

**INSTITUTO DE HIGIENE DE SÃO PAULO**

**ESCOLA DE HIGIENE E SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO**

**DIRETOR : PROF. G. H. DE PAULA SOUZA**

**BOLETIM N. 77**

# **A PROVA DO ALCOOL NOS APARELHOS DE METABOLISMO**

**B. ALVES RIBEIRO**  
1.º ASSISTENTE



**1 9 4 2**  
**IMPRENSA OFICIAL DO ESTADO**  
**São Paulo**

INSTITUTO DE HIGIENE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE HIGIENE E SAUDE PÚBLICA DO ESTADO  
DIRETOR : PROF. G. H. DE PAULA SOUZA

BOLETIM N. 77

# A PROVA DO ALCOOL NOS APARELHOS DE METABOLISMO

B. ALVES RIBEIRO  
1.º ASSISTENTE

1 9 4 2  
IMPrensa OFICIAL DO ESTADO  
São Paulo

# A PROVA DO ALCÓOL NOS APARELHOS DE METABOLISMO

B. ALVES RIBEIRO

1.º Assistente

Como bem pondera Du Bois (1), os aparelhos destinados a medir o metabolismo energético devem, como todo e qualquer aparelho de análise quantitativa, ser submetidos a rigorosa verificação antes de entrarem para a rotina do laboratório. Espirômetros, termômetros, barômetros, cilindros registadores, buretas, etc., partes integrantes ou acessórias dos aparelhos de metabolismo, devem todos ser previamente examinados e acertados ou calibrados contra instrumentos de precisão. Em seguida a estas verificações parciais, de ordem predominantemente física, deve o aparelho ser submetido a uma prova química, global, em que, mediante a queima de determinada quantidade de substância quimicamente conhecida, se ajuizará da precisão com que ele mede o consumo ou produção de gases decorrentes da combustão.

Uma vez entrado na rotina, o aparelho de metabolismo deverá continuar a merecer a atenção do técnico, a quem competirá verificar periodicamente a exatidão de seu funcionamento. Como verificações periódicas são aconselháveis as provas fisiológicas. Estas se realizam com o concurso de indivíduos normais, familiares do laboratório (auxiliares, serventes, etc.), cujo metabolismo é determinado uma vez ou outra. Dada a relativa fixidez das taxas metabólicas individuais, a constância dos resultados dessas determinações periódicas será prova de que o aparelho funciona corretamente. Ademais, a praxe dessas provas fisiológicas tem a grande vantagem de fornecer ao analista o conhecimento do nível médio de normalidade, isto é, um ponto de reparo precioso e indispensável à justa interpretação dos casos anormais.

Dos diversos ensaios a que acabamos de fazer referência, um se impõe de modo absoluto: o ensaio químico. De execução delicada, ele não só permite a verificação global do aparelho, como

evidencia o rigor técnico do analista. Substâncias várias têm sido empregadas com maior ou menor sucesso na execução da prova química. O álcool etílico, entretanto, é a geralmente preferida.

Partindo da equação que exprime a combustão do álcool etílico puro ( $C_2H_6O + 3O_2 = 2CO_2 + 3H_2O$ ), é fácil calcular que a queima de uma grama de álcool corresponde à absorção de 1459,5 c.c. de oxigênio e à produção de 972,9 c.c. de gás carbônico; donde um quociente respiratório de 0,667.

Como o álcool geralmente empregado na prova química não é absoluto, é indispensável que o analista verifique previamente a quantidade de água que se lhe acha misturada, isto é, a percentagem exata do álcool. Isto se consegue determinando a densidade do álcool com um bom picnômetro, e entrando com o valor encontrado numa tabela de densidade de misturas de álcool e água. Em nosso laboratório temos recorrido, para este último fim, à tabela da Repartição de Padrões dos Estados Unidos (2).

O conhecimento da densidade e percentagem do álcool a ser empregado permitirá a necessária retificação das correspondências numéricas acima referidas. Assim, um álcool cuja densidade seja de 0,81797, a  $20^\circ C.$ , conterá exatamente 90 % de álcool puro. Se, ao executar a prova química, o álcool consumido for avaliado volumetricamente àquela temperatura, a 1 c. c. desse álcool corresponderão 1074,4 c.c. de oxigênio ( $0,81797 \times 0,90 \times 1459,5$ ); se for avaliado gravimetricamente, a 1 gr. dele corresponderão 1313,6 c.c. de oxigênio ( $0,90 \times 1459,5$ ). As retificações concernentes ao gás carbônico far-se-ão análogamente. Quanto ao valor teórico do Q. R., 0,667, é evidente sua independência do teor em álcool puro.

