

REVISTA  
DE LA  
**ACADEMIA DE CIENCIAS**  
EXACTAS, FISICO-QUIMICAS Y NATURALES  
DE  
ZARAGOZA

SERIE 2.<sup>a</sup>

FASCICULO 2.<sup>o</sup>

TOMO IX



1954

# I N D I C E

	PÁGINA
QUÍMICA TÉCNICA NUCLEAR, <i>por Mariano Tomeo Lacrué</i> ... ..	5
LOS FERMENTOS Y SUS APLICACIONES, <i>por F. Dueso Tello</i> ... ..	29
DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE DISOCIACIÓN DE ÁCIDOS Y BASES ORGÁNICOS, <i>por Fermín Gómez Beltrán y María Pilar Puebla Remacha</i> ... ..	67
MACROGRAFÍAS ELECTROGRÁFICAS, <i>por Julián Bernal Nievas, María Pi- lar Puebla Remacha y Fermín Gómez Beltrán</i> ... ..	79
SOBRE UN DERIVADO DICLORADO DEL DIALANO $Al_2H_2Cl_4$ , <i>por Egon Wi- berg y Rafael Usón</i> ... ..	91
PREPARACIÓN DE TIOSULFATO FERROSO, <i>por Alejandro Vitaller Alba y Rafael Usón Lacal</i> ... ..	97
SOBRE UN CADMIOTIOSULFATO COMPLEJO DE BARIO, <i>por Victor Palacio Otal y Rafael Usón Lacal</i> . . . . .	105
DATOS BIOLÓGICOS INTERESANTES EN LA GERMINACIÓN DEL HABA, <i>por el P. Jaime Pujiula, S. J.</i> ... ..	111
EL MEDIO, FACTOR EXTERNO NO HEREDITARIO, <i>por el R. P. Jaime Pu- jiula, S. J.</i> . . . . .	115
COMPLEMENTO A UN TEOREMA DE AHLFORS-HEINS SOBRE FUNCIONES SUB-ARMÓNICAS, <i>por Baltasar R. Salinas</i> ... ..	119

# QUIMICA TECNICA NUCLEAR

DISCURSO INAUGURAL DEL CURSO 1954-1955

por Mariano TOMELO LACRUÉ

Vicepresidente de la Academia

EXCMO. SEÑOR PRESIDENTE; EXCMOS. E ILMOS. SEÑORES:

SEÑORES ACADÉMICOS; SEÑORAS Y SEÑORES:

La preparación del trabajo inaugural de las tareas anuales de la Academia es una obligación estatutaria cuyo cumplimiento en este curso me ha correspondido realizar.

Trataré de hacerlo a base de un tema que despierta general atención, si bien fundada ésta, principalmente, en manifestaciones energéticas con aplicación bélica. Junto a las consecuencias inmediatas de tal índole se ha difundido también el conocimiento de reacciones consecutivas al fenómeno provocado y la persistencia de efectos radiactivos por parte de los productos liberados.

La consecuencia más notable de toda reacción nuclear es la producción de una enorme cantidad de energía —que más adelante puntualizaremos—, fenómeno físico derivado de la transformación fisico-química de elementos aptos para su fisión, cuya extracción, separación y purificación requieren operaciones y procesos, donde la tecnología química, tanto en su aspecto químico como de ingeniería, tienen oportunidad indeclinable para hacer posible y práctico el empleo de la energía nuclear.

Afortunadamente, se han advertido pronto las orientaciones destructivas a que puede llegarse en este sector de estudios, y digo afortunadamente, porque la contemplación de un camino con horizontes de pesadilla estimula más y más la puntualización de medios por los cuales se asegure la feliz utilización de cuerpos de comportamiento singular para la producción de energía, trocándose aquellos horizontes de pesadilla en horizontes de fantasía, cuya visión serena, derivada de las razones que he procurado reunir, llevan a consecuencias consoladoras para hacer frente a un futuro con sus crecimientos de población; con sus demandas alimenticias; con su hiperdesarrollo industrial; con todas las exigencias y refinamientos de nuestra época y de las que le sucedan. No voy a hablar, pues, de explosivos, sino de combustibles; no de bombas, sino de reactores, y de sustituir la estampa de ciudades destruidas y de atolones pulverizados, por la del nacimiento de múltiples centrales generadoras de energía eléctrica, y de toda la gama de aplicaciones ilimitadas que se abren ante la consecución de fuerza abundantísima, de costo actual ya atractivo, y francamente bajísimo, si se solucionan ciertas cuestiones, en especial de carácter químico-técnico.

La discusión de estas posibilidades ha de ser, por ahora, incompleta: en parte, por carencia de información pertinente (1); en parte, por la existencia de lagunas en su conocimiento y experiencia, defecto el último a suplir por el esfuerzo demandado de físicos y químicos a que antes aludí.

Dos aspectos fundamentales han de considerarse si la energía procedente de fisión nuclear ha de competir económicamente con la de origen hidráulico o la producida por los actuales combustibles sólidos, líquidos y gaseosos. Son los siguientes:

1.º Desarrollo de un proceso químico eficiente y barato para la concentración y purificación de combustibles nucleares y para la limpieza y reutilización del producto restante en los aparatos.

2.º Construcción de reactores duraderos y relativamente poco costosos donde la escisión nuclear pueda ser controlada, y la energía que así se origine se transporte y utilice exteriormente en la producción de fuerza.

La Comisión Americana de Energía Atómica ha dado referencias de los principales tipos de reactores nucleares, en sus comunicaciones de 1953 sobre tecnología de los mismos, y su realización se ha industrializado. Sin embargo, y de forma análoga a lo ocurrido con toda suerte de aparatos en industrias bien conocidas, es más interesante la referencia bibliográfica y posible consulta del modelo, que su descripción minuciosa, sometidos siempre los mecanismos a continuos cambios, de manera especial en nuestro caso.

Salvamos, por tanto, este capítulo, por ser de mayor importancia en su fundamento y, en verdad, más necesitados de precisión en sus trabajos, los referentes al punto primero sobre preparación de combustibles para estos reactores y tratamientos de los minerales de donde proceden. Las fases que comprenden son:

- a) Extracción de uranio y torio de sus yacimientos.
- b) Purificación de los mismos.
- c) Separación de isótopos.
- d) Separación de productos restantes en el aparato o subproductos.

Al igual que se estudian las distintas clases de carbón y las diversas fracciones del petróleo para aplicarlas en una u otra forma, así se efectúa la separación de distintas porciones de los cuerpos primitivos o de los restantes en la primitiva reacción para deducir los posibles sistemas de trabajo, reciclaciones factibles, consumo de materias y productos restantes. Todo ello puede presentarse ya, con cierta sistemática favorable a una orientación económica, y al par, a la fijación de puntos sobre los que es preciso insistir experimentalmente. Para un mejor desarrollo de los aspectos químicotécnicos dichos haremos un resumen de fenómenos fundamentales.

(1) Discurso pronunciado con anterioridad a la Conferencia Atómica Internacional de Ginebra (agosto 1955).

**CICLO DE TRANSFORMACION**  
en PLANTAS DE ENERGIA NUCLEAR

**COMBUSTIBLES NUCLEARES**

Los tres isótopos fisionables o escindibles, utilizados como combustible en los reactores nucleares, son: uranio-235, plutonio-239 y uranio-233.

El uranio-235 se encuentra en estado natural, acompañado de 140 partes de uranio-238, mientras el plutonio-239 y el uranio-233 son combustibles, en cierto orden autoformados, como isótopos producidos por la absorción de neutrones en uranio-238 y torio-232, respectivamente.

Las propiedades nucleares de estos isótopos, importantes para su aplicación en reactores, se reúnen en la Tabla siguiente:

<i>Combustibles:</i>	<u>U-235</u>	<u>Pu-239</u>	<u>U-233</u>
Origen .....	Natural	U-238	Torio
Neutrones producidos por neutrón absorbido:			
Térmicos .....	2,11	1,94	>2
Rápidos .....	>2	>2	
Sección eficaz de absorción de neutrones (expresada en <i>barns</i> ):			
Térmicos .....	650	1.025	
Rápidos .....	Pequeña	Pequeña	

El número de neutrones producido por cada neutrón absorbido, indica si es posible el desdoblamiento nuclear. Si dicho número es mayor que 2, puede, teóricamente, proyectarse un reactor para producir un franco exceso de material fisionable sobre el necesario para conservar en marcha el aparato. Este producto, naturalmente, ha sido engendrado por el primitivo. Cuando un átomo fisionable absorbe un neutrón y produce dos, uno de éstos es destinado a compensar el neutrón absorbido, y el otro se aplica a producir un segundo átomo de material escindible para compensar el destruido.

En reactores térmicos el desdoblamiento es teóricamente posible con uranio-235 y uranio-233, pero no con plutonio: en los rápidos es posible con uranio-235 y con plutonio.

Un reactor rápido es aquel en el cual los neutrones se desplazan con rapidez próxima a la adquirida en el momento de la fisión ( $54 \times 10^6$  km./h.), siendo, por ello, pequeña la probabilidad de que un neutrón sea absorbido por el átomo a transformar y, por tanto, igualmente, la fijación en la sección eficaz de choque o crucial, medida de dicha probabilidad.

En un reactor térmico los neutrones son retardados hasta encontrarse en equilibrio térmico con el material del reactor, teniendo desplazamientos próximos a los 9.000 km./h. Con menor velocidad, la absorción de neutrones en la sección crucial es mucho mayor que en el otro tipo de reactores y, de acuerdo con las dimensiones de aquélla, es mayor en el plutonio que en el uranio-235.

Cuanto mayor es la sección crucial, tanto menor es la carga requerida de combustible nuclear para mantener el proceso de fisión. Esta cantidad o *masa crítica* es menor para el plutonio que para el U-235 en los reactores térmicos, y mayor para todos en los reactores rápidos. Para éstos se precisan concentraciones elevadas de combustible nuclear cuya dilución tiene tolerancia muy limitada. Según las propiedades nucleares de los combustibles empleados se tienen efectos determinantes del ciclo que es factible en el reactor.

#### CICLO PRIMARIO DEL COMBUSTIBLE URANIO

El tipo de reactor nuclear para producción de energía que ha recibido mención más destacada en recientes comunicaciones, es el reactor térmico alimentado con uranio normal o con uranio ligeramente enriquecido en U-235. Si los neutrones son aminorados en su desplazamiento mediante agua pesada, el uranio natural conteniendo 0,72 % de U-235, es usado como combustible, en tanto que si se utiliza el grafito como moderador, resulta ventajoso el empleo de U-238 conteniendo, aproximadamente, 1 % de U-235.

Para reducir el costo del combustible y minimizar el proceso químico, se ha propuesto un ciclo en el cual el uranio natural o modificado tenga tanta duración en el reactor cuanta sea necesaria para mantener la reacción en cadena, de fisión nuclear, siendo entonces descargado y sustituido. Aun cuando la información es incompleta, puede calcularse la carga de combustible uránico que deberá ser quemada en el reactor para que dicho ciclo se cumpla. Para ello podemos suponer que el reactor térmico está cargado con uranio conteniendo 1 % de U-235 y que la operación se inicia con carga de combustible correspondiente a su masa crítica y produce un átomo de plutonio por átomo de U-235 destruido. En estas condiciones, de los 2,11 neutrones producidos por cada neutrón absorbido, uno es absorbido por U-235, otro por U-238 y 0,11 neutrones quedan libres, bien para actuar sobre otros elementos o perdidos en el reactor.

Una representación gráfica (Fig. 1) donde se indique la marcha de la combustión llevando en el eje de abscisas el porcentaje de combustible convertido en productos de fisión, puede darnos idea, con escala situada en el eje izquierdo de ordenadas, de los cambios de concentración de U-235 que se consume y Pu-239 que se produce, a medida que la operación avanza, mientras que la escala derecha de ordenadas permite la apreciación de los Mw-día producidos. Como el calor de fisión del U-235 y Pu-239 es próximo a 0,9 Mw-día/gr., la conversión de 1 % de combustible en productos de fisión corresponde a 9 Mw-día por Kg. de aquél.

A medida que la irradiación progresa, el  $U-235$  es consumido decreciendo exponencialmente su concentración, sin que la reacción lo regenerere. Al mismo tiempo se forma plutonio por absorción de neutrones en  $U-238$ . La concentración de plutonio aumenta al principio más rápidamente que disminuye la de  $U-235$ , y después en forma más lenta hasta que

### CAMBIOS DEL COMBUSTIBLE URANIO EN CONCENTRACION Y REACTIVIDAD

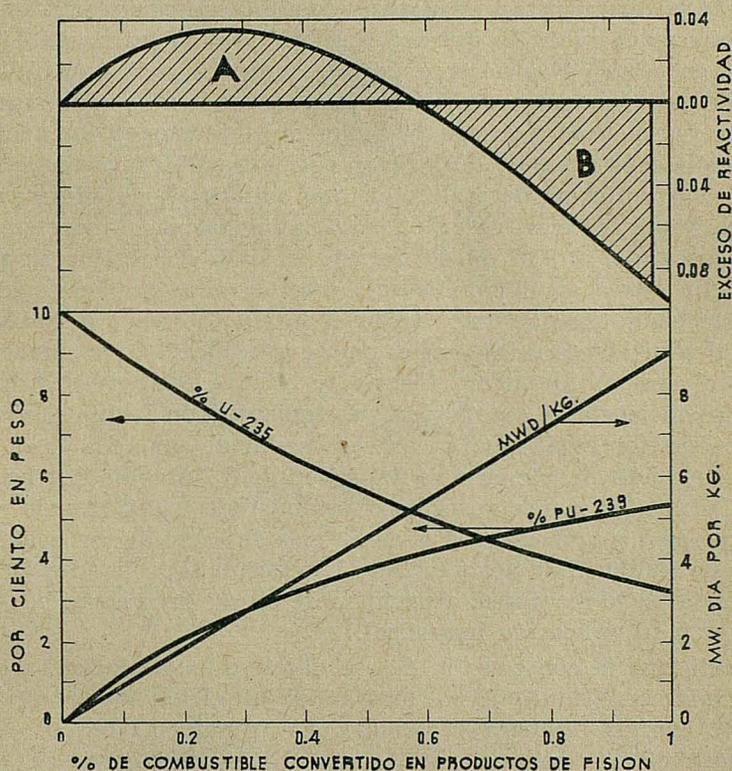


FIG. 1.

el propio plutonio comienza a escindir. La concentración final del  $Pu$  alcanza, aproximadamente, el 0,6 %, consumiéndose entonces tanto como se produce.

La consecuencia de tales cambios de concentración o "reactividad nuclear" puede representarse también gráficamente, con interesante interpretación. Se designa por "exceso de reactividad" la relación entre la diferencia de neutrones producidos y consumidos por el elemento combustible y los neutrones consumidos por el material fisionable existente en él, a

la carga del reactor. El exceso de reactividad, medio, de la carga completa de un reactor debe ser mayor que 1 para que la reacción de fisión progrese, esto es, para que se conserve la combustión. Inicialmente dicho exceso crece, debido a la producción de *Pu* y a su mayor sección crucial. Al estabilizarse la concentración de *Pu*, la reactividad comienza a descender, y así continúa al absorber neutrones los productos de fisión. Cuando el combustible transformado es el 0,6 %, el exceso de reactividad ha llegado a cero, y a 0,97 % lo hace el exceso medio (área B igual a área A).

En un reactor con carga definida (tipo horno o quemador) donde toda la carga es uniformemente irradiada y tiene la misma reactividad, es imposible rebasar el punto en que esa reactividad o su exceso es 0; por consiguiente, en estos casos no será posible convertir más que el 0,6 % del combustible en productos de fisión, ya que aquél no puede seguir sosteniendo la reacción nuclear. En cambio, si el reactor o quemador es de alimentación constante, es decir, que el combustible circula a su través como la capa uniforme de carbón en una rejilla alimentadora para generadores de vapor, es teóricamente posible aumentar la utilización del combustible hasta que el 0,97 % del mismo se haya convertido en productos de fisión. En este caso, el combustible con todos sus grados de irradiación y transformación consiguiente, desde el producto fresco o reciente hasta el residual equivalente a la escoria, pero con utilización, se encuentra presente en el reactor al mismo tiempo, y el exceso de reactividad inicial junto a la deficiencia de reactividad subsiguiente, con lo que el combustible *vive* en el reactor hasta que su exceso medio de reactividad es cero. La energía producida en este caso es del orden de 8,7 Mw-día por kg. de combustible, cifra algo menor respecto a combustible transformado que en el tipo de quemador con carga fija, pero más interesante en cuanto a rendimiento de combustible aprovechado. Este sistema de irradiación provoca averías en la parte mecánica, aspecto sobre el que se trabaja intensamente para llegar a su aplicación industrial.

Supuesto que la consecución de ese objetivo ha de lograrse, es interesante calcular cuánto uranio se consume en un ciclo como el descrito, por unidad de energía eléctrica producida. La transformación uránica tiene lugar según el esquema (Fig. 2) y sus cifras están calculadas para la producción de 100 Mw. Si el rendimiento térmico lo ciframos sólo en 25 %, las cifras a calcular se referirán a 400 Mw., y supuesto el régimen de producción a base de 8,7 Mw-día por kg., resulta que el reactor debe cargarse cada 24 horas con 46 kg. de uranio. De acuerdo con el ciclo resumido, se producen 445 gr. de productos de escisión, existiendo en el combustible residual 0,32 % de *U-235* y 0,53 % de *Pu*. Para cargar diariamente el reactor con 46 kg. de uranio, conteniendo 1 % de *U-235*, es necesario disponer de una planta de separación de isótopos capaz de trabajar 78,2 kg. de *U* natural, con el fin de que el uranio excedente en la misma (32,2 kg.) tenga la misma concentración en *U-235* que el combustible residual del reactor. En este sistema, por tanto, la producción

de Kwh. requiere  $78,200/100 \times 24.000 = 0,033$  gr. de uranio natural. Un costo para éste de 75 \$ el Kg. equivalente a 3.000 pesetas, nos da el Kwh. en  $300/8,7 \times 24.000 = 0,014$  pesetas, es decir, menos de 1,5 cts. por Kwh. A este costo han de agregarse los de las fases más químicas cuales son los procesos de purificación hasta que el mineral llega a la planta de separación de isótopos y los que en ésta se precisan hasta conseguir material apto para la carga del reactor. Los gastos necesarios para sepa-

**CICLO PRIMARIO DEL COMBUSTIBLE URANIO**  
(URANIO ENRIQUECIDO)

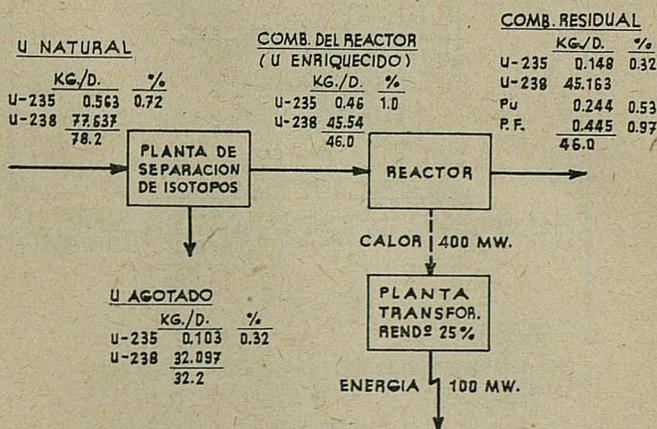


FIG. 2.

rar las fracciones del combustible residual han de considerarse frente a los resultados producidos por la utilización de cada una de ellas. Tenemos un ejemplo en la fase que sigue.

**CICLO SECUNDARIO O RECICLACIÓN DEL PLUTONIO.**

El residuo del ciclo anterior para la carga dicha contiene 244 gr. de Pu que, separados de aquél, pueden volver al aparato y reducen considerablemente la carga del combustible uránico. En efecto, el uranio natural que ha de ponerse en el reactor para que mezclado con el Pu residual tenga la reactividad media del uranio enriquecido con 1 % de U-235, son sólo 21 kg. en vez de los 78 del ciclo primario; por consiguiente, el costo del Kwh. queda por debajo de 0,5 cts. Podría efectuarse, según se ha apuntado, una separación de productos en el residuo, mas no resulta absolutamente necesaria para la reutilización del Pu, toda vez que el conjunto en que aquél se encuentra —mezcla de U-235, U-238 y productos de escisión—, puede producir en su nueva ciclación una cifra de los últimos equivalente a 2,08 % del nuevo residuo, superior, por

consiguiente, a la inicial, y justificativa del empleo de la mezcla, todo ello con las reservas que requiere la información fragmentaria que utilizamos y su base para cálculos.

Los datos anteriores vienen resumidos en la figura 3.

**CICLO SECUNDARIO DEL COMBUSTIBLE URANIO**  
(PLUTONIO CON URANIO NATURAL)

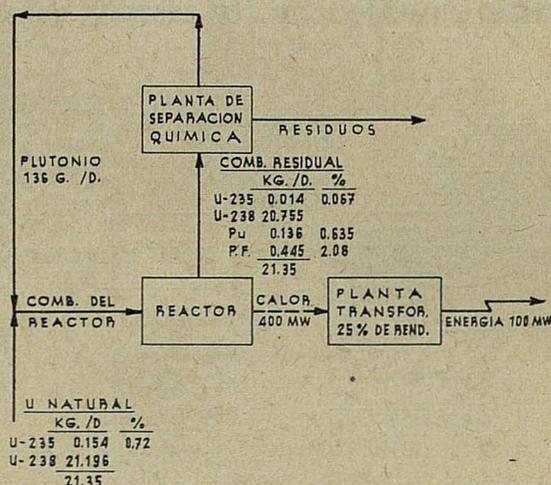


FIG. 3.

OTROS CICLOS POSIBLES

Dentro del tipo de generadores térmicos puede considerarse un ciclo a base de Thorio y U-233, en sustitución del sistema precedente formado por U-238 y Pu. El proceso que ahora se propone es teóricamente posible en cuanto al número de neutrones y su conservación, supuesto, 1.º: Que las propiedades nucleares del U-233 sean análogas a las de U-235; 2.º: Que se produzca un átomo de U-233 por cada otro destruido, y 3.º: Que la pérdida de neutrones sea del tipo 11 %, como en el caso del reactor cargado con 1 % de U-235. En estas condiciones el ciclo puede desarrollarse como en el caso 1.º, (Fig. 4) con la ventaja de ampliar el número de materiales escindibles o "combustibles nucleares" y de consumirse en cada ciclo de este tipo sólo 445 gr. de Th saliendo del reactor una cantidad igual de productos de fisión.

El éxito y eficacia de tal sistema radica en una separación química económica de los productos residuales para reciclarlos con adición en el reactor de la cantidad dicha de Th y reutilización del U-233, en su plena proporción.

También se ofrece como de gran interés para el caso de reactores rápidos el sistema *U-238, Pu* con la renovación por ciclo de sólo 445 gr. de

**CICLO DE REACTOR TERMICO**  
( T O R I O — U - 2 3 3 )

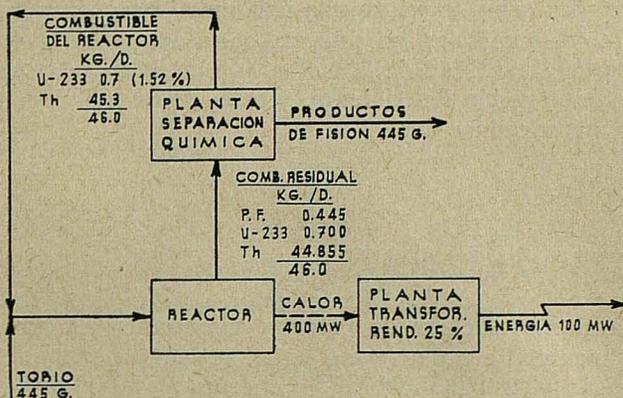


FIG. 4.

**CICLO DE REACTOR RAPIDO**  
( P L U T O N I O — U - 2 3 8 )

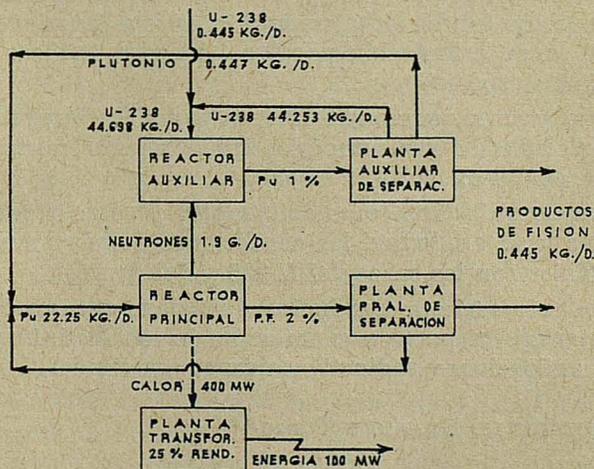


FIG. 5.

*U-238*, obteniéndose otros tantos de productos de fisión. El esquema de este ciclo aparece en la fig. 5. La diferencia respecto al primer caso estudiado es la de una disminución de tal importancia en la cifra de uranio, que

bien puede decirse que el costo del combustible es totalmente despreciable en el cálculo del costo de la fuerza producida. Con cifras análogas a las presentadas anteriormente no se llega al orden de las milésimas de peseta por Kwh. Para realizar este proceso son precisos dos reactores, equivaliendo a las dos fases primaria y secundaria, que hemos descrito. El reactor que pudiéramos llamar primario, alimentado con *Pu* produce neutrones con la velocidad necesaria para que actúen en el reactor secundario, alimentado con *U-238*, en forma tal que sea necesario solamente la adición en éste de la pequeña cantidad de *U* dicha, 445 gr. Bien se ve dónde radica aquí la mayor complicación del sistema, y es la de necesitar dos plantas de separación, una para cada reactor.

## ESTUDIO QUÍMICO DE LOS COMBUSTIBLES NUCLEARES

El comportamiento nuclear de fisión y generación en un reactor rápido ha sido francamente demostrado en el orden experimental; su posibilidad económica para producción de energía comercial depende hoy, puede decirse, no de aspectos físicos bien probados ya, ni aun de cuestiones mecánicas o constructivas de los reactores, sino de los problemas químicos que plantea la recuperación de subproductos para reducir al mínimo el consumo de combustible, así como la preparación primitiva de éste en las debidas condiciones.

Las fases químicas cuyo estudio y situación actual resumiremos, afectan a los tres aspectos fundamentales para el aprovechamiento de la energía nuclear, que en su orientación pacífica podemos calificar de industria físicoquímica. Tales aspectos son:

A) El uranio y torio, combustibles nucleares hasta ahora utilizados, han de ser beneficiados de sus minerales con el mayor rendimiento y con la mayor pureza posibles.

B) Los isótopos utilizados como activadores y como moderadores, han de ser producidos y separados en las condiciones dichas para los combustibles iniciales. Tales son los casos del *U-235* y del deuterio.

C) La abundante serie de productos de fisión, que queda como residuo, ha de ser trabajada para la separación de los distintos cuerpos que la forman, con aplicaciones radiactivas importantísimas.

### A) 1. — YACIMIENTOS DE URANIO Y TORIO

Clasificados en primarios y secundarios, son aquéllos los formados por los minerales de *U*, *pechblenda* y *uranita* y por el de *Th*, *monazita*.

Su riqueza mínima se estima en 2 %, existiendo tipos de 5-8 y hasta 50 % en el metal interesante.

Los secundarios, *carnotita* y *autunita* para el *U* y *torianita* para el torio, tienen riquezas de 0,2 a 2 %.

Como depósitos de *U* con riqueza de centésimas por 100 existen grandes disponibilidades en materiales diversos (arenas auríferas, rocas fosfatadas y pizarras bituminosas).

Por la prospección y búsqueda de estos minerales o depósitos, se acusa su existencia en regiones muy diversas, siendo particularmente importantes los yacimientos uránicos del Congo belga, Canadá, Colorado, Checoslovaquia y Siberia, y los tóricos de India y Brasil.

Las arenas auríferas surafricanas, los fosfatos de Florida y los esquistos bituminosos de Suecia, EE. UU. y Rusia, son objeto de investigación intensa.

En España contamos con yacimientos de *carnotita* y *monazita*.

## 2. — BENEFICIO

a) *Extracción*. — Los sistemas aplicados con más éxito para la extracción del uranio en sus minerales han sido la cianuración y el tratamiento por ácido sulfúrico.

El primero, de carácter más selectivo, se aplica igualmente a los residuos de obtención del oro, siendo las arenas auríferas, en opinión de BAIN, el más amplio y fácil origen de uranio industrial. Su bajo porcentaje es el principal problema químico, aliviado económicamente porque la operación extractiva del uranio puede ser compensada por las condiciones de trabajo planteadas para la extracción del oro, producto principal del tratamiento.

El proceso a base de ácido sulfúrico tiene la dificultad de los grandes tonelajes a tratar y la probable acción sobre constituyentes básicos del mineral. Si estos otros productos tienen su valor directo, la extracción de uranio y torio derivará hacia manantiales más complejos, que al suministrar, bien productos más valiosos que nuestros metales o subproductos aprovechables, hagan posible su beneficio. Tal el caso anterior o el de las rocas de Florida donde la recuperación de uranio se desarrolla junto a las industrias de fertilizantes.

Todavía con mayor importancia por su volumen y por sus condiciones simultáneas se nos ofrece la extracción de combustibles nucleares de las enormes reservas de pizarras bituminosas, problema de aprovechamiento que es un efectivo desafío a la ingeniería de minas y a la ingeniería química de la Era atómica. El vencimiento de dificultades es un verdadero empeño para cambiar las condiciones de explotación de estos minerales, hoy interesantes por su riqueza carbonosa y por su azufre, para pasar mañana ambos aspectos a la categoría de subproductos, ante la valoración del uranio. Ya en 1947 se consideraba posible la producción de *U* de los excelentes esquistos suecos por cifras alrededor de 2.400 pesetas Kg. Si este bajo precio puede sostenerse, no es de temer la utilización de combustibles nucleares con costo razonable. Una central de energía nuclear de

100 Mw. a base de estos combustibles consumiría unos 170 Kg. de uranio por año. Es evidente que si los problemas nuclear y químico del generador pueden resolverse económicamente y si el *U* se extrae al precio de 60 \$ por Tm. o poco más, no faltará combustible barato para las plantas de energía nuclear.

La prospección de torio ha sido menos intensa que la de uranio y, en general, menores los estudios experimentales. Las arenas monacíticas y los fosfatos son tratados en forma semejante a los minerales de uranio, pudiendo decirse que las reservas de torio son también extensas y, comparativamente, de más elevada concentración que las de uranio.

b) *Purificación.* — Directamente a partir de la pechblenda pueden obtenerse por tratamiento nítrico, los correspondientes nitratos, con separación de la ganga. Los nitratos obtenidos solubles en agua precipitan por adición de sulfúrico, sulfatos insolubles como los de *Pb* y *Ra*. Aquí comienza la purificación neta en forma semejante a la extracción aplicada para los productos de fisión, que luego veremos.

La extracción con éter permite separar el nitrato de uranilo, de otros como los de *Fe*, *Mn* y compuestos de *B*, que persisten solubles en agua. Separado el extracto etéreo puede eliminarse el disolvente y solubilizarse de nuevo en agua el nitrato de uranilo, de cuya solución se precipita el tetróxido de *U* con peróxido de hidrógeno. Por el calor y con hidrógeno es reducido a tri y bióxido, y por tratamiento con fluoruro de hidrógeno, gas, es convertido en el tetrafluoruro correspondiente. El haluro se reduce a metal por medio de calcio en reacción termítica. Las últimas etapas, tanto por la naturaleza de los reactivos como por su manejo y costo, señalan las dificultades de producción del metal puro.

Un proceso similar es empleado para la purificación del torio.

## B) SEPARACIÓN DE ISÓTOPOS

La exposición de fundamentos que hemos realizado y la presentación de tipos de reactores y ciclos posibles permite concluir que se siguen dos tendencias cuyo fundamento, evidentemente, es la fisión nuclear, realizada o a expensas de una composición de combustible adecuada para ello por la presencia de porciones de *U-235*, o a base del empleo de *U* natural y la acción de neutrones con velocidad amortiguada, mediante moderadores como el agua pesada que obligan a disponer de deuterio.

La primera, en forma general, puede decirse que es la orientación americana; la segunda, la europea: aquella, inclinada hacia reactores más rápidos, y ésta, hacia el tipo térmico.

La alternativa se presenta hoy entre la preparación de *U-235* y de deuterio, y el costo relativo de los dos procesos ha de influir en la elección de sistemas junto a los resultados de las fases posteriores.

a) *Separación de U-235.* — El proceso seguido para la concentración de *U-235* es el de difusión gaseosa, sobre el cual y su costo hay referencias

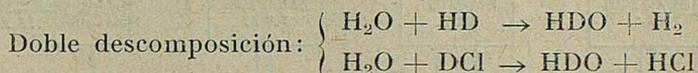
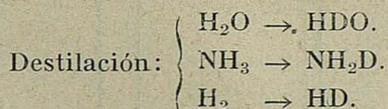
muy incompletas. La aplicación del U-235 a fines militares hace previsible que plantas preparadas para la producción de este cuerpo concentrado se puedan adaptar fácilmente a la de uranio ligeramente enriquecido en dicho isótopo. Sin embargo, es también previsible que la fase de la industria nuclear a que ahora nos referimos, quedará por algún tiempo en el orden estatal.

b) *Separación de deuterio.* — Más conocida la tecnología de este isótopo, es por ello también apreciada la necesidad de disminuir su costo: el Kg. de agua pesada se calcula en unas 7.000 pesetas.

La separación de deuterio y formación de agua pesada puede realizarse según dos grupos de procesos: *destilación* y *doble descomposición*.

La primera se verifica a partir de agua, de amoníaco o de hidrógeno. La segunda tiene como materia fundamental el agua, sometida a la acción de una corriente de hidrógeno, concentrado en deuterio, o de una corriente de cloruro de deuterio.

Según los respectivos esquemas:



se obtiene directamente agua pesada en los dos procesos de descomposición y en la destilación de agua. La destilación de  $\text{H}_2$  nos da hidrógeno-deuteriado que también puede separarse del amoníaco deuteriado obtenido en la correspondiente destilación, y ambos tipos de hidrógeno se hacen actuar sobre agua normal para convertirla en pesada.

La base diferencial de las tres destilaciones son sus datos de volatilidad y respectivas temperaturas de trabajo. La volatilidad relativa del agua a  $100^\circ\text{C}$  es 1,017, valor bajo que obliga a utilizar grandes reflujos y un gran número de platos separadores distribuidos en buen número de columnas de gran capacidad de separación para pequeñas diferencias de presión. Es un gran problema de ingeniería química.

El amoníaco tiene una volatilidad mayor (1,037) y el inconveniente de trabajarse a temperatura reducida,  $-33^\circ\text{C}$ . Ha de partirse, naturalmente, de un amoníaco a muy buen precio, lo que unido al bajo rendimiento, 60 toneladas de agua pesada por año, para 600 Tm. de amoníaco/día, hacen poco recomendable el método.

La destilación de hidrógeno viene favorecida por su alta volatilidad, 1,73, habiendo de trabajarse a pocos grados por encima del cero absoluto: a  $-253^\circ\text{C}$ . Sin embargo, el empleo de hidrógeno líquido para destrozo

o perforación de grandes extensiones rocosas, ha provisto de práctica industrial en el empleo de tales temperaturas, y aun cuando la proporción de deuterio es pequeña frente a la de hidrógeno, si el exceso de éste tiene otras aplicaciones industriales, puede calificarse a la destilación de hidrógeno como la más inmediata a la producción de agua pesada a bajo precio.

Una corriente de la mezcla hidrógeno-deuterio así obtenida actúa sobre agua normal para producir agua pesada. Así se trabaja en instalaciones inglesas, noruegas y americanas.

La reacción tiene lugar catalíticamente en fase gaseosa y se verifica en un equipo de reactores, dispuesto en contracorriente (Fig. 6).

