

077970

~~041102~~

En 1

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

CONTENIDO DE ACIDO CIANHIDRICO  
EN DIFERENTES VARIEDADES DE  
FRIJOL SALVADOREÑO



T E S I S

Presentada por

GLORIA LETICIA JEREZ FUNES

Previa Opción al Título de

LICENCIADO EN QUIMICA FARMACEUTICA



Diciembre de 1971

San Salvador

El Salvador

Centroamérica



U N I V E R S I D A D   D E   E L   S A L V A D O R

R E C T O R

Dr. Rafael Menjívar

S E C R E T A R I O

Dr. Miguel Angel Sáenz Varela

F A C U L T A D   D E   C I E N C I A S   Q U I M I C A S

D E C A N O

Dr. Raúl Arévalo Alvarez

S E C R E T A R I A

Dra. Amelia Rodríguez de Cortez

## JURADOS DE TESIS

Presidente: Dra. Amelia Rodríguez de Cortez

1er. Vocal: Dra. Gloria Miriam Dubón de Méndez

2o. Vocal : Dr. Mauricio Lara Ortíz

## DEDICATORIA

A mi padre en homenaje a su memoria.

A mi madre como una pequeña muestra de gratitud.

A mi abuelita y hermanos con cariño.

Mis agradecimientos especiales a las personas que en una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo.

## I N D I C E

	<u>Pág.</u>
INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	2
TOXICIDAD DE ALGUNAS LEGUMINOSAS	21
METODOS Y RESULTADOS	37
APARATOS EMPLEADOS	40
DISCUSION	42
CONCLUSION	44
BIBLIOGRAFIA	46

## I N T R O D U C C I O N

Las leguminosas son una familia que comprende más de siete mil especies, estudiaremos las Papilionaceas que comprenden más o menos unas ciento cincuenta especies. Son semillas que crecen en vaina y se producen universalmente. Existe una gran variedad de estas semillas y su consumo es regional. Dentro de cada variedad hay preferen--cias por una especie de acuerdo al área geográfica en que se vive. Así, en Centro América y Panamá, encontramos regiones donde se prefie--re el frijol negro y otras donde únicamente se consume el frijol rojo.

En el área de Centro América y Panamá, abunda el frijol, el cual forma parte de la alimentación diaria. Periódicamente se consumen también otras leguminosas como lenteja, garbanso, alverjas o arvejas, habas, gandul o guandú y maní o cacahuete.

En la mayoría de los casos las leguminosas se cocinan co--cidas por hervido, enteras o en puré, el cual se prepara pasándolas por un colador. Algunas se consumen tostadas, tal es el caso de las habas y del cacahuete o maní.

Siendo los frijoles las leguminosas de mayor consumo, to--do estudio que sobre ellas se realice será de gran utilidad.

A causa de que en algunos países de Centro América, se han reportado casos de intoxicación, debido a la ingestión de frijo--

les, como en los casos de Sololá, Guatemala, donde el frijol blanco (*Phaseolus lunatus*) ha causado muchas intoxicaciones. En atención a lo anterior, se decidió hacer una investigación del ácido cianhídrico contenido en las diferentes variedades de frijol salvadoreño, para tener así una seguridad en el uso de las mencionadas legumbres que son el alimento diario de la mayoría de nuestra población rural y urbana.

## GENERALIDADES

### INTOXICACION POR EL ACIDO CIANHIDRICO.

El ácido cianhídrico es el elemento activo, fundamental, de sus componentes tóxicos: cianuros de potasio, de mercurio, etc.

El cianuro de potasio es utilizado en fotografía, en galvanoplastia y para el tratamiento de minerales de oro; los ácidos, incluso diluidos, el jugo gástrico, por ejemplo, le descomponen y liberan ácido cianhídrico; el cianuro de Hg, doblemente tóxico, es atacado por las proteínas, que se unen al Hg y dejan en libertad el ácido cianhídrico. Por el contrario, los sulfocianuros, los ferri y ferrocianuros, muy estables, no son tóxicos.

El ácido cianhídrico, muy volátil, se desprende también en el curso de ciertas operaciones industriales (fabricación de gas del alumbrado) o de laboratorio. Es utilizado, en estado de vapor, con mucha prudencia, para la desinfección de los locales, desratización de barcos o destrucción de parásitos de árboles frutales, "Fumigadores" cuidadosamente instruidos y seleccionados por casas especializadas aplican estos procedimientos muy eficaces protegiéndose con másc-

ras neutralizantes.

Un cierto número de productos (almendras amargas, laurel cerezo, huesos de cereza, albaricoque, alubias de java) contienen un glucósido cianogénico que, bajo la influencia de un fermento, se transforma en ácido cianhídrico, una almendra amarga puede proporcionar 1 mg. de HCN; 1 litro de Kirsch, 30 a 100 mg.; 1 Kg de alubias de java, 3 gr.

#### TOXICIDAD.

Las dosis mortales de HCN son de 1 mg. por kilo en ingestión, o de 0.3 mg. por litro de aire respirado, ó 270 cc. por metro cúbico; a la dosis de 0.15 a 0.22 mgr. por litro, la muerte sobreviene en media, una o varias horas. Un contenido inferior a 0.02 mgr. por litro de aire es inofensivo, pues el veneno no se acumula; es eliminado de los pulmones o neutralizado en carbonato o sulfocianuro.

El cianuro de K mata a dosis comprendidas entre 15 y 20 centígramos; 50 gr. de agua de almendras amargas son mortales.

#### FISIOPATOLOGIA.

Los efectos rápidamente mortales del HCN se explican por su acción paralizante de la hematosi celular. Veneno protoplasmático a dosis muy débiles, interrumpe los fenómenos de oxidación por inhibición de las oxidasas, entre ellas la indo-fenol-oxidasa o fermento respiratorio de Warburg, cuyo elemento activo es una hemina, el ion  $CN^-$  se combina con el hierro trivalente e impide la reducción del hierro férrico.

co. La anoxia intracelular bloquea los fenómenos vitales, sobre todo en las células del pedúnculo cerebral. El bloqueo es reversible, sin alteración profunda de las células, de donde derivan ciertas interesantes tentativas terapéuticas para devolver a los tejidos la capacidad de utilizar el oxígeno y vencer la asfixia.

La sangre venosa, más rica en oxihemoglobina no utilizada, conserva el color rojo de sangre arterial; contiene un 12% de oxígeno, como la sangre arterial.

El HCN y los cianuros, venenos biológicos catalíticos de oxidorreducción no forman, in vivo, combinaciones con la hemoglobina (BALTHAZARD).

El HCN excita pasajeramente (convulsiones) y después para liza el sistema nervioso central y en particular, los centros respira-- torios y circulatorio. Después de un gran espasmo convulsivo e inspira torio, la respiración se hace superficial e irregular; el síncope respi ratorio precede al paro definitivo de los movimientos cardíacos.

#### FORMAS MEDICO LEGALES.

Las intoxicaciones observadas son, sobre todo accidenta--- les, de origen alimenticio; que es también una forma de suicidio. La rareza de los envenenamientos criminales se explica por la causticidad y el olor del cianuro potásico.

En Alemania, los nazis ejecutaron de 1941 a 1944, millones de deportados políticos o raciales en sus campos de exterminación

(Auschwitz, Dachau, Belsen, Birkenau, Nordhausen, Mauthausen, Neuengamme, Flossenburg, Struthof (Alsaciú), etc.) asfixiándolos con gas cianhídrico en las "Cámaras de gas" especialmente dispuestas para este objeto. Utilizaban ya el "Zyklon" (tierra de infusorios impregnada de ácido cianhídrico), empleado para la desratización de los barcos o bien ampollas de HCN líquido, o bien una sal (probablemente el cianuro de calcio) que se descompone con la humedad desprendiendo HCN. La muerte se produce en algunos minutos.

En la industria, las intoxicaciones pueden sobrevenir en el curso de la fabricación del gas del alumbrado del amoníaco, de la sosa, de los ácidos oxálico o fosfórico, de la seda artificial, o bien durante las operaciones de extracción de oro, de dorado, de bronceado, de soldadura de metales o incluso durante la destilación de hueses de cerezas, combustión de celuloide, etc.