### DISPOSITIVO DE BENEDICT

Vários métodos têm sido propostos para a realização da prova do álcool. O mais engenhoso e preciso, e que conta hoje em dia com a simpatia geral a ponto de ser considerado método padrão, é o de Benedict (3) que, por sua vez, representa um aperfeiçoamento sobre o primitivo método de Fox e Carpenter.

No dispositivo de Benedict o álcool é contido numa microbureta, cuja extremidade inferior é posta em comunicação com um capilar de vidro, por meio de tubo fino de borracha. A ponta do capilar de vidro, munida de pequena torcida para facilitar a ignição do álcool, desemboca no interior da câmara de combustão. Esta última, de vidro, tem a forma de chaminé de lampeão, e suas extremidades superior e inferior se comunicam com o aparelho de metabolismo em observação por meio de tubos grossos de borracha. A circulação do ar, enriquecido de oxigênio, é assegurada pela movimentação dum pequeno espirômetro, verda-

deira bomba de ar, que, por intermédio dum tubo em T, se comunica com um dos tubos grossos de borracha aludidos. O vae-vem dum limpador de parabrisa de automovel, acionado por pressão positiva ou negativa, põe o pequeno espirômetro em movimento, ao mesmo tempô que, graças a engenhosa engrenagem, eleva progressivamente a microbureta. Esta elevação gradual assegura a constância do ritmo de combustão alcoólica. A-fim-de que a prova do alcool se assemelhe o mais possivel a uma verdadeira determinação de metabolismo, cabe ao analista regular o funcionamento do limpador de parabrisa de tal modo que a frequência e amplitude das excursões do pequeno espirômetro e o ritmo de combustão do alcool simulem respectivamente os movimentos respiratórios e a atividade metabólica dos tecidos do animal a que se destina o aparelho em exame.

O dispositivo de Benedict aplica-se a qualquer tipo de aparelho de metabolismo, seja de circuito aberto ou fechado, e serve ainda para avaliação da eficiência de válvulas respiratórias.

Empregando esse dispositivo, tivemos ocasião de verificar o funcionamento dum aparelho de circuito fechado, tipo Benedict-Roth. Como o limpador de parabrisa não estivesse trabalhando a contento, foi ele substituído por um conjunto de motor elétrico e polias de redução. Em 12 provas distintas, durando cada uma de 9 a 13 minutos, o consumo de oxigênio registado pelo aparelho apresentou os seguintes desvios percentuais do valor teórico:

Prova n.º	Desvio %	
	+	—
1 .....		0,20
2 .....	1,75	
3 .....	2,21	
4 .....	0,00	0,00
5 .....		0,99
6 .....	1,23	
7 .....	0,51	
8 .....	3,46	
9 .....	1,48	
10 .....	0,47	
11 .....	0,89	
12 .....	0,23	

Média = + 0,92 %

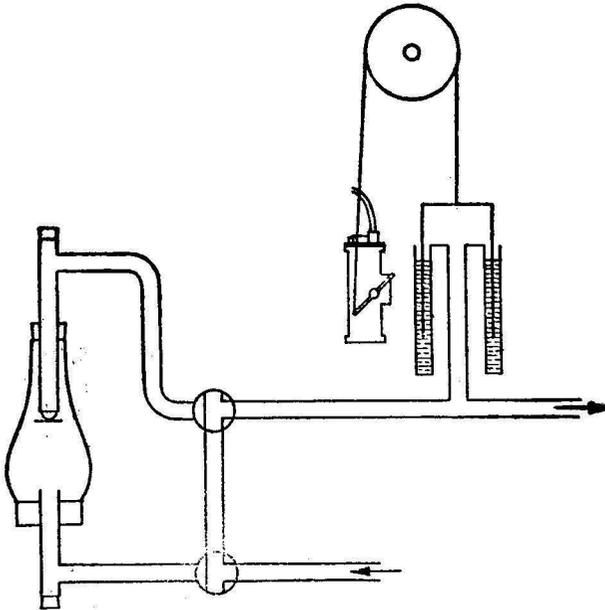
Estes resultados devem ser aceitos como bons, porquanto a distribuição dos desvios em função da média se aproxima muito da normal.