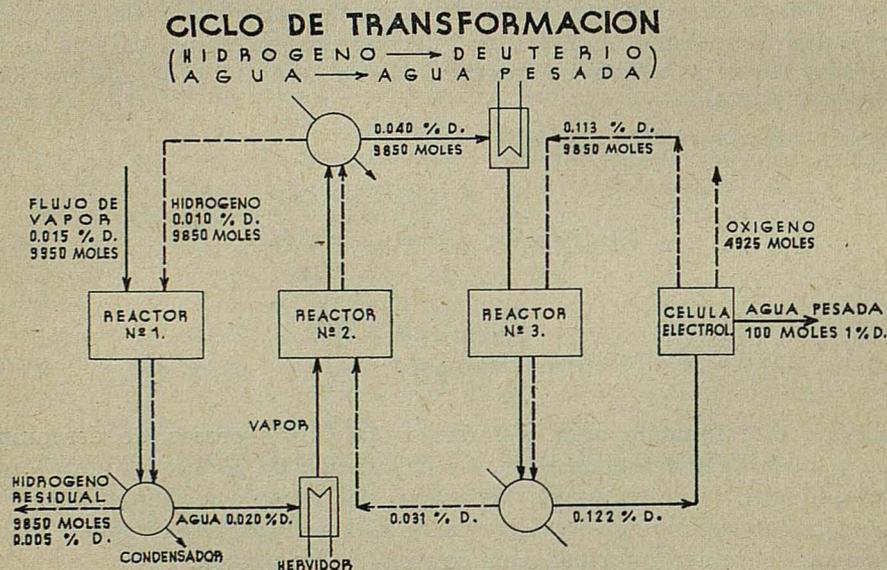


FIG. 6.

A cada uno de estos reactores llega un vapor de agua sucesivamente enriquecido en deuterio, procedente del anterior, y sale un hidrógeno empobrecido en su isótopo. La operación se completa por electrólisis de un agua con 0,122 % de *D*, procedente del tercer reactor, de cuya célula electrolítica salen el *H* con pequeña cantidad de deuterio, que pasa a los reactores; el *O* que se separa y el agua pesada con 1 % de *D*. La célula actúa como un fraccionador y el consumo de energía eléctrica es punto todavía a mejorar en este sistema. Los reactores alternan con condensadores para separación del agua y de la fase gaseosa en contracorriente. Los balances estequiométricos simplificados y riquezas en deuterio en las distintas fases, son como siguen:

Alimentación con

*vapor de agua* → 9950 moles con 0,015 % de D → (Reactor 1 - Condensador 1)  
 (Reactor 2 - Condens. 2) ← 9950 " " 0,020 % de D ← \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_ → 9950 " " 0,031 % de D → (Reactor 3 - Condensador 3)  
 (Célula electrolítica) ← 9950 " " 0,122 → de D ← \_\_\_\_\_

↓  
 100 moles de  
*agua pesada*  
 con 1 % de D

+

4925 moles de O + 9850 moles de H con 0,113 % de D → (Reactor 3 - Condensador 3)  
 (Reactor 2 - Condens. 2) ← 9850 " " " " 0,040 % de D ← \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_ → 9850 " " " " 0,010 % de D → (Reactor 1 - Condensador 1)  
 9850 moles de H con 0,005 % de D ← \_\_\_\_\_

*residual*

El destino de este  $H$  residual es la síntesis de amoníaco, aplicación industrial compensadora.

El segundo tipo de reacción con empleo de cloruro de deuterio tiene dos ventajas: equilibrio más favorable y trabajo en fase líquida sin catalizadores. El proceso se desarrolla también en contracorriente en un multicontactor gas-líquido. Su inconveniente grave es la corrosión intensa producida por la mezcla, limitadora, por hoy, de su aplicación comercial.

### C) SEPARACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE REACCIÓN

Los ciclos de trabajo presentados señalan una variedad de caminos para la producción de fisión nuclear y, en consecuencia, una serie de elementos e isótopos que en distintas agrupaciones formarán el combustible residual a extraer del reactor. Se consideran posibles en los productos de fisión desde el germanio al gadolinio: varios de ellos son de vida brevísima y desaparecen rápidamente, pero se han identificado más de veinte, importantes por su absorción de neutrones y por su radiactividad.

Además del material fértil restante,  $U$  o  $Th$  reciclable en otro reactor, hay también material escindible  $U-235$  y  $Pu-239$ , más los siguientes productos de fisión interesantes para la remoción de neutrones. Son:

Rutenio  
Xeno  
Neodimio  
Samario  
Europio  
Gadolinio

Junto a ellos un grupo de productos radiactivos de vida larga aplicables para que el proceso subsista en otro reactor; aplicables asimismo en bioquímica, medicina, industria y agricultura, bien agrupados o separadamente; disponibles en "stocks" de cierta importancia, con obligadas condiciones de seguridad sanitaria. Un conjunto de tales cuerpos es:

Kripto	Zirconio	Rutenio	Cesio	Praseodimio
Estroncio	Niobio	Iodo	Bario	Neodimio
Itrio	Tecnecio	Xeno	Cerio	Promecio

La dificultad principal que ofrece este conjunto para cualquier manipulación a que se le someta es su intensa radiactividad. Es preciso rodear su conservación de previsiones masivas, entre las cuales figura la eliminación del calor consiguiente a la emisión de radiaciones, así como la posible descomposición de disolventes y materiales empleados en su almacenamiento. Su acumulación puede alcanzar las proporciones de la masa crítica, y esto significa una limitación en las dimensiones del equipo.

Se trata de productos valiosos que han de ser retirados en estado de gran pureza, a partir de mezclas complejas donde algunos se encuentran en

proporciones casi traza, mezclas cuya complejidad se muestra en contener desde el alcalino *Cs*, valioso manantial de radiaciones  $\gamma$ , hasta los autoformados *Tecnecio*, semejante al manganeso, y *Promecio*, tipo de las tierras escasas o raras.

La mezcla residual contiene, según acabamos de decir, productos distintos, pero también cuerpos muy semejantes químicamente, de separación, por tanto, peculiar, y consecuencia de repetidos ensayos y modalidades.

Los procedimientos propuestos para la separación de componentes en el combustible residual han sido cuatro: *precipitación fraccionada*, *destilación de haluros*, *cambio iónico* y *extracción con disolventes*. Diremos un resumen del último, especialmente interesante.

Indicado por BRUCE, se aplica en principio a la recuperación de uranio y de plutonio en la mezcla general de productos de escisión, fundada en la extractibilidad con éter del uranio y plutonio exavalentes, más la posterior separación al reducir el plutonio su valencia a 4. Su esquema aparece en figura 7.

El tratamiento con ácido nítrico separa en forma de los correspondientes nitratos, uranio, plutonio y parte de los productos de fisión. La solución

### PROCESO DE EXTRACCION DE URANIO IRRADIADO

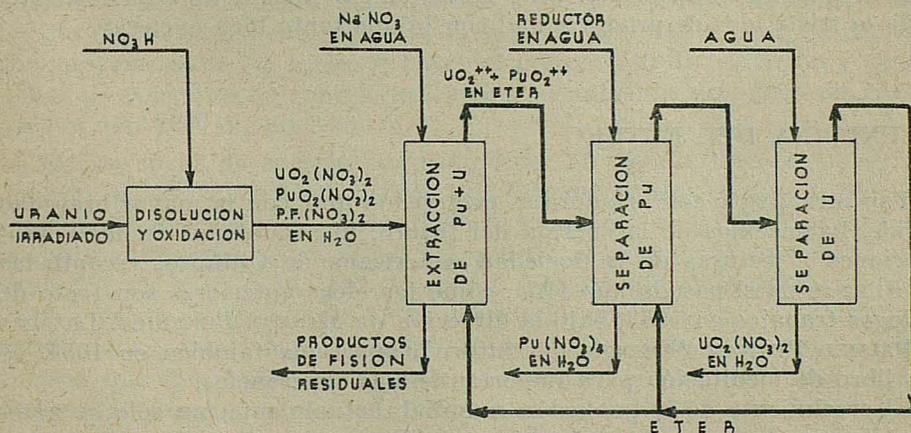


FIG. 7.

acuosa de estas sales, adicionada de  $\text{NaNO}_3$  circula en contracorriente por una torre a cuya parte inferior se hace llegar éter etílico: con esto quedan separados en el disolvente orgánico las sales de *U* y *Pu*, mientras se retiran por el extremo opuesto, el resto de productos mezcla. En el "scrubber" siguiente y también en contracorriente, la disolución acuosa reductora libe-

ra al *Pu* con acción tetravalente en forma de nitrato: el nitrato de uranilo pasa al tercer "scrubber" donde es reextractado con agua.

La certidumbre, por estos trabajos, de la existencia de *U*, y *Th* en su caso, en los productos residuales, ha hecho ensayar también el empleo de la mezcla en conjunto, en otro reactor. Lo indicamos al hablar del ciclo secundario o del *Pu*, en cuyo caso el residuo procedente del segundo reactor sería el propiamente a trabajar.

Los ensayos realizados en este sector han reivindicado la aplicación de la extracción con disolventes a los procesos, en general, de Química inorgánica. Así se trabaja ya para la separación de hafnio y circonio, de manganeso y hierro, de níquel y cobalto, de plata y oro y de los elementos del grupo del platino. La acción de disolventes orgánicos, con o sin agentes gelatificantes, o simplemente fase acuosa con agentes salinos o complejos, señalan en el trabajo de las menas con composición múltiple, un camino prometedor.

Todo ello ha de ser a expensas de equipos adecuados: no insistimos en cuanto significa la preparación de ellos y las modificaciones a introducir, pues tras lo dicho es inmediata la consecuencia. Queremos, sí, insistir en dos aspectos: 1.º: Que el éxito del desarrollo de la energía nuclear, por uno u otro sistema, radica en una fundamental contribución de la Química técnica para la realización de procesos industriales a costo reducido, con el fin de trasladar a escala comercial los estudios experimentales que se van realizando; y 2.º: Que el manantial de energía soterrado en los combustibles nucleares es de tal importancia, que obliga a considerarle, por sus múltiples derivaciones pacíficas, como la verdadera misión de aquéllos, anulando la triste idea de producir mal con lo que tanto bien encierra.

## LA ENERGIA DEL FUTURO

Tan atractiva y confortadora es esta visión que, con la mayor brevedad posible, hablaremos de la energía del futuro, inspirándonos en las comunicaciones y lecturas de la Sociedad Americana de Química, recopiladas por FURNAS en el pasado año 1954, como las ideas anteriores son fruto de análogos trabajos en 1953, bajo la dirección de MANSON BENEDICT. La obra de PALMER PUTNAM "Energía del futuro", aparecida también en 1954, es otro libro de meditación para importantísimas sugerencias.

El crecimiento de la población mundial, actualmente, no sólo es notorio —FURNAS llega a calificarlo de irresistible—, sino que carece de precedentes semejantes. Naciones como EE. UU. crecen a razón de un 17 %/año, considerándose este índice doble de la razón de crecimiento mundial. Se calcula que en el año 2050 la población de la tierra habrá podido triplicarse respecto a la actual. Causas de ello se estiman los progresos médicos; la facilidad de transporte; el perfeccionamiento de la agricultura; el gradual reemplazamiento de la población campesina por la industrial; la exaltación del nacionalismo. Sean concordes y efectivas, acompañenlas otras, es preciso prepararse y aceptar la idea de que cada día hay que subvenir a

las necesidades fundamentales, alimentación, vestido y vivienda de 70.000 personas más.

El aumento de población tiene un crecimiento exponencial y no influyen detenciones pasajeras como las producidas por las catástrofes que las guerras significan. Esta marcha inexorable, respecto al consumo de energía, hay que cualificarla por el distinto destino de tal crecimiento. La subsistencia basada en la agricultura y en su mecanización, es de menor demanda que el incremento industrial y las concentraciones de población, secuela del mismo; hay que prever un incremento de energía suplementaria por habitante.

En la centuria 1850 - 1950 la razón de incremento de la energía mundial utilizada ha sido el 2,2 % por año, como cifra media. En la actualidad esta cifra se acerca al 3 %. EE. UU. sobrepasa hoy el 5 %, siendo los índices medios de las últimas décadas: 3,2 para Japón, 3,4 para Norteamérica, 3,9 para la U.R.S.S. y 4,4 % para Alemania.

Calculado el consumo de energía en calorías, así como su incremento, se estima que la razón de crecimiento por año es de  $10^{15}$  calorías —cifra media— en los primeros 1.850 años de la Era Cristiana. En dicho año 1850 el aumento efectivo fué de  $2,5 \times 10^{15}$  calorías, y en 1950, de  $25 \times 10^{15}$  calorías, es decir, 25 veces superior a la media de las primeras dieciocho centurias y 10 veces la de 100 años antes.

Las cifras anteriores son medias mundiales, y por cálculos más determinados sobre los consumos previsibles a partir de cifras norteamericanas, resulta que el incremento de energía en 1950, respecto a 1850, en consumo por persona, es de 7,5 veces. A base del incremento de población y de este índice de consumo de energía se calcula el aumento necesario de energía para el año 2050 en un 2.250 %.

En las cifras de energía se ha de tener en cuenta, además de su producción, la eficiencia de su utilización. A pesar de los avances logrados, el rendimiento energético más satisfactorio se estima en un 30 %, y el índice medio mundial es el 22 %. EE. UU. produce el 37 % de la energía mundial y tiene 1/15 de la población del globo. Aplicándole el mejor rendimiento de la energía producida, el 37 % por 30/22 se convierte en el 50 %. Por consiguiente, para que cada habitante de la tierra dispusiera de la misma energía que hoy tiene un norteamericano, habría que aumentar la cifra de aquella, seguidamente, unas 750 veces.

Se trata de una verdadera carrera de cifras, de un campeonato en que la previsión debe llegar antes que la exigencia. Es fundamental el aumento de rendimiento utilizable: en 1900 era el 10 %; hoy estamos en el 30 %; aplicaciones determinadas llegan al 90 %. No es infundada la esperanza de que nuevos avances de la Física —la ciencia primordial de los tiempos modernos— consigan mejoras generales e importantísimas, con trabajos referentes al estado sólido, por ejemplo, de los que son un prelude las aplicaciones de los termopares.

Es aleccionadora la evolución en el porcentaje de los orígenes de energía de 1850 a 1950; dicha distribución es como sigue:

Procedencia de la energía:	1850	1950
Madera	89	6
Carbón	11	39
Petróleo	—	38
Gas	Inicial	16
Hidroeléctrica	Inicial	1

La madera y los residuos agrícolas utilizados como combustible pasan a la categoría de un sumando en el capítulo de "Varios", cuya influencia en las disponibilidades de energía se considera como un origen sin reflejo de ninguna consideración y, si acaso, puramente local. A este concepto misceláneo se agregan, hoy por hoy, la energía procedente del viento, la de la electricidad atmosférica, la de diferencias de temperatura en aguas tropicales, el calor terrestre, etc.

En un orden poco superior al del grupo precedente se estima ya la energía de origen hidráulico. Constituye un 1 % del suministro mundial y se calculan las disponibilidades totales en diez veces la instalada, cifra que no resuelve el problema y que ha de formularse con todas las reservas que la importancia económica de los cursos de agua en otros órdenes, o los aspectos sociales y estéticos de los mismos, han de disminuir.

La energía almacenada en las reservas de combustibles sólidos, líquidos y gaseosos se calcula en  $7 \times 10^{18}$  calorías. Al ritmo actual de consumo se augura para la producción de combustibles líquidos y gaseosos una notoria disminución de suministros antes de 1960, y para la de carbón hacia 1990. Es de prevenir un serio riesgo de aumento en el costo unitario de energía si nuevos manantiales de ésta no entran en franca producción de aquí a veinte años.

La fisión atómica para producción de energía es, frente a lo anterior, una esperanza creciente que terminará en realidad. El potencial extraíble del uranio y torio ya conocidos, y por los sistemas experimentados, es unas veinte veces mayor que el de la dicha reserva de combustibles carbonados ( $145 \times 10^{18}$  calorías). Otros materiales y otras reacciones nucleares pueden ser preparados y desarrollados convenientemente; con ello los suplementos de energía nuclear representan cantidades ingentes, a tono con las necesidades humanas a satisfacer. La energía nuclear es la aportación de magnitud mayor con que puede contarse para una solución universal de las demandas del futuro. Hay que hacerla económica, problema con resultado pendiente de la Química. Por otra parte, si todavía no se ha aplicado a medios de transporte fundados hoy en combustibles líquidos, concretamente a automóviles y aviación, aunque sí en Marina y ferrocarriles, no se ceja en su estudio, y si por circunstancias especiales ello se retrasara, el enorme alivio que representaría en la producción de energía eléctrica per-

mitiría prolongar para otros usos el empleo de los combustibles ahora más difundidos.

Si el crecimiento de consumo reflejado por las cifras expuestas tiene réplica adecuada en las previsiones nucleares, aquél debe todavía prevenirse en mayor escala y, por tanto, también se procuran nuevos orígenes de energía.

Capítulos científicos parecen hoy trazados por plumas "juliovernescas", mas no debe omitirse la cita de lo que se estudia con vistas al mañana: son los aprovechamientos del Mar y del Sol.

La recuperación del agua del mar para destinarla a regadíos y, consiguientemente, al incremento de alimentación, requiere para su realización, en amplia escala, disponibilidades de energía cuyo rendimiento ha de confiarse mejorará por nuevos hechos físicos.

El continuo uso de minerales; su transformación en múltiples productos químicos; la creciente demanda de éstos, hace pensar en las reservas marinas para utilizarlas directamente o por reacciones de cambio, en el reemplazo de explotaciones terrestres, con rendimiento decreciente.

De otro lado, con todas las perspectivas de la energía nuclear, el primer lugar en los orígenes de la energía futura se concede al Sol. La radiación solar representa por año unas seis veces la cifra de calorías que hemos calculado para los yacimientos conocidos de uranio y torio, limitada la trasmisión a un rendimiento de 62,5 % a través de la atmósfera. El sol envía a la tierra 32.000 veces la cifra anual de energía que ahora se consume. Y tan enorme disponibilidad es aprovechada con eficiencia de 2 % sólo en la fotosíntesis. De ahí el interés de modificar fundamentalmente fases de la cinética química y de la física que sigan aumentando el rendimiento de transformación directa de la energía solar en energía eléctrica. Recientes comunicaciones describen fotocélulas con resultados del 6 %, triple de lo que las plantas aprovechan. La intermitencia de la energía solar, su concentración y su almacenamiento, son desventajas y problemas a salvar, y así será por la extensión de la técnica existente dedicada a incrementar todos los recursos energéticos necesarios para la futura sociedad. El problema del suplemento de energía que el mundo requiere debe ser sentido por todos, y por su importancia y generalidad ha de convertirse en un cierto aspecto educativo.

Sobre el buceamiento de dificultades y de soluciones que hemos presentado queda una reserva inagotable: el acumulador maravilloso del cerebro humano. Para tener una vaga idea de lo que sucede continuamente en el cerebro y en la medula espinal, hay que imaginar —dice BRUCE BLIVEN— mil centrales telefónicas, cada una de tamaño suficiente para una gran ciudad, que reciben y transmiten a toda velocidad, solicitudes, preguntas, órdenes. Y este admirable proceso del sistema nervioso se produce por una corriente directa de un décimo de voltio, más o menos, equivalente aproximadamente a 1/20 de la corriente de una pila de linterna.

La evolución de las acciones en nuestra consciencia es evidente. Actos

que requieren mucha atención la primera vez que se ejecutan, pueden más tarde derivar hacia una parte del encéfalo que funciona a nivel más bajo, menos consciente. Nadar, andar en bicicleta, conducir un coche, son actos de destreza que en un principio requieren "cerebración" y gradualmente se convierten en acciones automáticas o reflejas. Asimismo aprendemos a descartar mensajes no deseados que se repiten muchas veces. Un habitante de la ciudad podrá dormir por esto en medio del ruido de la circulación, pero le despertará en el campo el canto de un gallo distante.

Los yacimientos de las materias más valiosas; sus transformaciones y conversión en energía; la captación de ésta de orígenes diversos, y algunos, hoy todavía, insospechados, nada serían sin las posibilidades de la inteligencia, siempre insatisfecha, siempre productora, siempre inagotable.

¿Cuándo nos volvemos demasiado viejos para aprender? Nunca. El aprendizaje está asociado con la capacidad de crear en el cerebro nuevos circuitos eléctricos resonantes, y mientras se conserve esa facultad puede uno continuar adquiriendo nuevos conocimientos y habilidades. Las personas altamente dotadas tienen capacidad innata para coordinar en forma excepcional sus circuitos. El hombre más sabio en la historia, quienquiera que pueda haber sido, no utilizó en toda su vida más que una pequeñísima porción de su capacidad cerebral.

Cuanto más aprendemos, mayor es el almacén de recuerdos a nuestra disposición. Cuanto más ejercitamos la función de combinar centenares de conocimientos, aparecen más analogías que los simplifican y más derivaciones que los engrandecen. Aumenta la base en sus consecuencias y disminuye, en cambio, el número de ideas-madre, que así, menguando, menguando, se elevan hasta la Idea y la Esencia únicas. SHERRINGTON, la gran autoridad en estudios del encéfalo, tras indicar que el encéfalo del hombre, en proporción a su peso, es mucho más grande que el de cualquiera de los animales, insinúa que todavía continúa mudable: "Podemos suponer —dice— que el estado actual del encéfalo no es más que una fase de transición hacia algo diferente, y podemos confiar en que este algo será mejor."

Junto a unos hechos y a un lenguaje que ofrecen perspectivas de agoría para la humanidad, pueden también presentarse otras ideas que den a aquéllas las más emocionantes esperanzas. Sentado queda, como base de éstas el valer humano, mas el rendimiento a lograr de él no será efectivo sin la conversión del poder en querer y sin la acomodación de este querer a nuestra misión cotidiana y a nuestras posibilidades reales.

Hemos intentado que haya sido la Academia de Ciencias quien recogiese la inquietud dominante sobre ciertas materias, y la que difundiera sobre ellas criterios y aplicaciones más humanos de los que generalmente se les atribuyen. Reconocemos las dificultades existentes, pero hay que vencerlas, y revistas y noticias nacionales, bien de estos días, señalan nuestra incorporación a este camino. Mientras llega el momento de hacer más efectiva nuestra acción en tales órdenes, vuelvo a recordar nuestra acomoda-

ción a posibilidades y misiones inmediatas. Muchas se nos ofrecen para conseguir que nuestros campos, las tierras aragonesas, puedan rendir todo el beneficio del agua que se les va acercando, y que los múltiples temas que encierra tan hondo cambio nos hallen prevenidos y aptos para resolverlos.

La Academia de Ciencias de Zaragoza tuvo en la génesis de la transformación de Aragón a que asistimos una participación tan indiscutida como cuantiosa. Yo deseo y espero que en el nacimiento y realidad de tantas empresas que un día fueron proyecto, aportaremos nuestros posibles medios para facilitar su desarrollo y para que la vida, amenazada en otras latitudes, sea, en cambio, para nuestra región, más pujante, más vigorosa y más perfecta.

ENERO 1955

# LOS FERMENTOS Y SUS APLICACIONES

## ASPECTOS BIOQUIMICOS E INDUSTRIALES

por F. DUESO TELLO

### ANTECEDENTES

Desde la más remota antigüedad, el hombre ha seguido con interés los procesos naturales que tendían a aumentar su bienestar. Moisés distingue ya el pan sin levadura del pan con levadura. En Grecia, desde muy antiguo se conocían ciertos líquidos fermentados como la cerveza, el vino de palmera y la sidra, unificando estos fenómenos de fermentación con la transformación de la pasta de harina en pan, aplicando la levadura de cerveza para obtenerlo.

En el año 1560, Van HELMONT observó el desprendimiento de anhídrido carbónico en la fermentación del pan, vino e hidromiel, y reconoció que era el mismo gas que se producía en la combustión del carbono.

GLAUBE, en los años 1604-1668 estableció que la levadura podía hacer fermentar, al encontrarse en pequeña cantidad, grandes masas de sustancia. Posteriormente, KÜNCKEL, estudió la acción de la temperatura y de la humedad sobre la fermentación. En 1647, ANGELO SOLA efectuó estudios sobre la preparación de la levadura, aunque no se realizaron completamente hasta 1690 en que JANSEN con ayuda del microscopio pudo observar por primera vez la levadura en un depósito de cerveza.

A PASTEUR se debe la introducción del término fermentación, con el cual se quiere recordar que el sistema toma el aspecto de un líquido en ebullición (fervere-hervir), porque se aplicó a la fermentación alcohólica, en la que se desprende tumultuosamente una gran cantidad de gas carbónico.

### FERMENTOS

Son los fermentos catalizadores naturales de tipo biológico que se diferencian de los catalizadores inorgánicos conocidos en que son sustancias complejas elaboradas por los organismos vivos. En un principio, los propios microorganismos fueron designados como fermentos no organizados que se extraían de las plantas y animales, como el que habían obtenido LIEBIG y WÖHLER por extracción de las almendras amargas y capaz

de hidrolizar la amigdalina. En 1897 se abandonó esa distinción, cuando BUCHNER obtuvo de la levadura un zumo exento de células y capaz de fermentar la glucosa, de la misma manera que lo hace la levadura viva. Como consecuencia se introdujo el término enzima (del griego ζυμο, levadura), que quedó aceptado rápidamente y pronto desplazó el nombre de fermento.

Ninguna de las denominaciones: diastasas, enzimas y fermentos, representan etimológicamente acción, propiedades o constitución de estos catalizadores, por lo cual al referirnos a ellos usaremos indistintamente una u otra palabra.

Los fermentos que se han obtenido en estado puro y cristalino son segregados por células de organismos superiores, mas no existe razón alguna para suponer que sean fundamentalmente distintos de las enzimas elaboradas por los microorganismos. Estos diminutos seres contienen gran variedad de enzimas, debido posiblemente a que las diversas funciones de crecimiento, digestión etc., se hallan concentrados en una sola célula.

LEVADURAS.—Las levaduras al igual que los mohos, son variedades de hongos, es decir, un grupo de plantas parásitas incapaces de sintetizar productos orgánicos a partir de anhídrido carbónico y cuya nutrición depende de otras sustancias orgánicas preformadas. Las levaduras contienen muchos fermentos, algunos de los cuales se incluyen en la siguiente tabla:

#### FERMENTOS TÍPICOS DE LAS LEVADURAS

H I D R O L A S A S		
Nombre	Substrato	Productos
sacarasa	sacarosa	glucosa, fructosa
maltasa	maltosa	glucosa
lactasa	lactosa	glucosa, galactosa
glucogenasa	glucógeno	glucosa
proteasas	proteínas	peptonas, polipéptidos
peptidasas	péptidos	aminoácidos
asparraguinasa	asparraguina	Ac. aspártico, amoníaco

D E S M O L A S A S		
Nombre	Substrato	Productos
óxido-reductasa	aldehídos	alcohol, ácido
carboxilasa	ác. pirúvico	acetaldehído, anhídrido carbónico.
metilgloxalasa	metilgloxal	Ac. láctico

La *Sacarasa* se encuentra en las plantas, en las levaduras alcohólicas, etcétera, y actúa liberando una molécula de glucosa y otra de levulosa.

La *Maltasa* se encuentra en todas las células vivas, en la saliva, jugo

intestinal, etc., descompone (fijando una molécula de agua) la maltosa que se produce en la desintegración de los polisacáridos (almidón, glucógeno, etc.) en dos moléculas de glucosa.

La *Lactasa*, que actúa sobre el azúcar de la leche (lactosa), aparece en el intestino de los animales jóvenes y en la secreción pancreática de los adultos.

La *Glucogenasa*, la *Trehalasa*, *Melibiasa*, etc., cuyos nombres se derivan del compuesto sobre el cual actúan.

La levadura hidroliza carbohidratos, proteínas y ésteres, pero no polisacáridos externos a la célula.

Las desmolosas intervienen en los procesos de respiración y de metabolismo.

CARBOHIDRASAS.—Las *Amilasas* son los fermentos que actúan sobre los almidones, fijando moléculas de agua y sacarificándolos.

Las *Celulasas* y *Hemicelulasas* actúan sobre celulosas y hemicelulosas, que se encuentran en las membranas vegetales y pocas veces en organismos animales; por hidrólisis las sacarifican, así como la *Inulasa* fermento de origen vegetal que ataca a la inulina.

Las *Glucosidasas* desarticulan, fijando moléculas de agua, las combinaciones menos frecuentes de azúcares, con radicales orgánicos que se denominan glucósidos.

Como tipo de estas diastasas citaremos la *emulsina*, que aparece en las almendras amargas y actúa sobre la amigdalina; recientes trabajos han demostrado que la hidrólisis de este glucósido por la citada diastasa, es un fenómeno muy complejo. Como resumen de este fenómeno indicaremos la acción de las siguientes diastasas: la *amigdalasa*, que inicia el ataque; la *prunasa* y la *oxinitrilasa*; la primera separa glucosa del d. glucósido de la bencenometilcianhidrina; la segunda descompone este cuerpo en glucosa y bencenometilcianhidrina, que la oxinitrilasa disocia en aldehído benzoico y ácido cianhídrico.

LIPASAS.—Las *Lipasas* hidrolizan las grasas. Estas substancias, con frecuencia, son capaces de desdoblar otros ésteres. Hay que diferenciar las lipasas propiamente dichas de las *esterasas* que actúan sobre los ésteres, separando con fijación de agua el ácido y el alcohol que les formó (saponificación), o bien uniendo el ácido y el alcohol con eliminación de agua (esterificación). Se encuentran estos fermentos muy abundantes en los vegetales y en los animales. En el hígado se encuentra un fermento que hidroliza con facilidad el butirato de metilo y actúa, en cambio, mal sobre las grasas. La lipasa del páncreas, por el contrario, actúa poco sobre los ésteres sencillos; en cambio, desdobla bien las grasas.

Se admite, dentro de un criterio poco determinado de especificidad, la existencia en este grupo de las *fosfatasas*, que catalizan la separación de las grasas del ácido fosfórico (en las lecitinas); *nucleotidasas*, que separan el ácido fosfórico de los nucleótidos; la *exosofosfatasa*, que disocia la

combinación de los azúcares con el ácido fosfórico; *fosfoproteasas*, cuando actúan sobre prótidos como sobre fosfoproteidos (considerados como ésteres del ácido fosfórico); la *fitasa* que, fijando sobre la fitina una molécula de agua, separa la inosita del ácido fosfórico. También se admiten en este grupo las que actúan sobre las grasas que se encuentran en las plantas y semillas oleaginosas. Por último, se incluye entre las estereras la *tanasa*, que actúa sobre los taninos, y la *sulfatasa*, que descompone los ésteres formados por el ácido sulfúrico con los fenoles y cresoles. Por último se incluye en este grupo un fermento que existe en las hojas, al que se denomina *clorofilasa*; es un fermento especial, por actuar en el seno de una solución alcohólica, y otra sustituyendo el fitol, que está esterificado en la clorofila, por alcohol etílico, produciendo así una clorofila cristalizada.

PROTEASAS. — Las diastasas que actúan como hidrolizantes de las materias proteicas, se denominan de distinto nombre según actúen sobre los albuminoides o sobre las peptonas. Las primeras se denominan *proteasas*, y las segundas, *peptasas*. Entre las proteasas tenemos: la *pepsina* y la *caseasa*, que actúan en medio ácido, y la *tripsina* y la *erepsina*, cuya acción se realiza en medio alcalino; en este grupo tenemos también la *catepsina*. Estas diastasas se encuentran muy abundantes y difundidas en los diversos organismos, y así es preciso que ocurra, ya que todas las células contienen albuminoides.

La pepsina seca no pierde su actividad proteolítica ni aun calentada a alta temperatura (hasta 100°). La eficacia de las soluciones de pepsina disminuye rápidamente por encima de 50°. La actividad óptima de la pepsina corresponde a un pH de 1,5 - 2, y la estabilidad de sus soluciones acuosas a un pH de 3,6; las soluciones que contienen glicerina son más estables que las acuosas simples. Las concentraciones alcohólicas superiores a 20° no tardan en reducir su actividad.

La descomposición de peptonas y de polipéptidos en los aminoácidos respectivos, o su formación a partir de los mismos, es catalizada por las peptasas o polipeptidasas. No se encuentran en las secreciones del estómago, pues en este órgano se llega como fase más avanzada a la formación de las peptonas, apareciendo entre las secreciones intestinales. Estos fermentos aparecen muy difundidos en todos los seres vivos. De entre estas diastasas, han sido separadas: la *arginasa* que descompone la arginina en urea y ornitina; las *desaminasas*, que separan de las bases púricas y de los aminoácidos su grupo amínico; la *ureasa*, que descompone la urea, liberando amoníaco y ácido carbónico.

FERMENTOS OXIDANTES Y REDUCTORES. — Tanto en las fermentaciones que producen las levaduras, como en el metabolismo de los organismos superiores, se producen a veces, por la acción del agua, reacciones que simultáneamente son de oxidación y de reducción. Tenemos, en primer lugar, las *oxidadasas*, que se conocen con el nombre de *dehidrasas* por actuar sobre sustancias separando hidrógeno; así, por ejemplo, actúan sobre el ácido succínico produciendo ácido fumárico.

Cuando es el oxígeno el aceptor del hidrógeno engendrado, la dehidrasa es una oxidasa.

Las *mutasas* cambian el hidrógeno de una posición a otra de la molécula; una de ellas es la *glioxalasa*, que aparece en algunos tejidos y en ciertas bacterias transformando el metil-glioxal, en ácido láctico, reacción muy importante en el organismo. Esta reacción se puede considerar como del tipo de Cannizaro, intramolecular.

Entre los fermentos oxidantes tenemos la *catalasa*, que actúa descomponiendo el agua oxigenada, y la *peroxidasa*, que transporta el oxígeno del agua oxigenada a una sustancia oxidable sin destruir el agua oxigenada.

En las oxidaciones intraorgánicas se forma también agua oxigenada, que es un tóxico para el protoplasma, por lo cual, apenas formada, precisa que sea descompuesta, y esta acción es la que realizan las catalasas, diastasas que se encuentran muy difundidas en todos los organismos vivos y que se forman en todas las células en que se realizan fenómenos de oxidación y reducción.

BACH y CHODAT admiten la existencia en el organismo de sustancias fácilmente oxidables al estado de peróxidos de radicales divalentes, análogos en su estructura al bióxido de hidrógeno; estos peróxidos ceden su oxígeno en forma atómica o activa, reduciéndose a óxidos que nuevamente toman oxígeno regenerando el peróxido, funcionando como transportador de oxígeno a la materia viva que lo necesita para sus reacciones de oxidación.

Las peroxidasas se reconocen fácilmente porque actúan sobre compuestos fenólicos (fenolxidasas), condensándolos y produciendo reacciones coloreadas, algunas de las cuales se utilizan para reconocer y diferenciar la aptitud de oxidación en diversos tejidos. Otras veces la existencia de la peroxidasa se reconoce añadiendo, además del cuerpo que ha de oxidarse, agua oxigenada y como materia cromógena, la tintura de guayaco, la benecidina, etc.; así se reconoce el pigmento sanguíneo, que como peroxidasa actúa en las heces y orina. Muchas veces se reconocen en los organismos vivos estas reacciones coloreadas; así, por efecto de la acción de la *tirosinasa*, que forma y condensa la tiroxina, se forman las melaninas, y en jugos vegetales, tal como el árbol de la laca, que se ennegrece por un efecto de oxidación producido por la *lacasa*.

En los fenómenos de metabolismo celular actúan *diastasas oxidantes* sobre los compuestos púricos, entre los cuales tienen particular interés la *xantinaoxidasa*, que oxida la xantina e hipoxantina; y la *uricasa*, que actúa sobre el ácido úrico.

NEUBERG reconoció entre las diastasas producidas por la levadura alcohólica, una que produce reacciones de descarboxilación (*carboxilasa*) que libera anhídrido carbónico, no como producto de oxidación de núcleos o cadenas carbonadas, sino como resultado de reacciones secundarias por las cuales se desprende gas carbónico de moléculas orgánicas. Por la acción de este fermento el ácido pirúvico forma etanal.