Han sido indicadas intoxicaciones a continuación de la reabsorción cutánea de soluciones cianuradas o mezcladas para cementación manipuladas imprudentemente, o incluso de cianuro de potasio utilizado para quitar manchas.

#### MANIFESTACIONES CLINICAS.

En la forma fulminante, el individuo cae bruscamente privado del conocimiento; el cuerpo se pone rígido; la respiración se detiene; de la boca sale una espuma sanguinolenta; las pupilas se dilatan; aparecen convulsiones y la muerte sobreviene en algunos minutos. (TARDIEU).

La forma aguda empieza por trastornos diversos, vértigos, constricción de garganta, ambliopatía, opresión torácica, trastornos que terminan en caída, acompañada de un grito y pérdida de conocimiento; después aparecen fenómenos disneicos (fase respiratoria), a los que suceden accidentes convulsivos, fase convulsiva con enlentecimiento respiratorio y progreso hacia el coma y muerte provocada por la asfixia (fase asfíctica).

Si la agonía se prolonga más allá de una hora, la curación es probable y completa, pues la intoxicación es reversible: es el "todo o nada".

La forma subaguda se caracteriza por accesos convulsivos que se producen cada dos o tres horas, cada vez más espaciados. La curación sobreviene tras un cierto número de días.

#### CARACTERES ANATOMOPATOLÓGICOS.

Fenómenos cadavéricos: la rigidez es muy precoz y duradera; las lívideces, las orejas, los labios, las mejillas, las uñas tienen una coloración rosada; la sangre es roja viva o negra y fluida si el cadáver no es reciente; retardo de la putrefacción.

El olor de almendras amargas que se desprende de las vísceras (estómago, pulmones, cerebro) es característico. El HCN se difunde a través de la pared gástrica después de la muerte. El olor se nota en el recipiente que contiene el cerebro extraído.

Los signos de asfixia, inconstantes, están representados por equimosis externas de la cara, del cuello, del pecho, por

equimosis subpleurales y subpericárdicas, por congestión y edema pulmonares, por sufusiones sanguíneas en el tubo digestivo y por hemorragias meníngeas.

Los pulmones aparecen rosados; pueden contener zonas densas, rojonegruzcas, de infartos hemorrágicos.

Las lesiones del globus pallidus recuerdan a los de la intoxicación por CO (reblandecimiento hemorrágico y simétrico del pálido).

En caso de muerte rápida, el edema cerebral con piqueteado hemorrágico del encéfalo (núcleo lenticular) ha sido señalado.

La causticidad del cianuro de potasio, sobre todo cuando contiene carbonato potásico, da una coloración rojo escarlata a la mucosa esofágica y gástrica que aparece recubierta de un líquido jabonoso; p la pared gástrica está retraída, engrosada e infiltrada; el contenido gástrico da una reacción alcalina intensa; en el mismo se encuentran a veces restos del vidrio de la ampolla que contenía el veneno.

#### INVESTIGACIONES TOXICOLÓGICAS.

Extemporáneamente, con algunas gotas de contenido gástrico filtrado, se puede poner en evidencia la presencia de CNK o de HCN, haciendo caer estas gotas en una solución diluida, rojo oporto, de metahemoglobina, la cual se transforma en solución rojo anaranjado de cianmetahemoglobina, cuyo espectro de absorción es característico (BALTHAZARD).

El aislamiento toxicológico del HCN, muy volátil, se hace por destilación de las vísceras trituradas y adicionadas de ácido tartá

rico que le pone en libertad. O bien, se utiliza el procedimiento Jacquemin, que consiste en descomponer por el ácido carbónico los cianuros tóxicos contenidos en las vísceras, y en recoger, bajo forma de cianuro de plata el HCN arrastrado por la corriente gaseosa.

El HCN desaparece rápidamente de los órganos, sea por volatilización o por alteración (ácido cianhídrico "disimulado").

Un mes después de la muerte, el ácido cianhídrico ha desaparecido de las vísceras, o bien se ha transformado parcialmente en sulfocianuros demostrables por la técnica de Chelle.

Cuando la muerte es debido a una inhalación del HCN, las investigaciones toxicológicas son negativas debido a las débiles dósis introducidas en el organismo.

#### INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS.

Un resultado negativo no indica nada si el análisis ha sido tardío. Un resultado positivo no es concluyente si es débil, pues los barbitúricos producen in vivo algunos miligramos de HCN; en cuanto a los sulfocianuros, se encuentran normalmente en la saliva y vestigios de origen alimenticio, en la orina. (KOHN ABREST).

El tratamiento de la intoxicación consiste según E. Hug, en una inyección intravenosa de 10 cc. de nitrito sódico al 3% (0.01 g/Kg. neutraliza dos a tres dosis mortales; sería más eficaz que el azul de metileno al 1%); posteriormente, inyección intravenosa de 50 cc. de hiposulfito sódico al 25%; al mismo tiempo, respiración artificial, inhalación de nitrito de amilo (5 a 6 ampollas) y tónicos car-

díacos .

El glutation reducido, catalizador de las oxidorreducciones celulares se ha mostrado experimentalmente un excelente antídoto de HCN a la dosis de 10 mg/Kg de animal; favorece la reanudación de la respiración tisular y combate la asfixia. (MLLE. REGNIER).

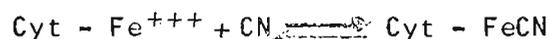
### GLUCOSIDOSCIAOGENETICOS

Los glucósidos cianogénéticos son sustancias presentes en algunos vegetales, que mediante la acción de un fermento que las acompaña, se descomponen en azúcar (glucosa, galactosa, etc.) y en un aglucón (ácido cianhídrico libre), el que si la cantidad liberada es grande, produce rápidamente la muerte. Una lista de dichos vegetales que contienen ácido HCN son: la mandioca, lino, morenita, Cynodon, sorgas, laurel o poroto de lima, pallar (*Phaseolus lunatus* L.) o "lima bean" de los norteamericanos y la anona silvestre.

### PATOGENIA.

El HCN y los cianuros son tóxicos debido a que inhiben los fermentos respiratorios, sobre todo los pertenecientes al sistema citocromocitocromo oxidasa.

El ión ciánico forma un complejo con el hierro del citocromo:



Se inhibe así la enzima.

Por dicha inhibición el oxígeno traído por la sangre baña los tejidos, pero no puede ser utilizado por las células. Este estado de anoxia histotóxica es rápido, completo y generalizado, y se expresa clínicamente por un cuadro también rápido y completo. Como el tejido nervioso es el más sensible a la falta de oxígeno, la sintomatología a su cargo es prevalente en el curso de la intoxicación y no da tiempo a que se constituyan otras lesiones. El sujeto muere o vuelve a la vida sin alteraciones irreversibles de los distintos órganos, aparatos o sistemas, salvo el sistema nervioso que puede, a veces presentar secuelas de origen y sintomatología muy semejante a las secuelas de la intoxicación aguda por el óxido de carbono.

#### ENVENENAMIENTO AGUDO.

La intoxicación aguda por el HCN (generalmente por inhalar sus vapores) y por los cianuros (debido a la ingestión de los mismos) transcurre rápidamente. A veces es verdaderamente fulminante y el paciente, después de haber bebido o inhalado una fuerte dosis cae sin conocimiento y muere en pocos segundos.

Con dosis menores o en sujetos excepcionalmente resistentes (quizá por su mayor capacidad para transformar en sulfocianuro el ácido cianhídrico absorbido por anaclorhidria), el transcurso de la intoxicación se extiende a quince o treinta minutos, a veces una o dos horas y raramente más tiempo. En general, la víctima fallece al cabo de un corto período de coma o despierta y entra en una convalecencia más o menos prolongada.

Cuando el caso es leve, por ingestión o inhalación de dó-

sis pequeñas, el envenenamiento puede remitir al cabo de algunas horas sin haber caído el sujeto en coma o habiendo perdido sólo por breves momentos el sentido.