## DETERMINAÇÃO GRAVIMÉTRICA DO ALCÓOL CONSUMIDO

No método de Benedict, como se viu, o álcool é determinado volumetricamente. Imaginámos fazer essa determinação gravimetricamente, removendo a bureta e seu mecanismo de elevação, e construindo uma pequena lâmpada. Para esse fim arranjámos um frasco destinado a conter o álcool, com a capacidade aproximada de 10 c.c. e fechado por rolha de borracha munida de dois orifícios. Um destes era atravessado por tubo de vidro fino contendo a torcida, e o outro servia de respiradouro.

Uma vez preparado todo o dispositivo (com exceção da bureta e seu mecanismo de elevação) para a realização da prova, a lâmpada era pesada numa balança Sartorius de precisão e, a seguir, com a maior celeridade possível, acesa e introduzida no interior da câmara de combustão. A abertura e fechamento desta se faziam por elevação e abaixamento da chaminé de vidro. Pela racionalização de movimentos e o concurso dum auxiliar, conseguimos reduzir a alguns segundos apenas (5 a 10) o tempo que medeia entre a conclusão da pesada e a introdução da lâmpada na câmara. Como veremos adiante, a rapidez neste passo é, com efeito, fator de importância.

A-fim-de tornar precisa a leitura da quantidade de oxigênio



consumida pelo álcool durante o tempo que durava a combustão, introduzimos dois pequenos pormenores no dispositivo de Benedict. O primeiro, como o mostra a figura ao lado, consistiu no estabelecimento duma comunicação entre os dois tubos grossos de borracha que desembocam na câmara de combustão. Essa comunicação, facilmente conseguida por meio de duas torneiras metálicas de três vias e dum curto tubo de borracha, permite curto-circuitar a qualquer momento o conjunto aparelho de metabolismo-pequeno espirômetro; em outras palavras, permite isolar comodamente a câmara de combustão do restante do dispositivo, pela simples rotação das torneiras de três vias.

O outro pormenor se resumiu no arranjo de uma marca em determinado ponto da excursão do pequeno espirômetro, de modo que, uma vez estabelecido o curto circuito e posto o pequeno espirômetro no nível correspondente à marca, a leitura (ou registo) do volume dos gases contidos no aparelho de metabolismo pudesse ser feita com toda precisão.

O curto circuito acima referido tem ainda outra utilidade. Quando, ao executar a prova, sua duração for julgada bastante, estabelece-se o curto circuito. Dest'arte, não mais circulando o ar na câmara de combustão, a lampada se apaga espontaneamente, em pouco tempo, por falta de oxigênio. Restabelece-se então novamente a circulação normal a-fim-de proceder à absorção do gás carbônico.

Da descrição que precede, o leitor já depreende qual seja a marcha das operações na prova gravimétrica. Em primeiro lugar, estabelecendo o curto circuito e trazendo o pequeno espirômetro à respectiva marca, traça-se a linha de base inicial, que indicará o volume dos gases no aparelho em ensaio. A seguir a lampada é pesada, acesa e rapidamente introduzida na câmara de combustão. Restabelece-se a circulação normal e põe-se o pequeno espirômetro a funcionar. Ao cabo de certo tempo, julgado suficiente, estabelece-se novamente o curto circuito e espera-se até que a chama da lampada se extinga. Restabelece-se a circulação normal, durante um ou dois minutos, a-fim-de proceder à absorção do gás carbônico. Estabelece-se pela última vez o curto circuito, ajusta-se o pequeno espirômetro à marca, e traça-se a linha de base final. A lampada é então retirada da câmara de combustão e, por fim, pesada. Resta comparar a diferença entre os pesos inicial e final da lampada com a diferença entre os volumes inicial e final dos gases, corrigidos estes para pressão, temperatura e humidade.

Damos a seguir o resultado de cinco provas executadas pelo método gravimétrico, como o acabamos de descrever, com o mes-

mo aparelho de metabolismo anteriormente submetido ao método volumétrico. Os resultados representam desvios percentuais do volume de  $O_2$  consumido sobre o volume teórico.