En la levadura alcohólica reconoció igualmente NEUBERG una diastasa que condensa el etanal, formando el metilacetilcarbinol y el etanal con aldehído benzoico, para formar un cetoalcohol.

A esta diastasa se denomina *carbolicasa*, y su importancia se funda en el hecho de que, actuando como agente de síntesis, puede formar largas cadenas carbonadas.

#### CONSTITUCIÓN DE LOS FERMENTOS

Hoy nos inclinamos a admitir que los fermentos están constituidos por un grupo específico de átomos soportado y protegido por un coloide. El coloide protector da estabilidad: el grupo específico, la actividad.

SUMMER consiguió, en 1926, obtener cristalizada, en forma de una globulina, la ureasa. Es este fermento el que desdobra la urea por hidrólisis, transformándola en carbonato amónico.

Realizó la obtención de este fermento del jack-bean, la semilla cultivada de la *Canavalia ensiformis*. La harina se extrae con acetona acuosa 32 por 100; el líquido filtrado se conserva en hielo y se van separando cristales de una globulina que lleva todo el fermento. Por cristalización se aumenta su actividad hasta llegar a un producto que es 750 veces más activo que la harina de las semillas.

NORTHOP, en 1929, consiguió cristalizar la pepsina. Parte, para ello, de la mejor pepsina del comercio, que disolvió en ácido sulfúrico diluido y precipitó con sulfato magnésico; este producto lo purificó, obteniéndolo cristalino por disolución en agua caliente con pequeña cantidad de álcali; por enfriamiento y adición de alcohol se separó cristalizada. Los cristales así obtenidos eran seis veces más activos que la primera materia.

Cuando se obtiene pura la tripsina del páncreas, carece de actividad; para hacer activo este fermento hay que cargarlo con un cofermento que se obtiene por extracción de la mucosa intestinal. Se separa con facilidad el fermento del cofermento por absorción en alúmina, que fija con mucha mayor facilidad al segundo.

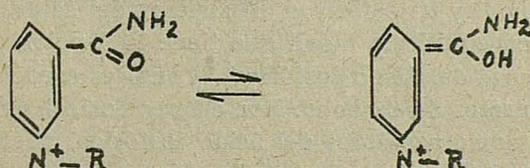
La tripsina del páncreas fué estudiada por WALDSCHMIDT-LEITZ respecto a su homogeneidad. Si se trata un extracto de páncreas con alúmina  $C\gamma$  a un  $pH = 4$ , queda en disolución la tripsina y adsorbidas las polipeptidasas, los fermentos capaces de desdoblar los productos de hidrólisis parcial de los albuminoides (peptonas y polipéptidos) que se conocían con el nombre de *erepsina*. Del adsorbente se puede eluir pasando la solución. Haciendo actuar sobre esta disolución hidrato férrico a un  $pH = 4$ , queda en el líquido la aminopeptidasa y se obtiene luego una elución que contiene la dipeptidasa.

Sobre la disolución de tripsina que quedó después del primer tratamiento por alúmina se vuelve a hacer actuar la alúmina  $C\gamma$ , pero ahora a un  $pH = 7$ . Queda una disolución de tripsina enzimáticamente pura y se obtiene una elución en la que está la carboxipolipeptidasa.

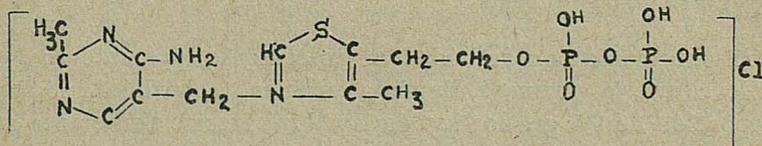
De estos fermentos se caracteriza la dipeptidasa por desdoblar los dipéptidos, formados por la unión de dos aminoácidos.

Se caracteriza la amidopeptidasa porque actúa por hidrólisis sobre el grupo amido, como se demuestra viendo que ésta no tiene lugar si se bloquea el grupo por acetilación. Actúa, en cambio, la carboxipeptidasa sobre el grupo carboxilo, desapareciendo su acción cuando se tapa por esterificación o formación de amida.

WARBURG ha podido esclarecer la estructura del cofermento respiratorio que se encuentra en el tejido muscular y que difiere de la cozimasa en que contiene una molécula más de ácido fosfórico. La cozimasa funciona específicamente como un transportador de hidrógeno, pues puede adicionar dos átomos de este elemento formando la dihidrocozimasa, que es un donador de hidrógeno, para producir productos intermedios de la fermentación. Dentro de la molécula, la fracción de nicotinamida es el aceptor de hidrógeno específico que constituye un sistema reversible de oxidorreducción. Sin embargo, todavía es problemática la estructura del producto de reducción; las fórmulas que se indican a continuación, representan tan sólo una entre las numerosas posibilidades.



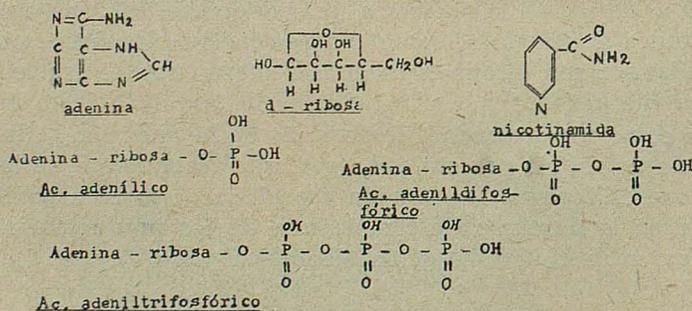
En 1932 se descubrió la presencia de otro cofermento, la cocarboxilasa, en los dializados de levadura, como consecuencia de la observación de que la levadura lavada con álcalis es incapaz de fermentar el azúcar. La coenzima misma fué aislada en 1937 en forma de un clorhidrato cristalino e identificada como un derivado difosforilado de la aneurina (vitamina B<sub>1</sub>). La substancia se obtuvo por síntesis, mediante tratamiento de la vitamina con oxiclóruo de fósforo. La función específica de la cocarboxilasa estriba en provocar la descarboxilación de uno de los productos intermedios durante el curso de la fermentación alcohólica (ac. pirúvico).



Cocarboxilasa (clorhidrato del éster pirofosfórico de la aneurina)

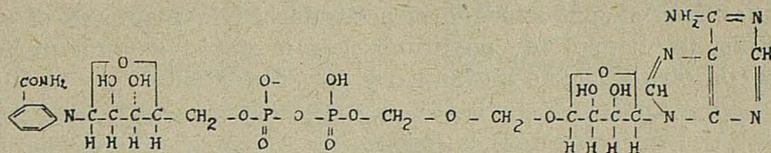
Si el zumo de la levadura se dializa en contacto con una membrana semipermeable, ni las substancias de bajo peso molecular que la atraviesan,

ni los residuos proteicos, son capaces de fermentar el azúcar. En cambio, si se reúnen ambas fracciones, la fermentación se desarrolla de modo normal. Experimentalmente se ha demostrado que el proceso biológico típico de la fermentación sólo se desarrolla bajo el influjo combinado de una proteína enzimática y de una o varias sustancias accesorias, de carácter no proteico, que tienen la función de cofermentos. Se han identificado dos principios activos como coenzimas en el dializado de la levadura: una entidad química, que es la que hemos denominado cozimasa, y una mezcla en equilibrio de sustancias químicas relacionadas, que se describen mejor bajo la expresión de sistema del ácido adenílico. Los complejos compuestos que forman parte de este último son combinaciones de la base adenina (6-aminopurina), con la pentosa d-ribosa, con ácido fosfórico y con nicotinamida, es decir, la amida del ácido piridín-beta-carboxílico. La combinación de adenina con ribosa, mediante un enlace glucosídico, en posición 9 de la base, constituye la sustancia denominada adenosina, cuyo éster monofosfórico es el ácido adenílico (ac. adenílico de la levadura). El ácido adenílico es una de las tres sustancias con actividad de cofermento que han sido aisladas de la levadura y que constituyen el sistema del ácido adenílico. Los otros componentes son derivados más fosforilados; concretamente, los ácidos di y trifosfóricos. El sistema del ácido adenílico constituye una mezcla en equilibrio móvil que tiene la función específica de actuar como transporte del ácido fosfórico, el cual es esencial para el metabolismo de los hidratos de carbono. Los ésteres fosfóricos inferiores de la adenosina actúan como aceptores del ácido fosfórico, mientras que los ésteres más fosforilados funcionan como donadores.



La otra sustancia con actividad de cofermento, presente en los dializados de levadura, la cozimasa, llamada también "coenzima", se encuentra en la proporción de 0,5 gr. por kg. de levadura fresca. Semejante sustancia, como dedujeron primero EULER y SCHLENK, y se confirmó después experimentalmente, tiene una estructura relacionada con el ac. adenílico y se halla compuesta de una molécula de adenina y dos de una pentosa (probablemente d-ribosa), dos moléculas de ác. fosfórico y una de nicoti-

namida. La estructura más probable está representada en la fórmula siguiente:



Ciertos fermentos, para poder efectuar su función específica necesitan también sales inorgánicas simples, denominadas activadores.

Hay gran número de metales y sales metálicas que ejercen una gran influencia sobre la fermentación. Según F. MARBOE, se pueden resumir en los siguientes puntos:

- 1.º La influencia del metal varía con su solubilidad. Toda la materia insoluble es inactiva.
- 2.º A pesos iguales de metales disueltos, el cobre, la plata, el cadmio, mercurio, cromo, actúan como fuertemente tóxicos para la levadura; el cinc, aluminio, estaño, plomo y níquel son menos nocivos, mientras que el magnesio, bismuto, manganeso y hierro ejercen una acción muy débil.
- 3.º Estos últimos metales, a pequeñas dosis, activan el crecimiento de las levaduras; a dosis más elevadas impiden la fermentación.
- 4.º La cocción del mosto que los contiene disminuye la acción de estos metales disueltos; pero la presencia simultánea de varios metales polivalentes exalta en ciertos casos su acción sobre los microorganismos.
- 5.º El mecanismo del proceso se explica en ciertos casos por envenenamiento de la levadura o por oxidación o reducción de los mostos.
- 6.º La industria de la fermentación podrá utilizar sin gran peligro el cobre, aluminio, cromo, níquel, platino y los aceros al cromo, a condición de que su solubilidad en el medio sea muy débil.

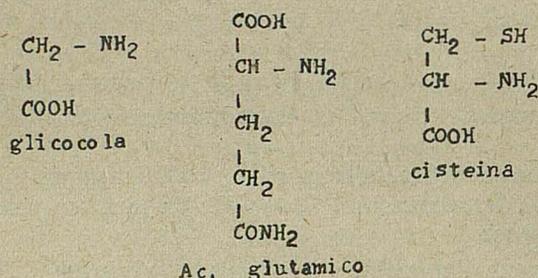
En estudios practicados sobre la levadura alcohólica con algunos de estos metales se han encontrado comprobaciones de lo dicho anteriormente. Así, operando con sulfato de hierro se ha encontrado con cantidades del orden de 0,001 a 0,01 por 100 un aumento bastante marcado en la fermentación.

El cobre ejerce una acción muy marcada en la fermentación; éste existe normalmente en la levadura, aproximadamente en la proporción de 3/100.000 de levadura fresca. La acción perjudicial de éste comienza a partir de una proporción de 5 mg. de cobre en 200 c. c. de mosto.

A la clorofilasa, fermento que actúa sobre uno de los oxhidrilos esterificados de la clorofila, le es necesario para poder actuar la presencia de iones calcio.

Otro ejemplo lo encontramos en el fermento vegetal proteolítico, que actúa en medio débilmente ácido: la *papaina*; y en el fermento proteolítico de los tejidos, la *catesina*. Estos fermentos necesitan un activador, y se suele

emplear como activadores no específicos el ácido sulfhídrico o el ácido cianhídrico. En la planta no son éstos los activadores que funcionan. LEITZ y GRASSMAN han encontrado que el activador en la planta es el *glutación* de HOPKINS, un tripéptido constituido por la unión de una molécula de glicocola con otra de ácido glutámico y otra de cisteína.



Así como la cisteína pasa por oxidación suave a cistina, hay glutación -S-H y glutatión -S-S. Esta sustancia actúa como activadora de los fenómenos respiratorios, además de activar estos fermentos.

La peroxidasa es dificultada en su acción, e incluso inactivada por el agua oxigenada concentrada. Para medir la actividad de este fermento se emplea peróxido de hidrógeno sumamente diluido; si se emplea concentrado, la acción no aparece.

La toxicidad de las sales sódicas de selenio, vanadio, arsénico y telurio está indicada por la producción de gas carbónico durante la fermentación de la glucosa. La presencia de compuestos de azufre (excepto sulfatos) aceleran este efecto.

Finalmente indicaremos que fué EULER quien propuso nombrar "ho-loenzima" a toda diastasa, y de aquí considerarle como la suma de un "coenzima" dializable y de un apoenzima "coloidal".

El desenvolvimiento de esta teoría es seguida en el curso de los últimos años.

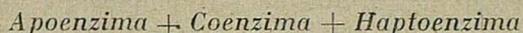
JAYLE y POLONOWSKI, estudiando la hemoglobina de la sangre, cuyo papel como transportador de oxígeno es conocido desde largo tiempo, han encontrado que es susceptible de catalizar las reacciones de oxidación enteramente como las peroxidases vegetales.

Pero la hemoglobina no adquiere todos los caracteres de las peroxidases verdaderas hasta que no es adicionada de un principio contenido en el plasma, y que se denomina "haptoglobina".

Se encuentran así en presencia de un complejo ternario, comprendiendo, además, de la hematina que representa la coenzima (fracción activa que determina la activación de peróxido), y la apoenzima, soporte proteico coloidal (determinando la especificidad de la acción catalítica y acondiciona-

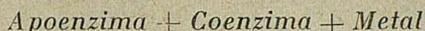
miento de la velocidad de reacción), un proteído activador, la haptoglobina, protegiendo el coenzima y regularizando la actividad.

En este esquema la constitución de una diastasa debiera ser:



Roche sugiere diferentes esquemas, que explican la ligazón de tres elementos: apoenzima, coenzima, metal; estos esquemas permiten explicar, en ciertos casos de polifenoloxidasas, por ejemplo, que el metal es específico, catalíticamente activo; mientras en otros carboxilasas, peptidasas, fosfatasas, el metal no es ni específico, ni capaz de ejercer alguna actividad.

Según lo anteriormente indicado, la constitución de estas diastasas sería:



#### CONDICIONES DE SOLUBILIDAD

Los caracteres de solubilidad es necesario conocerlos para el trabajo de aislamiento y para la investigación de la constitución de los fermentos.

Se llaman *lioenzimas* a fermentos que se encuentran en forma directamente soluble, sin necesidad de hidrólisis previa.

Se denominan *endoenzimas* a fermentos que se encuentran en el interior de la célula por estar unidos al protoplasma, y no se pueden separar de él más que por una hidrólisis previa. Por ejemplo, la *pepsina*. Se obtiene este fermento de la mucosa gástrica por extracción con agua glicerinada o, mejor, por la acción del clorhídrico diluido colocando la mucosa gástrica en digestión durante cinco días a una temperatura de 37°.

En ambos casos se trata de una disolución del fermento por autodigestión, ya que la pepsina que se va disolviendo actúa sobre el resto de la masa, separando el fermento por hidrólisis. En el método de la glicerina llama la atención cómo se va solubilizando poco a poco el fermento; las primeras aguas no extraen más que una cierta cantidad; del residuo se puede extraer otra nueva; operando rápidamente y a 0° no se extrae casi nada. Se trata de un caso de autólisis en el que la catepsina del tejido va efectuando la hidrólisis.

La *sacarasa* se consideró al principio como un fermento soluble, para cuya extracción bastaba tratar la levadura con agua. Pero las células vivas de la levadura no ceden nada de su fermento; si se matan, se produce lentamente la autólisis y se va disolviendo el fermento.

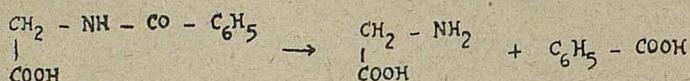
Para obtenerlo se aumentá primeramente la concentración de la levadura, haciendo efectuar una fermentación, lo que aumenta hasta trescientas veces el grado de concentración de la enzima, y luego, para evitar la autólisis efectuada por los fermentos hidrolíticos, se calienta con éster acético.

Los cadáveres de la levadura se hidrolizan por pepsina, que disuelve una cantidad de producto, dejando insoluble la sacarasa.

Si sobre el residuo insoluble que queda se hace actuar la amilasa, se obtiene una disolución de sacarasa con muy pocas impurezas.

No está químicamente unida a la cubierta celular, sino que en ella queda retenida por estar constituida de un componente albuminoideo y de un polisacárido, lo que nos explica la acción solubilizante de la amilasa y de la papaína sobre el fermento que retiene, pues cada uno de los fermentos citados disolvería uno de los componentes de las mallas de la membrana.

Otro ejemplo lo tenemos con la *histozima*, fermento que se encuentra en el riñón, desdobra a los ácidos biliares acoplados o, mejor, el ácido hipúrico:



En el riñón del perro se encuentra este fermento en forma soluble. En el del caballo, insoluble. En el de cerdo, parcialmente soluble. Podemos admitir que se trata siempre del mismo grupo atómico, unido unas veces con soporte soluble; y otras, con un soporte insoluble.

#### MÉTODOS DE PURIFICACIÓN Y VALORACIÓN

Están fundados en procedimientos de adsorción.

Los primeros trabajos en este sentido son los de LEONOR MICHAELIS, que empleando como adsorbentes la alúmina y el caolín, trató de dividir los fermentos en ácidos y básicos según sean adsorbidos por uno u otro de estos adsorbentes.

La sacarasa ácida no debía ser adsorbida por el caolín; pero si se purifica por una primera adsorción de alúmina, el producto se adsorbe sin dificultad por el caolín.

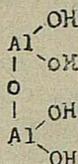
Las alúminas neutras son más activas y específicas que las ácidas o básicas.

Si se precipita una solución de sulfato de aluminio con amoníaco se obtiene una gelatina que, separada de las aguas madres por centrifugación y seca por tratamiento con acetona, responde a la fórmula propia  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ; con un contenido de agua del 53 por 100. La denominamos alúmina  $C_\alpha$ . Este producto es fuertemente ácido y básico, es decir, se disuelve con facilidad en los álcalis y ácidos diluidos.

Al cabo de 24 horas se transforma en alúmina  $C_\beta$ , que presenta ya carácter cristalino a los rayos X. Envejeciendo el producto, se transforma en alúmina  $C_\gamma$  que corresponde a la fórmula  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . Es una sustancia casi neutra. Por interferencia con los rayos X se encuentra la malla fundamental de la *bayerita*. Este es un buen adsorbente.

Precipitando una disolución de sal de aluminio por amoníaco (sin tamponar) se obtiene una serie de hidróxidos de aluminio, polialumínicos.

Se obtiene en frío la alúmina *B* de fórmula:



que contiene 35 por 100 de agua. Calentando se obtiene la alúmina *A* de carácter débilmente básico y ácido. Su fórmula varía entre  $4\text{Al}(\text{OH})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  y  $8\text{Al}(\text{OH})_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , oscilando su contenido en agua entre 27 y 22 por 100.

Calentando el hidróxido de aluminio a más de 200° de temperatura en autoclave, se obtiene el hidróxido metaaluminico. Su fórmula es  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  y tiene una riqueza en agua del 17 por 100. Carece de carácter ácido o básico y es el mejor adsorbente por su selectividad. Por los rayos X se aprecia la malla elemental de la *böhmite*.

#### MÉTODO PARA AUMENTAR LA CONCENTRACIÓN

El mejor método es la adsorción, seguida de elución con una solución que contenga pocas sales. El resultado de esta operación depende del adsorbente empleado. Pero más interés que la concentración presenta la separación de los fermentos que permite este método.

Tal es por ejemplo, la separación de tres fermentos principales del páncreas; si bien hemos de tener presente que las condiciones de adsorción varían con los coloides que acompañan al fermento, como hemos visto en el ejemplo de la sacarasa.

Se adsorbe primero la *lipasa*, que es un fermento de adsorción muy fácil. En la disolución residual se adsorbe con caolín la *tripsina* en medio ácido, y añadiendo alcohol se dificulta la solubilidad de la *amilasa* en condiciones tales que se pueda adsorber; casi puede decirse que se precipita sobre el adsorbente por adición de alcohol.

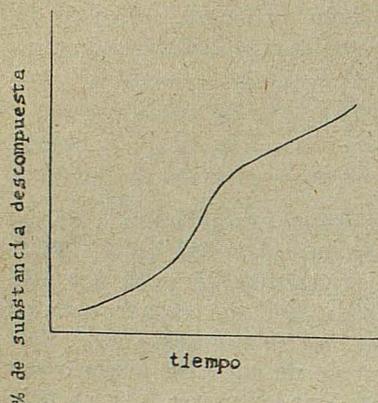
Influye mucho en la eficacia de la adsorción, como método de purificación, la dilución a que se opere; cuanto más diluidas se encuentren, mejor se realiza la adsorción, y si se opera en medios débilmente ácidos, se obtienen en general mejores resultados, debido sin duda a la descomposición hidrolítica de algunas proteínas o impurezas. Hay que observar que el envejecimiento de las diastasas disminuye su poder de adsorción.

La purificación de las diastasas por diálisis no es recomendable.

#### MÉTODOS DE DETERMINACIÓN CUANTITATIVA

La medida cuantitativa de los fermentos no se funda en ensayos fisiológicos largos y difíciles como los que sirven para el ensayo de las hormonas, sino que se efectúa por medida de velocidades de reacción.

A veces en la determinación cuantitativa encontramos mayor cantidad de fermento del que corresponde, debido que la excitación del hongo producida por el veneno empleado para matarlo hace aumentar la producción de fermento.



Si en un sistema de coordenadas tomamos como ordenadas las cantidades de substancia descompuesta, y como abscisas el tiempo transcurrido, obtendremos una curva característica para la acción del fermento:

Esta curva presenta un primer trazo ascendente que es prácticamente una recta; el ángulo de esta recta con los ejes de coordenadas nos puede servir para medir la cantidad de fermento en acción.

Se puede medir también el tiempo en que se descompondría una cierta cantidad de sustrato, por ejemplo, el 50 por 100, no por medida directa de este valor, sino por el estudio de la cinética de esta reacción; y de los puntos de la curva determinados experimentalmente, se calcula el tiempo de media descomposición. A esto es a lo que se llama valor en tiempo (ZEITWERT), y se denomina Z. W. Naturalmente que al hacer la determinación de este valor hay que señalar la acidez actual, *pH* del medio.

Como este número no es práctico se emplea su recíproco. En el caso de la sacarasa, por ejemplo, se conoce este último con el nombre de unidades de sacarasa (SACCHARASE - EINHEIT) y se denomina S. E. Esta cifra nos sirve para conocer la cantidad de fermento que hay en una solución y para deducir de aquí el rendimiento en un método de obtención de fermento.

Pero necesitamos además una medida que nos dé una idea del grado de pureza del material, de la concentración del preparado. Claro que no será más que un grado de pureza relativo, puesto que no conocemos el fermento puro, que nos había de servir como término de comparación en sacarasa, S. W. (Saccharasewert), que sería el de un preparado que con 50 miligramos produjera una S. E. = 1.

Así, por ejemplo, una levadura corriente da un  $Z. W. = \frac{1}{300}$  si se emplean 15 gr.

Una unidad de sacarasa se encontrará en 5 miligramos de un preparado cuyo valor en sacarasa S. W. sea igual a 10.

En otros fermentos las medidas no son tan fáciles de efectuar como en éste; en las lipasas, por ejemplo, la actividad está influenciada por el grado de dispersión y por la presencia de productos de reacción, como jabones y otras substancias que afectan mucho su actividad. En este caso se opera en condiciones óptimas de activación, añadiendo sales de ácido oleico, ion, calcio y albúmina.

Se han comparado la peroxidasa vegetal (obtenida del rábano o del nabo) con la peroxidasa animal, la hemoglobina.

Se mide la actividad de este fermento con pirogalol, que se oxida transformándose en un colorante amarillo, la purpurogalina, substancia con 11 átomos de carbono. La cantidad de purpurogalina formada se mide por colorimetría, previa extracción con éter.

La medida se efectúa añadiendo 1 miligramo de substancia a una disolución de 5 grs. de pirogalol y 50 miligramos de agua oxigenada. Se deja estar cinco minutos, y al cabo de ellos se mide la cantidad de purpurogalina formada. Hay que emplear agua oxigenada muy diluída, porque si no, actúa como inhibidor sobre el fermento.

La cantidad de colorante formada, expresada en miligramos, se denomina número de purpurogalina P. Z., mientras que se llaman unidades de purpurogalina P. E. al número de miligramos de substancia necesarios para engendrar un gramo de purpurogalina.

La mejor peroxidasa, obtenida por una serie de adsorciones, da un número de purpurogalina 4.900 P. Z. En cambio, un miligramo de oxihemoglobina de sangre de caballo produce 0,152 miligramos de colorante; su número de purpurogalina es de 0,052 P. Z. La diferencia es muy notable y, sin embargo, la mejor peroxidasa no contiene más que una milésima parte de su peso en fermento.

Se han determinado los números de purpurogalina de la oxihemoglobina cristalizada y se encuentran cifras que son constantes para cada animal:

Caballo .....	0,152
Perro .....	0,115
Vaca .....	0,114
Cerdo .....	0,093

Las diferencias hay que explicarlas admitiendo que la parte activa, que es la misma para todas las hemoglobinas, está influenciada por la globina, que es específica para cada clase de animales.

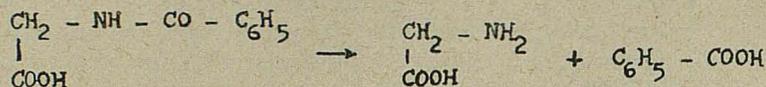
Podemos comparar las actividades de los distintos fermentos viendo la cantidad de agua oxigenada que activa una molécula gramo de fermento en las mismas condiciones:

1 mol. de peroxidasa .....	$10^5$	mol. de $H_2O_2$
1 mol. de fermento respiratorio .....	$10^5$	mol. de $H_2O_2$
1 mol. de catalasa .....	$6,10^4$	mol. de $H_2O_2$
1 mol. de hemina .....	0,01	mol. de $H_2O_2$

Al comparar entre sí los distintos fermentos oxidantes nos encontramos con que las cantidades de substrato que movilizan son del mismo orden.

Otros métodos de valoración los tenemos, por ejemplo, en el caso de

la histozima. La histozima, que se encuentra en el riñón, desdobla los ácidos biliares acoplados o, mejor, el ácido hipúrico:

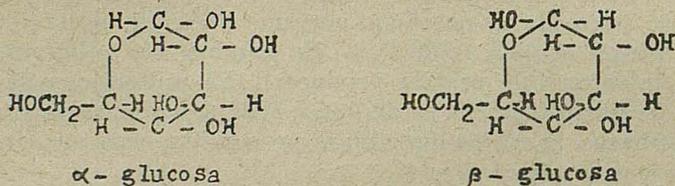


Se extrae con éter el ácido benzoico, que se valora después.

#### ESPECIFICIDAD DE LOS FERMENTOS

Tenemos que diferenciar la especificidad absoluta de la relativa. Nunca se ha visto que un fermento capaz de desdoblar derivados de la glucosa  $\alpha$  desdoble también los de la glucosa  $\beta$ .

La fórmula de estos azúcares en su forma piranósica es:



De ambas formas se derivan ésteres por eterificación del oxhidrilo del carbono unido al átomo de oxígeno, con los alcoholes (glucósidos) o con azúcares. Una  $\beta$  glucosidasa no actúa sobre un glucósido  $\alpha$ , y a la inversa. Esto se denomina especificidad absoluta o cualitativa.

Especificidad relativa, es el caso en que actúan con más facilidad sobre una substancia que sobre otra. Por ejemplo, la emulsina actúa con mucha más facilidad sobre unos glucósidos que sobre otros.

En las peptidasas diferenciamos las aminopeptidasas y carbopeptidasas, según que el punto de acción sobre la molécula del polipéptido esté en los grupos amidos o en el grupo carboxilo, como se puede demostrar bloqueando unos u otros por acetilación o por esterificación.

La rafinosa (triosa) por la acción de la emulsina se desdobra, dando galactosa y sacarosa; mientras que si actúa sobre él la sacarasa obtenida de la levadura de cerveza, se desdobra dando fructosa y melibiosa.

KUHN demostró que la sacarasa (invertina), al actuar sobre la sacarosa, se fija sobre la molécula de fructosa, mientras que la invertina del *Aspergillus oryzae* actúa sobre la otra mitad de la molécula.

WEIDENHAGEN no admite que exista más que un solo fermento que desdoble todos los azúcares derivados de la alfa-glucosa. Siendo así que la sacarosa es un derivado de dicha forma, tiene que ser desdoblado por el fermento que desdobra la maltosa, y ha encontrado que, en realidad, éste la desdobra; la diferencia está en que actúa en medio neutro, a diferencia de la invertasa que lo hace en medio ácido.

RELACIÓN ENTRE LA VELOCIDAD DE ACCIÓN Y LA CONCENTRACIÓN

La catalasa es la que con mayor exactitud sigue la ley de la acción de masas; las otras diastasas se aproximan en su acción a esta ley, en disoluciones diluídas, pero en medios más concentraos la cantidad de materia transformada es menor que la que se transformaría si la ley se cumpliera rigurosamente.

Como consecuencia de esto, la acción de las diastasas se rige por una ley logarítmica, expresada por la igualdad:

$$t = \frac{s}{m} L_n \frac{S}{S-s}$$

en la que  $t$  representa la duración de la acción diastásica;  $S$ , la cantidad total de materia a transformar;  $s$ , la cantidad ya transformada, y  $m$ , un factor proporcional a la cantidad de diastasa en presencia.

DETERMINACIÓN DE LOS CAMBIOS CELULARES, RESPIRACIÓN Y FERMENTACIÓN

Hacemos mención del método de BARCROFT-WARBURG por creerlo de mayor sencillez. Este método de medidas manométricas permite calcular (mediante las leyes de los gases) la cantidad de gas desprendido o adsorbido cuando, permaneciendo constantes el volumen y la temperatura, se determina la variación de la presión del gas y es especialmente apropiado para el estudio de las reacciones químicas que se realizan en células vivas. A continuación indicamos algunas de las más importantes de estas reacciones:

*Respiración animal:* Consumo de oxígeno y, como resultado final, de una serie de productos intermedios, formación de anhídrido carbónico.

*Función clorofilica de las plantas verdes:* Consumo de anhídrido carbónico y desprendimiento de oxígeno.

*Procesos de fermentación que transcurren con desprendimiento o consumo de gas:*

a) *Fermentación alcohólica:* Formación de anhídrido carbónico.

b) *Fermentaciones de oxidación:* Fermentación acética, propiónica.

*Procesos de fermentación en los cuales se forma ácido láctico:* Fermentación láctica, glicólisis (fermentación láctica de los azúcares). En presencia de bicarbonatos pone en libertad una cantidad equivalente de anhídrido carbónico.

Se pueden realizar investigaciones no solamente con materiales celulares vivos (células de levadura, bacterias, papilla muscular, cortes de

tejidos), sino también, y de modo completamente análogo, con preparados estabilizados (extracto de levadura en acetona, ídem de bacterias) o preparados y soluciones enzimáticas exentas de células y capaces de realizar procesos de tipo de los antes indicados (fermentos de oxidación animales y vegetales, complejos de zimasa, etc.).

Las ventajas de este procedimiento en comparación con otros métodos son: su gran simplicidad, el poco consumo de material (pocos miligramos de tejidos); y el hecho de que mediante él se logra conocer no sólo los estados inicial y final, sino también la marcha de la reacción en todos los momentos, ya que los resultados se obtienen por simple lectura en los manómetros sin que se interrumpa el proceso en ningún momento.

Este método requiere el conocimiento de la naturaleza de los gases que se forman o desaparecen durante la reacción, y cuando esto no se conoce de antemano, necesita completarse mediante el análisis químico. Es apropiado para ello el aparato de HALDANE para análisis de gases. Hagamos constar, sin embargo, que el metabolismo de las bacterias es en muchas ocasiones demasiado complicado para las medidas manométricas. Se sabe que las bacterias pueden hacer fermentar (metabolizar) los hidratos de carbono según diferentes tipos de fermentación; así, las de la fermentación láctica producen cantidades variables de alcohol, anhídrido carbónico, ácido butírico y otras sustancias.

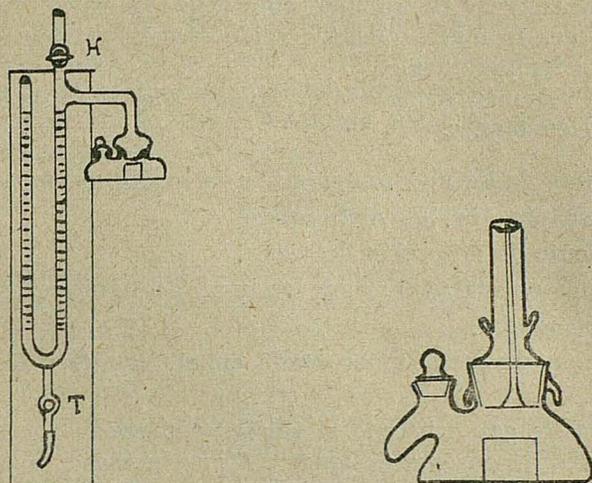
El manómetro de WARBURG consiste en un tubo capilar en forma de U, unido mediante ajuste esmerilado y engrasado a la vasija de vidrio donde tiene lugar la reacción; por su parte inferior comunica con un tubo de goma que, mediante un tornillo de presión *T*, permite desplazar el nivel del líquido en el manómetro. El diámetro del capilar varía según el tamaño de las vasijas, de 0,8 hasta 1,2 mm. El líquido manométrico se prepara disolviendo 23 grs. de cloruro sódico y 5 grs. de cloruro sódico (como sustancia batotona) en 500 c. c. de agua, y añadiendo unas gotas de solución alcohólica concentrada de timol para su conservación.

El manómetro va dotado, además, de la llave *H*, que permite poner la vasija en comunicación directa con la atmósfera, y de este modo se pueden iniciar siempre las determinaciones a la presión atmosférica. Durante la determinación la vasija se mantiene sumergida hasta el arranque del manómetro, en el agua de un termostato; los manómetros montados en la parte anterior del termostato sobre un bastidor, hacen que queden suspendidas las vasijas. Las vasijas están dotadas de una abertura lateral cerrada con un tapón de ajuste esmerilado y engrasado, lo que permite la adición de sustancias después de conectado el manómetro. La figura presenta una de las formas más frecuentemente empleadas.

Un pequeño motor, realiza la agitación removiendo el contenido de las vasijas durante la determinación.

*Aforo de las vasijas.* — El más sencillo es el procedimiento de aforo manométrico. Para ello se procede del modo siguiente. Se coloca la vasija

con un centímetro cúbico de agua; abierta la llave *H* del manómetro, se lleva el nivel del líquido mediante el tornillo de presión a un enrase por debajo de cero; se cierra la llave del manómetro, y mediante el tornillo de presión se eleva el nivel del líquido hasta enrase a cero en la rama que comunica con la vasija. De este modo el aire contenido experimenta un aumento de presión que se traduce en una mayor elevación del líquido



en la rama libre del manómetro, y sea  $h_1$  el número de divisiones que se ha elevado. Se coloca en la vasija un cierto volumen de líquido  $a$ , y se repite la maniobra antes realizada, y esta vez la elevación  $h_2$  que se obtiene es mayor. De este modo, ambas veces se efectúa una misma reducción de volumen en la vasija, que designaremos por  $x$ ; y aplicando la ley de Boyle-Mariote, se tiene:

$$P(V + x) = (P + h_1)V$$

$$P(V - a + x) = (P + h_2) \cdot (V - a)$$

Donde  $P$  es la presión atmosférica y  $V$  el volumen buscado (volumen de la vasija y del capilar hasta la marca  $O$ ) y despejando:

$$V = a \frac{h_2}{h_2 - h_1}$$

Si se toma el volumen del gas comprimido de modo que la altura disponible del manómetro esté completamente aprovechada, y que sea aproximadamente  $V$ , entonces se logra el volumen buscado con una exactitud suficiente en muchos casos. Es condición precisa que la medida de  $h_1$  y de  $h_2$  se realicen bajo temperatura y presión prácticamente igual; esto quiere decir que entre las dos medidas la temperatura del laborato-

rio no varía en 0,5° y la presión atmosférica no más de 5 mm. de mercurio, condiciones que generalmente es fácil lograr.