En los casos en que la intoxicación se prolonga lo suficiente como para poder estudiar bien su sintomatología, se pueden esquematizar dos períodos sucesivos y una terminación, que puede ser premanitoria de la muerte o representar la convalecencia y la curación.

El primer período permite, a veces, apreciar una sensación cáustica en la boca y las fauces, que aparece al ingerir el veneno, por efecto del sodio o del potasio que contiene. Si en vez de penetrar por la vía digestiva, la absorción se hace por la vía respiratoria, pueden observarse algunos fenómenos irritativos de las mucosas oculares, faringeadas y laringeadas, que provocan lagrimeo, fotofobia, sialorrea, etc. Pero tanto en uno como en otro caso, la sintomatología relatada es fugaz y de poco valor para el diagnóstico. Lo mismo sucede con el vómito que puede ocurrir.

Lo importante es que casi de inmediato el intoxicado experimenta cefalea y vértigos, zumbidos de oído, opresión respiratoria, enturbiamiento de la vista y pérdida rápida del conocimiento.

En el segundo período es el del coma cianhídrico, en el cual las características principales son: gran dilatación pupilar, ligera exoftalmia y palidez (si la duración es breve) o cianosis (si el coma se prolonga). Existe bradipnea taquicardia. La aparición de convulsiones es de mal pronóstico.

El diagnóstico se asegura cuando se percibe en el aliento de la víctima el olor especial a esencia de almendras amargas, y se reafirma si el intoxicado presenta un tinte rosado de la piel y de las mucosas, parecido al que se observa en la intoxicación por el óxido de carbono, lo que se debe a la falta de consumo del oxígeno, que permanece en buena cantidad en la sangre venosa.

En los casos que evolucionan hacia la muerte, generalmente después de las convulsiones, se produce un relajamiento muscular completo, el pulso se hace filiforme, deja de percibirse y la respiración cesa.

Cuando se produce la recuperación, por causa de un tratamiento oportuno o más raras veces en forma espontánea, la vuelta a la normalidad es rápida y después de una convalecencia de horas o días, en el curso de la cual se producen vértigos, cefaleas y niptimias, el paciente se encuentra bien y recobra la salud.

En ciertos casos, sin embargo, como una consecuencia de lesiones microscópicas (hemorragias o trombosis con pequeños focos de reblandecimiento cerebral), que asientan de preferencia en los núcleos grises centrales y que son similares a las que se observan en el oxígeno carbonismo agudo, se comprueba un tiempo después de la recuperación, la aparición de secuelas alejadas bajo la forma de síndromes nerviosos, más comunmente como parkinsonismos o coreas, pero también como hemiplejías y otras parálisis musculares de origen central.

#### COMPROBACIONES EN LA NECROPSIA.

En los casos mortales, el cadáver mantiene un color rosa-

do algo parecido al del oxicarbonismo o está cianótico (como prolongada). En los labios y las narices suele aflorar una espuma blanco-rosada (hongo de espuma). La apertura de las cavidades torácica y abdominal y del estómago, permite percibir el olor a esencia de almendras amargas. El olor amoníacal debido a la descomposición de los cianatos también puede desprenderse del contenido gástrico, que es generalmente alcalino.

Algunas cauterizaciones gástricas y esofágicas debido al sodio o al potasio, cierta tumefacción de la mucosa del estómago, hipersecreción mucosa sanguinolenta sobre la misma, punteado hemorrágico visceral, manchas equimóticas subpleurales y subpericárdicas de Tardieu, sangre muy frecuentemente incoagulada y congestión visceral generalizada, son las alteraciones anatomopatológicas que suelen encontrarse.

#### ENVENENAMIENTO CRONICO.

El envenenamiento cianhídrico crónico ha sido discutido, aceptado por algunos y negado por otros. Parece ser verdad, sin embargo, la existencia de un cianhidrismo profesional en quienes trabajan en galvanostegia, fotografía, ciertos teñidos de tela, etc.

Su traducción clínica sería un síndrome de intoxicación general con cefalalgias, opresión torácica, palpitaciones, tendencia a la ebriedad y a las lipotimias, náuseas, inapetencia y epigastralgias. Una dermatitis pruriginosa y papulo-vesicular es ciertamente frecuente.

## TRATAMIENTO DE LA INTOXICACION AGUDA.

En la actualidad el tratamiento de la intoxicación cianhídrica aguda está bien esquematizada, corresponde a maestros argentinos de la toxicología el mérito de haberlo estandarizado y divulgado desde hace más de 30 años, aunque en ciertos países recién se adoptó dicho tratamiento en fechas mucho más cercanas.

Buzzo, Hug y Carratalá pusieron en práctica el empleo de los nitritos y del hiposulfito de sodio como medicamentos insustituibles contra la intoxicación cianhídrica y, sin duda alguna, estas drogas son armas muy eficaces en todos los casos que nos dan tiempo para actuar. Salvar al enfermo poseyendo estas armas, es más bien cuestión de poder emplearlas antes de que sobrevenga la muerte o aparezcan las convulsiones, caso en el cual ya el éxito se hace problemático.

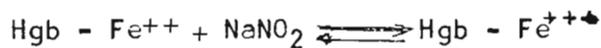
Por lo tanto, hecho el diagnóstico, se debe actuar sin demora, tratando de hacerlo con la mayor prontitud posible.

El tratamiento consiste en:

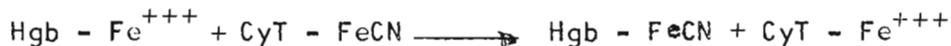
- 1o. Inhalación de nitrito de amilo. Las pocas inspiraciones que hace el enfermo harán llegar rápidamente el nitrito de amilo a la sangre, donde actuará transformando la hemoglobina en metahemoglobina, la cual forma con el HCN cianmetahemoglobina que no es tóxica. Esta transformación es rápida.
- 2o. Mientras una persona mantiene las dos ampollas quebradas del nitrito de amilo delante de las narices del intoxicado, para que éste lo respire y así se prolongue su vida, se carga una jeringa

con 10 cm<sup>3</sup> de una solución de nitrito de sodio al 2% y se inyecta en una vena. Si es imposible encontrarla, se inyecta la solución directamente en el corazón. El nitrito de sodio tiene la misma acción que el nitrito de amilo.

El nitrito de sodio convierte al hierro ferroso de la hemoglobina en férrico, formando metahemoglobina.



Esta última compete con la ferricitocromooxidasa con respecto al cianuro y se apodera de él, formando cianmetahemoglobina y restaurando la función de la encima:

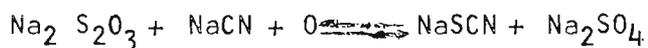


Sus efectos son muy rápidos, pero tiene el inconveniente de que su acción es poco duradera, porque la cianmetahemoglobina formada se descompone casi enseguida, volviendo a producir la anoxia histotóxica propia del ácido cianhídrico.

3o. Por eso, a continuación, se procede a inyectar, por vía intravenosa o intracardíaca según las posibilidades, 20 cm<sup>3</sup> de una solución de hiposulfito de sodio, al 30%, la que se repetirá todas las veces que sea necesario.

El hiposulfito de sodio que es un buen antitóxico para muchos venenos porque proporciona el azufre que el organismo necesita para reponer el que ha sido bloqueado por aquellos, actúa en la intoxicación cianhídrica combinándose con el HCN y formando ácido sulfocianico, el que se solidifica, dando lugar a sulfoceanuros, que ya hemos

visto, son poco tóxicos. Es por lo tanto un verdadero antídoto del cianógeno y sus compuestos.



El hiposulfito de sodio a pesar de esto y de que sus efectos son duraderos, se inyecta después del nitrito de sodio porque tarda un tiempo en actuar y ese retardo, aunque no sea muy grande, basta a veces para hacer fracasar el tratamiento, por no haberse efectuado la neutralización del cianuro a tiempo.

Una vez conseguido el éxito se puede, si las circunstancias lo aconsejan, hacer una terapéutica complementaria, incluso un lavado de estómago (agua oxigenada de 10 volúmenes, 100 mililitros en un litro de agua).

