

Técnica bacteriana en la dosificación del ácido cianhídrico de la torta de lino

Dres. Libero Rossi Lema y Luis Echenique (1)

Trabajo realizado en el INSTITUTO DE INDUSTRIA ANIMAL.
Fecha de recepción: 15 de mayo de 1966.

RESUMEN. —

Se describe en el presente trabajo una técnica de determinación cuantitativa del ácido cianhídrico contenido en la torta de lino, haciendo actuar una bacteria sobre la torta esterilizada. Los resultados se comparan con los obtenidos con una solución N/1000 de cianuro de potasio, en la apreciación de la reacción de GUIGNARD.

Estimamos que los ensayos realizados abren el camino para una técnica sencilla y de fácil ejecución en la determinación de HCN de la torta de lino desde un ángulo biológico, como es el trabajo de una bacteria.

INTRODUCCION. —

La dosificación del ácido cianhídrico de la torta de lino ha sido motivo de muchas comunicaciones, puesto que los métodos químicos dan frecuentemente resultados discordantes. Es así que Fernández (2) al introducir una modificación en la técnica empleada, obtiene grandes diferencias que justifican plenamente la preocupación de los investigadores por encontrar una técnica segura y precisa que de resultados regulares en una muestra de torta de lino.

Nosotros no vamos a ocuparnos de la dosificación química, pero sí de la dosificación biológica, empleando una bacteria con tal finalidad.

No conocemos antecedentes sobre el tema y por tanto este ensayo de dosificación es una contribución al estudio del problema, enfocándolo desde otro ángulo; el de la utilización de una bacteria con fines cuantitativos.

(1) Dr. Libero Rossi Lema — Director del Instituto de Industria Animal. Profesor de Inspección de Productos Alimenticios. Facultad de Veterinaria. Montevideo.
Dr. Luis Echenique. — Jefe de Microbiología del Instituto de Industria Animal. Facultad de Veterinaria. Montevideo.
Colaboró en este trabajo el Bach. Carlos Gil Turnes.

El ácido cianhódrico puede ser desprendido de muestras de torta de lino, previamente esterilizadas al autoclave, cuando se pone en contacto con un estreptococo aislado por Echenique, Rossi y Caruso (2), y se lleva a la estufa a 37°C durante varias horas. Prosiguiendo los trabajos en el Instituto hemos empleado este estreptococo y otras cepas aisladas, en una técnica de dosificación del ácido cianhídrico de la torta de lino, de producción nacional, como subproducto de industrialización de la semilla de lino. Las muestras analizadas corresponden a residuos de extracción ya sea por prensado o por solventes químicos.

MATERIALES Y METODOS. —

Para realizar este ensayo de dosificación del ácido cianhídrico de la torta de lino hemos empleado muestras de torta previamente pulverizados en mortero, cultivos en caldo de cepas de estreptococos y soluciones tipo o patrón.

Las muestras de torta previamente pulverizadas han sido puestas en tubos, que tapados con algodón y papel han sido llevados al autoclave y sometidos durante treinta minutos a una temperatura de ciento veinte grados C° para asegurar la inactividad del fermento linaza y desde luego la destrucción de todo germen que pudiera interferir en la reacción de desprendimiento del ácido cianhídrico.

Los cultivos de estreptococos han sido realizados, en caldo durante cuarenta y ocho horas de estufa a 37°C, habiéndose utilizado la cepa N° 50 a que nos referimos anteriormente y otra, la N° 65, que fue aislada de una muestra de carne tratada con soluciones de cloruro de calcio al realizar una etapa de investigación con otros fines, ajenos por completo al problema que hoy tratamos.

Las soluciones de cianuro de potasio han sido preparadas partiendo de una solución normal de cianuro de potasio puro en una solución de hidrato de sodio puro al dos por ciento y en el momento del uso se prepararon soluciones normal décimo ($\frac{1}{10}$), normal centésimo ($\frac{1}{100}$), y normal milésimo ($\frac{1}{1000}$), en las que el hidrato de sodio se encontraba oscilando en una concentración de uno por ciento.