*Cálculo del cambio gaseoso.* — Consideraremos una vasija conteniendo líquido, y cerrada mediante su correspondiente manómetro, en la que se forma una cierta cantidad de gas manteniéndose constante el volumen (tornillo del manómetro).

El problema consiste en calcular, conociendo la variación de presión  $h$ , la cantidad de gas formado o desaparecido cuando permanecen constantes el volumen y la temperatura.

Sea:  $V_g$  el volumen de la vasija (incluyendo el capilar del manómetro hasta cero) en mm. c.

$V_1$  el volumen de líquido contenido en la vasija, en mm. c.

$T$  la temperatura absoluta del ensayo.

$\alpha$  el coeficiente de absorción del gas.

$P_0$  la presión normal, expresada en mm. de líquido (10.000).

$P$  la presión inicial.

$h$  la variación de presión observada en el manómetro durante el ensayo.

La cantidad de gas existente al iniciarse el ensayo, a la presión  $P$  y a la temperatura de ensayo, es igual a  $V$ ; reducida a la presión normal (10.000 mm.) y a la temperatura absoluta, esta cantidad de gas es igual a:

$$\frac{P}{P_0} \cdot \frac{273}{T} \cdot V_g$$

La cantidad de gas existente en la vasija, al final del ensayo, en condiciones normales, si la presión ha aumentado en  $h$  (o sea  $P+h$ ) es en mm. c.:

$$\frac{P+h}{P_0} \cdot \frac{273}{T} \cdot V_g$$

El aumento de gas en la vasija será:

$$1) \quad \frac{P+h}{P_0} \cdot \frac{273}{T} \cdot V_g - \frac{P}{P_0} \cdot \frac{273}{t} \cdot V_g = \frac{h}{P_0} \cdot \frac{273}{T} \cdot V_g$$

Al mismo tiempo aumenta la cantidad de gas disuelta en el líquido, y esto por mm. c. de líquido contenido en la vasija y por cada mm. c.

Brodie en  $\frac{\alpha}{P_0}$ , o sea para  $V_L$  mm. c. de líquido y  $h$  mm. de Brodie en:

$$2) \quad \frac{h}{P_0} \cdot V_L \cdot \alpha$$

La suma de ambos aumentos 1 y 2 es evidentemente la cantidad de gas  $X$  (a  $0^\circ$  y 760 mm.) que se ha formado en total, o sea:

$$3) \quad X = h \cdot \left( \frac{V_G \frac{273}{T} + V_L}{P_0} \right)$$

$X$  es así proporcional a  $h$  e independiente de la presión inicial  $P$ .

Cada mm. de variación de presión indica, independientemente de la presión total, la formación o desaparición de la misma cantidad de gas. La expresión del paréntesis la llama WARBURG constante gaseosa, y la representa por  $K$ ; siendo conocido  $h$  se tiene:

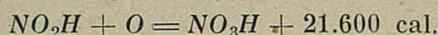
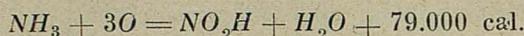
$$X = h \cdot K$$

Según la naturaleza química del gas que se ha formado (cuya presión parcial se expresa por  $h$ ), la constante de la vasija  $K$  es diferente, porque el coeficiente de absorción  $\alpha$  es diferente para los distintos gases. Estos coeficientes se encuentran en las tablas físico-químicas de Landolt-Börstein, y hay que tener presente que la adición de sales hace variar la solubilidad de los distintos gases en el agua. Conviene también tener presente que en ciertos casos puede haber una retención de carácter químico; por ejemplo, cuando se emplea como amortiguador, fosfato.

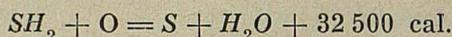
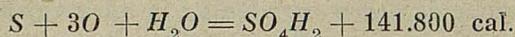
## B A C T E R I A S

Comprende un grupo muy heterogéneo de organismos que, en ciertos aspectos, presenta muchas semejanzas con otros tres grupos de microorganismos: protozoos, algas y hongos. Con relación a estos tres últimos son las bacterias de tamaño más pequeño y, por tanto, su estructura celular más simple. Las bacterias muestran notables diferencias en cuanto a sus requerimientos nutritivos, pero pueden clasificarse en dos grandes grupos, con respecto a sus necesidades alimenticias. Se denominan bacterias autotróficas aquellas que son capaces de utilizar las sustancias inorgánicas simples como fuente de energía, mientras que aquellas otras bacterias que necesitan materias orgánicas previamente formadas, reciben el nombre de heterotróficas. Algunas de las primeras, las sulfobacterias verdes y púrpuras, así como las bacterias pardas y púrpuras, tienen la propiedad (que, aparte de ellas, es exclusiva de las plantas verdes) de utilizar la energía radiante para asimilar el anhídrido carbónico. Las restantes bacterias de ese primer grupo, que se denominan químico-autótrofas, utilizan la energía derivada de la oxidación de los compuestos inorgánicos para asimilar el anhídrido carbónico.

Las ferrobacterias son capaces de oxidar las sales ferrosas o sales férricas; los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* oxidan, respectivamente, el amoníaco y los nitritos:



Las sulfobacterias son capaces de oxidar determinados compuestos de azufre:



La inmensa mayoría de las bacterias son de naturaleza heterotrófica y, en ocasiones, necesitan medios nutritivos muy complejos. Uno de los más sencillos está integrado por ac. fórmico, amoníaco como fuente nitrogenada y sales minerales ordinarias.

Ciertas bacterias necesitan, como fuente de nitrógeno, aminoácidos preformados, mientras que otras son todavía más precisas en sus requerimientos alimenticios, especialmente las bacterias patógenas, de las cuales no todas pueden desarrollarse en medios de composición definida, sino que requieren extractos de origen animal o vegetal. Puesto que las bacterias son mucho más variadas que las levaduras, tienen la capacidad de provocar una serie de reacciones consecuentemente mucho más variadas también. Ciertas transformaciones realizadas por bacterias son de tipo fermentativo, es decir, que se verifican en ausencia de oxígeno; mientras que otras, como por ejemplo, la oxidación de alcohol a ácido acético, sólo se desarrollan en presencia de abundante cantidad de oxígeno.

#### FERMENTACIÓN ACETO-BUTANÓLICA

En 1911 se descubrió una bacteria capaz de fermentar la fécula de patata, con producción de alcohol amílico, butanol, etanol y acetona. Poco después, WEITZMANN aisló una raza superior, *Clostridium acetobutylicum*, que es capaz de fermentar otras féculas, además de la patata. En estas circunstancias se obtienen tres productos: butanol, acetona y etanol en la proporción de 6 : 3 : 1. Fermentando pentosas con la misma bacteria resultan las tres mismas sustancias, pero en proporción de 5 : 4 : 1. Por cada kilogramo de mezcla de disolvente obtenido se producen 1,5 kilogramos de gas formado por anhídrido carbónico e hidrógeno.

El maíz, el arroz, el centeno y el trigo son fuentes adecuadas de hidratos de carbono. Después de eliminar el germen del grano se muele éste

y la harina resultante se amasa con agua de modo que quede una concentración de 6-8 por 100 en carbohidratos, esterilizando con vapor a presión. Las bacterias de Weitzmann son esporuladas, y la germinación se induce mediante un tratamiento de choque térmico, después del cual se desarrollan nuevas bacterias en estados sucesivos, lo mismo que ocurre durante el cultivo de levadura en la fermentación alcohólica. La fermentación óptima se desarrolla a un *pH* de 5-7, a temperaturas de 37-42°. Aproximadamente se utilizan un 96 por 100 del peso original de carbohidrato. La harina residual se aprovecha como alimento del ganado. El hidrógeno y parte del anhídrido carbónico se transforma en metanol. La mayor parte del anhídrido carbónico se solidifica y se vende como hielo seco. Además de los disolventes neutros se obtienen ác. acético, ác. butírico y pequeñas cantidades de acetoina (acetil-metil-carbinol).

Al principio de la fermentación se observa una gran acidez. Si se agrega ácido acético o butírico se eleva el rendimiento en acetona o en butanol, respectivamente. Puesto que el ácido acetil-acético aumenta también la cantidad de acetona, se supone que dicho acetoácido es un producto intermedio entre el ácido acético y la acetona. NEUBERG observó un aumento en la formación de ác. acético, pero no de ác. butírico (ni de butanol) al añadir ác. pirúvico, si bien cabe argüir que la bacteria utilizada sólo produce ordinariamente una cantidad pequeña de metanol. KLUYVER ha propuesto un mecanismo de reacción admitiendo como primer producto intermedia el hidrato de metil-glioxal,  $CH_3 - CO - CH(OH)_2$ , pero el esquema tiene igual validez si se acepta la formación de ác. pirúvico o de acetaldehído, según la teoría de MEYERHOF para la fermentación alcohólica. Como intermediario de la fermentación de butanol se ha propuesto el acetaldol, que se origina por condensación alcohólica de dos moléculas de acetaldehído. Sin embargo, la adición de acetaldol no eleva el rendimiento en butanol.

En ésta como en otras muchas fermentaciones inducidas por bacterias y por levaduras, se obtiene acetoina (acetil-metil-carbinol) como producto secundario y de una forma regular. Se supone que dicha sustancia tiene su origen en la condensación de dos moléculas de acetaldehído mediante la enzima carboligasa, la cual favorece también la condensación del acetaldehído con aldehídos

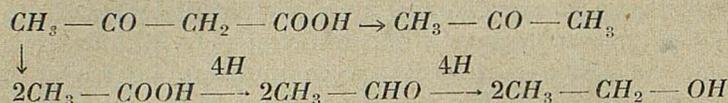


Parte de la acetoina se reduce a butilglicol 2-3. En ciertas ocasiones estas dos sustancias pueden representar los productos principales de la fermentación.

Fermentando el azúcar con *Aerobacter aerogenes* se obtienen rendimientos hasta de 40-50 por 100 en butilenglicol; el proceso se realiza actualmente en escala semindustrial como fuente de butadieno.

FERMENTACIÓN ACETO-ETANÓLICA

La bacteria apropiada es la *B. acetoethylcum*. En la fermentación se produce alcohol y acetona en una proporción molecular aproximada de 2 : 3 : 1 desprendiéndose  $CO_2$  ó  $H_2$ ; el ácido es un compuesto intermedio en la fermentación. El mecanismo es análogo al de la fermentación acetona-butanólica:



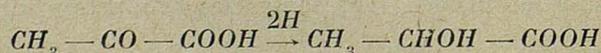
FERMENTACIÓN BUTANO-ISOPROPANÓLICA

Entre las bacterias capaces de hacer fermentar los hidratos de carbono con producción de butanol y de propanol, la que mejor resultado produce es la *Clostridium butylicum*. Según el substrato empleado se obtienen cantidades variables de alcohol etílico, alc. butílico, ác. butírico, anhídrido carbónico e hidrógeno. La fermentación es análoga a los procesos acetona-butanólico y acetona-etanólico. La fermentación butanol-isopropanólico no se realiza en escala industrial, pues la demanda de isopropanol se cubre con el obtenido del petróleo mediante procesos de cracking.

FERMENTACIÓN LÁCTICA

Como materias primas se emplean generalmente melazas, suero de leche y azúcar de maíz. Si se utilizan féculas es necesario realizar un proceso de sacarificación previo a la fermentación propia. Las dos bacterias que se usan comúnmente son *Lactobacillus del brückii* y *bulgaricus*. Con objeto de mantener la máxima eficacia de las bacterias hay que añadir intermitentemente carbonato cálcico, para mantener el  $pH$  constante, que debe de estar en zona débilmente ácida. La fermentación se completa a los 4-6 días; el calcio se precipita en forma de sulfato, y la solución de ácido láctico se concentra a vacío. Puede purificarse por sucesivas cristalizaciones de sus sales, o bien por un proceso de oxidación que destruya otras impurezas orgánicas o, finalmente, a través de sus ésteres. Los rendimientos llegan a ser del 98 por 100, basados en azúcar fermentado.

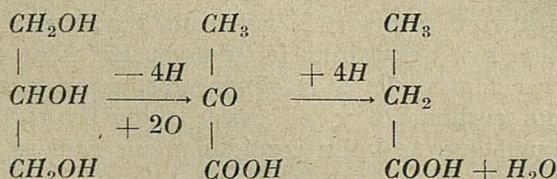
El ác. láctico se forma por reducción del ác. pirúvico, mediante reacciones similares a las que tienen lugar en la fermentación alcohólica:



Ciertas bacterias producen la forma dextrogira, otras la levogira y las más frecuentes la forma racémica.

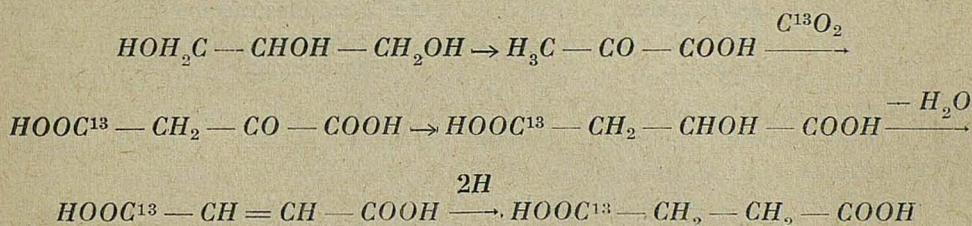
FERMENTACIÓN PROPIONICA Y SUCCÍNICA

Otro grupo muy afín es el género *Propionibacterium*, entre el que se encuentran especies responsables de la formación de orificios, "ojos", durante la maduración del queso Gruyère. Semejantes cavidades se forman por desprenderse anhídrido carbónico. Las bacterias propiónicas son capaces de fermentar un número variado de sustratos, como hexosas, pentosas, ác. láctico y glicerina. Además de ác. propiónico, que es la sustancia característica, producen cantidades variables de ác. acético y succínico. Todavía no se conoce el mecanismo de la fermentación, excepto en el caso de la glicerina, en que se ha estudiado extensamente. En ausencia de anhídrido carbónico, la glicerina se transforma en ác. propiónico con rendimiento excelente, probablemente a través de la formación intermedia de ác. pirúvico:



En presencia de carbonato de cal, se produce ác. succínico en cantidad equivalente a la de carbonato consumido.

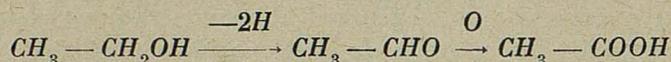
Mediante el empleo del isótopo radiactivo de carbono ( $\text{C}^{13}\text{O}_2$ ) ha podido establecerse la utilización del anhídrido carbónico desprendido, que pasa a formar parte de uno de los grupos carboxilo de ác. succínico:



FERMENTACIÓN ACÉTICA

Se han descrito unas veinte bacterias aerobias pertenecientes al género *Acetobacter*, y que son capaces de transformar el alcohol en ác. acético. Probablemente uno de los pasos consiste en una deshidrogenación, en que el oxígeno atmosférico actúa como aceptor de hidrógeno, pues el rendimiento es mayor si se aumenta la cantidad de oxígeno.

Se ha demostrado la formación intermedia de acetaldehído por fijación con sulfito de calcio:



Ciertas especies son capaces de transformar el acetaldehído en ác. acético y alcohol etílico en ausencia del oxígeno atmosférico.

NEUBERG ha sugerido que lo que ocurre en estos casos es una simple dismutación o desproporción del acetaldehído, en el sentido de la reacción de Cannizzaro.

Generalmente, las especies del género *Acetobacter* oxidan otros sustratos distintos del alcohol etílico, transformándolos íntegramente en anhídrido carbónico y agua. Una de las especies, *A. suboxydans*, es capaz de oxidar parcialmente numerosas sustancias conteniendo grupos aldehídicos o alcohólicos que son transformados por deshidrogenación en grupos carboxílicos, respectivamente. Algunas de las transformaciones más típicas se recogen en la tabla que a continuación damos. En estas oxidaciones, así como en todos los demás ejemplos observados, solamente se oxidan los grupos de alcohol secundario y, en caso de existir varios de ellos, se ataca siempre aquel que se halla contiguo a un radical alcohólico.

TRANSFORMACIONES TÍPICAS REALIZADAS  
POR *A. SUBOXYDANS*

Substrato	Productos
Alcohol isopropílico	Acetona
Glucosa	Ac. glucónico
Ac. glucónico	Ac. 5-cetoglucónico
d-Sorbita	l-Sorbosa
Glicerina	Dioxiacetona

M O H O S

Los mohos son variedades de hongos que pertenecen principalmente a dos clases, los hongos imperfectos y los ficomicetos. Todos son organismos heterotróficos, muchos de ellos parásitos de plantas y animales, mientras que otros se hallan muy extendidos, especialmente en el suelo. Raramente son capaces de producir fermentaciones, y cuando lo hacen, su capacidad fermentativa es muy escasa. En consecuencia, los productos formados por los mohos difieren considerablemente de los resultados de las fermentaciones producidas por bacterias o levaduras. Lo más llamativo

es la ausencia de hidrógeno y de metano; ácidos volátiles como acético, propiónico y butírico, en caso de producirse, se forman cantidades mínimas. La formación de ác. láctico, que es muy característica de las bacterias, apenas ha sido observada en los mohos. Los ácidos que éstos producen son generalmente polibásicos, como, por ejemplo, oxálico y cítrico, o polioxiácidos como glucónico y gálico. Los mohos se desarrollan mejor en medios débilmente ácidos, pudiendo tolerar una acidez mucho más fuerte que las bacterias. El aspecto característico del queso de Roquefort se debe a la presencia de un hongo verde azulado. *Penicillium roqueforti*, cuyas lipasas liberan de las grasas de queso los ácidos caprónico, caprílico y caprínico, siendo responsables de su sabor típico. De otro moho, *Aspergillus oryzae*, se extrae el fermento *lakadiastasa*, que se aplica industrialmente para hidrolizar el almidón y terapéuticamente para tratar ciertos tipos de indigestión.

Transformaciones producidas por la acción de hongos, así como productos derivados de esta actividad son los siguientes:

#### ACIDOS OXÁLICO Y CÍTRICO

Su formación a partir de los azúcares es una característica común a muchas especies de *Penicillium* y de *Aspergillus*. Si el *pH* del medio se mantiene entre 6 y 7 por adición de carbonato de calcio, que va precipitando el ác. oxálico a medida que se forma, se obtienen rendimientos excelentes de oxalato de calcio (90 por 100 con relación a los azúcares). Si el *pH* se disminuye a 1—2, no se forma ác. oxálico; mas en su lugar, resulta un rendimiento en ác. cítrico del 88-90 por 100.

La producción en 1935 en los EE. UU., por este procedimiento, estuvo muy próxima a los cinco millones de Kgs. de ácido cítrico.

Se ignora el mecanismo de formación del ác. oxálico.

Por su parte, el ác. cítrico ha podido obtenerse de compuestos con cadena recta que contienen 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 12 átomos de carbono. La circunstancia de que se forme ác. cítrico a partir de sustancias con menos de 6 átomos de carbono sugiere la posibilidad de que la síntesis se realice con una degradación previa a compuestos de 2 ó 3 carbonos, seguida de condensaciones entre ellos. KREBS ha propuesto un esquema de formación en el que el producto clave intermedio es el ac. pirúvico, empleándose el anhídrido carbónico en el mismo sentido en que se emplea en la síntesis del ác. succínico, según se ha indicado anteriormente. En efecto, cuando el medio contiene anhídrido carbónico radiactivo, el ác. cítrico formado también tiene un carbono radiactivo, cuando menos en uno de los carboxilos.

Un ácido parecido, el ácido itacónico, es producido con bastante buen resultado y rendimiento por el *Aspergillus itaconicus* y *A. terreus*.

## ACIDO GLUCÓNICO

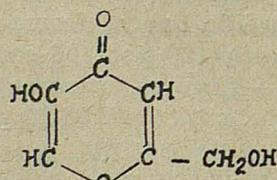
Es producido por gran cantidad de mohos, generalmente junto con ác. cítrico y con ác. oxálico.

Se favorece la formación del ác. glucónico, que puede alcanzar rendimientos de 80-90 %, agregando al medio fosfatos y nitratos que son reducidos durante la fermentación.

Durante los últimos años el departamento de agricultura de EE. UU. ha subvencionado amplias investigaciones sobre esta reacción y los resultados obtenidos indican que tiene posibilidades industriales. El gluconato, base de inyectables, indicado en el metabolismo del calcio y en el tratamiento de la fiebre láctea de las vacas.

## ACIDO KÓJICO

Fué aislado en 1907 en cultivos de *Aspergillus oryzae* (Koji) empleado en el Japón para fermentar el arroz y producir una bebida alcohólica denominada saké. También es producida por otros miembros del género *Aspergillus* y por el *Penicillium dalaca*. BARGAR y YABUTA determinaron una estructura de gamma-pirona para el ácido, que se obtiene con rendimientos de 10-20 por 100, pero que carece de aplicaciones industriales.



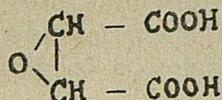
Ac. Kójico

Su formación tiene interés teórico en cuanto que resulta con igual rendimiento a partir de pentosas que a partir de hexosas, y además, ha sido obtenido de compuestos de tres y siete átomos de carbón. Este curioso fenómeno se encuentra también en los procesos que originan manita, producto muy frecuente del metabolismo de la glucosa, pero que se obtiene también a partir de las pentosas xilosa y arabinosa, aunque con rendimientos siempre más bajos. En cambio, la sorbita, que es producto principal de la reducción química de la glucosa, nunca se ha encontrado como producto del metabolismo de los hongos.

## OXIDO DEL ACIDO MALEICO

SAKAGUCHI ha demostrado que un cultivo de *Penicillium viniferum* es

capaz de transformar una serie de monosacáridos, disacáridos y polisacáridos en el ácido oxidotilendicarboxílico, es decir, el óxido del ácido maleico:



Oxido del ác. maleico

#### ACIDO GALICO

Se produce comercialmente por hidrólisis con ácidos o bases (y también por la acción de hongos) de los galotaninos, un complejo grupo de sustancias que se hallan en numerosas plantas. La hidrólisis con hongos fué descrita por SCHEELE en 1787 y, posteriormente, se ha demostrado que varias especies de *Aspergillus* y de *Penicillium* producen un fermento denominado *tanasa*, que es capaz por sí sólo, exento de células del hongo, de liberar ác. gálico de los taninos. En realidad, debe advertirse que esta reacción es una simple hidrólisis en que se libera ác. gálico de compuestos más complejos, pero en los que ya se halla preformado.

#### METILACIÓN DEL ARSÉNICO

Con cierta frecuencia se han registrado muertes por intoxicación arsenical atribuida originalmente a las pinturas de los papeles de las paredes. En 1935 demostró CHANLENGER que ciertas especies de hongos, en presencia de óxido arsenioso,  $\text{As}_2\text{O}_3$ , o de  $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2\text{Na}$  (cacodilato de sodio) liberan trimetilarsina  $(\text{CH}_3)_3\text{As}$ , gas responsable del olor aliáceo y de las intoxicaciones consecuentes. La metilación de los compuestos arsenicales por determinados hongos es una reacción general, independiente del compuesto empleado. Así, por ejemplo, el ácido etilarsónico produce dimetil-etil-arsina, y el ác. dietilarsónico produce metil-dietil-arsina.

Lo mismo ocurre con los compuestos de selenio y de telurio. Así, por ejemplo, los de este último producen dimetil-telurio. El hongo más activo en estas metilaciones de metales y metaloides es el *Penicillium brevicaulis*.

#### SÍNTESIS DE SUBSTANCIAS COMPLEJAS

Ciertos hongos son capaces de sintetizar una notable variedad de compuestos complejos, algunos de los cuales han resultado de especial interés por haberse descubierto en ellos acciones antibacterianas.

La mayoría de estos estudios han sido efectuados bajo la dirección de H. RAISTRICK, en la Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres. Cultivados en un medio a base de glucosa y de sales minerales, los mohos son capaces de sintetizar numerosos polisacáridos, algunos de los cuales incluye la tabla y en los que la glucosa original puede desaparecer en forma de manosa, de galactosa o de idosa.

POLISACARIDOS TIPICOS DE ASPERGILLIA Y PENICILLIA

Polisacárido	Productos de hidrólisis	Moho
(Almidón de hongos reacción del yodo)	Glucosa	A. niger, A. fumigatus, P. variable
Micodextrana (reacción de yodo)	Glucosa	A. niger, P. expansum
Variantiosa	glucosa, galactosa, idosa	P. varians
Poligalactosa	galactosa	P. charlesii
Polimánosa	manosa	P. charlesii
Ac. Luteico	glucosa, ác. malónico	P. luteum
Capreolínosa	Manosa, glucosa, galactosa, ác. malónico	P. capreolinum

La mayoría de los mohos son capaces de sintetizar también grasas, esteroides y ács. grasos complejos a partir de glucosa o de otras hexosas. En un estudio detallado de la producción de grasa por *Aspergillus sydowi*, han encontrado STRONG y PETERSON que un 12 por 100 del micelio (sistema vegetativo exento de esporas) está formado por un aceite compuesto de una mezcla de ács. grasos que se indican en la tabla que damos a continuación. Los porcentajes se refieren a los pesos aislados.

COMPOSICION DE LAS GRASAS SIMPLES DE A. SYDOWI

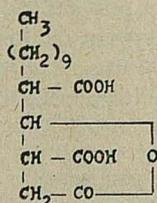
Substancia	%	Substancia	%
Acs. grasos saturados		Acs. grasos no saturados	
palmítico	8,8	oléico	29,6
esteárico	11,0	linoléico	16,3
n-tetracosánico	0,9	Acs. superiores	1,7
acs. volátiles	0,46	glicerina	4,2
estearinas (principalmente ergosterina)	5,36		

RAISTRICK y sus colaboradores han aislado una serie de ácidos (5-8) de *P. charlesii* que resultan ser derivados del ác. tetronico (4) y, por tanto, de estructura similar al ác. ascórbico o vitamina C (9).

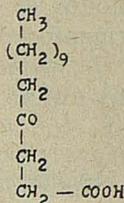
Del *Penicillium terrestris* ha aislado RAISTRICK el ác. terrestreñico, que puede considerarse como un ác. etil-caróñico, es decir, un ácido caróñico (5) en que el radical  $-CH_2OH$ , se halla substituído por



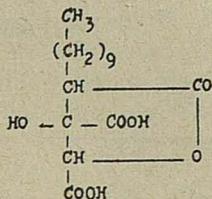
En las fórmulas 1, 2, 3 se reproducen tres de los ácidos que han sido aislados de los mohos,



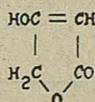
Ac. espiculisporico (1)



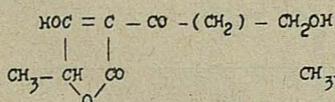
Ac. ceto - pentadecanoico (2)



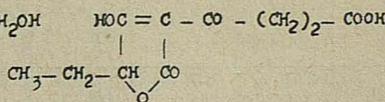
Ac. minioluteico (3)



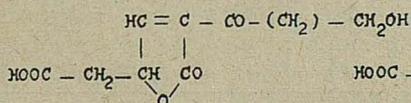
Ac. tetrónico (4)



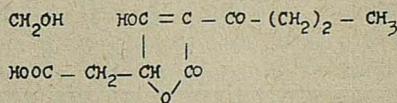
Ac. caróñico (5)



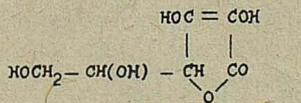
Ac. carolñico (6)



Ac. cárñico (7)



Ac. carlésico (8)

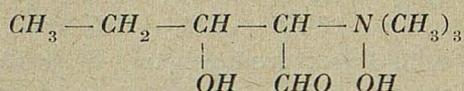


Ac. ascorbico (9)

#### PIGMENTOS DE LOS GRANDES HONGOS

Otro importante grupo de investigaciones sobre substancias de los hongos ha sido realizado por el químico alemán F. KÖGL, en la Universidad holandesa de Utrecht. A él se deben principalmente los estudios sobre pigmentos de los grandes hongos: ác. polipórico, astromentina,

muscarufina, ác. telefórico y boletol, así como el activísimo veneno de *Amanita muscaria*, denominado muscarina y cuya estructura más probable es la siguiente:



Muchos de los mohos se caracterizan por colores vivos que se deben a la presencia de pigmentos típicos, la mayoría de los cuales son derivados de la toluquinona y de la metil-antraquinona. Algunos de los cuales, correspondientes a este último tipo, se incluyen en la tabla adjunta. Dos

nombre	PIGMENTOS TÍPICOS DE LOS MOHOS fórmula	moho
Boletol		<i>boletus luridus</i>
helmentosperina		<i>Helminthosporium gramineum</i>
Gatenarina		<i>H. catenarium</i>
Cinodontina		<i>H. cynodontis</i>

pigmentos de hongos han sido identificados como derivados de la xantona; uno de ellos es la ravenelina (1, 4, 8 - trioxi - 3 - metilxantona), aislada del micelio de *Helminthosporium ravenelii* Curtis, con rendimiento del 10 por 100.

En realidad, como se ve por la fórmula, el boletol no es derivado de la  $\beta$ -metil-antraquinona, sino que se trata de un ácido purpurincarboxílico. La substancia original, tal como se encuentra en el hongo, corres-

ponde a esa fórmula y tiene color rojo (en el hongo mismo, por estar muy diluído, aparece como amarillo). Al partir el hongo, una peroxidasa que contiene provoca la oxidación por el oxígeno atmosférico, transformándose el color amarillo en azul intenso. Químicamente, el cambio de los colores se debe a la oxidación de los dos oxhidrilos en para, con formación de una nueva agrupación quinónica: la diquinona resultante es azul. El boletol se encuentra también en el *B. sataná*s, *B. badius* y *B. lupinus*, en proporciones variables.

Otros pigmentos de los hongos derivados de la  $\beta$  - metil-antraquinona son: *frágula* - *emodina* (4, 5, 7-trioxi-2-metil-antraquinona) en *Dermocybe sanguinea*, encontrada también en las drogas purgantes de las plantas superiores; *dermocibina*, del mismo hongo. una tetraoxi-metoxi-2-metil-antraquinona en la que no se ha determinado la posición de los sustituyentes; *rubroglauca*, de *Aspergillus glaucus*, probablemente una 6-metoxi-1, 4-dioxi-2-metil-antraquinona; *roseopurpurina* de *Penicillium roseopurpureum*, probablemente una 4-metoxi-5, 7-dioxi-2-oximetil-antraquinona; *citreoroseína*, de *Penicillium citreoroseum*, probablemente 4, 5, 7-trioxi-2-oximetil-antraquinona, que se encuentra también en el *P. cyclopium*, acompañada de ác. emódico (ác. 4, 5, 7-trioxi-antraquinon-carboxílico-2); *tritisorina*, de *Helminthosporium tritici vulgaris*; una 1, 3, 5, 8-tetraoxi-6-10-7-oximetil-antraquinona; y otras más cuya estructura aún no se conoce bien.

#### HIDRÓLISIS DE ALMIDONES

En este método se emplean razas seleccionadas de mohos, algunos de los cuales pueden, además de la hidrólisis, realizar la fermentación alcohólica. La materia feculenta que se ha de hidrolizar se moja con agua, para hincharla, durante algunas horas. Luego se calienta, mezclada con dos veces su peso en agua, a una presión de cuatro atmósferas, con lo que el almidón se vuelve soluble. La liquefacción se facilita acidificando la masa con 0,6-0,8 por 100 de  $ClH$  o  $SO_4H_2$ . La masa esterilizada se filtra a 38-40° C. y se inocula con un cultivo puro de *Mucor* o *Rhizopus* (*M. rouxi*, *R. japonicus*, *R. tonkinensis*, *R. delemar*). Se pasa después por la masa aire estéril durante veinticuatro horas a 38° C.

Finalmente, se filtra a 33° C., y puede ya llevarse a la solución a fermentar (por levaduras, bacterias o mohos). La hidrólisis del almidón y la fermentación del líquido glucosado resultante se puede llevar a cabo simultáneamente por asociación de un moho (*Mucor boulard*) y una levadura.

Muchos mohos, especialmente razas de *Aspergillus flavussoryzae*, se usan en la manufactura de preparados diastásicos (Takadiastasa, Koji, etc.), que se emplean en escala industrial y, sobre todo, en procesos de laboratorio en la transformación de almidones en azúcares. Su mayor ventaja estriba en los altos rendimientos obtenidos con su uso.

En la actualidad han alcanzado pleno desarrollo tres métodos, de los que uno, el de SCHOLLER, tiene mucha más amplia aplicación que los dos restantes. En estos métodos se utiliza:

a) Acido clorhídrico concentrado y baja temperatura (20° C) (HÄGGLUND-BERGIUS, en Rheinau - Mannheim).

b) Acido sulfúrico concentrado y baja temperatura.  $SO_4H_2$  de 60° Bé., y  $T = 25^\circ C$ . (LEONE).

c) Acido sulfúrico diluido (0,5 por 100) y alta temperatura (170° - 180° C.). (SCHOLLER - TORNESCH, montada por primera vez en Kiel).

En el procedimiento a) es necesario sacar la madera y recuperar el ácido. El azúcar obtenido no es azúcar sencillo fermentescible, sino un hidrato de carbono del tipo de las dextrinas; b), presenta caracteres similares. En cambio, en c), no se exigen condiciones especiales de ningún tipo en el material de partida, obleniéndose directamente azúcares fermentescibles. En un medio rural en instalaciones de escala reducida, ambos métodos pueden completarse para la alimentación del ganado, usando las dextrinas del tipo a), muy digeribles, directamente para pienso, y convirtiendo los azúcares del c) en levaduras, las cuales ofrecen un excelente alimento albuminoideo.

Partiendo de una tonelada de madera seca en cada uno de los tres procedimientos se obtiene (en kilogramos):

	Bergius	Giordani-Leone	Schöller
Azúcar total .....	660	600	433
Azúcar fermentable .....	560	480	352
Azúcar no fermentable por levadura .....	100	120	81

La demolición de los materiales celulósicos, a diferencia de lo que sucede con los amiláceos, sólo se lleva a cabo mediante ácidos; la hidrólisis fermentativa no es realizable. Se conocen muchas bacterias y mohos capaces de descomponer la celulosa, aunque los fermentos correspondientes están mal caracterizados. Faltan en los vertebrados (que, en cambio, poseen abundantes amilasas) y los poseen muchos animales inferiores y diversos microorganismos.

Es conocida su abundancia en los constituyentes de la flora intestinal de los animales superiores, sobre todo, en los herbívoros.

No se ha descrito ninguna técnica industrializable que permita actuar con fermentos sobre celulosa. La celulosa natural se ataca muy lentamente. Más deprisa lo hace la sometida a tratamiento alcalino, o la celulosa regenerada, quizá, a consecuencia de un aumento de superficie.

Los líquidos sulfíticos, resultantes de la obtención de la celulosa por el método al sulfito, contienen 10-12 por 100 de residuo sólido. El aná-

lisis de estos líquidos muestra que cada tonelada de celulosa obtenida de abeto sueco da:

- 644 Kg. de lignina.
- 311 Kg. de hidratos de carbono.
- 255 Kg. de lignina combinada con  $SO_2$ .
- 102 Kg. de  $CaO$  combinada con ácido lignosulfónico.
- 73 Kg. de resinas y grasas.
- 15 Kg. de proteínas.