La oxigenoterapia o carbogenoterapia, la estimulación central y periférica (respiración artificial, coramina, cardiazol o micorrén, lobelina), los cardiotónicos (digitálicos, estrofantó), el citocromo C, los antibióticos, etc. son procedimientos que se emplearán oportunamente.

#### IDENTIFICACION.

Separación por destilación en corriente de vapor (escoger el destilado sobre hidróxido de sodio 10% para impedir pérdidas).

Directamente sobre tejidos o fluidos.

1. Reacción de Schönbein: Impregnar una tira de papel de filtro su-

cesivamente con solución alcohólica (10%) de guayaco y solución acuosa (0.1%) de sulfato de cobre.

Colocar esta tira cerca del material a ensayar o sobre él; si hay cianuro, el papel se vuelve de color azul. Esta reacción es muy sensible (0.005 mg / 100 gr.), pero la dan, también el agua oxigenada, ozono, cloro, óxidos de nitrógeno y otros. El color puede desarrollarse inmediatamente o tardar 15 minutos, según la concentración.

## 2. Reacción de elección (Gettler y Goldbaum) (específica).

Se ponen en un tubo de ensayo de 10 cm. 2 cc. de sangre; preparar el aparato con las pestañas. Poner un disco circular de papel de filtro preparado como se describe a continuación:

Sumergir un papel de filtro Whatman No. 50 en una solución de sulfato ferroso 20%.

Colgarlo y dejarlo secar.

Sumergirlo después en hidróxido de sodio 10%. Colgarlo y dejarlo secar. Cortar discos circulares del tamaño aproximado de una moneda de cinco centavos de dólar (que se adapte al tamaño de las pestañas).

Disponer un disco entre las pestañas y sujetarlo con una banda de goma.

Poner 2 cc. de ácido tricloracético 15% en el tubo de ensayo con la sangre.

Hacer rápidamente las conexiones para tener listo el aparato.

Hacer vacío suavemente durante unos 5-10 minutos.

A veces un calentamiento suave acelera la destilación, especialmente si hay muy pequeña cantidad de cianuro.

Sumergir el disco en ácido clorhídrico 30% para disolver la coloración parda; si aparece un azul neto (azul de prusia) la reacción es positiva. Sensible de 0.005 mg. de cianuro/10 cc. de sangre, ensayo específico y que puede usarse cuantitativamente.

3. Las reacciones siguientes pueden efectuarse directamente sobre la muestra o mejor aún sobre el destilado en corriente de vapor.

Evaporar suavemente 50 cc. del destilado hasta 5 cc.

Agregar unas gotas de hidróxido de sodio (10%) más varias gotas de solución fresca de sulfato ferroso (10%) → precipitado pardo de hidróxido férrico. Agregar ácido clorhídrico de a gotas hasta desaparición del precipitado, y si hay cianuro aparece un nuevo precipitado de azul de prusia (azul intenso). Este ensayo es específico.

4. Agregar 10 cc. de polisulfuro de amonio a 50 cc. del destilado.

Evaporar sobre baño de agua sequedad → tiocianato de amonio.

Disolver con 5 cc. aproximadamente de agua y después acidificar con HCL.

Filtrar y agregar unas gotas de cloruro férrico → color rojo intenso (tiocianato férrico).

5. Agregar a 50 cc. del destilado, 5 cc. de cada uno de los siguientes:

nitrito de potasio 10% + cloruro férrico 10% + ácido sulfúrico 10% —→ hasta que esté amarillo. Hervir suavemente, dejar enfriar y agregar un exceso de hidróxido de amonio. Filtrar el hidróxido férrico y eliminarlo al filtrado, agregar soln de sulfuro de amonio hasta que esté violeta, que luego cambia a los siguientes tonos:

violeta —→ azul —→ verde —→ amarillo.

6. Evaporar 50 cc. del destilado hasta 5 cc. y agregar después nitrato de plata (10%) —→ precipitado blanco.

(El ácido clorhídrico interfiere).

7. Alcalinizar 50 cc. del destilado con NaOH (10%).

Agregar 3 cc. de ácido pícrico y calentar suavemente coloración roja (interfieren la creatinina y la glucosa).

Tratamiento: Es esencial actuar inmediatamente, pues la muerte ocurre rápidamente.

Debe darse Nitrito de sodio 300 - 400 mg. en 10 cc. de suero fisiológico por vía endovenosa lentamente, seguido inmediatamente por tiosulfato de sodio endovenoso 25 g/50 c.c. Repetir si es necesario.

Si no se dispone de lo indicado más arriba: inhalación de perlas de nitrito de amilo cada tres minutos.

Se debe administrar drogas simpáticomiméticas para impedir el

descenso de la presión sanguínea (efedrina o adrenalina).

Si el envenenamiento ha sido por vía oral: provocar el vómito o hacer un lavado gástrico.

Respiración artificial u oxigenoterapia para mantener la respiración, ya que a veces el corazón sigue latiendo aún después de interrumpirse la misma.

Tener al paciente reclinado, quieto y abrigado; con calor exteriormente.

## TOXICIDAD DE ALGUNAS LEGUMINOSAS

En el presente capítulo se hará una breve descripción de los distintos factores tóxicos en las leguminosas comestibles y su eliminación.

Las leguminosas constituyen una importante fuente de proteínas dietéticas para grandes segmentos de la población mundial, particularmente en aquellos países en los cuales el consumo de proteínas animales es limitado por la falta de disponibilidad o su misma imposición por sus hábitos religiosos o culturales. Es quizá irónico notar que aunque las leguminosas han asumido un papel tan importante en la dieta humana al mismo tiempo ellas han sido conocidas por mucho tiempo por contener una gran variedad de sustancias, las cuales deben ser consideradas tóxicas al cuerpo animal. Muchos de los primeros trabajos que relatan la toxicidad de las leguminosas fueron estudiadas con especies de leguminosas reconocidas durante mucho tiempo por no ser comestibles, porque ellas contenían sustancias las cuales Osborne había referido como albúminas tóxicas. La más conocida de estas sustancias tóxicas son Ricinas, las cuales son encontradas en el frijol de castor, "Ricinus Communis". Eso aunque especies comestibles de leguminosas podrían provocar reacciones deletéreas en animales a menos que estas leguminosas fueran adecuadamente preparadas, no escapaban a la atención de nutricionistas y con el inevitable avance de la ciencia vino un incrementado reconocimiento y función de muchos de estos factores tóxicos. Este ensayo será destinado largamente a las sustancias tóxicas que son encontradas en aquellas leguminosas que han sido clasificadas como comestibles en recientes reportes de la Food and Agricultural Organization (FAO).

## INHIBIDORES DE LA TRIPSINA.

Quizá lo mejor conocido de los factores tóxicos que se sabe que existen en las leguminosas, son los inhibidores de la tripsina, llamados así por su habilidad de inhibir la acción de las ENZIMAS TRIPSINA encontradas en el tracto digestivo del hombre y de animales.

La tremenda cantidad de trabajo que ha sido practicado en estos inhibidores de la TRIPSINA contiene, desde el papel más importante que el frijol de soya ha asumido en los campos de la nutrición humana y animal.

A OSBORNE y a MENDEL se les acredita ser los primeros en observar el frijol de soya. El estudio hecho por estas personas dice que por lo menos cocinados por varias horas no ayudaría al normal crecimiento de ratas, una observación que ha sido subsecuentemente extendida para incluir muchos otros animales experimentales. De acuerdo con la experiencia general de que el valor nutritivo de que una proteína es determinado por su composición, aminoácido, numerosos estudios han sido tomados como base para determinar si la suplementación de las proteínas crudas con aminoácidos lograrían el mismo efecto que si se calentaran. Ha sido establecido al fin que de la adición de Cestina o Metionina al no cocinar el frijol de soya mejorará esencialmente la utilización de proteínas, al mismo tiempo que en el propio calentamiento, a pesar del hecho de que no hay una diferencia esencial en la composición aminoácido entre la comida cruda y cocinada. Además las proteínas del frijol de soya cocinado o crudo son

digeridas en la misma forma por ratas y hombres. Así que una diferencia en digestibilidad no pareció ser importante para la inferioridad del frijol de soya crudo. MELNICK y sus colaboradores sugirieron que la Metionina del frijol crudo de soya era liberada más lentamente por las encimas proteolíticas de los intestinos que los otros aminoácidos esenciales, así que la Metionina no fue efectivamente utilizada para la síntesis de proteínas. Este concepto fue fortalecido por el descubrimiento, purificación y caracterización de una proteína cocinable en el frijol de soya que inhibe la actividad proteolítica de la TRIPSINA, las fracciones antitripticas activas provenientes de no cocinar el frijol de soya han sido mostradas en el retardo del crecimiento de ratas, ratones, pollos. Porque la eficiencia proteínica del calentamiento parcial de la harina del frijol de soya incrementada en proporción a la destrucción del inhibidor de la TRIPSINA, VESTFALL y HAUGE concluyeron que el inhibidor de la Tripsina era el mayor causante de la pobre utilización de proteína en el frijol de soya crudo.