Prova n.º	Desvio %	
	+	—
1 .....	0,33	
2 .....		1,32
3 .....	0,19	
4 .....		0,90
5 .....		0,45
	Média = — 0,43 %	

Se compararmos esta média com a obtida pelo método volumétrico (+ 0,92%), notamos a existência duma diferença cuja significatividade cumpre verificar. Antes de fazê-lo, porém, devemos assinalar que essa diferença é realmente menor do que o levam a crer os resultados consignados. Com efeito, na execução da prova pelo método gravimétrico há uma perda de álcool no tempo que medeia entre a inflamação da lampada e sua inclusão na câmara. Isto significa que o valor teórico do oxigênio consumido, calculado em função da diferença entre os pesos inicial e final da lampada, é indevidamente majorado e que, por conseguinte, se impõe uma correção baseada na duração desse tempo. A correção é fácil de efetuar, uma vez conhecidos 1) a diferença entre os pesos inicial e final da lampada, 2) o tempo em que a lampada permaneceu acesa, e 3) o tempo perdido entre a inflamação da lampada e sua inclusão na câmara. Infelizmente, embora conheçamos os dois primeiros dados relativos a cada uma de nossas observações, não possuímos informação precisa quanto ao terceiro, só podendo afirmar que esse tempo perdido durou de 5 a 10 segundos. Na impossibilidade de efetuar correção exata de nossos resultados gravimétricos, e não desejando que por isso fosse prejudicado o estudo comparativo das duas médias, decidimos proceder à mínima correção lícita, isto é, corrigimos os resultados de cada uma das cinco observações supondo que o tempo perdido fôra de 5 segundos. A média corrigida passou a ser de — 0,12% (— 0,116).

A significatividade da diferença entre esta última média e a obtida pelo método volumétrico (+ 0,92) foi avaliada pelo método de Student (4), o mais indicado geralmente no estudo de pequenas amostras, como no caso presente. Esse método revela que há cerca de 10 probabilidades em 100 de que a diferença entre as duas médias seja maior do que a observada, ou, em outras palavras, não há segurança estatística de que a diferença observada seja realmente significativa.

O método gravimétrico, executado pela técnica que descrevemos, apresenta a nosso ver algumas vantagens, das quais a maior é sem dúvida a segurança oferecida pela balança na apreciação da quantidade de combustível consumido durante a prova. Quanto à imperfeição decorrente da necessidade de uma correção dos resultados, desejamos acrescentar que ela pode ser facilmente removida. A perda de álcool, no curto tempo que dura entre a inflamação da lampada e sua inclusão na câmara, será totalmente evitada uma vez que se proceda à inflamação depois de a lampada haver sido introduzida na câmara. E isto se conseguirá, por exemplo, com um dispositivo idêntico ao empregado em bombas calorimétricas, isto é, a queima dum fio metálico pelo fechamento de circuito elétrico, achando-se o fio no interior da câmara, rente à torcida da lampada de álcool.

## S U M Á R I O

Encarece-se a importância da verificação prévia dos aparelhos destinados a medir o metabolismo energético, acentuando-se o valor da prova do álcool. São referidos os resultados desta prova, num aparelho de circuito fechado, empregando o método de Benedict.

Descreve-se, a seguir, uma modificação do dispositivo de Benedict que permite a avaliação gravimétrica do álcool consumido, e dão-se os resultados conseguidos com esta modificação.

---

Desejamos consignar aqui os nossos agradecimentos ao prof. F. Moura Campos que nos cedeu o dispositivo de Benedict, do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina, para a realização deste trabalho; e ao dr. P. E. Oliveira Carvalho que orientou a interpretação estatística dos resultados.

## SUMMARY

Attention is called to the importance of previous testing of basal metabolism apparatus, stressing the merit of the alcohol check method. The results obtained with the latter in a closed circuit apparatus, employing Benedict's device, are presented.

Next, a modification of Benedict's device is described, which makes possible the gravimetric determination of the alcohol consumed. The results obtained with this modification are given.

## BIBLIOGRAFIA

1. Du Bois: "Basal metabolism in health and disease", Lea & Febiger, Philadelphia, 1936, p. 107.
2. In "Van Nostrand's Chemical Annual", Nova York, 1926, p. 586.
3. Benedict, F. G.: "The control of gaseous metabolism apparatus", Boston Med. & Surg. Jour. 193: 583, 1925.
4. Yule & Kendall: "An introduction to the theory of statistics", Griffin, Londres, 1940, p. 442.