Por tonelada de pulpa obtenida se producen 8-10 toneladas de líquidos sulfíticos.

Según KLASON, los 311 kilogramos formados de mezcla de azúcares se componen de 49,4 por 100 de glucosa, 15,6 por 100 de manosa, 8,1 por 100 de galactosa y 26,9 por 100 de pentosas y pentosanas no fermentables (arabinosa, xilosa, etc.). Aproximadamente el 65 por 100 de los azúcares totales son fermentescibles; es decir, en peso unos 200 kilogramos.

Directamente las aguas sulfíticas no pueden someterse a fermentación. Antes de inocular con levadura es necesario neutralizar en caliente el  $SO_2$ , y ácidos acético y fórmico presentes. Se usa corrientemente una mezcla de cal recién apagada y  $CO_3Ca$ . Hay que llegar hasta  $pH = 6$ , evitando la reacción alcalina, que favorecería la destrucción de la glucosa. Se deja después sedimentar. Finalmente, se lleva a la concentración adecuada y se añade sulfato amónico y fosfato de calcio como materia nutritiva de las levaduras, las cuales, por la naturaleza del caldo, han de ser de raza especialmente seleccionada. Si se lleva a cabo fermentación alcohólica, el rendimiento en etanol alcanza hasta el 1 por 100 del volumen de los líquidos sulfíticos. Como productos secundarios de la destilación se obtiene, además de aldehídos y alcohol amílico, cierta cantidad de metanol. Por este procedimiento en Alemania se obtenían unos 200.000 Hl. de etanol anuales.

También pueden aprovecharse las lejías sulfíticas en otras fermentaciones distintas de la alcohólica, o en la obtención de levaduras para panificación o alimentación. El rendimiento en levadura seca (*Torula*) es de 51,4 por 100, referido a azúcar fermentescible, con un contenido albuminoideo de 50-53 por 100.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y QUÍMICA APLICADA DEL C. S. I. C.  
FACULTAD DE CIENCIAS DE ZARAGOZA

BIBLIOGRAFIA

PROTEINASAS

- Pepsina*.—NORTROP, J. H.; KUNITZ, M.; AND HERRIOT, R. M.—Crystalline Enzymes, 2nd ed., Columbia Univ. Press, N. Y., 1948.
- Renina*.—LEMBERG, R.; AND LEGGE, J. W.—Hematin Compounds and Bile Pigments, Interscience, N. Y., 1949, Chapters VIII-IX (Hematin Enzymes).
- Tripsina*.—SCHWERT, G. W.; NEURATH, H.; KAUFMAN, S.; AND SNOKE, J. E.—J. Biol. Chem., 172, 221, 1948.
- Quimotripsina*.—KAUFMAN, S.; SCHWERT, G. W.; AND NEURATH, H.—Arch. Biochem., 17, 203, 1948.
- Papainasa*.—TAUBER, H.—The Chemistry and Technology of Enzymes, Wiley, N. Y. 1949.

PEPTIDASAS

- JOHNSON, M. J.; AND BERGER, J.—Advances in Enzymology, Interscience, N. Y., 1942, Vol. II, pp. 68-92.
- MAYER, K.—Die Methoden der Fermentforschung, Thieme Leipzig, 1941, Vol. II, p. 1991.
- GREENSTEIN, J. P.; PRICE, V. E.; AND LEUTHARDT, F. M.—J. Biol. Chem., 175, 953, 1948.

CARBOHIDRASAS

- ANDERSON, J. A.—Ed., Enzymes in Weat Technology, Interscience, N. Y., 1946.
- SWANSON, M. A.; AND CORI, C. F.—J. Biol. Chem., 172, 797, 805; 815; 825; 1948.
- PIGMAN, W. W.; IN NORD.—Advances in Enzymology, Interscience, N. Y., 1944; Vol. IV: pp. 41-47.

ESTERASAS

- WALDSCHMIDT-LEITZ, E.; AND SCHAFFNER, A.—Die Methoden der Fermentforschung, Thieme, Leipzig, 1941, Vol. II, pp. 1547-84.
- BAMANN, E.; AND MYRBACK, K.—Die Methoden der Fermentforschung, Thieme, Leipzig, 1941, Vol. II, pp. 1.605-80.
- ABUL-FADL, M. A. M.—The inhibition of serum acid phosphatase by D-tartrate. Biochem. J., 42; 28-29, 1948.
- AEBI, H.—Zur Methodik der Nierenphosphatase - Bestimmung. Helvet. Chim. Acta, 31; 1761-1774, 1948.
- AXELROD, B.—Phosphatase activity as an index of pasteurization in citrus juices. The Fruit Products J. E. Am. Food Manufacturer, 26 : 132-133, 1947.
- AXELROD, B.—A new mode of enzymatic phosphate transfer. J. Biol. Chem., 172 : 1-14. 1948.

- AXEROD, B.—A study of mechanism of "Phosphotransferase" activity by use of radioactive phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 176: 295-298, 1948.
- BADDILEY, J.; MICHELSON, A. M.—Synthesis of adenosine triphosphate. *Nature*, 161: 762, 1948.
- BADDILEY, K.—The purity of adenosinetriphosphate preparations by enzymic degradation. *Biochem. J.*, 42: 58 p.
- BALLS, A. K., WALDEU, M. K., AND THOMPSON, R. R.—A crystalline beta amylase from sweet potatoes. *J. Biol. Chem.*, 173: 9-19, 1948.
- BAYLISS, M.; GLICK, D.; AND SIEM, R. A.—Demonstration of phosphatases and lipase in bacteria and true fungi by staining methods and the effect of penicillin on phosphatase activity. *J. Bact.*, 55: 307-316, 1948.
- BOSSARD, M.—Action de molybdat sur diverses enzymes. *Bull. Soc. Chim. Biol.*: 29: 218-221, 1947.
- BOUCHILLOUX, S.; DERRIEN, Y.; ROCHE, J. ET ROGER, M.—Utilisation des courbes de solubilité pour le repérage des fractions protéiques actives dans les préparations enzymatiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 30: 417-426, 1948.
- BOUCHILLOUX, S.; DERRIEN, Y.; ROCHE, J.; ROGER, M.—Synthèse phosphatasique de la phosphorylcholine et de la phosphorylcolamine in vitro. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 29: 955-958, 1947.
- BRAVERMAN, I. AND MORCULIS, S.—The inhibition of the adenosine triphosphatase activity of actomyosin by magnesium ions. *J. Gen. Physiol.*, 31: 411-415, 1948.
- DOUNCE, A. L.; ROTHSTEIN, A.; BEYER, G. T.; MEYER, R. AND FREER, R. M.—A detailed procedure for the preparation of highly purified adenosine triphosphate. *J. Biol. Chem.*, 174: 366-370, 1948.
- HANSSON, E.; SOLBERG, P. AND SJOSTROM, G.—"Manufacturing of phosphatase concentrate from milk and some experiments on effect of dilution on the phosphatase test". *Svenska Mejeritidn.*, 38: 191-196.

## HIDROLASAS

- Arginasa*.—LEUTHARDT, F. —Die Methoden der Fermentforschung, Thieme, Leipzig, 1941, Vol. II; pp. 1962-74.
- Ureasa*.—SUMNER, J. B.; AND SOMERS, G. F.—Chemistry and Methods of Enzymes, 2nd ed., Academic Press, N. Y., 1947.

## HIDRATASAS

- Fumarasa*. — WILLE, F. — Die Methoden der Fermentforschung, Thieme, Leipzig, 1941, Vol. III.
- Ureasa*.—SUMNER, J. B., AND SOMERS, G. F.—Chemistry and Methods of Enzymes, 2nd ed., Academic Press, N. Y., 1947.

## OXIDORREDUCTASAS

- Catalasa*.—SUMNER, J. B., AND SOMERS, G. F.—Chemistry and Methods of Enzymes, 2nd ed., Academic Press, N. Y., 1947.
- Peroxiidasas*.—ZELLE, K.—Die Methoden der Fermentforschung, Thieme, Leipzig, 1941, Vol. III.
- Polifenoloxidasa*.—KUBOWITZ, F.—*Biochem. Z.*, 282, 221 (1937); 299, 32; 1938.
- Ascorbicoxidasa*.—LOVETT-JANISON, P. L., AND NELSON, J. M.—*J. Am. Chem. Soc.*, 62; 1409, 1940.
- Citocromoxidasa*.—HAAS, E. — *J. Biol. Chem.*, 148, 481, (1943), 152, 695. (1944), 163, 53, 101, 1946.
- D-Aminoacidoxidasa*.—BLANCHARD, M.; GREEN, D. E.; NOCITO-CARROLL, V., AND RATNER, S. *J. Biol. Chem.*, 161, 583, 1945.
- D-Aminoacidoxidasa*.—HELLERMAN, L.; LINDSAY, A.; AND BOVARNICK, M. R.—*J. Biol. Chem.*, 163, 553, 1946.

*D-Aminoacidoxidasa*.—WARCURG, O.; AN; CHRISTIAN, W.—*Biochem. Z.*, 298; 150; 1938.  
*L-Aminoacidoxidasa*.—BLANCHARD, M.; GREEN, D. E. NOCITO-CARROLL, V.; AND RATNER,  
 S.—*J. Biol. Chem.*, 161, 583; 1945.

CARBOXILASAS

KUBOWITZ, F.; AND LUTTGENS, W.—*Biochem. Z.*, 307, 170; 1941.  
 GALE, E. F.—*Advances in Enzymology*, Interscience, N. Y.; 1946; Vol. VI; pp. 1-32.  
 BADDILEY, J. y GALE, E. F., *Nature*, 155, 727; 1945.  
 BELLAMY, W. D. y GUNSALUS, I. C.—*Jour. Bact.*, 48, 191; 1944.  
 DAVIS, D. S.—*Empirical Equations and Nomography*, 6-12, 1.<sup>a</sup> ed., Mc. Graw-Hill;  
 New York, 1943.  
 EPPS, H. M. R.—*Biochem. J.*, 38, 242, 1944.  
 FOLKERS, K.; HEYL, D; LUZ, E. y HARRIS, S. A.—*Jour. Am. Chem. Soc.*, 73; 3430;  
 1951.  
 GALE, E. F.—*Biochem. J.* 34, 846, 1940.  
 GALE, E. F. y EPPS, H. M. R.—*Biochem. J.*, 36, 600; 1942.  
 GALE, E. F. y EPPS, H. M. R.—*Biochem. J.*, 38, 250; 1944.  
 GALE, E. F.—*Advances in Enzymologie*, 6; 1, 1946.  
 GUNSALUS, I. C. y MELLAMY, W. D.—*J. Biol. Chem.*, 155, 357; 1944.  
 GUNSALUS, I. C.; UNBREIT, W. W.; BELLAMY, W. D. y FORST, C. E.—*J. Biol. Chem.*;  
 161, 743, 1945.  
 HOLDEN, J. T., y SNELL, E. E.—*J. Biol. Chem.*, 178; 799; 1949.  
 MACNUTT, W. S. y SNELL, E. E.—*J. Biol. Chem.*, 182, 557; 1950.  
 SLOANE-STANLEY, G. H.—*Biochem. J.* 44, 373, 1949.  
 UNBREIT, W. W. y GUNSALUS, I. C.—*J. Biol. Chem.*, 179, 279; 1949.  
*Alcoholdehidrogenasa*.—NEGELEIN, E.; AND WULFF, H. J.—*Biochem. Z.*, 293, 351; 1937.  
*Aldolasa*.—WARBURG, O.; AND CHRISTIAN, W.—*Biochem. Z.*, 314, 149; 1943.  
*Luciferasa*.—HARVEY, E. N.—*Living Light*, Princeton Univ. Press, Princeton, N. J.; 1940.

ANHIDRASA CARBONICA

ASBHY, W.—*J. Biol. Chem.* 152, 235, 1944.  
 ASBHY, W.—*J. Biol. Chem.* 155, 671, 1944.  
 ASBHY, W.—*J. Biol. Chem.* 156, 323, 1944.  
 ASBHY, W.; CHAND, D.—*J. Biol. Chem.* 151, 515, 1943.

# DETERMINACION DE CONSTANTES DE DISOCIACION DE ACIDOS Y BASES ORGANICOS

por FERMIN GOMEZ BELTRAN y M.<sup>ca</sup> PILAR PUEBLA REMACHA

## INTRODUCCION

Los valores de las constantes de disociación de los ácidos y bases orgánicos, pertenecientes a un mismo grupo fundamental con diferentes sustituyentes, permiten deducir conclusiones interesantes sobre la influencia de la naturaleza y posición de los mismos en la ionización ácida o básica.

Por esta razón nos hemos propuesto medir sus valores en una serie de compuestos derivados de la estructura básica de la quinoleína a fin de extraer, cuando los datos a nuestra disposición sean suficientes, las relaciones entre ionización y constitución que nos sea posible.

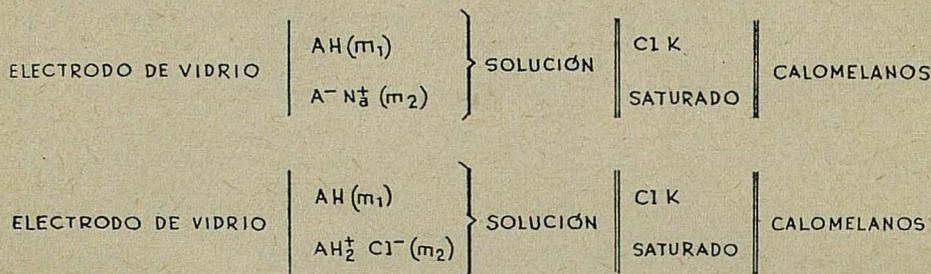
Los distintos métodos de medida de constantes de disociación existentes en la literatura son:

- a) Medida de conductividades (1)
- b) Medida de F. E. M. de pilas sin transporte (2).
- c) Medidas potenciométricas de pH (3).
- d) Medidas directas e indirectas de solubilidades en mezclas tampón (4).
- e) Métodos espectrofotométricos y colorimétricos (5).
- f) Medida de efectos catalíticos (6).
- g) Métodos polarográficos (7).
- h) Acción inhibidora de bacterias (8).
- i) Determinaciones del coeficiente de reparto (9).
- j) Medidas crioscópicas (10).

Los más utilizados por la precisión y facilidad de manejo de las técnicas operatorias experimentales son los a), b), c), d) y e), y entre ellos hemos elegido como método más adecuado a nuestro caso, la medida del pH de mezclas del compuesto y su sal sódica (constante de disociación ácida) y del compuesto y su clorhidrato (constante de ionización básica), por las especiales características de las moléculas orgánicas con las que vamos a trabajar.

Así, por ejemplo, la pequeña solubilidad en agua de las mismas, nos impide preparar soluciones a diferentes concentraciones, so pena de hacerlas tan diluídas que la precisión de la medida conductimétrica desaparezca.

La medida de F. E. M. de pilas sin unión líquida presenta parecidos inconvenientes, por la razón, de no poder preparar mezclas de compuesto orgánico, su sal sódica o clorhidrato y cloruro sódico, en un intervalo de concentraciones adecuado. Sin embargo la medida de pH en pilas de concentración con unión líquida del tipo



nos permite una cómoda y rápida determinación, pues en ellas, no nos es necesario conocer más que la suma  $(m_1 + m_2)$ , perfectamente determinable a posteriori.

La medida de solubilidades en mezclas tampón es un método semejante al que hemos elegido, pues lo que en realidad hacemos en el que vamos a emplear, es determinar la solubilidad  $(m_1 + m_2)$  en un medio de pH medido posteriormente. Sin embargo las mezclas tampón, debido a los electrolitos empleados en su preparación, poseerán una fuerza iónica grande, con lo que será difícil de corregir numéricamente con exactitud su influencia en la constante termodinámica de disociación. La menor cantidad de iones que hay en el electrolito de las pilas anteriormente formuladas, facilitará este cálculo y corrección, siendo fácil de comprender la mayor exactitud de la misma en este caso, si se tiene en cuenta que, para ello, se emplea la ley límite de Debye-Hückel de cumplimiento correcto únicamente para valores bajos de  $\mu$ .

Los métodos espectrofotométricos y colorimétricos serán de aplicación más limitada, por lo que, en principio, no se pueden escoger para un plan de trabajo general, ya que dependen de la naturaleza de las propias moléculas y de que éstas absorban distintas longitudes de onda en las formas disociada y sin disociar.

Todas estas razones son las que nos han llevado a escoger el método c) para la determinación de constantes de disociación en los diversos ácidos carboxílicos derivados de la quinoléina, con los que nos proponemos trabajar.

CONSTANTES DE DISOCIACION DEL ACIDO  
5-AMINO 8-QUINOLINCARBOXILICO

1. *Constante de disociación ácida.*

PARTE EXPERIMENTAL

*Preparación del ácido 5-amino 8-quinolincarboxílico.*

Se obtuvo por reducción del ácido 5-nitro 8-quinolincarboxílico según el método de Breckenridge y Singer (11).

Las agujas amarilloverdosas obtenidas se cristalizaron tres veces de agua hasta constancia del punto de fusión (171°-172° C), coincidiendo éste exactamente, con el existente en la literatura.

*Valoración del ácido 5-amino 8-quinolincarboxílico.*

La presencia del grupo amino en la molécula nos indujo a suponer que la fijación de bromo en la misma, y por tanto una volumetría bromatómica, podría ser un método adecuado de valoración.

Como comprobación de estas suposiciones y con el fin de determinar el valor del equivalente del reactivo en la misma, realizamos las siguientes valoraciones con la técnica que a continuación reseñamos:

0,0495 grs. ( $2,94 \cdot 10^{-4}$  moles) del compuesto orgánico desecados a 110°-120° C, se disolvieron en 200 mls. de ácido clorhídrico 3N., se añadieron 20 mls. de solución 0'1008 N. en bromato potásico y se dejó en la oscuridad durante dos minutos. Pasado este tiempo se adicionaron 2 grs. de bromuro potásico, se agitó y se dejó en la oscuridad otros dos minutos. Posteriormente se añadieron 2 grs. de ioduro potásico, valorando el iodo liberado con tiosulfato sódico 0,0993 N. Se gastaron 10,25 mls. del mismo hasta el punto final (engrudo de almidón).

En esta valoración se ha invertido el orden de adición que corrientemente se sigue con respecto al bromuro y bromato potásicos. La causa es, que si se añade primero el bromato y luego, al cabo de un tiempo, el bromuro, no se producen los precipitados cristalino-sedosos que perturban el punto final de la volumetría, y que aparecen, si se añade bromato potásico sobre una solución que contiene producto orgánico y bromuro potásico.

El número de equivalentes de bromo fijados en la molécula es:

$$20 \cdot 0,1008 - 10,25 \cdot 0,0993 = 0,998 \text{ m. eq.}$$

$\frac{0,998}{0,249} = 4,00_8$ , es decir cada mol. de producto consume 4 equivalentes de bromo.

Se realizaron dos nuevas determinaciones:

1.<sup>a</sup> 0,0428 grs. (0,227 milimoles) de producto y 20 mls. de bromato potásico, gastaron 11,15 mls. de tiosulfato

$$20 \cdot 0,1008 - 11,15 \cdot 0,0993 = 0,909 \text{ m. eq.} \quad \frac{0,909}{0,227} = 4,00_4$$

2.<sup>a</sup> 0,0428 grs. (0,227 milimoles) de producto y 25 mls. de bromato potásico, gastaron 16,25 mls. de tiosulfato.

$$25 \cdot 0,1008 - 16,25 \cdot 0,0993 = 0,916 \text{ m. eq.} \quad \frac{0,916}{0,227} = 4,03$$

En esta última volumetría el punto final se determinó potenciométricamente.

*Solubilidad en agua del ácido 5-amino 8-quinolincarboxílico.*

Se prepararon muestras de la forma usual en estas determinaciones, que se mantuvieron durante dos días a 25° C.

Filtradas posteriormente se analizó en el filtrado el contenido en producto orgánico por el método anteriormente descrito, obteniendo los resultados que figuran en la tabla I.

TABLA I

mls. tomados de solución acuosa de [5A8Q]	mls. adicionados de BrO <sub>3</sub> K 0,0970 N	mls. gastados de S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> 0,0912 N	media mls. S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	grs. [5A8Q] en 1000 gr. de agua	moles de [5A8Q] en 1000 grs. de agua
100	25	22,75	22,77 <sub>5</sub>	0,163	8,7 · 10 <sup>-4</sup>
100	25	22,80			

*Determinación de la constante de disociación ácida K<sub>a</sub>.*

Se preparan seis mezclas del ácido orgánico e hidróxido sódico 0,0838 N con las cantidades de 5-amino 8-quinolincarboxílico, hidróxido sódico y volumen total que se reseñan en las columnas 2, 3 y 4 de la tabla II.

Semantuvieron a 25° C durante dos días, a fin de que se estableciera bien el equilibrio; se filtraron, se midió el pH de la solución transparente así obtenida y se valoró en ella, siguiendo la técnica anteriormente descrita,

el contenido total en ácido orgánico. Los valores de mls. de solución tomados, mls. de  $\text{BrO}_3\text{K}$  añadidos, mls. de tiosulfato sódico gastados y pH, se encuentran resumidos en las columnas 5, 6, 7 y 8 de la misma tabla II.

Con estos datos se calcularon los valores de  $m_r$ ,  $m_b = \mu$ ,  $A\sqrt{\mu}$ ,  $\text{pH} - \lg \frac{m_b}{m_r - m_b} + A\sqrt{\mu}$ , que figuran en la tabla III, y que representados gráficamente en la Fig. 1, permiten extrapolar para  $\mu = 0$ , un valor de  $\text{pK}_a$  de 8,46 con lo que

$$-\lg K_a = 8,46 \quad \lg K_a = 9,54 \quad K_a = 3,5 \cdot 10^{-9}$$

TABLA II

Puntos	grs. de producto orgánico	mls. de NaOH 0,0883N	volumen total solución	mls tomados de filtrado		mls. de $\text{BrO}_3\text{K}$ 0,1070N adicionados		mls de $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_3$ 0,0901 adicionados		pH
				1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	
1	0.1204	5	100	50	40	25	25	18.20	20.45	9.16
2	0.2325	15	"	25	20	"	"	18.50	20.70	9.38
3	0.3319	20	"	20	20	"	"	17.00	17.00	9.59
4	0.4634	25	"	20	20	"	"	13.10	13.00	9.76
5	0.5389	30	"	10	10	"	"	19.20	19.30	9.85
6	0.6235	35	"	10	10	"	"	17.05	17.05	9.91

TABLA III

Puntos	$m_r$ moles / 1000 gr. $\cdot 10^3$	$m_b = \mu$ moles / 1000 gr. $\text{H}_2\text{O}$ $\cdot 10^3$	$A\sqrt{\mu}$	$\text{pH} - \lg \frac{m_b}{m_r - m_b} + A\sqrt{\mu}$
1	5.20	4.20	0.033	8.57
2	10.18	8.40	0.046	8.74
3	14.13	12.57	0.057	8.78
4	18.74	16.81	0.066	8.90
5	23.58	21.01	0.074	9.01
6	28.53	25.14	0.080	9.11

Determinante de la constante de disociación básica  $K_b$

El ácido 5-amino 8-quinolincarboxílico, posee dos grupos básicos, el  $-\text{NH}_2$  del grupo amino y el N del anillo piridínico.

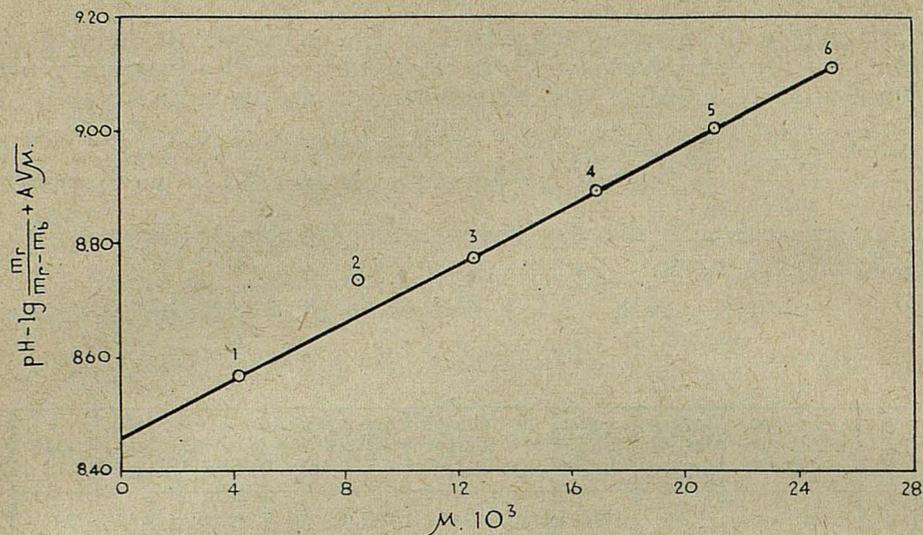
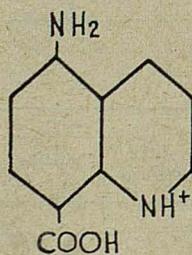
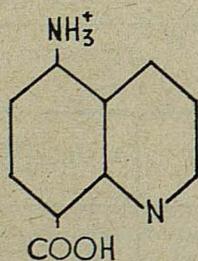
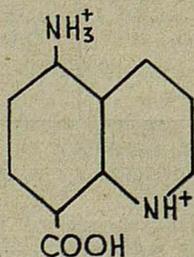


FIG. 1

En principio ambos grupos deben poseer aproximadamente el mismo carácter básico y como consecuencia de ello en una solución que contenga cationes de este compuesto orgánico debemos suponer la existencia de los dos tipos siguientes:



cada uno con su correspondiente constante de disociación ( $K_{b1}$  y  $K_{b2}$  respectivamente). Posteriormente estos cationes monocargados pueden formar, por captación de otro protón en el grupo aun libre, el catión dibásico:



El método de medida de  $K_b$  que vamos a emplear se puede utilizar para obtener la primera constante de disociación de una base dibásica, si la relación: Primera constante de disociación/segunda constante de disociación es  $\gg 10^3$ .

Vamos a suponer que esto sucede en este caso particular, pues evidentemente la creación del catión monovalente debe obstaculizar la entrada del segundo protón en el otro grupo. De todas formas los resultados que obtenemos comprobarán esta hipótesis y el valor de la primera constante que así determinemos será la suma de  $K_{b1}$  y  $K_{b2}$ , pues ambas disociaciones estarán presentes en el medio.

La ecuación utilizada para el cálculo de  $K_b$  es:

$$pOH + \lg \frac{m_r - B}{B} + A \sqrt{\mu} = pK_b + C\mu$$

en la que  $B = m_a - m_{H^+}$ , siendo  $m_a$  la molalidad en ácido monobásico adicionado,  $m_{H^+}$  la molalidad en iones hidrógeno y  $m_r$ , la molalidad total en compuesto orgánico.

PARTE EXPERIMENTAL

Se prepararon seis mezclas de 5-amino 8-quinolincarboxílico con las cantidades de compuesto orgánico, ácido clorhídrico y volumen final que se reseñan en las columnas 2, 3 y 4 de la tabla IV.

Se mantuvieron durante tres días a 25° C y se filtraron. En el filtrado se midió el pH (columna 8 de la tabla IV) y se analizó por el método ya descrito la concentración en compuesto orgánico. Los mls. tomados, los adi-

TABLA IV

Expe- riencia	grs de producto orgánico	mls de ClH 0.1075N	Volumen total de solución	mls tomados de filtrado		mls adiciona- dos de BrO <sub>3</sub> K 0.1070N		mls gastados de S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> 0.0952N		pH
				1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	
1	0.1205	5	100	50	—	25	—	23.30	—	2.35
2	0.2230	10	"	40	40	"	25	21.75	21.75	2.04
3	0.3261	15	"	25	25	"	"	22.30	22.30	1.88
4	0.4398	20	"	20	20	"	"	21.25	21.25	1.77
5	0.5508	25	"	20	20	"	"	20.15	20.15	1.68
6	0.6612	30	"	10	10	"	"	23.15	23.15	1.61

cionados de bromato potásico y los gastados de tiosulfato sódico hasta el punto final de las volumetrías, aparecen en las columnas 5, 6 y 7 de la misma tabla IV. Con ellos se calcularon los valores de  $m_r$ ,  $m_a$ ,  $m_{H^+}$ ,  $A\sqrt{\mu}$  y  $pOH + \lg \frac{m_r - B}{B} + A\sqrt{\mu}$  que figuran en la tabla V, haciendo para ello las aproximaciones adecuadas y que ya hemos descrito en otro trabajo de uno de nosotros (12).

Representando gráficamente  $pOH + \lg \frac{m_r - B}{B} + A\sqrt{\mu}$  contra  $\mu = m_a$ , resulta la recta de la Fig. 2, que extrapolada a  $\mu = 0$  da para  $K_b$  el valor  $2,7 \cdot 10^{-13}$ .

$$pK_b = 12,57 \quad -\lg K_b = 12,57 \quad \lg K_b = \overline{13,43}$$

TABLA V

Expe- riencia	$m_r$ moles / $\cdot 10^3$ 1000gr.	$\mu = m_a$ moles / $\cdot 10^3$ 1000gr.	$m_{H^+}$ moles / $\cdot 10^3$ 1000gr.	$A\sqrt{\mu}$	$pOH + \lg \frac{m_r - B}{B} + A\sqrt{\mu}$
1	2.29	5.39	4.81	0.04	12.16
2	3.38	10.78	10.08	0.05	12.66
3	5.52	16.17	14.85	0.06	12.69
4	8.12	21.56	19.41	0.07	12.75
5	9.49	26.96	24.17	0.08	12.78
6	11.78	32.35	28.69	0.09	12.83

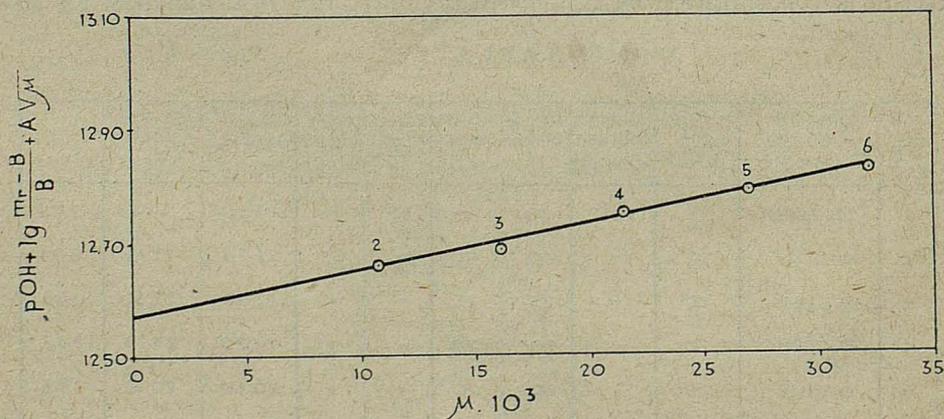


FIG. 2

El punto 1, no se empleó en esta representación porque como se observa en la tabla V da un valor anómalo que se va completamente fuera de la recta. Puede ser debido a un error en el análisis que no se pudo comprobar al no disponer de cantidad suficiente de líquido, y como los demás puntos determinan evidentemente una recta, no lo repetimos.

El resultado obtenido nos comprueba la suposición inicial sobre la relación de las constantes primera y segunda de disociación.

FACULTAD DE CIENCIAS  
DE ZARAGOZA

BIBLIOGRAFIA

(1) Medida de conductividades:

- MacInnes y Shedlovsky. — *J. Am. Chem. Soc.* **54**, 1429 (1932).  
 B. Saxton y Takanger. — *J. Am. Chem. Soc.* **55**, 3638-45 (1933).  
 Brockman y Kilpatrick. — *J. Am. Chem. Soc.* **56**, 1483-6 (1934).  
 Saxton y Niecer. — *J. Am. Chem. Soc.* — **56**, 1918-20 (1934).  
 Jeffery y Vogel. — *Phil. Mag.* **18**, 901-9 (1934).  
 Jeffery y Vogel. — *J. Chem. Soc.* 21-30 (1935).  
 MacInnes y Shedlovsky. — *J. Am. Chem. Soc.* **57**, 1705 (1935).  
 Saxton y Waters. — *J. Am. Chem. Soc.* **59**, 1048-9 (1937).  
 Martín y Tartar. — *J. Am. Chem. Soc.* **59**, 2672-5 (1937).  
 Belcher. — *J. Am. Chem. Soc.* **60**, 1744-7 (1938).  
 Philpot, Rhodes y Davies. — *J. Chem. Soc.* 84-7 (1940).  
 Darken. — *J. Am. Chem. Soc.* **63**, 1007-11 (1941).  
 Ives y James. — *J. Chem. Soc.* 511-13 (1943).

(2) Medida de F. E. M. de pilas sin transporte:

- Hardned y Ehlers. — *J. Am. Chem. Soc.* **54**, 1350-7 (1932).  
 Adell. — *Z. physik. Chem.* **187 A**, 66-78 (1940).  
 Hamer, Burton y Acree. — *J. Research. Nt. Bur. Standards.* **24**, 269-92 (1940).  
 Abichandini y Jactkar. — *J. Ind. Inst. Sci.* **23 A**, 77-90 (1941).  
 Abichandini y Jactkar. — *J. Ind. Inst. Sci.* **23 A**, 99-130 (1941).  
 Adell. — *Svensk. Kem. Tid.* **53**, 89-98 (1941).  
 Bates, Siegel y Acree. — *J. Research. Nt. Bur. Standards.* **30**, 347-69 (1943).  
 Bates, Siegel y Acree. — *J. Research. Nt. Bur. Standards.* **31**, 205-31 (1943).  
 Kilpatrick y Eanes. — *J. Am. Chem. Soc.* **65**, 589-90 (1943).  
 Hamer y Acree. — *J. Research. Nt. Bur. Standards.* **35**, 381-416 (1945).  
 Hamer Pinching y Acree. — *J. Research. Nt. Bur. Standards.* **35**, 539-64 (1945).  
 Pinching y Bates. — *J. Research. Nt. Bur. Standards.* **40**, 405-16 (1948).  
 Bates. — *J. Am. Chem. Soc.* **70**, 1579-84 (1948).  
 Bates, Pinching. — *J. Research. Nt. Bur. Standards.* **43**, 519-26 (1949).  
 Bates y Pinching. — *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 1274-83 (1949).  
 Bates. — *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 2259-61 (1951).

(3) Medidas potenciométricas de pH:

- Walpole. — *J. Chem. Soc.* **105**, 2501-21 (1914).  
 Wesley, Coeker y Harris. — *J. Chem. Soc.* 1290-5 (1940).  
 MacComas y Rieman. — *J. Am. Chem. Soc.* **64**, 2948-9 (1942).  
 Pressman y Brown. — *J. Am. Chem. Soc.* **65**, 540-3 (1943).  
 Sarie y Schofield. — *Proc. Roy. Soc.* **185 A**, 431-47 (1946).

(4) **Medidas directas e indirectas de solubilidades en mezclas tampón:**

- Datta y Dhar. — *J. Chem. Soc.* **107**, 824-7 (1915).  
 Dhar. — *Z. anorg. allgen. Chem.* **153**, 323-31 (1926).  
 Bhagwat. — *J. Indian. Chem. Soc.* **21**, 167-70 (1944).  
 Krebs y Speakman. — *J. Chem. Soc.* 593-5 (1945).  
 Shilbot y Bhagwat. — *J. Indian. Chem. Soc.* **22**, 13-14 (1945).  
 Beale y Liberman. — *J. Chem. Soc.* 287-90 (1950).