La Tripsina contrarrestaba el crecimiento de la depresión obtenida con pollos y ratas, recibiendo dietas que contenían frijol de soya crudo. Por consiguiente aquí apareció una pequeña duda, que la calidad pobre del crecimiento promovido por el frijol de soya crudo podría ser atribuido en un alto grado a un inhibidor de la Tripsina. Aunque la hipótesis de MELNECK'S referida primeramente aparecía para explicar el modo de acción de un inhibidor de Tripsina, otras observaciones no apoyan su teoría.

Los estudios invitro han demostrado que el inhibidor de Tripsina no retarda específicamente la descarga enzimática de

Metionina, sino parece afectar todos los aminoácidos en el mismo grado. Las preparaciones antitripticas activas han sido usadas para retardar el crecimiento de ratas y ratones, aun cuando estas sumadas a dietas conteniendo proteínas pre-digeridas, cuando la proteolisis intestinal no jugaría una parte con respecto a la eficacia de los aminoácidos esenciales. Se ha notado que pollos y ratas alimentados con aceite comestible de frijol de soya crudo desarrollan marcada hipertrofia del páncreas. Contrario a lo que ha sido generalmente asumido, la cantidad de tripsina encontrados en intestinos de ratas y pollos alimentados con frijol de soya crudo fue de hecho más grande que aquella obtenida con el frijol de soya cocinado. Una preparación cristalina del inhibidor de tripsina produjo los mismos efectos como el aceite comestible del frijol de soya crudo.

Parecería por consiguiente que la disminución del crecimiento causado por el inhibidor de tripsina tiene poco que hacer con una inhibición de proteolisis intestinal, pero debe ser el resultado de la pérdida de endógenos de aminoácidos esenciales de un páncreas hiper activo que está respondiendo en una forma compensatoria a los efectos del inhibidor de tripsina. La pérdida de Metionina sería particularmente aguda desde que la proteína es notoriamente deficiente en este aminoácido.

Los inhibidores de tripsina han sido también encontrados en un gran número de otras leguminosas (Tabla I) y su presencia com--prueba la más creíble explicación para las observaciones que el incremento en el calor de digestibilidad invitro de algunas proteínas leguminosas. JAFFE, observó que entre leguminosas que tenían la más

TABLA I

EL EFECTO DEL CALOR SOBRE EL VALOR NUTRITIVO DE LEGUMBRES Y LA PRESENCIA O AUSENCIA DE COMPONENTES TOXICOS.

NOMBRE BOTANICO	NOMBRE COMUN	VALOR NUTRITIVO	INHIBIDOR DE TRIPSINA	HEMAGLUTINANTES	OTROS
<i>Arachis hypogea</i>	Cacahuete o maní	+ 56,57	+ 58-61	+ 62	Goiterógeno 63-64
<i>Lathyrus odoratus</i>	Guizante dulce	± 108, 109	+ 30	+ 91	β glutamil amino propionitrilo
<i>Faba vulgaris</i>	Frijol doble	+ 98	+ 88, 95, 98-100 (ver los textos)	?	Factor goiterogénico
<i>Glycine max</i>	Frijol de soya	+ (ver los textos)		+ 101-103	(saponinas, anti coagulante, principio diurético)
<i>Lathyrus sativus</i>	Khesari dhal	+ 72,73	?	?	Latirismo humano
<i>Phaseolus aureus</i>	Frijol verde	± 72,73,74,78, 116	-	-	-
<i>Phaseolus lunatus</i>	Frijol lima	+ 119-123	+ 30, 124-128	+ 129-131	Glucósido ciano--
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Frijol naval	+ 112, 119, 121,	+ 24, 30, 74, 88	+ 91, 101, 137-141	genético
	Frijol pinto	+ 122, 134-136	+ 30, 60		Factor goiterogénico
	Frijol francés		- 30, 60		
	Frijol negro		- 30, 60		
	Frijol blanco				
<i>Vicia faba</i>	frijol fava	+ 60		+ 91, 103, 151-153	favismo
<i>Vicia sativa</i>	Alberja común	± 60		+ 91, 114, 154	Glucósido ciano-- genético alcaloides

- + Indica que el valor nutritivo es mejorado por el calor o una evidencia positiva para la presencia del inhibidor de tripsina o hemaglutinante.
- Indica que el valor nutritivo es adversamente afectado por el calor o la ausencia de un inhibidor de tripsina o hemaglutinante.
- ? Indica que no hay información disponible.
- ± Indica que el valor nutritivo no es afectado por el calor.

alta actividad de inhibir la tripsina estaban también aquellas, en las que la digestibilidad como medida in vivo era en su mayoría mejorada al cocinarla. Una inhibición directa del crecimiento de ratones por las preparaciones purificadas de un inhibidor de tripsina del frijol Lima fue demostrada por Tauber y colaboradores, pero Sohonie y colaboradores fueron incapaces para presentar ninguna inhibición de crecimiento de ratas por un inhibidor purificado del frijol doble (Faba vulgaris M). En este caso como en el del frijol de soya, no es cierto que el inhibidor de tripsina ejecute sus efectos deletéreos en el crecimiento, por una inhibición de proteólisis intestinal desde que Klase y sus colaboradores encontraron que las fracciones de las proteínas del frijol Lima, que fueron altas en sus actividades antitriptícas inhibieron el crecimiento de ratas alimentadas con caseína de ácido hidrolizado.

### HEMAGLUTINANTES

Un examen de los datos recopilados en la tabla I revela la no obvia relación entre el efecto benéfico que el calor produce en algunas leguminosas y la presencia o ausencia de un inhibidor de tripsina, una conclusión que ha sido también alcanzada por Barchez y Ackerson y Jaffé.

Esta discrepancia ha servido para enfocar la atención en la posible presencia de otro inhibidor del crecimiento en las legumbres crudas, la cual es destruída por el calor. Numerosos reportes pueden ser encontrados en la más vieja literatura describiendo los efectos tóxicos producidos en animales por la ingestión de algunas legumbres. Así Osborne y Mendel en 1912 reportaron que las ratas no podrían cre-

cer si el manantial de la dieta de proteínas era derivada de la judía, o habichuela, (*Phaseolus vulgaris*) y que prolongada ingestión resultó ser mortal. Desde aquel tiempo numerosos trabajadores han reportado observaciones similares para una amplia variedad de frijoles, los cuales son botánicamente calificados como *Phaseolus vulgaris*. En adición a lo más reciente, JAFFE, también encontró un alto grado de toxicidad en ratas alimentadas con dieta conteniendo *DOLICHAS LABLAB*, *Cannavalia ensiformis* y *Phaseolus lunatus*. De ahí que esta toxicidad no podría ser impedida por digestión de una albumina vegetal. JAFFE, concluyó que el principio tóxico involucrado aquí no era un inhibidor de la tripsina.

