no seu trabalho denominado: gases da urina).

*Papel do Rim* — Vimos a interpretação chimica da acidez urinaria, é justo agora que, observemos como se comporta o rim nessa questão, pois é no seu interior que se processa a eliminação da urina. Sabemos de physiologia que o rim goza da propriedade de effectuar quer por desdobramento, quer por synthese, certas reacções chimicas cujas causas ainda mal definidas, em certos casos ao menos, podem ser attribuidos á presença de fermentos soluveis secretados pelo tecido renal. Foram justamente essas noções de physiologia, que levaram Bunge e Shmideberger a observar que o acido benzoico se unia á glycocolla para formar acido hypurico, no interior do rim.

Berninzoni interpreta esse facto e demonstra que essa synthese era devido a uma diastase existente no parenchyma renal. Esses trabalhos levaram Liebermann a empregar o estudo chimico do parenchyma renal, para explicar certos phenomenos que o approximavam da mucosa estomacal.

Dos seus trabalhos Liebermann concluiu o seguinte:

1.º — O parenchyma renal é acido e não perde a acidez pela lavagem em agua destillada corrente.

2.º — Um fragmento de rim lavado em agua destillada corrente, depois tratado por uma corrente de acido carbonico e novamente lavado, apresenta reacção mais acida do que antes.

3.º — Um fragmento de rim mergulhado num soluto de soda adquire reacção alcalina, mas submettido a uma corrente