(5) **Métodos espectrofotométricos y colorimétricos:**

- Stenstrom y Goldsmiht. — *J. Phys. Chem.* **30**, 1683-7 (1926).  
 Von Halban Kortüm. — *Z. physik. Chem.* **170 A**, 351-79 (1934).  
 Von Halban, Kortüm y Seiler. — *Z. physik. Chem.* **173 A**, 449 (1935).  
 Flexer, Hammet y Dingwall. — *J. Am. Chem. Soc.* **57**, 2103 (1935).  
 Minnick y Kilpatrick. — *J. Phys. Chem.* **43**, 259-74 (1939).  
 Sager, Schvoley, Carr y Acree. — *J. Research. Nt. Bur. Standards.* **35**, 521-38 (1941).  
 Stuckey. — *Quart. J. Pharm. Pharmacol.* **15**, 370-6 (1942).  
 Michaelis y Granick. — *J. Amer. Chem. Soc.* **64**, 1861-5 (1942).  
 Von Halban y Brüll. — *Helv. Chim. Acta.* **27**, 1719-27 (1944).  
 Stone y Friedman. — *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 209-11 (1947).  
 Irvin y Irvin. — *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 1091-9 (1947).  
 Stearns y Wheland. — *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 2025-9 (1947).  
 Phillips y Merrit. — *J. Am. Chem. Soc.* **70**, 410-11 (1948).  
 Hudghes, Jellinek y Ambrose. — *J. Phys. Colloid Chem.* **53**, 414-23 (1949).  
 Irvin, Ewart y Wilson. — *J. Chem. Soc.* 2672-4 (1949).  
 King y Hirt. — *Appl. Spectroscopy.* **7**, 164-6 (1953).  
 Sprengling y Lewis. — *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 5709-11 (1953).  
 Evans, Herington y Kynaston. — *Trans. Faraday Soc.* **49**, 1284-92 (1953).  
 Rosenblatt. — *J. Phys. Chem.* **58**, 40-2 (1954).  
 Vanderbelt, Henrich y Vanderberg. — *Anal. Chem.* **26**, 726-7 (1954).

(6) **Medida de efectos catalíticos:**

- Weissberger. — *J. Am. Chem. Soc.* **65**, 245-6 (1943).  
 King y Marion. — *J. Am. Chem. Soc.* **66**, 977-80 (1944).  
 Guiliano y Hill. — *J. Am. Chem. Soc.* **68**, 2359-62 (1946).

(7) **Métodos polarográficos:**

- Furman y Bricker. — *J. Am. Chem. Soc.* **64**, 660-8 (1942).  
 Pag y Robinson. — *J. Chem. Soc.* 133-5 (1943).

(8) **Acción inhibitoria de bacterias:**

- Rahn. — *J. Bact.* **50**, 655-9 (1945).

(8) **Determinaciones de coeficientes de reparto:**

- Golumbu, Orchin y Weller. — *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 2624-7 (1949).

(10) **Determinaciones crioscópicas:**

- Souchay y Schaal. — *Bull. Soc. Chim. France.* 819-24 (1950).

- (11) J. G. Breckenridge y A. S. G. Singer. — *Can J. Research.* **26 B.** — 49-55 (1947).

- (12) F. Gómez Beltrán. — *Rev. de la Acad. de Ciencias de Zaragoza.* — Tomo IX. Fascículo 1, Serie 2.<sup>a</sup> (1954).

# MACROGRAFIAS ELECTROGRAFICAS

por JULIAN BERNAL NIEVAS, M.<sup>ca</sup> PILAR PUEBLA REMACHA, y FERMIN GOMEZ BELTRAN

## INTRODUCCION

La solución anódica diferencial de una aleación, y la subsiguiente fijación de los iones producidos sobre un trozo de papel impregnado en el reactivo químico adecuado, constituye un método de reproducción macrográfica muy útil en productos metalúrgicos, pues, a la vez que pone de manifiesto la existencia de un determinado componente de la aleación, permite situar topográficamente su posición en la superficie de la pieza analizada.

Con esta técnica se puede estudiar la estructura gruesa de piezas metálicas, ya que se ponen de relieve, no sólo la distinta composición estructural de las fases que las forman, sino también las líneas de tensión y deformaciones debidas al trabajo mecánico. En estos hechos se funda la técnica de reproducción electrográfica.

Siempre que en una superficie existan áreas que se diferencien en su tensión de disolución bajo un potencial aplicado, se podrá producir una impresión de las mismas por disolución anódica. Debido a diferentes causas, entre las que se pueden nombrar la distinta composición de los elementos estructurales, su orientación, su tamaño y deformaciones presentes, cuando una superficie plana de una pieza metálica se somete a la acción de un potencial positivo, emite distinta cantidad de iones en cada una de las zonas que presentan alguna de las diferencias anteriormente nombradas. Si estos iones van a parar a un electrólito conteniendo un anión que forma con ellos un compuesto insoluble y coloreado, aparecerán frente a cada zona, precipitados de distinta intensidad de color, que si se fijan sobre un soporte, producirán una impresión, réplica fiel de las irregularidades, existentes en la pieza empleada.

La electrografía se diferencia de las técnicas macrográficas ordinarias por el tipo de reactivo empleado en el ataque superficial y por el método de observación posterior del mismo.

El reactivo químico de la macrografía ordinaria se sustituye por el voltaje aplicado, y la corrosión diferencial observada microscópicamente por la impresión sobre papel; siendo precisamente en la segunda de estas diferencias, donde reside la mayor utilidad de la Electrografía.

La observación microscópica de una pieza atacada, pone de manifiesto solamente una parte de la superficie total de la misma y necesita, para dejar

constancia de ello, el empleo de técnicas fotográficas. Esto supone, en la mayoría de los casos, cierta lentitud en la observación y clasificación de los resultados obtenidos. Sin embargo, con la disolución y fijación electrográficas, se obtiene en pocos minutos y en una sola operación, la reproducción de la superficie total de la pieza empleada, así como una copia de las diferencias de estructura existentes en la misma.

A pesar de su indudable interés, no ha sido muy extensa la atención dedicada a este tipo de técnica macrográfica, pero los pocos trabajos existentes son aportaciones reveladoras de las múltiples aplicaciones que puede tener.

En 1929, GLAZUNOV (1), publica la primera nota conocida sobre la aplicación de la técnica electrográfica a hierros y aceros. Usa ferrocianuro potásico como electrólito y obtiene impresiones que recuerdan, por la distinta densidad de color en sus diferentes zonas, la estructura superficial de la misma pieza atacada por agentes químicos. Las áreas más oscuras, representan zonas más atacadas en la macrografía ordinaria, y así, obtiene regiones muy densas de precipitado frente al hierro magnético y casi incoloras para acero perlítico.

JIMENO, BERNAL e IBARZ (2), llaman la atención, en 1932, sobre el hecho de que las condiciones de tensión influyen el potencial de disolución, y presentan en su trabajo reproducciones muy claras de piezas de fundición y acero inoxidable, que ponen de manifiesto irregularidades estructurales, agujeros, fibrosidad y estructuras de flujo análogas a las que se observan en el examen macrográfico.

AMMERMANN (3), KRUSKA (4) y BERNAL y MATEO (5), presentan estudios sobre la determinación de condiciones experimentales de producción y fijación de distintos tipos de productos metalúrgicos.

En todas las comunicaciones nombradas, los autores dan las normas operatorias mediante las que obtienen las reproducciones presentadas y las condiciones de voltaje, intensidad de corriente, características del papel empleado, concentración de electrólito y tiempo de impresión.

Así, GLAZUNOV (6), para la electrografía de hierro, postula la utilización de ferrocianuro potásico envejecida, o con unas gotas de peróxido de hidrógeno. Emplea un voltaje de uno a dos voltios, utilizando cátodo de aluminio o acero inoxidable, y mantiene el paso de corriente por el bloque formado por el cátodo, papel de impresión y pieza durante tiempos que varían de 15 segundos a varios minutos.

AMMERMANN (3), establece que los mismos resultados se obtienen con soluciones de ferricianuro potásico, empleando análogos voltajes y tiempos. De esta forma, consigue la inmediata tinción del papel, sin necesidad de esperar después de la impresión, a que aparezca el color.

JIMENO, BERNAL e IBARZ (2), usan ferrocianuro potásico sin ferricianuro y mantienen que es superior a este último, pues las áreas más electropositivas tienden a dar iones férricos que no se fijan con el ferricianuro. Utilizan y postulan como más conveniente el papel encolado de tipo cartulina y emplean voltajes de 2 a 4 voltios.

BERNAL y MATEO (5), realizan un estudio extenso de fijación de líneas de tensión en hierro y concluyen, después del examen gradual de las variables operatorias, que las mejores reproducciones se obtienen cuando se emplea como electrólito solución 1 ó 2 N. de ferrocianuro potásico, conteniendo cola o gelatina en una concentración del 1 por mil. Utilizan voltajes de 2 a 3 voltios, densidades de corriente de 50mAmp. por decímetro cuadrado y un tiempo de impresión de 5 minutos.

En un principio, del examen de todos los datos anteriores, parece deducirse la existencia de puntos de vista distintos con respecto a las condiciones operatorias, pero en realidad, tales diferencias no son tan grandes como parece.

Así, p. ej., un punto de vista sobre el que difieren los autores, es el de las condiciones eléctricas de disolución. Ahora bien, suponemos que los diferentes voltajes empleados son debidos a la necesidad de hacer pasar corriente eléctrica por un sistema en que el contacto entre el medio de impresión y pieza es más o menos perfecto, en vez del distinto comportamiento de las probetas empleadas con respecto a la parte eléctrica del proceso. Fundamentalmente, creemos que las diferencias observadas se deben a los detalles mecánicos de la operación, pues es evidente, que con menor voltaje se podrá conseguir un rendimiento mayor en la disolución, si la unión existente entre cátodo, papel y pieza, es lo suficientemente buena y uniforme para que la resistencia opuesta al paso de corriente sea pequeña.

Inducidos por estos razonamientos, pretendemos comprobar, dentro de los límites en que nos sea posible, la influencia que tienen sobre la perfección de las reproducciones, los detalles mecánicos del proceso y que consideramos más incontrolables que las condiciones eléctricas.

Antes de ello, como fase previa, describiremos brevemente el material y manipulaciones empleadas en la obtención de las electrografías y que hemos deducido, parte del trabajo experimental de los distintos autores y parte de nuestras propias experiencias.

## PARTE EXPERIMENTAL

### 1.º MATERIAL

*Pieza.*—La pieza utilizada en todas nuestras experiencias, fué un trozo de remache ya empleado por JIMENO, BERNAL e IBARZ, y que elegimos por las claras líneas de tensión que posee, pues ello nos permitió controlar fácilmente la perfección de las impresiones producidas.

*Electrólito.*—A pesar de que la disolución del hierro se producirá fundamentalmente en forma de iones ferrosos, creemos más conveniente emplear ferrocianuro potásico que ferricianuro, pues este último debido a su

carácter oxidante, puede atacar al ánodo, y la disolución electrográfica será una mezcla de corrosión eléctrica y química. Por ello, elegimos como electrolito solución de ferrocianuro potásico 1 N.

*Papel de impresión.*—Escogimos papel fotográfico de la marca Agfa Lupex, extraduro y de un espesor de 0,2 mm. y le eliminamos los haluros de plata, manteniéndolo durante doce horas dentro de una solución de tiosulfato sódico.

Esta elección se basa en el hecho, de que el carácter amorfo de la gelatina que lo cubre, evita la influencia de la estructura fibrosa del papel. Esta fibrosidad hace perder detalle, como comprueban JIMENO, BERNAL e IBARZ (2), pues consiguen con papel fotográfico reproducciones muy detalladas de aceros al cromo-níquel, que no podían obtener con la cartulina corrientemente utilizada en sus otros ensayos.

Además, en apoyo de lo mismo, está el empleo cada vez mayor, en análisis electrográficos cualitativos y cuantitativos de inclusiones metálicas, del papel de imbibición de la casa Eastman-Kodak. Tal papel, no es otra cosa que papel fotográfico sin sales de plata.

*Cátodo.*—Empleamos una lámina plana de aluminio de 1 mm. de espesor y 12×18 cm. de superficie.

*Prensa.*—A fin de conseguir un buen contacto entre cátodo, papel y ánodo, utilizamos la presión de una prensa tipo Bühler, convenientemente modificada.

## 2.º MANIPULACIÓN.

*Preparación de la pieza.*—En la probeta elegida y como fase previa, es necesario producir dos superficies planas y lo más paralelas entre sí que se pueda, pues es la condición fundamental para obtener un contacto íntimo y uniforme en toda la superficie del trozo metálico. Si tal contacto no se crea, aparecerán imprecisiones parciales en la misma, o bien distintamente precisas por zonas.

Conseguirlo, es uno de los mayores problemas que presenta la técnica, y en la mayor parte de los casos no se logra totalmente. Sin embargo, se puede paliar algo la divergencia de las superficies, introduciendo entre piezas y prensa, gran número de hojas de papel de estaño, que se adaptan, al presionar, a la forma de la pieza e igualan las diferencias de altura existentes en la misma.

De las dos superficies creadas, la que va a disolverse en contacto con el papel, se pulió hasta esmeril del 000 y la otra se desbastó con lija a fin de eliminar las irregularidades más pronunciadas.

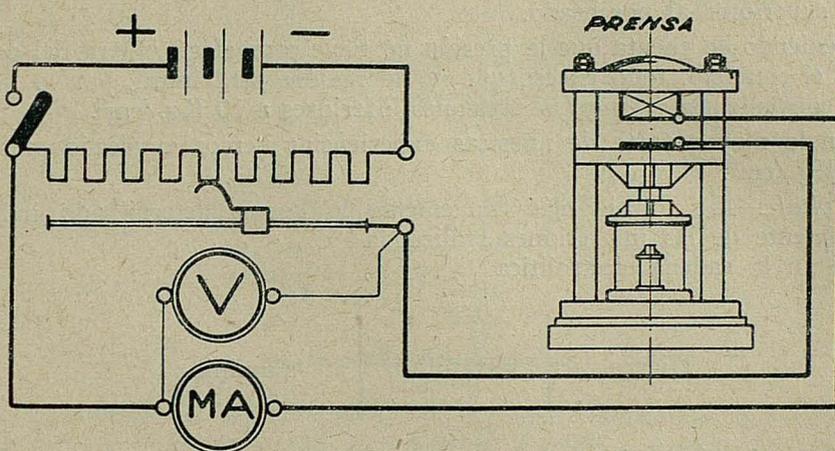
*Preparación del papel de impresión.*—El papel fotográfico se mantuvo a remojo, dentro de la solución de electrolito, durante 24 horas.

Inmediatamente antes de emplearlo, se escurría para eliminar la mayor parte del líquido y se dejaba secar al aire un minuto. Con estas últimas operaciones, se conseguía que quedase en él la cantidad de electrolito sufi-

ciente para la impresión, y se evitaba, al no estar muy mojado, que el ferrocianuro ferroso formado después de la solución de la pieza, precipitase en la capa de líquido existente entre ella y la gelatina. Cuando esto último sucede, la imagen formada desaparece en el lavado posterior del papel, ya que no está fija al mismo.

*Impresión.*—Se colocaban en la prensa, uno sobre otro, cátodo, papel, pieza y hojas de estaño. Se comprimía hasta la presión adecuada y se conectaba la f. e. m. a cátodo y ánodo, manteniendo el peso de corriente durante el tiempo conveniente

A fin de conseguir los distintos voltajes, empleábamos el siguiente montaje eléctrico:



- B = Batería de tres acumuladores ácidos en serie.  
 R = Reostatos de 50 ohmios.  
 V = Voltímetros de 0 — 5 voltios (dividido en 0,1 volt.).  
 A = Miliamperímetro 0 a 150 mAmp. (dividido en mAps).

Una vez transcurrido el tiempo necesario para la producción de la imagen, se desmontaba el papel, se lavaba en una cubeta con agua y se dejaba secar. El lavado es necesario para eliminar el ferrocianuro potásico que lleva embebido y que a la larga da color azul a todo el papel.

Por lo general las electrografías, inmediatamente después de su producción, tienen poco color. Esto es debido a que la mayor parte del hierro se ha disuelto en forma ferrosa y el precipitado formado es blanco. Dejándolas al aire azulean lentamente. Ahora bien, si se desea que el color aparezca rápidamente, se puede favorecer la oxidación a ferrocianuro férrico "revelándolas" con una solución diluida de agua oxigenada. (Unas pocas gotas de la de 30 volúmenes en 100 mls. de agua).

Hemos observado, que si se emplea para oxidar una solución algo concentrada en peróxido de hidrógeno, en vez de obtenerse una intensificación del color, se desvanece el poco existente. La razón será posiblemente la oxidación simultánea de ferrocianuro a ferricianuro.

3.º CONDICIONES MECÁNICAS Y ELÉCTRICAS DE IMPRESIÓN.

*Presión.*—Hemos realizado electrografías con presiones variables comprendidas entre 5 y 80 Kg./cm<sup>2</sup>. De todas hemos podido deducir que las presiones elevadas no son convenientes.

La resistencia mecánica de la gelatina que recubre el papel no es muy grande, y en la mayoría de los casos, cuando la presión es superior a 10 Kg./cm<sup>2</sup>, la pieza se incrusta en ella, rompiéndola al separarla.

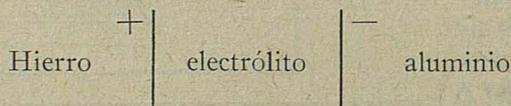
Por otra parte, hemos comprobado que las presiones superiores a 10 Kg./cm<sup>2</sup>, no mejoran apreciablemente el contacto entre las partes del circuito, pues la intensidad de corriente no crece casi con la presión para valores superiores al nombrado.

Teniendo en cuenta que la presión no tiene otro efecto, fuera del de mejorar el contacto, todo exceso que no lo mejore será inútil, por lo que se ve la conveniencia de emplear presiones inferiores a 10 Kg./cm<sup>2</sup>.

En la mayor parte de nuestras experiencias hemos empleado presiones de 5 Kg./cm<sup>2</sup>.

*Voltaje.*—El voltaje más conveniente lo hemos determinado independientemente de las impresiones realizadas.

Si en la cadena electrolítica



aplicamos el polo positivo a la pieza y el negativo al aluminio, pasará corriente y por tanto se disolverá el ánodo, cuando se venza la f. c. e. m. de la pila formada.

En el electrolito existen iones ferrosos, procedentes de la disociación del ferrocianuro potásico, por lo que en el electrodo de hierro, se creará un polo positivo y un potencial que se opondrá al voltaje exterior. Igualmente en el cátodo de aluminio aparecerá un electrodo de hidrógeno que realizará una oposición análoga. Por ello para que pase corriente de la pieza al aluminio, es necesario aplicar una f. e. m. superior a la interior. En cuanto se cumpla esta condición, se disolverá hierro en forma de iones ferrosos y la intensidad de corriente circulante, será proporcional a la cantidad de iones producidos por unidad de tiempo.

Si el voltaje exterior crece, la intensidad de corriente lo hará igual y por tanto la rapidez de la disolución anódica.

Experimentalmente, hemos comprobado estas suposiciones, midiendo la curva corriente voltaje para el electrolito utilizado.

En una cubeta de electrolisis, colocamos dos electrodos de 25 cm<sup>2</sup> de superficie. Uno de ellos de hierro y el otro de aluminio. Llena la cubeta con solución 1 N. de ferrocianuro potásico, se fueron aplicando voltajes

crecientes al sistema (positivo al aluminio, negativo al hierro), midiendo en cada uno la intensidad de corriente circulante. Los valores obtenidos se representan en la tabla I.

Todos los valores de intensidad se mantuvieron perfectamente estables con el tiempo.

T A B L A   I

Voltios	mAmp.
0	negativos
0,1	—1
0,2	—0,75
0,3	—0,5
0,4	—0,25
0,5	+0,25
0,6	+0,7
0,7	+1,0
0,8	+2,0
0,9	+3,0
1,0	+5,0
1,1	+7,0
1,2	+10,0
1,3	+15,0
1,4	+24,0
1,5	+38,0
1,6	+57

De la observación de los valores de la tabla I se deduce que para un voltaje comprendido entre 0,4 y 0,5 voltios, comienza el paso de corriente del hierro al aluminio, o sea, que comienza a disolverse el hierro. Por ello, toda diferencia de potencial igual o superior a 0,5 voltios, producirá una impresión electrográfica.

En la experiencia realizada para obtener los valores de la tabla I, se produce desprendimiento violento del hidrógeno gaseosos a 1,4 voltios, luego a partir de este valor, la intensidad de corriente se utilizará en gran parte en su producción y por tanto el rendimiento en la disolución del hierro, será menor que para voltajes comprendidos entre 0,5 y 1,4 voltios. Como el tiempo de impresión es función de la intensidad de corriente, su determinación será imprecisa a voltajes superiores a 1,4 voltios. Por todo ello, se pueden considerar más convenientes los voltajes comprendidos entre 0,5 y 1,4 voltios.

*Intensidad de corriente.*—La intensidad de corriente es función del voltaje, para unas condiciones determinadas de concentración del electrolito y para una presión fija.

Se puede modificar introduciendo resistencias adicionales en el circuito, pero, como nunca tiene un valor elevado, salvo si se utilizan voltajes muy grandes, no conviene disminuirla.

En ninguna de nuestras experiencias, hemos modificado la intensidad

que circulaba y que era debida a las condiciones bajo las que se realizaba la impresión.

*Tiempo de disolución.*—Lógicamente, el tiempo de contacto será función de la intensidad de corriente que circula.

La determinación del tiempo de impresión, debe realizarse de forma empírica, pero se puede deducir con cierta aproximación, teóricamente, su valor.

En nuestras experiencias, operando con la técnica descrita, bajo una presión de 5 Kg./cm<sup>2</sup>, pasan 4 mAmp. para un voltaje de 1,3 voltios (máximo valor para el que no existe desprendimiento tumultuoso de hidrógeno). La superficie de la pieza empleada es de unos 9 cm<sup>2</sup>, luego circula una densidad de corriente de 0,44 mAmp./cm<sup>2</sup>. Estos miliamperios, corresponden a  $0,44 \cdot 10^{-3} \cdot \frac{55,8}{2.96500} = 0,12$  microgramos de hierro disueltos por segundo en cada cm<sup>2</sup> de la superficie de la probeta.

Según YAGODA (7), quien ha realizado trabajos sobre determinación electrográfica de iones metálicos en plantas y tejidos animales, basta una solución de 20 microgramos/cm<sup>2</sup> de cualquier ión metálico para producir una impresión visible. Este valor, sin embargo, no se puede tomar como general, pues dependerá de la sensibilidad del reactivo empleado en la fijación del ión metálico disuelto.

Si lo consideramos aceptable en nuestro caso, se deduce que, en un tiempo de  $20/0,12 = 166$  segundos, debe producirse una imagen visible.

Experimentalmente, al emplear este tiempo con un voltaje de 1,3 voltios, la figura resultante fué una mancha azul sin detalle, lo que nos llevó a la conclusión de que el valor de 20 microgramos/cm<sup>2</sup> es excesivo en un precipitado de ferrocianuro férrico, que al final es lo que existe en nuestro caso.

Un tiempo de 35 segundos resultó ser suficiente, lo que nos indica que unos cinco microgramos de hierro por cm<sup>2</sup> son suficientes para producir una impresión visible en el papel empleado.

En apoyo de este último valor está el hecho de que el ferrocianuro produce reacciones coloreadas visibles, a la gota, con 0,1 microgramos de iones férricos.

Una vez conocida la intensidad de corriente, la determinación del tiempo de impresión es sencilla, como puede verse en lo que antecede. Es casi seguro, que se localizará su verdadero valor a las dos o tres reproducciones realizadas, después del valor deducido a partir de la intensidad que circula a cualquier voltaje comprendido entre 0,5 y 1,4 voltios.

#### 4.º ELECTROGRAFÍAS.

Siguiendo las manipulaciones descritas, y utilizando distintos valores de voltaje (aunque siempre entre 0,5 y 1,4 volt.), hemos realizado más de 60 reproducciones de la misma pieza.

De entre todas, hemos elegido las que aparecen en la Fig. 1, porque nos van a servir como prueba de que el voltaje (variable eléctrica más importante), influye de forma muy relativa y más bien indirectamente que por su propia acción.

Las condiciones en que se realizaron estas tres electrografías son las siguientes:

I.	0,6 volt. ....	5 Kg./cm <sup>2</sup> .....	4 minutos
II.	0,8 volt. ....	" .....	70 segundos
III.	1,3 volt. ....	" .....	35 segundos

Las intensidades respectivas fueron de 4 mAmp. en la III, 2 mAmp. en la II y 0,5 mAmp. en la I. (Fig. 1).

En las tres pueden observarse las mismas líneas de tensión, luego la disolución diferencial se ha producido en forma análoga. Ahora bien, mientras en la núm. I presenta pocas líneas de tensión, la cantidad de ellas crece con el voltaje, como se ve en la II y III.

Este hecho nos lleva a preferir, para la realización práctica de las impresiones, los voltajes bajos.

Si existen pocas líneas de tensión, están muy separadas y por tanto se pueden obtener impresiones más intensas en color, sin peligro de que se emborrone la reproducción. Si a ello adicionamos, que al emplear voltajes más bajos el tiempo de contacto sube, se comprenderá que sea más conveniente un voltaje bajo, ya que permitirá controlar más fácilmente el tiempo de impresión e intensificar, si se desea, el color de las mismas, pues un exceso de unos segundos en el paso de corriente nunca emborronará toda la superficie como puede suceder fácilmente a voltajes altos.

Se puede utilizar en realidad cualquier voltaje, ahora bien, son más convenientes los valores bajos porque permiten el control de la operación con más facilidad.

De la distinta precisión obtenida en todas nuestras reproducciones hemos podido deducir el hecho, apuntado en el capítulo de *preparación de la pieza*, de que es el paralelismo de las superficies de la misma uno de los factores que más influyen. Todas las zonas de una pieza difícilmente se han reproducido con la misma exactitud y muchas veces bastaba cambiar de posición la probeta para que la distribución de precisión en la superficie de la reproducción cambiase completamente. Por otra parte, si las superficies no son paralelas, el aumento de presión perjudica, más bien que favorece, la uniformidad del contacto entre superficie de la pieza y papel.

Igualmente, otro de los factores cuya influencia es decisiva en la obtención de una buena reproducción, en la clase de papel fotográfico empleado.

Cierto número de impresiones las hemos realizado en un papel fotográfico que teníamos en el laboratorio y cuya marca no conocemos. Las electrografías IV y V de la Fig. 2 han sido realizadas en él en las mismas condiciones de voltaje, presión y tiempo que las I y III de la Fig. 1. En ellas

se observa que las líneas casi no existen y están como formadas por puntos. La precisión en el dibujo es prácticamente nula.

La resistencia eléctrica de ambos papeles es prácticamente igual, pues circula la misma intensidad de corriente por un papel que por otro para el mismo voltaje aplicado. Su espesor es el mismo, luego la causa de lo que pudiéramos llamar su poca resolución, reside en la estructura del papel o en la de la gelatina. Posiblemente, el punteado pueda ser debido a la poca uniformidad de la capa de gelatina.

De todas formas, sea cual sea la causa, con unas pocas pruebas puede deducirse en seguida la mayor o menor utilidad de un papel determinado.

## CONCLUSION

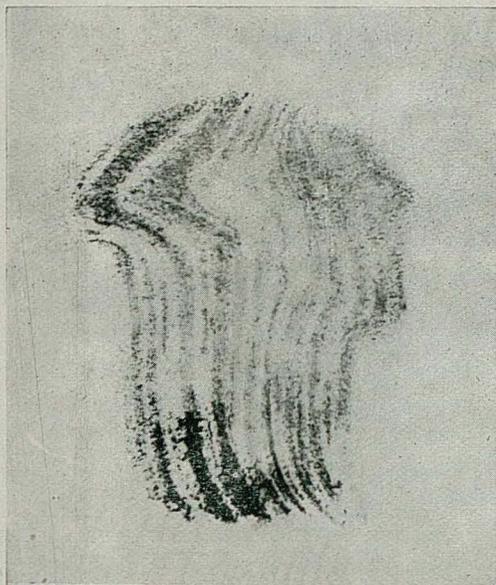
De todo el estudio realizado puede sacarse la conclusión de que son los detalles de preparación de la pieza, las características del papel, la homogeneidad en la aplicación de la presión, etc., precisamente las de difícil control, las que determinan que se produzca una reproducción más o menos perfecta. Las variables eléctricas, son amplias en sus límites y únicamente son más convenientes ciertos valores de las mismas, para facilitar el control de la operación. En realidad, no se pueden dar normas fijas con respecto a los valores de las distintas variables de que depende la impresión, sino simplemente el desarrollo a grandes rasgos de la técnica operatoria, pues cada operador encontrará, posiblemente, útiles ciertos valores de estas variables y su magnitud dependerá de los aparatos que emplee para realizarlas.

SECCIÓN DE METALOGRAFÍA DE ZARAGOZA  
DEL INSTITUTO "ALONSO BARBA"

BIBLIOGRAFIA

- (1) GLAZUNOV. — Chimie & Industrie. N.º 425, 1929.
- (2) E. JIMENO, J. BERNAL y J. IBARZ. — An. Soc. Esp. Fis. y Quim. XXX, 655, 1932.
- (3) E. AMMERMANN. — Stahl u. Eisen. 51, 207, 1931.
- (4) J. N. HRUSKA. — Schwatz. mineralog. petrog. Mitt: 17, 88, 1937.
- (5) J. BERNAL y A. MATEO. — An. Soc. Esp. Fis. y Quim. XLI, n.º 393, pág. 211, 1945.
- (6) A. GLAZUNOV. — Chimie & Industrie. N.º 247, 1930.
- (7) H. YACODA. — Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 12, 698, 1940.

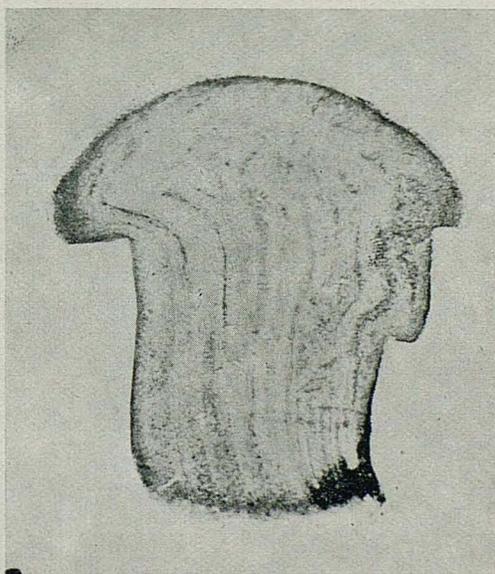
FIG. 1



I



II

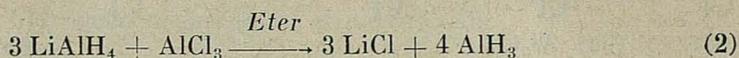
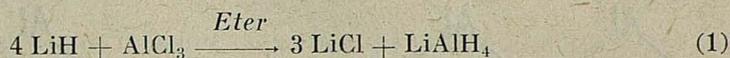


III

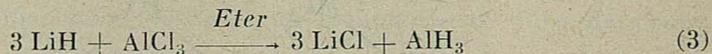
# SOBRE UN DERIVADO DICLORADO DEL DIALANO $Al_2H_2Cl_4$

por EGON WIBERG y RAFAEL USON

La preparación de disoluciones etéreas de hidruro de aluminio  $AlH_3$ , tiene lugar según los dos siguientes procesos:



pues las necesidades de emplear un exceso de hidruro de litio  $LiH$  para evitar la formación de halogeneralanos  $AlH_2X$  y  $AlHX_2$  (1) hace que el proceso directo

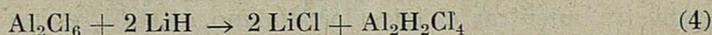


sea difícil de controlar y llevé, normalmente, a la preparación de una mezcla de  $AlH_3$  y  $LiAlH_4$  (2) productos ambos solubles en éter.

Por ello, pensamos en la posibilidad de realizar el proceso (3) en presencia de benceno como disolvente, en el que el alano de litio  $LiAlH_4$  es insoluble, con lo que el empleo de un exceso de hidruro de litio podría llevar a una disolución pura de hidruro de aluminio. Esto no sucede así, pues la reducción del cloruro de aluminio en benceno llega tan sólo a la formación de un *dialano diclorado* según procede de los ensayos descritos a continuación.

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS

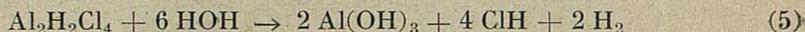
Debida a la pequeña solubilidad del cloruro de aluminio en benceno (0,12 grs./100 c. c. a  $17^\circ C$ ), la reducción con hidruro de litio en presencia de aquel disolvente transcurre muy lentamente. La reacción lleva a la formación de tetraclorodialano  $Al_2H_2Cl_4$ , soluble en benceno, según la ecuación



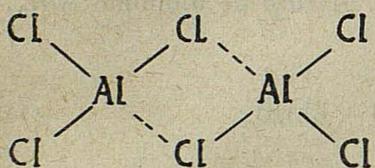
El compuesto  $Al_2H_2Cl_4$  que puede aislarse de la disolución bencénica obte-

nida por sublimación del disolvente en vacío, es un líquido claro como el agua, viscoso, fumante al aire, que puede ser calentado en vacío por encima de 200° C sin que se descomponga.

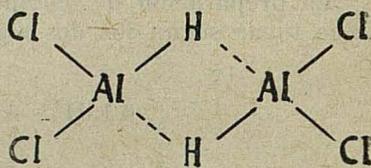
Con agua reacciona enérgicamente



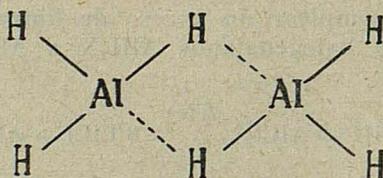
Su peso molecular en disolución bencénica ( $M_{\text{encontr.}}$  : 222; 229;  $M_{\text{calc.}}$  : 198) corresponde a la fórmula  $\text{Al}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$ . Esto, junto con el método de preparación permite asignarle una estructura (6b) análoga a la del cloruro de aluminio (6a) a la del dialano (6c):



(6a)  $\text{Al}_2\text{Cl}_6$



(6b)  $\text{Al}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$



(6c)  $\text{Al}_2\text{H}_6$

El intento de preparar otros miembros intermedios —p. ej.,  $\text{Al}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ — de la serie de compuestos (6) por ulterior reducción del tetraclorodialano, no ha podido realizarse por empleo de un exceso de hidruro de litio, ni utilizando alanato de litio, cuya acción reductora debiera ser más eficaz.

La resistencia del compuesto  $\text{Al}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$  a una reducción ulterior muestra la mayor estabilidad de la unión por puentes de resonancia de hidrógeno (6b) en comparación con la unión por puente de halógeno (6a) responsable de la estructura dímica del cloruro de aluminio. La sustitución de los dos átomos de Cl del puente por átomos de hidrógeno da lugar a un compuesto cuyas propiedades homopolares son mucho más marcadas que las del cloruro de aluminio, que está en la línea de separación entre los compuestos homopolares e iónicos. Esto ya era de esperar, ya que la diferencia de electronegatividades (3) entre cloro (3) y aluminio (1,5), que es 1,5, resulta ser dos veces y media mayor que la diferencia de electronegatividades entre hidrógeno (2,1) y aluminio (1,5), que es de 0,6. Así, por ejemplo, el cloruro de aluminio  $\text{Al}_2\text{Cl}_6$  es un sólido, a temperatura ambiente, mientras el tetraclorodialano  $\text{Al}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$  es un líquido; el cloruro de aluminio es muy poco soluble en benceno (no polar!), mientras  $\text{Al}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$  es fácilmente soluble.

DESCRIPCION DE LOS ENSAYOS

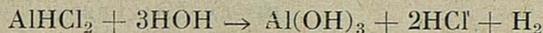
*Ensayo 1. Preparación de una disolución bencénica de  $Al_2H_2Cl_4$ .*—13 gramos de  $AlCl_3$  se trataron en benceno, secado sobre sodio hilado, con un gran exceso de hidruro de litio (10,4 grs.), agitando constantemente con agitador mecánico, trabajando con exclusión de la humedad. Después de dos semanas se había disuelto todo el cloruro de aluminio, y la disolución bencénica reaccionaba con agua desprendiendo hidrógeno, pero contenía todavía mucho cloruro. Después de 30 días se tomaron muestras de la disolución, que se centrifugaron, fuera del contacto del aire, para separar el precipitado, y se analizaron.