La presencia de sustancias en legumbres que tienen la capacidad de aglutinar las células rojas de la sangre, de varias especies de animales han sido extensamente admitidas. Estos hemaglutinantes son algunas veces referidos como fitoaglutinantes o lectinas y su distribución entre las legumbres se muestra en la Tabla I. Aún cuando una reacción tóxica puede ser producida en animales por la inyección directa del hemaglutinante purificado de el Jack been y el frijol de soya. Liener llamó la atención al hecho de que la ingestión oral del hemaglutinante purificado del frijol soya podría inhibir el crecimiento de ratas. El hemaglutinante de *Phaseolus vulgaris* ha sido recientemente purificado y Jaffé y Hanover y colaboradores han mostrado que la preparación purificada de estos hemaglutinantes pueden notoriamente inhibir el crecimiento de ratas. La opinión de Jaffé es que la acción de las hemaglutinantes es combinarse con las células cubriendo la pared intestinal y así interferir la absorción de nutrientes.

A este punto debe ser saludable señalar que hay varias pruebas reportadas, en las cuales las manifestaciones de toxicidad han sido observadas en sujetos que han comido frijoles verdes corredos (phaseolus coccineus (o multiharina) o harina de habichuela inadecuadamente cocinada. Cartwright y Wintrobe describieron síntomas de náuseas, vómitos y diarrea en prisioneros de guerra japoneses, quienes fueron alimentados con frijol de soya crudo. Sería lógico suponer que los hemaglutinantes sean los responsables al menos en parte, de las manifestaciones tóxicas observadas en sujetos humanos ingiriendo ciertas leguminosas crudas.

#### FACTOR GOITEROGENICO.

Mc Carrison parece haber sido el primero en reportar el efecto goiterogénico del frijol de soya, una observación que ha sido subsecuentemente confirmada por otros, en ratas y polluelos. Más recientemente varios investigadores han reportado un número de casos de bocio en infantes humanos que han sido alimentados con leche de soya. La goiterogeneidad de la leche de soya podría ser aliviada incrementando el consumo de Yodo. Van Wyk y colaboradores concluyeron que la asimilación del Yodo por la tiroides había sido bloqueada. VAN MIDDLESWORTH y BECK midiendo la asimilación de Yodo por la tiroides en ratas observaron que actualmente el frijol de soya causa un incremento en la asimilación de Yodo. Sin embargo, pérdida fecal más grande de tiroxina fue evidente, la cual ellos atribuyeron al hecho de que la reabsorción de tiroxina desde el intestino, donde había sido excretada a través de la bilis, era inhibida por la presencia de frijol de soya crudo. Esta explicación trae a considerar el esfuerzo

de Jaffé que el principio tóxico de otra leguminosa, *Phaseolus vulgaris* interfiere con la absorción de nutrientes a través de su acción en la mucosa intestinal.

El reporte más temprano de Mc Carrison, de que la *Arachis hypogea* (leguminosa) era también goiterogénica ha sido confirmado por Steenivasan y colaboradores, quien atribuyó el efecto goiterogénico a una arachidosida, la cual está presente en altas concentraciones en el tegumento rojo. Mougald y colaboradores concluyeron de sus experimentos que los metabolitos fenólicos formados de la *Arachidosa* son preferentemente yodados y de allí despoja la tiroides el yodo disponible.

La posibilidad de que otras leguminosas puedan también ser goiterogénicas está indicada por un reconocimiento hecho por Greer y Ashwood en la goiterogenicidad de varios alimentos. Estos trabajadores encontraron que *Phaseolus Vulgaris*, *Pisum sativum* y *Arachis hipogea* estaban mezclados con esos alimentos los cuales inhibían la asimilación de  $I_2$  radioactivo por la tiroides en sujetos humanos.

#### GLUCOSIDOS CIANOGENETICOS.

El frijol de Lima *Phaseolus lunatus* contiene un glucósido cianogénico llamado *Phaseolunatina* la cual por hidrólisis produce glucosa acetona y HCN. La semilla también contiene una enzima glucosidácea, la cual libera HCN de este glicósido, solamente si el frijol es machacado (o molido) antes de cocinar. En un estudio de un gran número de frijoles de Lima venenosos y comestibles,

Viehoever encontró que la cantidad de HCN que puede ser liberada de frijoles machacados varió de 0.01% en variedades comestibles a 0.3% en algunas variedades tropicales. Aunque serios casos de envenenamiento por la ingestión de frijoles de lima cocinados han sido reportados, estos evidencian al glucósido cianogenético como que el factor causante está ausente. Otras leguminosas supuestas de contener glucósido cianogenético incluyen *Cicer arietinum*, *Vicia sativa* y *Vicia faba*, Jaffé fue incapaz de encontrar cualquier relación entre el contenido de HCN de un número de leguminosas y la crecida respuesta obtenida con ratas.

#### LATHYRISMO.

El Latirismo, una enfermedad en el hombre, la cual es caracterizada por una parálisis de las extremidades inferiores ha sido reconocida desde el tiempo de Hipócrates y en tiempos más recientes ha azotado algunos segmentos de la población en la India. Aunque la Etiología de esta enfermedad no ha sido claramente establecida es generalmente asociada con el consumo de las leguminosas *Lathyrus sativus*. A pesar de todas las excelentes descripciones, las cuales han sido registradas en la literatura poniendo atención a los aspectos epidemiológicos, químicos y patológicos de la enfermedad, el problema permanece esencialmente aún sin resolver hoy.

Una base significativa en el estudio del Latirismo fue el encuentro de Geiger y colaboradores que una enfermedad que se parece al latirismo en el hombre, puede ser producida en ratas por alimentación de guizantes dulces, *Lathyrus odoratus*. Ya que la alimen-

tación con *Lathyrus sativus* produce efectos favorables en las ratas. El término "Odoratismo", tan sugerido por Vivanco, parecería ser más apropiado para la condición producida por los guizantes dulces. Un principio activo capaz de producir la enfermedad en las ratas fue aislado de guizante Singlotary (*Lathyrus prusillus*) por Dupuy y Lee y del guizante dulce por Schillin y Strong, quienes identificaron el principio tóxico como  $\beta$  (N -  $\gamma$  - L glutamil) amino propio nitrillo.

Es importante notar que este compuesto no ha sido encontrado en *Lathyrus sativus* o en una variedad de otras leguminosas incluyendo al frijol de soya, el guizante de jardín, el frijol naval y otros. Hasta aquí la exacta etiología del latirismo en el hombre permanece oscura, después de siglos de observación. Vivanco y sus colaboradores han pretendido ser capaces de producir una forma de latirismo en ratas con *Cicer arietinum*. Puesto que esta condición fue observada solamente con el frijol cocinado y fue curable por la administración de Metionina, es probable que estos investigadores estuvieran simplemente tratando con las manifestaciones de una deficiencia de Metionina. *Cicer arietinum* es conocido por ser deficiente en Metionina y la destrucción de Choline en estas legumbres por el conocimiento es esperado para agravar esta deficiencia.

## ELIMINACION DE FACTORES TOXICOS.

## CALOR.

Los efectos tóxicos de las legumbres que han sido descritos, pueden ser eliminados parcial o completamente por la aplicación de calor. Este efecto se manifiesta por un incremento general del valor nutritivo de las proteínas de legumbres (Ver Tabla I). Es relativamente fácil que los componentes tóxicos puedan ser removidos, en la mayoría de los casos por métodos apropiados de cocción, que sin duda contribuyen a la popularidad de las legumbres, como un consumo principal en la dieta de muchos países. Los métodos de preparación de legumbres para el consumo humano, han sido descritos con detalle por DEAN y en una reciente publicación de la FAO.

Como se nota en la Tabla I estas legumbres cuyo valor nutritivo es aumentado por calentamiento, generalmente contienen más de un componente tóxico, así que frecuentemente hay dificultad para conocer cual factor tóxico es el responsable en el pobre valor nutritivo de la legumbre no cocida. En tales casos, una correlación observada entre una mejoría del valor nutritivo y la destrucción de un componente tóxico específico, no necesariamente establece una relación de causa.