LA SOLUCION PATRON. —

Ha sido estudiada para comprobar la intensidad de la coloración dada por la reacción GUIGNARD en cada una de las soluciones anteriormente mencionadas. Para ello utilizamos tubos de diez a doce centímetros de altura por uno a uno y medio de diámetro, una tira de papel picro-sódico recién preparada y que se

aprieta en la parte alta con un tapón de corcho justamente perforado por una pipeta Pasteur cuyo extremo inferior llega hasta cerca del nivel de la solución de cianuro. Se parafina el corcho y se deja caer en la solución cianurada por intermedio de la pipeta Pasteur, una solución de ácido nítrico suficiente para obtener el desprendimiento del ácido cianhídrico y cuyo control en sus cantidades ha sido repetidamente realizado. La lectura se hace a las veinte y cuatro horas de permanencia a temperatura de laboratorio. En estas condiciones hemos comprobado, como lo afirman otros investigadores, que la reacción GUIGNARD es sensible al millonésimo de ácido cianhídrico. Para colocarnos en esta sensibilidad tenemos que trabajar con la solución normal milésima poniendo cantidades decrecientes en los tubos y en un último tubo que hace de testigo, solamente la solución de soda, la solución de ácido nítrico y el papel picro-sódico que debe permanecer amarillo en el momento de la lectura. Empleamos un centímetro, medio centímetro, dos décimos de centímetro, un décimo de centímetro cúbico de solución normal milésimo de cianuro de potasio, notando que en el tubo número cuatro, con un décimo de centímetro cúbico de la solución se agota el desprendimiento de cianógeno, haciendo virar el color amarillo del papel hacia un tono diferente pero, que no podemos catalogar como rosado, ni como apenas rosado.

LA TORTA DE LINO CUYO ACIDO CIANHIDRICO MEDIMOS.

La torta cuyo ácido cianhídrico queremos determinar es puesta en tubos iguales a los empleados en la solución patrón, en cantidades de cincuenta, veinte, diez, cinco y dos con cinco miligramos, o sea una escala decreciente, y previa esterilización como se ha dicho anteriormente recibe en cada tubo dos centímetros cúbicos de un cultivo de cuarenta y ocho horas en caldo a treinta y siete grados de la cepa en estudio (en este caso los estreptococos N° 50 o N° 65). Se coloca el papel picro-sódico recién preparado, se parafina y se deja en la estufa a 37°C. durante 48 horas, al cabo de las cuales se hace la lectura. Debemos decir que un tubo testigo con cincuenta miligramos de torta lleva agua destilada en lugar de cultivo.

En esas condiciones se analizaron cinco muestras de torta de lino de producción local en alguna de las cuales las reacciones de GUIGNARD fueron positivas en los tubos que contenían cinco miligramos y negativas en los que contenían dos con cinco miligramos, así como en el testigo.

Los resultados son muy regulares en su repetición, circunstancia tanto más importante cuanto que como decimos inicialmente no ocurre lo mismo con las determinaciones químicas. Las reacciones de GUIGNARD positivas en los tubos con cinco miligramos de torta y con un décimo de centímetro cúbico de la solución patrón normal milésimo de cianuro de potasio así com-

paradas y realizados los cálculos correspondientes nos dan una cantidad de ácido cianhídrico equivalente a quinientos cuarenta miligramos por kilogramo de torta de lino.

Deseamos proseguir estos ensayos en un mayor número de muestras de totar de lino, así como estudiar la sensibilidad de otras cepas con la finalidad de ver si cantidades menores de cinco miligramos de torta, son capaces de dar reacciones de GUIGNARD POSITIVAS.

CONCLUSIONS. —

In the present work it is deliniated a technique for the quantitative determination of the Hydrocyanic acid contained in the linen cake based in the action of a bacterium upon the sterelized linen cake.

The results obtained by this way are comparable with those obtained with a potasium cyanide solutios N/1000 with the comparable estimation with the one obtained with the Guignard reaction.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 1) FERNANDEZ PORLEY CARLOS MARIA. — El ácido cianhídrico en las tortas de lino. Boletín de la Dirección de Ganadería. Enero, febrero y marzo de 1942.
- 2) ECHENIQUE LUIS, ROSSI LEMA LIBERO y NENUFAR S. de CARUSO. — Acción microbiana en la cianogenosis de la torta de lino. Anales de la Facultad de Veterinaria. Tomo X. Nº 8. 1960-1961. Montevideo. Uruguay.
Diciembre 31 de 1965.