Aluminio: 10 c. c. dieron 46,4 mgrs. de  $Al_2O_3 = 24,55$  mgrs. de  $Al = 0,91$  m moles de  $Al$ .

Cloruro: 10 c. c. gastaron 18,17 c. c. de  $AgNO_3$  0,1 N = 66,30 mgrs.  $Cl = 1,87$  m moles  $Cl$ .

De aquí se deduce una relación molar  $Cl : Al = 2,05 : 1,00$ .

Una muestra de 20 c. c. de la disolución se trató con agua en un aparato de alto vacío, y el hidrógeno desprendido en la reacción



se recogió con una bomba de Toepler. Se midieron 42,6 c. c. de hidrógeno (en condiciones normales) en buen acuerdo con el valor calculado (40,8 c. c.), suponiendo que la disolución contiene un compuesto de fórmula bruta  $AlHCl_2$ .

Se preparó otra disolución, del modo descrito arriba, que se analizó a los 15 días de agitar.

Aluminio: 10 c. c. dieron 39,1 mgrs.  $Al_2O_3 = 20,69$  mgrs.  $Al = 0,76$  m moles  $Al$ .

Cloruro: 10 c. c. gastaron 16,70 c. c. de  $AgNO_3$  0,1 N = 59,22 mgrs.  $Cl = 1,60$  m moles  $Cl$ .

De aquí, se deduce una relación molar  $Cl : Al = 2,07 : 1,00$ .

*Ensayo 2. Estado molecular del compuesto en disolución bencénica.*—Disoluciones bencénicas del compuesto preparado se sometieron a determinaciones crioscópicas del peso molecular. La cantidad de substancia disuelta se determinó por valoración del aluminio y del cloro. El punto de fusión del disolvente puro se determinó con benceno sublimado en vacío de las disoluciones. Los resultados obtenidos se resumen a continuación:

Empleado		Encontrado	
Substancia, mgrs.	Benceno, grs.	Descenso del P. F.	Peso molecular
275	26,4	0,230° C	229
161	17,6	0,210	222

Peso molecular calculado para  $Al_2H_2Cl_4 = 198$ .

Los valores, ligeramente altos, obtenidos demuestran que el compuesto  $\text{Al}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$  posee todavía una cierta tendencia a la polimerización que puede explicarse por la tendencia del aluminio a alcanzar su número de coordinación máximo de 6.

*Ensayo 3. Aislamiento del compuesto  $\text{Al}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$ .* — 20 c. c. de una disolución bencénica de tetraclorodialano  $\text{Al}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$  se pusieron en un frasco de pesada de gases que se adaptó al lugar adecuado de un aparato de alto vacío, eliminando luego el disolvente por sublimación. Quedó un líquido viscoso, claro como el agua que, por calentamiento en alto vacío, comenzó a hervir a unos  $180^\circ\text{C}$  y cuyos vapores condensaban en las partes frías, sin que pudiera apreciarse descomposición alguna.

Después de dejar enfriar, se abrió el frasco de pesada de gases, pudiéndose apreciar que la substancia humea al aire enturbiándose inmediatamente. La substancia reacciona enérgicamente con agua, formando  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ,  $\text{HCl}$  y  $\text{H}_2$ .

INSTITUTO DE QUÍMICA INORGÁNICA  
DE LA UNIVERSIDAD DE MUNICH.

BIBLIOGRAFIA

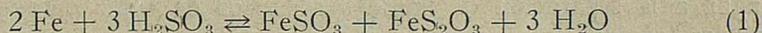
1. E. WIBERG y M. SCHMIDT. — Zeit. Naturforschung, 6b, 458, 1951.
2. A. E. FINHOLT, A. C. BOND jr. y H. I. SCHLESINGER. — J. A. C. S. 69, 1199, 1947.
3. L. PAULING. — Nature of the Chemical Bond Cornell U. P., 2.<sup>a</sup> ed., pág. 64.

# PREPARACION DE TIOSULFATO FERROSO

por ALEJANDRO VITALLER ALBA y RAFAEL USON LACAL

## INTRODUCCION BIBLIOGRAFICA

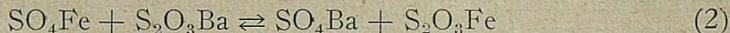
Según BERTHOLLET (1) cuando se añade hierro a una disolución de ácido sulfuroso, fuera del contacto del aire, tiene lugar una disolución del metal, sin desprendimiento gaseoso, formándose sulfito y tiosulfato ferroso:



FORDS y GELIS (2) confirman lo dicho por BERTHOLLET y añaden que la disolución del hierro es casi completa. Según estos autores si se evapora la disolución fuera del contacto del aire, *la mayor parte del sulfito*, cristaliza y el líquido madre, sometido a evaporación en vacío a temperatura ambiente, produce cristales de un tiosulfato ferroso  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Fe} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  *contaminados* con azufre y sulfato ferroso. En presencia de algo de aire, el líquido madre se colorea de amarillo, debido a la formación de tiosulfato férrico, que al calentarse se transforma en tetratiónato ferroso y, finalmente sulfato ferroso, dióxido de azufre y azufre.

KOENE (3) separa el sulfito ferroso del tiosulfato, por tratamiento con alcohol de 98°, en el que el tiosulfato es soluble y el sulfito insoluble.

RAMMELSBURG (4) introduce un nuevo método de preparación de la disolución acuosa, fundada en la reacción de doble descomposición:



y evaporando el líquido, separando previamente el sulfato de bario por filtración, obtiene cristales verdes *mezclados* con tiosulfato férrico básico.

VORTMANN y PADBERG (5) preparan una disolución de igual modo que RAMMELSBURG y precipitan un aceite por adición de una mezcla de alcohol y éter. Según los autores, de este aceite, se separan al cabo de varios días, unos cristales de composición  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Fe} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Excepto el último método, todos conducen a productos impuros. Nuestros intentos de reproducir los resultados de VORTMANN y PADBERG han sido infructuosos, pues si bien la adición de alcohol-éter a una disolución acuosa  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Fe}$  produce la separación de un aceite verde, éste, se oxida muy rápidamente sin que tenga lugar la separación de cristales de tiosulfato ferroso.

En este trabajo, se describen los resultados de investigaciones conducentes a la preparación de tiosulfato ferroso en estado de pureza.

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS

A) *Preparación de tiosulfato ferroso a partir de sulfato ferroso y tiosulfato de bario.* — La preparación de las disoluciones acuosas de tiosulfato ferroso se realizó empleando el método de RAMMELSBURG, operando como se describe en el ensayo 1. El color de la disolución recién filtrada es verde claro, pero se mantiene poco tiempo, pues la oxidación es rápida y da lugar a la separación de productos pardorajizos, que afortunadamente se pueden eliminar por simple filtración por ser insolubles.

La adición de alcohol, a una muestra de disolución recién filtrada, da lugar a la formación de una disolución homogénea y transparente de la que no cristaliza la sal disuelta, sino su producto de oxidación. Se comprueba así la solubilidad de la sal en alcohol ya conocida y mencionada en la bibliografía.

La acción de la acetona, contrastada en unos ensayos preliminares, da lugar a la separación de líquidos aceitosos de color verde intenso que se oxidan rápidamente tomando el color pardorajizo siempre observado en los productos de oxidación de tiosulfato ferroso.

Establecida así, la insolubilidad en acetona de la sal disuelta, y su gran sensibilidad frente al oxígeno del aire, era necesario utilizar un procedimiento experimental más depurado que garantizase poder trabajar con exclusión absoluta del oxígeno del aire. Además, teniendo en cuenta que la acción de la acetona daba lugar a la separación de un líquido aceitoso, que se desmezcla y separa en el fondo, por su mayor densidad, era preciso conseguir, que la acetona actuase sobre este aceite de manera prolongada para conseguir una mayor deshidratación. Efectivamente, estos aceites, cuya formación se observa con mucha frecuencia, cuando las disoluciones acuosas de tiosulfatos se tratan con disolventes orgánicos como alcohol y acetona (6) son "solvatos" que constituyen un estado intermedio entre la disolución acuosa de partida y el compuesto cristalino, estado intermedio, que al separarse originando un sistema heterogéneo, líquido-líquido, reduce la posterior acción deshidratante del disolvente orgánico empleado. Una agitación mecánica intensa que ponga en contacto finas gotitas de este aceite con la masa del líquido, es un medio sencillo de proseguir su deshidratación si se van añadiendo nuevas cantidades de acetona para aumentar su poder deshidratante.

Guiados por estas ideas, procedimos a montar un aparato que nos permitiese operar dentro de las condiciones impuestas, aparato que se representa esquemáticamente en la figura 1.

Al operar con atmósfera de hidrógeno y con agitación mecánica, se eliminan las dificultades mencionadas y se obtiene un producto verde, que lavado con acetona, y posteriormente con éter anhidro, y desecado en corriente de hidrógeno, es lo suficientemente estable, para permitir la toma de muestras para las determinaciones analíticas sin que se oxide.

Su estabilidad frente al aire, si bien superior a la de sus disoluciones, es sin embargo pequeña, y aun conservado en un frasco cerrado, en el que

se ha sustituido casi todo el aire por hidrógeno, se oxida, si bien incompletamente en el transcurso de una noche.

Los cristales verdes así obtenidos, se disuelven rápidamente en agua y alcohol, dando disoluciones transparentes.

Los análisis de diversas muestras, procedentes de distintas preparaciones (Ensayo 3) demuestran que en los distintos productos obtenidos, la relación molar  $S_2O_3 : Fe$  es siempre de 1 : 1, pero que la cantidad de agua de cristalización que lleva el producto, varía de una preparación a otra, lo cual tiene su explicación en el hecho de que la cantidad de acetona empleada y el tiempo de agitación se varió entre amplios límites a lo largo de las distintas preparaciones. La siguiente tabla resume las distintas fórmulas brutas de los productos obtenidos, calculadas de los datos analíticos.

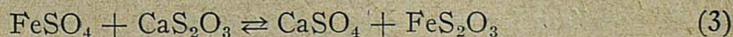
TABLA I  
COMPOSICIÓN BRUTA DE DISTINTAS MUESTRAS DE TIOSULFATO FERROSO

Muestra	$S_2O_3$ %	Fe %	$H_2O$ %	Fórmula bruta
I .....	43,71	23,01	33,28	$(S_2O_3)_{1,00} Fe_{1,05} \cdot 4,72 H_2O$
II .....	49,00	24,82	26,18	$(S_2O_3)_{1,00} Fe_{1,00} \cdot 3,29 H_2O$
III .....	42,40	22,67	34,03	$(S_2O_3)_{1,00} Fe_{1,05} \cdot 5,10 H_2O$
IV .....	42,20	21,87	35,93	$(S_2O_3)_{1,00} Fe_{1,04} \cdot 5,29 H_2O$
V .....	46,66	23,01	30,33	$(S_2O_3)_{1,00} Fe_{1,00} \cdot 4,08 H_2O$
VI .....	46,54	23,64	29,82	$(S_2O_3)_{1,00} Fe_{1,01} \cdot 3,99 H_2O$
VII .....	47,00	24,67	28,33	$(S_2O_3)_{1,00} Fe_{1,05} \cdot 3,75 H_2O$
VIII .....	47,02	23,45	29,53	$(S_2O_3)_{1,00} Fe_{1,00} \cdot 3,91 H_2O$
IX .....	47,11	23,32	29,57	$(S_2O_3)_{1,00} Fe_{1,00} \cdot 3,93 H_2O$
X .....	46,50	23,20	30,30	$(S_2O_3)_{1,00} Fe_{1,00} \cdot 4,05 H_2O$

Como puede verse, el número de moléculas de agua de cristalización varía entre cuatro y cinco moles de agua por mol. de tiosulfato, siendo sólo en dos casos, bastante inferior a 4, lo que prueba por tanto que el hidrato  $S_2O_3 \cdot Fe \cdot 5H_2O$  como el  $S_2O_3 \cdot Fe \cdot 4H_2O$  pueden ser deshidratados con tratamiento adecuado con acetona.

*B) Preparación de tiosulfato ferroso a partir de sulfato ferroso y tiosulfato de calcio.* — La preparación de disoluciones puras de tiosulfato ferroso por el método de RAMELSBERG (Ecuación 2), requiere bastante tiempo, debido a que el tiosulfato de bario empleado es poco soluble (0,2 grs.  $S_2O_3 \cdot Ba \cdot H_2O$ /100 grs. de agua) y a que esta solubilidad disminuye por efecto del ión común, conforme la disolución acuosa se va enriqueciendo en tiosulfato ferroso. Esto hace que las últimas cantidades de sulfatos se eliminen muy lentamente, que sea preciso emplear un exceso de 20-30 % de tiosulfato de bario sobre la cantidad estequiométrica y que, en el caso del tiosulfato ferroso, la larga duración de la operación, determina pérdidas no pequeñas por la acción oxidante del aire.

Por todo ello ensayamos la preparación de disoluciones de tiosulfato ferroso, mezclando disoluciones acuosas de sulfato ferroso y tiosulfato de calcio, según:



Para eliminar totalmente el  $\text{CaSO}_4$  que quede en la disolución, se añade alcohol hasta un grado alcohólico de 50 % y se filtra. Desde luego este método sólo es aplicable, cuando como en este caso, el tiosulfato que se quiere preparar es soluble en líquidos acuoalcohólicos.

El tratamiento con acetona de estas disoluciones alcohólicas, operando en atmósfera de hidrógeno y con agitación mecánica, da lugar a la separación de un aceite que forma cristales mucho más rápidamente que en el caso de las disoluciones acuosas, necesitándose, además, una cantidad de acetona mucho menor (Ensayo 4). Esto es lógico si se tiene en cuenta que la solvatación de los iones en medios acuoalcohólicos debe ser inferior a la solvatación en agua.

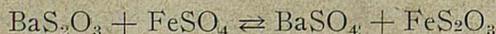
Los análisis realizados, demuestran que también en este caso, los productos obtenidos tienen fórmulas brutas en las que la relación molar  $\text{S}_2\text{O}_3 : \text{Fe}$  es de 1:1, mientras los moles de agua de hidratación por mol de tiosulfato ferroso varían entre cuatro y cinco.

TABLA II  
COMPOSICIÓN BRUTA DE MUESTRAS DE TIOSULFATO FERROSO

Muestra	$\text{S}_2\text{O}_3$ %	Fe %	$\text{H}_2\text{O}$ %	Fórmula bruta
I	47,82	22,10	30,08	$(\text{S}_2\text{O}_3)_{1,07} \text{Fe}_{1,00} \cdot 4,21 \text{H}_2\text{O}$
II	46,49	21,77	31,74	$(\text{S}_2\text{O}_3)_{1,06} \text{Fe}_{1,00} \cdot 4,50 \text{H}_2\text{O}$
III	46,83	23,57	29,60	$(\text{S}_2\text{O}_3)_{1,06} \text{Fe}_{1,01} \cdot 3,94 \text{H}_2\text{O}$

## DESCRIPCION DE LOS ENSAYOS

*Ensayo I. Preparación de una disolución acuosa de tiosulfato ferroso.* 150 c. c. de una disolución acuosa de sulfato ferroso (1 N.) se trataron en un mortero con tiosulfato de bario según la ecuación:



El tiosulfato de bario se añadió en porciones, agitando una hora entre cada adición, y separando el precipitado de sulfato de bario y tiosulfato de bario que no había reaccionado por filtración a la trompa antes de cada nueva adición.

Durante el mortereo, el líquido se oxida, pero después de cada filtración, el filtrado es transparente y de un color verde claro, cada vez más acentuado, conforme progresa la operación. Cuando todo el sulfato de la disolución había sido eliminado, lo cual requiere bastante tiempo y emplear una cantidad de tiosulfato de bario superior en un 40 % a la cantidad calculada se vertió una muestra de la disolución, medida exactamente con una pipeta, sobre un exceso de disolución valorada de iodo, valorando el exceso de éste por retroceso con disolución de tiosulfato sódico. La disolución de tiosulfato ferroso resultó ser 0,820 N.

Con esta disolución se hicieron pruebas cualitativas en tubos de ensayo, que nos permitieron confirmar que el tiosulfato ferroso es soluble en líquidos acuoalcohólicos y que la adición de acetona provoca la separación de líquidos aceitosos de color verde. Durante el transcurso de la preparación y de estas pruebas, pudo apreciarse la fácil oxidación de estas disoluciones por el oxígeno del aire, puesto de manifiesto en la separación de precipitados de color pardorrojizo, aunque las disoluciones se conservasen en frascos casi llenos, bien cerrados, y a bajas temperaturas (aproximadamente  $+3^{\circ}\text{C}$ ).

*Ensayo 2. Cristalización de tiosulfato ferroso.*— Con objeto de operar fuera del contacto del aire se utilizó el aparato que se esquematiza en la figura adjunta.

Un matraz Erlenmeyer provisto de un agitador con cierre de mercurio, tiene una rama lateral por la que se pueden añadir líquidos por medio de

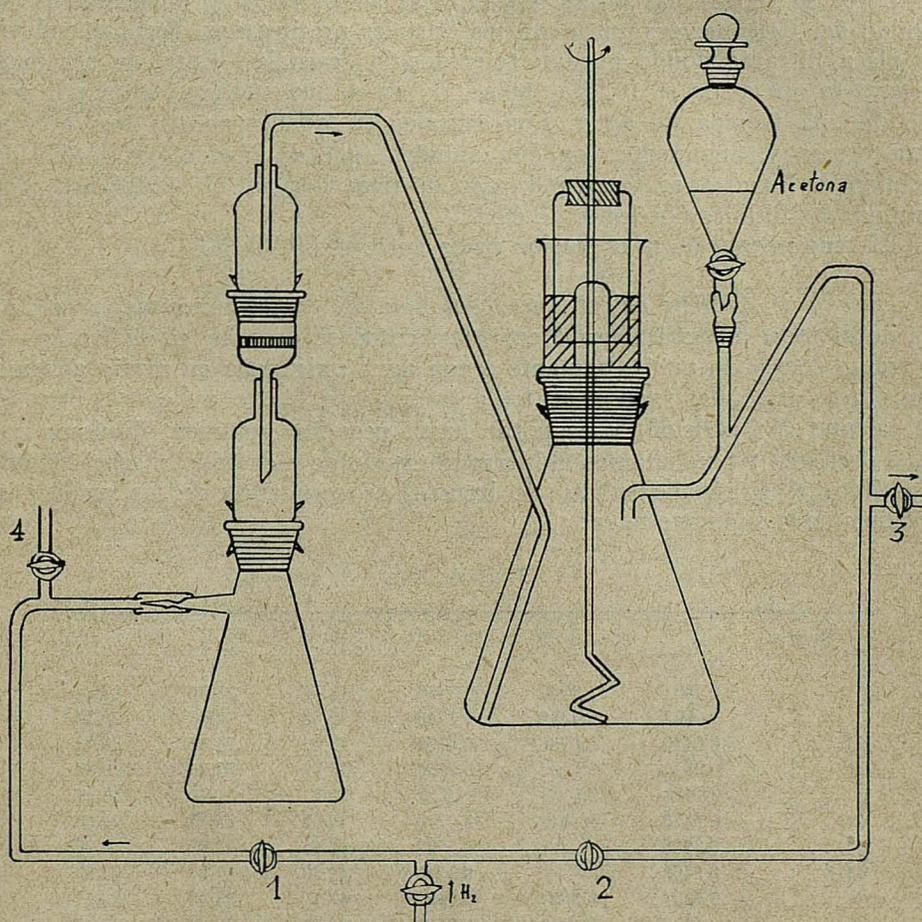


FIG. 1

un embudo de llave, y otra que llega hasta el fondo conectada con un embudo de placa filtrante unido a una fiola para recoger los líquidos filtrados. Tanto en la dirección: embudo de llave Erlenmeyer —embudo filtrante fiola— como en la inversa puede pasar una corriente de hidrógeno. Al comenzar la operación, se pone en el matraz Erlenmeyer una cierta cantidad de disolución acuosa de tiosulfato ferroso recién filtrada y después de ajustar todos los esmerilados se hace pasar una rápida corriente de hidrógeno, en el sentido indicado por las flechas llenas, teniendo abiertas las llaves 1 y 3, para desalojar todo el aire del aparato. Después de esto se pone en marcha el agitador mecánico y se va añadiendo acetona gota a gota sin interrumpir el paso de hidrógeno durante toda la operación. Al cabo de un cierto tiempo, variable, según la cantidad de disolución tratada, se separa un líquido verde aceitoso. Se aumenta la velocidad del agitador y se sigue añadiendo acetona hasta que el aceite se transforma en sólido verde. Entonces se cierran las llaves 1 y 3 y se abren las 2 y 4 con lo que el líquido del Erlenmeyer, junto con los cristales precipitados, llega al embudo de placa filtrante donde quedan retenidos los cristales. Caso de ser necesaria, esta operación se facilita aplicando en 4 una succión ligera por medio de una trompa de agua. Los cristales se lavan, primero con acetona pura y seca y, finalmente, con éter anhidro (que se añaden por medio del embudo de llave) y se secan por paso de una corriente de hidrógeno para eliminar las últimas porciones de éter.

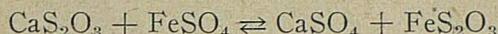
El rendimiento de la operación varía entre el 80-90 %.

*Ensayo 3. Análisis del producto obtenido.*— Varias muestras, procedentes de diversas preparaciones efectuadas, como se describe en el Ensayo 2, se tratan con ácido nítrico fumante o con agua oxigenada en medio alcalino, con objeto de oxidar todo el azufre a sulfato y el hierro a  $Fe^{+++}$ . Después de calentar a ebullición, y evaporar hasta pequeño volumen, diluimos con agua destilada y precipitamos el hierro al estado de hidróxido y en el filtrado el sulfato al estado de sulfato de bario. Los resultados de los análisis se resumen en la siguiente tabla:

TABLA III

Muestra	Peso $BaSO_4$	Peso $Fe_2O_3$	$S_2O_3$ %	Fe %	$H_2O$ % (dif)	
I .....	0,5581	1,0180	0,1838	43,71	23,01	23,28
II .....	0,4922	1,0214	0,1748	49,00	24,82	26,18
III .....	0,0410	0,0796	0,0135	46,66	23,01	30,33
IV .....	0,0840	0,1626	0,0284	46,54	23,64	29,82
V .....	0,0618	0,1208	0,0218	47,00	24,67	28,33
VI .....	0,1556	0,3044	0,0523	47,02	23,45	29,53
VII .....	0,3260	—	0,1072	42,40	22,67	34,93
VIII .....	0,5463	—	0,1718	42,20	21,87	35,93
IX .....	0,1354	0,2654	0,0452	47,11	23,32	29,57
X .....	0,1302	0,2519	0,0432	46,50	23,20	30,30

*Ensayo 4. Preparación de una disolución acuoalcohólica de tiosulfato ferroso. Según la ecuación:*



se mezclaron disoluciones concentradas de tiosulfato de calcio y de sulfato ferroso en la relación molar 1:1. Al cabo de unos 25 minutos, filtramos para eliminar el  $\text{CaSO}_4$ , añadimos alcohol en la relación volumétrica 1:1 y después de unos minutos, filtramos de nuevo el  $\text{CaSO}_4$  precipitado.

Con la disolución acuoalcohólica de tiosulfato ferroso obtenida de este modo se hicieron cristalizaciones, empleando el aparato descrito en el Ensayo 2 y operando del mismo modo que en el caso de las disoluciones acuosas. La cristalización se produce en este caso, con mayor facilidad, apenas hay formación de aceites, y el volumen de acetona empleado, es aproximadamente la mitad del que se precisa para la disolución acuosa.

Del producto así obtenido se tomaron muestras que se analizaron del mismo modo descrito en el Ensayo 3. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla:

TABLA IV

Muestra	Peso $\text{BaSO}_4$	Peso $\text{Fe}_2\text{O}_3$	$\text{S}_2\text{O}_3$ %	Fe %	$\text{H}_2\text{O}$ % (dif)	
I .....	0,5315	1,0565	0,1680	47,82	22,10	30,08
II .....	0,6681	1,2978	0,2081	46,49	21,77	31,74
III .....	0,4884	0,9522	0,1646	46,83	23,57	29,60

LABORATORIOS DE QUÍMICA INORGÁNICA DE LA  
FACULTAD DE CIENCIAS Y DE COLOIDEQUÍMICA  
DEL INSTITUTO A. DE G. ROCASOLANO. ZARAGOZA

BIBLIOGRAFIA

- (1) C. L. BERTHOLLET. — Ann. Chim. Phys. (2), 2, 58, 1816.
- (2) M. J. FORDOS y A. GELIS. — Journ. Pharm. Chim., (3), 4, 333, 1843.
- (3) C. J. KOENE. — Pogg. Ann. 63, 145, 1844.
- (4) C. F. RAMMELSBERG. — Pogg. Ann. 56, 306, 1842.
- (5) G. VORTMANN y C. PADBERG. — Ber. 22, 2641, 1889.
- (6) R. USÓN. — Anales Soc. Esp. Fis. Quím. XLVII, 795, 1951.

# SOBRE UN CADMIOTIOSULFATO COMPLEJO DE BARIO

por VICTOR PALACIO OTAL y RAFAEL USON LACAL

En el curso de nuestros trabajos sobre tiosulfatos complejos hemos preparado un compuesto que contiene cadmio como catión central y grupos tiosulfato como ligandos. La antigua bibliografía (1) da cuenta de que "una disolución acuosa de un mol de sulfato de cadmio y dos moles de tiosulfato de bario produce cristales triclinicos de  $2S_2O_3Ba \cdot S_2O_3Cd \cdot H_2O$ , añadiendo que si el filtrado obtenido en la preparación de esta sal se trata con alcohol, se obtiene  $3S_2O_3Ba \cdot S_2O_3Cd \cdot 8H_2O$ .

Así formulados estos compuestos parecen ser sales dobles. En este caso, al ser disueltas tendría lugar la liberación de sus iones con la consiguiente precipitación del  $S_2O_3Ba \cdot H_2O$  poco soluble.

Los resultados obtenidos en la revisión de esta cuestión se describen a continuación.

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Por agitación prolongada de una disolución de  $SO_4Cd \cdot 4H_2O$  con un exceso de  $S_2O_3Ba \cdot H_2O$  se obtiene una disolución transparente que si se deja estar en frío, después de filtrar el  $SO_4Ba$  y el  $S_2O_3Ba \cdot 2H_2O$ , que no ha reaccionado, separa un precipitado blanco, cristalino. Si se separan por filtración los cristales y se añade al filtrado su volumen de alcohol de 96 se obtiene un nuevo precipitado formado por cristales más pequeños (Ensayo 1).

Ambas muestras de cristales se lavan rápidamente con alcohol y éter para eliminar el agua y se dejan secar al aire. De este modo, se impide la descomposición que se produce, con separación de sulfuro de cadmio, cuando las muestras húmedas se dejan secar sin ningún tratamiento (2).

Los productos secos así obtenidos son estables al aire a la temperatura ambiente, pero la luz del sol o el calentamiento a  $50^\circ C$ , en la obscuridad produce una coloración amarilla procedente del  $SCd$  formado.

Los resultados de los análisis (Ensayo 2) del producto obtenido por enfriamiento de la disolución acuosa (muestra A) y por adición de alcohol al filtrado, después de eliminar estos primeros cristales (muestra B), se recogen en la tabla I.

TABLA I

	% Encontrado		% Calculado
	Muestra A	Muestra B	
Tiosulfato .....	38,96	39,07	38,74
Bario .....	31,57	31,78	31,68
Cadmio .....	12,78	12,40	12,95
Agua (dif.) .....	16,69	16,76	16,63

Las fórmulas deducidas son:

Muestra A:  $[\text{Cd}(\text{S}_2\text{O}_3)_3]\text{Ba}_2 \cdot 8,1\text{H}_2\text{O}$

Muestra B:  $[\text{Cd}(\text{S}_2\text{O}_3)_3]\text{Ba}_2 \cdot 8,46\text{H}_2\text{O}$

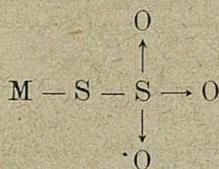
El carácter complejo del compuesto procede de que la solubilidad del tiosulfato de bario resulta muy aumentada. El número de moléculas de agua de cristalización es muy elevado para una sal de un catión tan voluminoso.

Los cristales de ambas muestras A y B, colocados en un desecador con ácido sulfúrico pierden agua de cristalización hasta una composición correspondiente a la fórmula  $[\text{Cd}(\text{S}_2\text{O}_3)_3]\text{Ba}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Ensayo 3). Es decir, siete moléculas de agua están menos firmemente unidas que la octava. El intento de eliminar esta última por calentamiento suave en vacío lleva consigo la destrucción del compuesto que amarillea debido a la formación de sulfuro de cadmio. La tabla II resume los ensayos de deshidratación cuyo transcurso se representa en la figura 1.

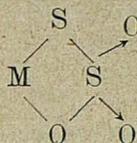
TABLA II

Tiempo en días	Moles $\text{H}_2\text{O}/\text{Mol } [\text{Cd}(\text{S}_2\text{O}_3)_3]\text{Ba}_2$	
	Muestra A	Muestra B
0	8,10	8,46
1	6,41	5,82
2	4,65	4,94
4	2,93	3,18
6	2,01	2,46
8	1,56	1,89
11	1,36	1,66
12	1,31	1,54
15	1,26	1,46
18	1,21	1,39
20	1,17	1,28
22	1,15	1,18
25	1,12	1,20
27	1,09	1,16
28	1,09	1,19

En cuanto a la estructura del ión complejo cadmiotiosulfato, sabemos que el grupo  $S_2O_3$  puede ocupar una o dos posiciones de coordinación alrededor de un ión central M.



(I)



(II)

Parece bastante seguro que los iones  $[\text{Bi}(\text{S}_2\text{O}_3)_3]^{3-}$  (3) deben tener una estructura como (II) con bismuto exacovalente y que lo mismo debe suceder

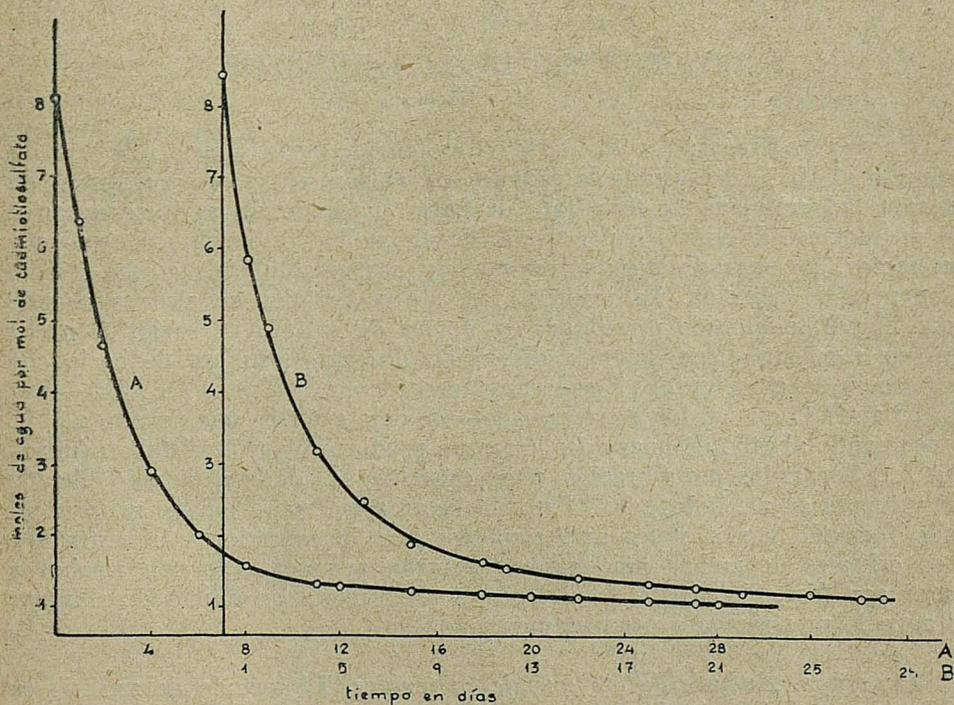
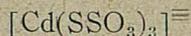


FIG. 1

con  $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_3]^{-4}$  (4) y  $[\text{Cu}(\text{S}_2\text{O}_3)_3]^{-}$  (5), (6), (7) en los que plata y cobre son divalentes. Del mismo modo, el cadmio en el ión  $[\text{Cd}(\text{S}_2\text{O}_3)_3]^{2-}$  con una estructura del tipo de (II) podría ser exacovalente. Sin embargo, en sus compuestos con azufre el cadmio suele ser como máximo tetraco-

valente\*, y aunque existen cloruros y bromuros complejos de fórmula estequiométrica  $CdX_6Me_4$  no hay datos que apoyen la hipótesis de que el cadmio está exacoordinado en tales compuestos. Además, por medios potenciométricos (10) se ha demostrado que, en solución, existe como máximo el ión  $[CdX_4]^{=}$  pero no superiores.

Así, pues, parece más probable que el ión  $[Cd(S_2O_3)_3]^{=}$  tenga una estructura del tipo (I)



en la que la cuarta posición pudiera ser satisfecha por la molécula de agua que permanece más fuertemente unida que las otras siete restantes, según procede de los ensayos de deshidratación comentados anteriormente. Esta unión con la molécula de agua debe ser débil del mismo modo que lo son las uniones entre Cd y  $H_2O$  en el caso del curioso hidrato  $SO_4Cd.8/3H_2O$  investigado por Lipson (11).

## DESCRIPCION DE LOS ENSAYOS

*Ensayo 1. Preparación de cadmiotiosulfato de bario.* 250 cc. de una disolución al 10 % de sulfato de cadmio se trataron, en varias porciones, con la cantidad calculada de tiosulfato de bario. La reacción se hizo agitando en un mortero de vidrio o por medio de un molino de bolas accionado por un motor. El segundo dispositivo es muy conveniente pues acorta mucho el tiempo de reacción. La primera fase de la reacción se alcanza cuando todo el sulfato ha sido precipitado en forma de sulfato de bario. A partir de este momento tiene lugar la disolución de más tiosulfato de bario con formación del complejo. El líquido final, procedente de filtrar el  $SO_4Ba$  —y el  $S_2O_3Ba \cdot H_2O$  que no haya reaccionado— se deja estar en una nevera, a 3° C, precipitando al cabo de unas doce horas un producto blanco, cristalino (muestra A). Separados por filtración estos cristales, se añade al líquido filtrado su volumen de alcohol de 96°. Esto da lugar a la separación de un precipitado formado por cristales más pequeños que los anteriores (muestra B). Los cristales de ambas muestras se trataron por separado con alcohol y luego con éter, filtrando y escurriendo a la trompa, con objeto de eliminar el agua lo más rápida y completamente posible.

*Ensayo 2. Análisis de los cristales obtenidos.* El método de análisis en ambos casos fué el siguiente:

Muestras de los productos perfectamente secos después de haber dejado evaporar el éter de los tratamientos descritos en el ensayo anterior, se pe-

\* Por ejemplo, el  $SCd$  cristaliza en la red de la wurtzita formando el Cd cuatro enlaces tetraédricos (8). También los complejos con etilenotiocarbamida  $[X_2Cd(etn)_2]$  (9) son tetracovalentes.

saron, disolvieron en agua y diluímos a un volumen conocido en matraz aforado.

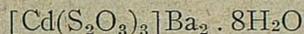
Una parte alícuota de estas disoluciones se empleó para la determinación iodométrica del tiosulfato; el bario se determinó en otra al estado de sulfato y, finalmente en otra la suma de sulfatos de bario y cadmio por tratamientos con  $\text{SO}_4\text{H}_2$  y evaporación a sequedad seguida de calcinación. Descontando el peso de  $\text{SO}_4\text{Ba}$  determinado aparte encontramos el correspondiente al sulfato de cadmio solo. El agua se calculó por diferencia.