CONSIDERACIONES GENERALES. El frijol de soya ha recibido la mayor atención con relación a los efectos del tratamiento con calor. En general, el grado de mejoría en el valor nutritivo afectado por

el tratamiento con calor depende de la temperatura, duración del calentamiento y humedad, condiciones-variables, las cuales son estrictamente controladas en el proceso industrial del aceite comestible de frijol de soya, en el orden de obtener un producto de valor nutritivo máximo. Parsons ha estudiado los efectos de diferentes métodos de cocción sobre las proteínas de diferentes familias del frijol de soya y dejó fuera la importancia de la humedad en la producción de mejores resultados. Por ejemplo, frijoles asados en horno entre 230 y 300°F durante 30 minutos donde el valor nutritivo fue definitivamente inferior en su valor nutritivo en comparación con los frijoles que habían sido cocinados con agua. En términos similares Steele y colaboradores encontraron que sujetos humanos presentaron un balance de nitrógeno negativo en su dieta que contenía frijoles de soya cocidos en autoclave, pero un balance positivo con frijoles remojados en agua y luego hervidos.

Con respecto a las otras legumbres no se puede generalizar. De la Tabla I vemos que el calor puede o no puede ser necesario para aumentar las propiedades nutritivas de las proteínas. En la mayoría de ejemplos, cuando el calor produce un efecto positivo parece haber una pequeña diferencia entre las legumbres que son cocinadas en agua, autoclave, o secado. Notable excepción es el *Phaseolus vulgaris* y *Dolichos lablab* los cuales requieren preliminarmente un remojo para cocinarse o someterse a autoclave en el orden para eliminar completamente la toxicidad del frijol crudo. Se recomienda remojo anterior para el uso de estas legumbres para el consumo humano, tales como la judía extendiéndose para la harina y *Dolichos*

lablab.

**INHIBIDOR DE TRIPSINA.** Que el inhibidor de tripsina del frijol de soya es destruido por el calor, es ampliamente apoyado por la evidencia experimental y ahí aparece estar de hecho una correlación inversa entre el contenido de inhibidor de tripsina parcialmente calentado en las comidas del frijol de soya y su valor nutritivo. Cravioto y colaboradores encontraron que el inhibidor de tripsina del frijol de soya usado en la preparación de la tortilla mexicana fue destruido por 1% de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  a  $80^\circ\text{C}$  por una hora. La actividad del inhibidor de tripsina es reducido casi a cero en pan que ha sido preparado de fórmulas que contienen 3% de harina de frijol de soya.

El incremento de digestibilidad de las legumbres cocinadas como medida invitro e in vivo es presumiblemente debido a la destrucción del inhibidor de la tripsina contenida en ello.

**HEMAGLUTINANTES.** Los hemaglutinantes del frijol de soya son destruidos por autoclave y la mejoría en el efecto de su valor nutritivo efectuado por calentamiento paralelo en el cual la hemaglutinina ha sido destruida. Pan preparado con una fórmula conteniendo 3% de harina de frijol de soya exenta de actividad de aglutinante. El calor parcial de inactivación de una hemaglutinina purificada de *Phaseolus vulgaris* mostró una destrucción paralela de toxicidad y actividad hemaglutinante. Si una hemaglutinina es responsable de la toxicidad de judías crudas como fue postulado por Jaffé

entonces debe seguir que la hemaglutinina solamente puede ser destruida en una comida cruda al humedecerlo previamente seguido por calentamiento en autoclave.

AGENTE GOITEROGENICO. Aquí parece estar de acuerdo en que la actividad goiterogénica del frijol de soya es reducida considerablemente con el tratamiento del calor tal como evaporando, o calentando en autoclave. Nordsiek también encontró que la goiterogenicidad del frijol de soya fue completamente destruida por extración con hexano entre 75 a 110°C. En vista de la unanimidad, relativa a la eficacia del calor, es algo sorprendente que Van Wyk y otros fueran capaces para observar una condición de bocio en infantes alimentados con leche de frijol de soya que fue presumiblemente calentada durante su manufactura. Hay obviamente una necesidad para más trabajo relativo a la goiterogenicidad de la leche del frijo de soya en sus condiciones de proceso.

GLUCOSIDOS CIANOGENETICOS. Aunque la liberación del HCN de phaseo lunatina en frijol de lima es interpuesta por una enzima  $\beta$ -gluco sida la inactivación de esta enzima por el calor se podría esperar que rindiera frijol lima no tóxico. Sin embargo serios brotes de envenenamiento a partir del frijol de lima cocinado no son raros partiendo de la posibilidad de que el mismo cuerpo podría contener enzimas capaces de liberar HCN de phaseolutina. Esta posibilidad está reforzada por los experimentos de Dunbar quien observó que los envenenamientos por cianuro en ovejas ali-

mentadas con frijol lima y el cual había sido hervido por dos horas y media para destruir la actividad de los glucósidos.

OTROS FACTORES TOXICOS. Potter y Cummerow satisfechos de que parte de la mejoría en el valor nutritivo del frijol de soya afectado por el calor, es debido a la hidrolisis destructiva de la saponina tóxica, soyasapogenol. Las saponinas encontradas en las especies de *Canavalia* pueden ser separadas por remojo y cocimiento. El principal tóxico de *Lathyrus odoratus* es estable al calor, pero puede ser removido por repetidos lavados con agua. Por contraste el agente causante de favismo aparece al ser calentada suavemente, puesto que la enfermedad está generalmente asociada con la relación de frijol faba fresco o parcialmente cocinado.

## METODOS Y RESULTADOS.

## METODO GUTZEIT.

Impregnar un papel filtro Whatman No. 50 en una solución de carbonato de sodio al 10% y desecar. El papel Whatman desecado se corta en círculos del tamaño de las pestañas del aparato, luego humedecerlo con ácido pícrico al 1% en el momento de usarlo. Se coloca el papel entre las pestañas del aparato que contiene la muestra acidificada con ácido sulfúrico 1 en 20 y luego calentar suavemente por 2 horas, en baño María.

## METODO ACIDO DE TITULACION.

Colocar de 10 a 20 gramos de muestra molidos en un tamiz No. 20 en un frasco Kjeldahl de 800 ml. añadir 100 ml. de agua y macerar a temperatura del cuarto por dos horas. Añadir 100 ml. de agua y destilar a vapor, recolectando el destilado en 20 ml. de nitrato de plata 0.02 N acidificarlo con un mililitro de ácido nítrico.

Antes de la destilación, ajuste el aparato de tal forma que la punta del condensador se sumerja bajo la superficie del líquido en que se recibe. Cuando 150 ml. han pasado al otro lado, filtrar el destilado en un Gooch lavando el recipiente y Gooch con poquitos de agua. Titular el exceso de nitrato de plata en la mezcla de filtrado y lavado con 0.02 normal de sulfocianuro de potasio, usando hierro como indicador.

Un 1 ml. de nitrato de plata 0.02 N = 0.54 mg. de HCN.

## METODO DE TITULACION ALCALINO.

Colocar de 10 a 20 gr. de muestra pasado por un Tamiz No. 20 en un frasco Kjeldahl de 800 ml. añadiendo aproximadamente 200 ml. de agua y dejar permanecer de 2 a 4 horas (autólisis deberá ser conducida con aparato completamente conectado para destilación). Destilar a vapor, coleccionar de 150 a 160 ml. de destilado en solución de hidróxido de sodio (0.5 gr. en 20 ml. de agua y diluir a un volumen preciso y definido.

A 100 ml. de destilado (es preferible diluir a 150 ml. y titular una alícuota de 100 ml.) añadir 8 ml. de hidróxido de amonio 6 N y 12 ml. de yoduro de potasio al 5% y titular con solución de nitrato de plata 0.02 N usando microbureta. El punto final es desvanecido o tenue, pero una turbiedad permanente puede ser fácilmente reconocida especialmente comparándolo contra una fuente negra.

1 ml. de Nitrato de Plata 0.02 N es igual a 1.08 mg. de HCN.