Los resultados obtenidos son los siguientes:

Muestra A.  $\text{S}_2\text{O}_3$  : 38,96 %, Ba : 31,57 %, Cd : 12,78 %,  $\text{H}_2\text{O}$  : 16,69 por 100.

Muestra B.  $\text{S}_2\text{O}_3$  : 39,07 %, Ba : 31,78 %, Cd : 12,40 %,  $\text{H}_2\text{O}$  : 16,75 por 100.

En ambos casos se trata, pues, del mismo producto



*Ensayo 3. Deshidratación isoterma de los cristales obtenidos.* Pesos determinados de los cristales obtenidos de las dos maneras descritas se sometieron a deshidratación dejándolos estar en un desecador de ácido sulfúrico a temperatura ambiente.

Los datos correspondientes a la pérdida de peso de ambas muestras se resumen en la tabla III.

TABLA III

Tiempo en días	Peso mgrs. Muestra A	Pérdida peso mgrs.	Peso mgrs. Muestra B	Pérdida peso mgrs.
0	778,6	—	802,0	—
1	751,2	27,4	760,8	41,2
2	724,2	54,2	744,4	57,6
4	695,0	83,6	715,6	86,4
6	680,2	98,4	703,8	98,2
8	672,8	105,8	694,6	107,4
11	669,6	109,0	690,8	111,2
12	668,8	109,8	688,8	113,2
15	668,0	110,8	687,6	114,4
18	667,2	111,4	686,4	115,6
20	666,6	112,0	684,6	117,4
22	666,3	112,3	683,0	119,0
25	665,7	112,9	683,2	118,8
27	665,2	113,4	682,6	119,4
28	665,2	113,4	683,1	118,9

LABORATORIOS DE QUÍMICA INORGÁNICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS Y DE COLOIDEQUÍMICA DEL INSTITUTO A. DE G. ROCASOLANO. ZARAGOZA

BIBLIOGRAFIA

- (1) A. FOCK y K. KLÜSS. — Ber. 23, 535, 1759, 1890.
- (2) O. DEINES y R. CHRISTOPH. — Zeit. anorg. Chem. 113, 209, 1933.
- (3) F. J. FAKTOR. — Pharm. Post 33, 233, 301, 307, 1900.
- (4) A. ROSENHEIM y S. STEINHÄUSER. — Zeit. anorg. Chem. 25, 90, 103, 1900.
- (5) G. SPACU y J. G. MURGULESCU. — Kolloid Zeit. 91, 294, 1940.
- (6) R. USÓN. — Universidad. Fasc. 4, 1950.
- (7) R. USÓN. — Rev. Acad. Ciencias, Zaragoza, VI, 7, 1951.
- (8) W. L. BRAGG. — Phil. Mag., 39, 647, 1920.
- (9) G. T. MORGAN y F. H. BURSTALL. — J. C. S. 143, 1928.
- (10) I. LEDEN. — Zeit. phys. Chem., 188, 160, 1941.
- (11) H. LIPSON. — Proc. Roy. Soc., 156, 462, 1936.

# DATOS BIOLÓGICOS INTERESANTES EN LA GERMINACIÓN DEL HABA

por el P. JAIME PUJIOLA, S. J.

Cada año, en el cursillo intensivo de Técnica y Observación microscópica que damos en nuestro Instituto biológico desde agosto a septiembre, ponemos a germinar semillas de haba (*Faba vulgaris*) en un cristalizador grande con serrín mojado, después de haberlas tenido algunas horas en agua corriente para facilitar su pronta germinación. De ley ordinaria, a la temperatura del laboratorio que será alrededor de 25°, a los dos o tres días comienzan las semillas a sacar su raicilla, generalmente bastante gruesa. Cuando ésta tiene de medio a un centímetro, la cortamos y rápidamente la fijamos en el líquido Boule C (alcohol-formol-ácido acético), reactivo fijador que nos ha dado excelente resultado para ver especialmente estadios cariocinéticos, tiñendo los cortes seriados mediante el micrótopo de parafina, en la hematoxilina férrica de Heidenhain (fig. 1). Para mejor ver los distintos estadios cariocinéticos se deben hacer cortes longitudinales, paralelos a la longitud de la raíz (fig. 1). Difícilmente se encontrará otro material para el estudio mitótico en plantas mejor que éste.

Pero lo que ahora nos interesa, no es precisamente el estudio cariocinético, sino más bien el comportamiento de la semilla después de haberle cortado la raíz primaria. Si cortada ésta se vuelve al serrín la semilla, continúa ella su evolución y crecimiento: desde luego aparecen nuevas raíces, naturalmente secundarias o adventicias: la planta continúa creciendo casi como antes, algo así como si no hubiese pasado nada: las raíces secundarias o adventicias han tomado ahora la función de la principal; de condición que exteriormente no se nota nada. Tenemos un verdadero caso de aplicación del principio de la *correlación biológica*, supliendo o asumiendo las raíces secundarias la función de la principal. La planta, de hecho crece normal y extraordinariamente. De aquí que uno se pregunte: ¿de dónde saca la planta las substancias nutritivas para realizar tan extraordinario crecimiento? Examinemos el problema.

Claro es que de momento cuenta la semilla con la reserva orgánica almacenada en la misma semilla y contenida especialmente en los cotiledones. Con todo, nos ha llamado mucho la atención que la misma semilla parece conservar su tamaño, cosa que en gran parte se deberá a la hinchazón por imbibición de agua del medio en que crece. Así y todo, no parece que la substancia de reserva pueda bastar para un crecimiento tan notable. La planta tiene ya hojas verdes bastante bien desarrolladas;

innumerables son, por consiguiente, las células allí formadas, cada una con su protoplasma; protoplasma que, como es sabido, está formado por substancias proteicas. Por tanto, se halla allí ya gran cantidad de nitrógeno. ¿De dónde saca la planta este nitrógeno? En parte lo sacará naturalmente de la misma semilla; pero nos parece que esto no puede bastar dada la gran cantidad de cuerpos nitrogenados que exige tal crecimiento. Podemos suponer que también puede sacar nitrógeno del serrín; porque, al fin y al cabo, el serrín es el resultado de la destrucción de células vege-

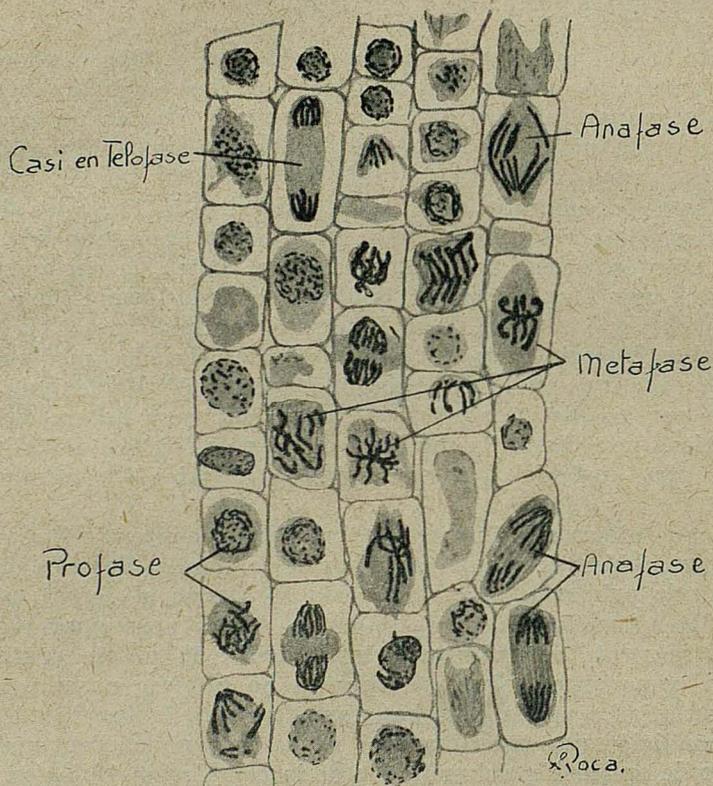


FIG. 1.—Multitud de células en cariocinesis en el meristema radical de Faba vulg.

tales y se puede suponer que siempre puede quedar residuo protoplásmico y, por tanto, también nitrógeno. Pero nos parece que igualmente lo puede sacar de la atmósfera. Es un hecho que las células clorofílicas contienen nitrógeno, como lo demuestra el hecho de la composición de la clorofila. Nos imaginamos, pues, que el nitrógeno de la misma clorofila se invierte en la composición de cuerpos nitrogenados, como lo son todos los proteicos. Que el nitrógeno de la fórmula de la clorofila se invierta en productos nitrogenados no es idea nueva. Pero nos parece que aquí tene-

mos un argumento que parece confirmar esta idea. Es realmente un hecho que de la acción de la clorofila depende el que la savia elaborada contenga cuerpos nitrogenados. Sin duda, que las primeras materias que constituyen estos cuerpos nitrogenados provendrán de los nitratos del suelo, que ascienden a las hojas por la savia ascendente que de allí los toma. Pero aquí, en nuestro caso, no hay suelo mineral si no son acaso los pequeños residuos de las células del serrín; pero, como antes decíamos, nos parece insignificante esa cantidad para la formación de tanto protoplasma que va surgiendo en tantos millones de células como van formándose. Por esto nos inclinamos a creer que la clorofila tiene también esta importante función de captar de la atmósfera nitrógeno, desde luego para su constitución, si es que no bastase el traído por la savia ascendente. En las leguminosas es cosa conocida que existen los nódulos radicales, que son verdaderas colonias de bacterias que acumulan nitrógeno o productos henchidos de cuerpos nitrogenados que ceden a la actividad de las leguminosas. Ahora bien; como en nuestro caso no hay que pensar en ello, es de suponer que la clorofila, encargada de preparar la savia elaborada, tendrá ese poder de aprovechar el nitrógeno de la atmósfera para la elaboración de dicha savia.

Para persuadirnos de que debe de existir esa fuente para la composición de cuerpos nitrogenados, queremos traer aquí los datos del peso de las plantas cultivadas en el serrín mojado. He aquí lo que hemos notado. Ante todo, hemos pesado semillas secas, no puestas a germinar. En general pesaban 1,75 grs. Ahora bien, al arrancar del serrín las que han sido objeto de investigación, después de haber dado los vástagos tan largos, cada semilla pesaba mucho más que antes: una de ellas, muy hinchada por la gran cantidad de agua que había absorbido, pesaba 2,7 grs. Su vástago pesaba 7 grs. El conjunto, pues, pesaba 9,7 grs. Otra pesaba 3,3 grs. y su vástago 6,8 grs.: total, 10,1 grs. Un tercer ejemplar tenía una semilla que pesaba 3,4 grs. y su vástago pesaba 7,2 grs. Total, 10,6 gramos. En cuanto a la longitud de los vástagos, aunque diferente en cada vástago, median por término medio 32 a 47 centímetros.

Todo parece decirnos que la formación de tantos millones de células con la gran cantidad de substancias nitrogenadas que supone la enorme cantidad de protoplasma, indica que la atmósfera ha de ser necesariamente una fuente también de nitrógeno. Claro es que le sería harto difícil al científico físico-químico probar esto con datos positivos precisos, para dar de ello una verdadera demostración.

INSTITUTO BIOLÓGICO DE SARRIÁ  
BARCELONA

## EL MEDIO, FACTOR EXTERNO NO HEREDITARIO

por el R. P. JAIME PUJIULA, S. J.

El Medio; he aquí una palabra que usamos a cada paso, sin penetrar sus profundas relaciones que influyen en la vida física-psíquica social y moralmente. Cifrándonos momentáneamente al hombre, su influencia es tal, que no ha faltado quien viese en él un factor hereditario. Tal nos parece descubrir en la conferencia de Eugenio FISCHER, dada en Roma el 7 de marzo de 1937, titulada "L'ereditá delle qualità morali", donde nos habla de la herencia de familias de músicos, pintores, etc. A nuestro juicio, no hay tal herencia, aunque la afición de la familia se extienda a varias generaciones. Porque si así fuese, también podríamos hablar de la herencia de farmacéuticos, médicos, etc. Desde luego, conocemos las varias generaciones del farmacéutico Bolós de Olot, donde nos mostraron hermosos dibujos de algún tatarabuelo, por cierto muy bien representantes de las plantas. Nos parece, pues, que aquí se confunde el factor *extrínseco* con *intrínseco*; porque creemos que la afición a la música, a la pintura, no nace de algún *gene*, sino del *medio extrínseco*. El hijo del músico, el hijo del pintor: el uno no oye todos los días sino música; el otro no ve sino cuadros y pinturas muy bien hechas y llamativas; con esto se engendra en ellos un psiquismo o afición hacia la música, respectivamente hacia la pintura, y acaba por ser o músico o pintor. Todo esto, pues, es efecto del medio, de una circunstancia *extrínseca*, no de la misma vida o de sus genes.

Pero todo ello nos dice muy alto cuánto influye el medio en el alma del niño o de la niña; y cómo lo que se aprende desde la infancia queda profundamente grabado en el ánimo de los niños y niñas. Aplicando el hecho a la educación, son los padres y las madres los que han de tener esto muy presente para la primera educación de sus hijuelos, porque lo que entonces se aprende, queda tan grabado en el ánimo de aquellas tiernas conciencias, que nunca jamás se puede olvidar. Si los papás son buenos católicos, está en su mano la dirección de la vida de sus hijos. Lo mismo se diga a los educadores y educatrices; su labor es como decisiva para toda la vida de aquellos seres racionales, nacidos para la glorificación de Dios y poseer en premio la vida eterna. Ni hay que tener por perdido el trabajo, si después se desvían algo del camino por las pasiones; ellos conservan un fondo de piedad y de fe que nunca se borra del todo en ellos, y basta algunas veces algún inesperado acontecimiento para que aquel rescoldo que guardan en lo más profundo de su ánimo se reavive y vuelvan luego al redil del Señor. De lo contrario, el demonio se lo lleva todo. Tengan esto muy pre-

sente los educadores y educatrices. El bien derramado cosecha a su tiempo el fruto del bien sembrado.

Pero la palabra *Medio* tiene también aplicación a la Biología y es objeto continuo de estudio, especialmente respecto de las plantas; del medio depende, en general, su vida y desarrollo. Y se comprende que sea así; porque el vegetal no tiene sensibilidad ni movimiento de traslación; y donde germina, allí se ha de desarrollar y conservar y reproducirse. Del medio, pues, depende el vegetal. De aquí que la misma Naturaleza la provea de todos aquellos recursos que son indispensables para su vida y conservación.

Y como quiera que toda su defensa haya de ser en el punto o medio en que germina, se adapta el vegetal de tal modo al sitio en que ha de vivir y prosperar, que a las veces llega a modificar su misma morfología, seguramente por imposición del medio. La modificación de su morfología, pueda llegar a darle al vegetal un aspecto bastante modificado que ha recibido el nombre de *mutación*. Fué el holandés de Devris quien se dió cuenta de ese cambio morfológico y estableció la teoría de las *mutaciones*. Hagamos notar desde un principio que, aunque hablamos de mutaciones, no es intención del científico suponer un cambio de especie, sino sólo modificaciones de poca monta, que todo lo más se han llegado a llamar *subespecies*. La célebre planta en que descubrió esa manera de modificar su morfología fué la *Oenothera lamarckiana*. Luego se han ido estudiando esas mutaciones hasta formar un gran número de plantas *mutantes*. Pero lo curioso del caso es que las mutaciones son *hereditarias*, es decir, que lo que aparece cambiado se transmite a sus descendientes. Esto nos obliga a detenernos un poco para explicar esta herencia.

Ante todo, hemos de tener presente que la causa de variar de morfología se debe necesariamente al medio, lo cual se puede confirmar teniendo presente que está en manos de los horticultores la producción de esa inmensa variedad de rosas y claveles y otras flores, con que se ganan la vida y adornan las calles y templos.

Que en la producción de esas variedades y mutantes interviene el medio, apenas nadie lo pone en tela de juicio, sobre todo que variando las condiciones del medio se ha visto el feliz resultado de la variación de la *mutante*. Según traemos en nuestra obra: "Problemas biológicos", Goldschmidt y Jollos han obtenido en la mariposa *Drosophila* mutaciones por medio de una temperatura de 37° o más. Muller ha aumentado el número de mutaciones, mediante la radioactividad. El hecho de que estas mutaciones sean hereditarias se debe explicar admitiendo que los *genes* han sido influenciados por los agentes del medio. Luego el conjunto de genes puede ser influenciado por fuerzas extrínsecas y, por consiguiente, el cambio es verdaderamente *hereditario*.

De aquí la curiosidad de saber ¿en qué consisten los genes? He aquí una cuestión bien difícil de contestar. El biólogo entiende por genes las unidades o fuerzas *vivas* capaces de producir hereditariamente sus efectos en el organismo vivo. Se trata, pues, de cosa vital. Que toda aparición en el organismo vivo tenga su causa, es cosa innegable; pero precisar qué es lo que

produce aquel efecto en el mismo organismo, esto ya es muy difícil de precisar. No han faltado quienes supusiesen que los genes sean las *proteínas* de la materia viva. Tiene esta opinión la ventaja de que las proteínas son las sustancias químicas más complicadas, de composición *molecular* acaso fácil de determinar; pero es imposible o casi imposible de fijar su composición *estereoquímica*. Un cambio, diríamos, topográfico de un átomo o de un grupo de átomos pueden modificar extraordinariamente las propiedades químicas de la molécula. He aquí todo lo que se puede decir de los genes.

Volviendo ahora a las adaptaciones de los organismos al medio, la doctrina de los genes nos pone en la mano un medio para explicarnos el hecho; pero es de notar que unos organismos son más propensos a modificarse por el medio, y otros menos. ¿Esto por qué? —Estamos otra vez en la gran cuestión de la especificidad de la vida de cada organismo. No sabemos, no podemos saber en qué consiste esa íntima constitución biológica que es *específica* en cada organismo. Llegamos aquí al *coto cerrado* de la vida cuya clave nadie nos la ha entregado. Todo investigador tropieza con la misma dificultad: se llega a cierto punto del cual nadie pasa. En el *misterio de la vida*. Hace ya la friolera de cuarenta a cincuenta años, propusimos una comparación para hacernos cargo de lo que es la vida, que con la misma fuerza o razón repetimos hoy aquí. La vida es la caja de Pandora: llama mucho la atención por fuera, pero nadie sabe lo que tiene por dentro. Porque si llegáis a abrirla, os encontraréis con una multitud de cajitas más pequeñas, pero todás cerradas. Si os pica la curiosidad y queréis saber lo que contienen esas cajitas más pequeñas, os llevaréis el mismo chasco que con la grande, es decir, podréis ver cómo es cada cajita por fuera, pero no sabréis lo que tiene por dentro; y si por ventura llegáis a abrir esas cajitas, otra vez toparéis con la misma dificultad, es decir, os encontraréis con unas diminutas cajitas que, si las veis por fuera, no llegaréis nunca a saber lo que tienen por dentro. Se trata siempre aquí de trasladar la dificultad de lo macroscopio a lo microscopio, pero no alcanzaréis nunca a descifrar el *misterio de la vida*.

Nótese que en las mutaciones no se trata de cualidades psíquicas y morales, como antes, sino de cualidades morfológicas.

INSTITUTO BIOLÓGICO DE SARRIA.

BARCELONA

# COMPLEMENTO A UN TEOREMA DE AHLFORS-HEINS SOBRE FUNCIONES SUB-ARMONICAS

por BALTASAR R. SALINAS

Continuando el estudio de los momentos absolutos de funciones analíticas, iniciado por R. SAN JUAN<sup>1</sup> y SUNYER - BALAGUER<sup>2</sup>, ha obtenido R. P. BOAS, Jr.<sup>3</sup>, el siguiente:

*Teorema.* — Si  $F(t)$  es analítica y de tipo exponencial para  $x \geq 0$  y es acotada sobre el eje imaginario, y si  $\int_0^{\infty} |F(re^{i\varphi_0})| r^n dr < n^n e^{-n} \Phi(n)$ ,  $\Phi(n) \rightarrow \infty$  para algún  $\varphi_0$  ( $-\pi/2 < \varphi_0 < \pi/2$ ) y para una infinidad de valores de  $n$ , entonces  $F(z) \equiv 0$ .

En nuestro trabajo *Moments de fonctions analytiques et problème de Watson*<sup>4</sup>, después de observar que el teorema de BOAS es solo aplicable, aparentemente a funciones no acotadas, hemos hecho uso del mismo para generalizarle a funciones no acotadas y obtener nuevos resultados sobre el problema de WATSON.

El objeto de esta nota es dar un complemento al trabajo de L. AHLFORS y M. HEINS: *Questions of regularity connected with the Phragmen-Lindelöf principle*<sup>5</sup>, que fué precisamente de donde obtuvo BOAS su teorema.

*Teorema 1.* — Si  $u(z)$  ( $\neq -\infty$ ) es una función sub-armónica en el semiplano  $Re . z > 0$ , y si  $H(r) \geq 0$  es una función no decreciente de  $r \geq 0$ , con la integral

$$\int_1^{+\infty} \frac{H(r)}{r^2} dr < +\infty$$

y tal que

$$u(z) \leq H(|z|) \tag{1}$$

para todo  $z$  de  $Re . z > 0$ .

Entonces, para

$$\sigma \equiv \text{Inf. } \frac{u_0(z) - u(z)}{x}, \quad (x = Re . z > 0) \tag{2}$$

con

$$u_0(z) = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{x}{x^2 + (y-t)^2} H(|t|) dt, \quad (z = x + iy) \tag{3}$$

tendremos:

A. Para todo  $e^{i\theta}$  ( $|\theta| < \pi/2$ ), excepto para un conjunto de capacidad logarítmica exterior nula:

$$\lim_{r \rightarrow \infty} u(re^{i\theta})/r = -\sigma \cos \theta. \tag{4}$$

B. Dado  $\theta_0$  ( $0 < \theta_0 < \pi/2$ ), existe un conjunto lineal  $\Delta(\theta_0)$  de longitud logarítmica finita, tal que (4) vale uniformemente en  $|\theta| \leq \theta_0$  cuando  $r$  no pertenece a  $\Delta(\theta_0)$ .

C. Para

$$b_n(\theta) = \int_0^{\infty} \exp [u(re^{i\theta})] r^n dr, \quad (|\theta| < \pi/2) \quad (5)$$

resulta

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n}{\sqrt[n]{b_n(\theta)}} = e\sigma \cos \theta, \quad (|\theta| < \pi/2) \quad (6)$$

con la convergencia uniforme en cada ángulo  $|\theta| \leq \theta_0$  ( $0 < \theta_0 < \pi/2$ ).

D. Para

$$c_n(\theta) = \text{Sup.} \{ \exp [u(re^{i\theta})] r^n \}, \quad (r > 0) \quad (7)$$

vale

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n}{\sqrt[n]{c_n(\theta)}} = e\sigma \cos \theta \quad (|\theta| < \pi/2) \quad (8)$$

uniformemente en cada ángulo  $|\theta| \leq \theta_0$  ( $0 < \theta_0 < \pi/2$ ).

E. Para

$$T_\theta(r) = \text{Sup}_{n > 0} \frac{r^n}{\mu_n(\theta)}, \quad (\mu_n(\theta) = b_n(\theta) \text{ ó } \mu_n(\theta) = c_n(\theta)) \quad (9)$$

resulta

$$\lim_{r \rightarrow \infty} \frac{\log T_\theta(r)}{r} = \sigma \cos \theta, \quad (10)$$

con la convergencia uniforme en cada ángulo  $|\theta| \leq \theta_0$  ( $0 < \theta_0 < \pi/2$ ).

Para demostrar este teorema conviene exponer primero la del siguiente:

*Lema.* — Si  $u(z)$  y  $H(r)$  cumplen las hipótesis del teorema precedente, se verifican:

$$u(z) \leq u_0(z) = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{x}{x^2 + (y-t)^2} H(|t|) dt, \quad (z = x + iy) \quad (I)$$

para  $x > 0$ , y

$$\lim_{r \rightarrow \infty} \frac{u_0(re^{i\theta})}{r} = 0, \quad (|\theta| < \pi/2) \quad (II)$$

con la convergencia uniforme en cada ángulo  $|\theta| \leq \theta_0$  ( $0 < \theta_0 < \pi/2$ ).

*Demostración de (I).* — Siendo

$$u^*(s) = u\left(\frac{z + \bar{z}s}{1-s}\right), \quad (z = x + iy, \bar{z} = x - iy, x > 0)$$

una función sub-armónica en  $|s| < 1$ , resulta

$$\begin{aligned} u(z) = u^*(0) &\leq \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} u^*(\varrho e^{i\varphi}) d\varphi \leq \\ &\leq \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} H\left(\left|\frac{z + \bar{z}\varrho e^{i\varphi}}{1 - \varrho e^{i\varphi}}\right|\right) d\varphi, \quad (0 < \varrho < 1). \end{aligned}$$

Como por otra parte  $|(z + \bar{z}\varrho e^{i\varphi}) / (1 - \varrho e^{i\varphi})|$  es una función creciente de  $\varrho$  ( $0 < \varrho < 1$ ) para cada  $\varphi$  de  $|\varphi - \arg z| \leq \pi/2$  y acotada para  $0 < \varrho < 1$  y  $\pi/2 \leq \varphi - \arg z \leq 3\pi/2$ , aplicando los conocidos teoremas de LEBESGUE y B. LEVI, tendremos:

$$\begin{aligned} u(z) &\leq \lim_{\rho \rightarrow 1} \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} H\left(\left|\frac{z + \bar{z}\varrho e^{i\varphi}}{1 - \varrho e^{i\varphi}}\right|\right) d\varphi = \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} H\left(\left|\frac{z + \bar{z}e^{i\varphi}}{1 - e^{i\varphi}}\right|\right) d\varphi = \\ &= \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{x}{x^2 + (y-t)^2} H(|t|) dt = u_0(z). \end{aligned}$$

*Demostración de (II).* — En primer lugar observamos que el máximo  $M$  de  $\sqrt{[x^2 + t^2] / [x^2 + (|y| - t)^2]}$ , ( $t \geq 0$ ) es alcanzado en el punto  $t = t_0$  definido por  $t_0(t_0 - |y|) = x^2$  y se puede expresar mediante  $\varphi = \arcsen \frac{1}{2} \operatorname{tg} \theta = \arcsen \operatorname{tg} \frac{y}{2x}$  ( $0 \leq \varphi < \pi/2$ ), así:

$$M = \frac{\operatorname{sen}(\pi/4 + \varphi/2)}{\operatorname{sen}(\pi/4 - \varphi/2)} < \frac{2}{\cos \varphi} < \frac{2}{\cos \theta}.$$

Por tanto

$$\begin{aligned} \frac{u_0(z)}{|z|} &= \frac{\cos \theta}{\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{H(|t|)}{x^2 + (y-t)^2} dt \leq \frac{2 \cos \theta}{\pi} \int_0^{+\infty} \frac{H(t)}{x^2 + (|y| - t)^2} dt \leq \\ &\leq \frac{8}{\pi \cos \theta} \int_0^{+\infty} \frac{H(t)}{x^2 + t^2} dt, \end{aligned}$$

de donde resulta, haciendo  $z \rightarrow \infty$  en  $|\arg z| \leq \theta_0$  ( $0 < \theta_0 < \pi/2$ ), que

$$\lim_{z \rightarrow \infty} \frac{u_0(z)}{z} = 0, \quad (|\arg z| \leq \theta_0).$$

*Demostración de A y B.* — El caso particular  $H(r) \equiv 0$ , ha sido demostrado por AHLFORS y HEINS en el trabajo anteriormente citado.

Si  $H(r) \neq 0$ , aplicando el resultado precedente a la función sub-armónica

$$u_1(z) = u(z) - u_0(z),$$

se deduce inmediatamente  $A$  y  $B$  en virtud de (II).

*Demostración de C.* — Según (II), cualquiera que sea  $\varepsilon > 0$ , existe un  $C(\varepsilon, \theta_0)$  tal que

$$\exp [u_0(re^{i\theta})] \leq C(\varepsilon, \theta_0) \exp[\varepsilon r \cos \theta]$$

para  $|\theta| \leq \theta_0$  ( $0 < \theta_0 < \pi/2$ ) y  $r > 0$ . Por consiguiente, si  $\sigma \neq 0$ , según (2), para  $\varepsilon < \sigma$  tendremos

$$\begin{aligned} b_n(\theta) &= \int_0^{+\infty} \exp [u(re^{i\theta})] r^n dr \leq \int_0^{+\infty} \exp [u_0(re^{i\theta}) - \sigma r \cos \theta] r^n dr \leq \\ &\leq C(\varepsilon, \theta_0) \int_0^{+\infty} \exp [-(\sigma - \varepsilon)r \cos \theta] r^n dr = C(\varepsilon, \theta_0) \frac{n!}{[(\sigma - \varepsilon) \cos \theta]^{n+1}} \end{aligned}$$

y por tanto

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n}{\sqrt[n]{b_n(\theta)}} \geq e(\sigma - \varepsilon) \cos \theta, \quad (|\theta| \leq \theta_0)$$

en donde haciendo  $\varepsilon \rightarrow 0$ , resulta

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n}{\sqrt[n]{b_n(\theta)}} \geq e\sigma \cos \theta$$

uniformemente para  $|\theta| \leq \theta_0$ .

Bastará, pues, demostrar que

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n}{\sqrt[n]{b_n(\theta)}} \leq e\sigma \cos \theta$$

de manera uniforme en  $|\theta| \leq \theta_0$ , para obtener  $C$ . En efecto, sea  $\Delta_0(r) = \Delta(\theta_0) \cap (r, +\infty)$ , entonces según  $B$ , para cada  $\varepsilon > 0$ , existe un  $r_\varepsilon > 0$ , tal que

$$\Delta_0(r_\varepsilon) < \log(1 + \varepsilon)$$

y

$$u(re^{i\theta}) > -(\sigma + \varepsilon)r \cos \theta$$

para  $r > r_\varepsilon$  y  $r$  no perteneciente a  $\Delta_0(r_\varepsilon)$  cualquiera que sea  $\theta$  de  $|\theta| \leq \theta_0$ .

Por consiguiente, siendo  $\exp [-(\sigma + \varepsilon)r \cos \theta] r^{n+1}$  ( $\sigma' = \sigma + \varepsilon$ ) decreciente para  $r \geq (n+1)/\sigma' \cos \theta$  y el intervalo  $((n+1)/\sigma' \cos \theta, p(n+1)/\sigma' \cos \theta)$ .

donde  $p = 1 + \varepsilon$ , de longitud logarítmica  $\log p$ , tendremos para  $n + 1 > \sigma' r_0$  que

$$\begin{aligned} b_n(\theta) &> \int_{(n+1)/\sigma' \cos \theta}^{+\infty} \exp [u(r e^{i\theta})] r^{n+1} \frac{dr}{r} > \\ &> \int_{p(n+1)/\sigma' \cos \theta}^{+\infty} \exp [-\sigma' r \cos \theta] r^n dr = \frac{1}{(\sigma' \cos \theta)^{n+1}} \int_{p(n+1)}^{+\infty} e^{-r} r^n dr > \\ &> \frac{[p(n+1)]^n}{(\sigma' \cos \theta)^{n+1}} \int_{p(n+1)}^{+\infty} e^{-r} dr = \frac{[p(n+1)]^n}{(\sigma' \cos \theta)^{n+1}}. \end{aligned}$$

De donde resulta

$$\overline{\lim}_{n \rightarrow \infty} \frac{n}{\sqrt[n]{b_n(\theta)}} \leq \frac{e^p \sigma' \cos \theta}{p} \quad (p = 1 + \varepsilon, \sigma' = \sigma + \varepsilon)$$

$$\overline{\lim}_{n \rightarrow \infty} \frac{n}{\sqrt[n]{b_n(\theta)}} \leq e \sigma \cos \theta \quad (\text{haciendo } \varepsilon \rightarrow 0)$$

uniformemente en  $|\theta| \leq \theta_0$  ( $0 < \theta_0 < \pi/2$ ).

*Demostración de D.* — Se obtiene de igual forma que C.

*Demostración de E.* — Como consecuencia de C y D, resulta:

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n}{\sqrt[n]{\mu_n(\theta)}} = e \sigma \cos \theta \quad (|\theta| < \pi/2)$$

con la convergencia uniforme en cada ángulo  $|\theta| \leq \theta_0$  ( $0 < \theta_0 < \pi/2$ ).

Por consiguiente, cualquiera que sea  $\varepsilon > 0$ , existe un  $n_\varepsilon$  tal que

$$e \sigma' \cos \theta \leq \frac{n}{\sqrt[n]{\mu_n(\theta)}} \leq e \sigma'' \cos \theta \quad (\sigma' = (\sigma - \varepsilon)^+, \quad \sigma'' = \sigma + \varepsilon)$$

para  $n > n_\varepsilon$  y  $|\theta| \leq \theta_0$ .

Según esto, si

$$C'(\varepsilon) = \text{Mín} \frac{(n/e\sigma' \cos \theta)^n}{\mu_n(\theta)} \quad \text{y} \quad C''(\varepsilon) = \text{Máx} \frac{(n/e\sigma'' \cos \theta)^n}{\mu_n(\theta)}$$

para  $0 \leq n \leq n_\varepsilon$  y  $|\theta| \leq \theta_0$ , y si

$$c'(\varepsilon) = \text{Mín} (C'(\varepsilon), 1) \quad \text{y} \quad c''(\varepsilon) = \text{Máx} (C''(\varepsilon), 1)$$

tendremos para  $|\theta| \leq \theta_0$  y  $r > 0$ , que

$$1.^\circ \quad c'(\varepsilon) \left( \frac{e\sigma' r \cos \theta}{n} \right)^n \leq \frac{r^n}{\mu_n(\theta)} \leq c''(\varepsilon) \left( \frac{e\sigma'' r \cos \theta}{n} \right)^n,$$

$$2.^\circ \quad c'(\varepsilon) \text{Sup} \left( \frac{e\sigma' r \cos \theta}{n} \right)^n \leq T_\theta(r) \leq c''(\varepsilon) \text{Sup} \left( \frac{e\sigma'' r \cos \theta}{n} \right)^n,$$

y  $3.^\circ \quad c'(\varepsilon) \exp[\sigma' r \cos \theta] \leq T_\theta(r) \leq c''(\varepsilon) \exp[\sigma'' r \cos \theta],$

de donde finalmente se deduce  $E$ .

Como consecuencia de este teorema resulta:

*Teorema 2.*— Si  $u(z)$  es una función sub-armónica en el semiplano  $\text{Re } z > 0$  que satisface la condición (1), y si  $\{\theta_n\}$  y  $\{m_n\}$  son dos sucesiones de números reales tales que

$$|\theta_n| \leq \pi/2 - \delta < \pi/2 \quad \text{y} \quad m_n > 0 \quad (n = 0, 1, 2, \dots)$$

y

$$\mu_n(\theta_n) \leq m_n, \quad (\mu_n(\theta) = b_n(\theta) \text{ ó } \mu_n(\theta) = c_n(\theta)) \quad (11)$$

para  $n = 0, 1, 2, \dots$  Entonces:

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{\sqrt[n]{m_n}}{n} = 0 \quad \text{ó} \quad \lim_{r \rightarrow \infty} \frac{\log T(r)}{r} = +\infty \quad \left( T(r) = \text{Sup}_{u \geq 0} \frac{r^u}{m_u} \right) \quad (12)$$

implica  $u(z) \equiv -\infty$ .

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

BIBLIOGRAFIA

1. C. R. Acad. Sci. Paris. Vol. 236, 1953, pág. 1.941-1.943.
2. Rev. Mat. Hisp.-Amer. (4) Vol. 13, 1953, pág. 241-246.
3. Bull. of the Amer. Mat. Soc., Vol. 60, 1954, pág. 535.
4. En curso de publicación en Journal de Math.
5. Ann. of Math. (2) Vol. 50, 1949, pág. 341-346.