## FORMULA PARA DETERMINAR PORCENTAJE DE ACIDO CIANHIDRICO.

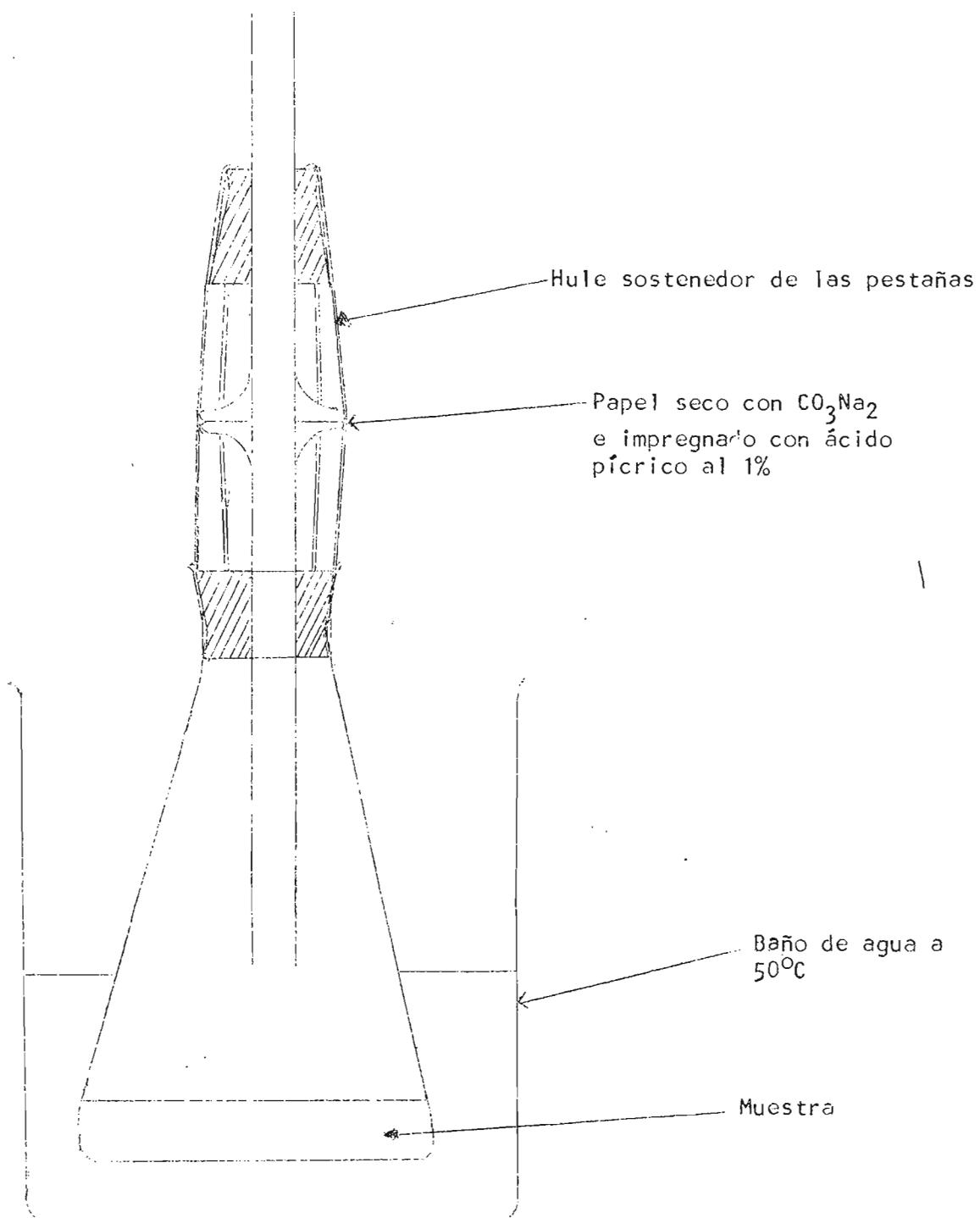
$$\% = \frac{\text{cc de valorante gastado} \times f \times \text{equiv.} \times 100}{\text{peso muestra}}$$

RESULTADO PRACTICO EFECTUADO EN ESTE TRABAJO.

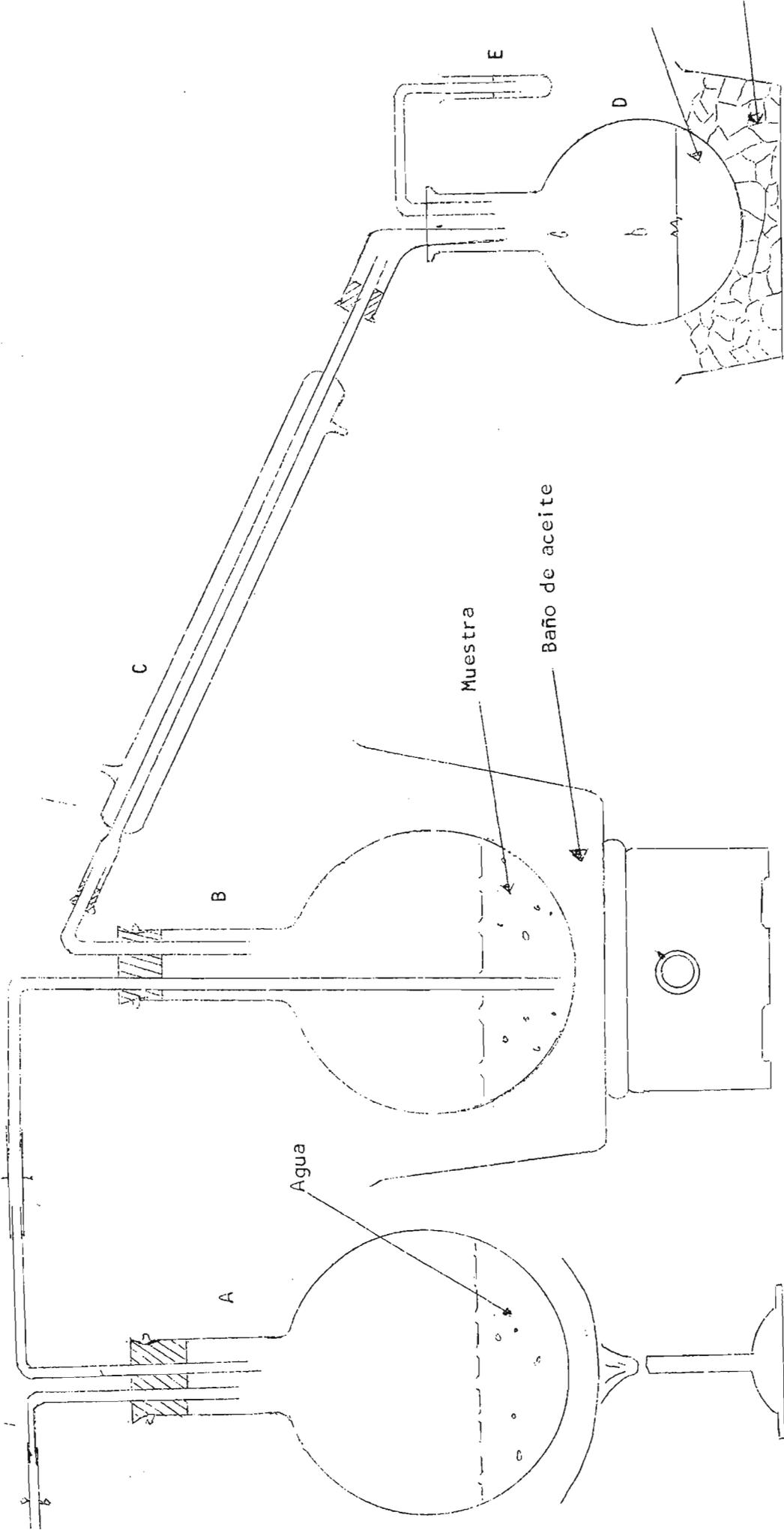
VARIEDAD	LUGAR	COSECHA	DESECACION	RESULTADO
1. Rojo criollo	Santa María, Mizata	Agosto 70	al sol (en vaina)	negativo
2. Rojo criollo	Santa María, Mizata	Agosto 71	al sol (en vaina)	negativo
3. Rojo criollo	Santa María, Mizata	Agosto 71	sin secar (maduro)	negativo
4. Rojo criollo	Hacienda Santa Emilia	Agosto 70	al sol (en vaina)	negativo
5. Rojo criollo	Hacienda Santa Emilia	Agosto 71	sin secar (maduro)	negativo
6. Tineco negro local	Hacienda Santa Clara	Agosto 70	al sol (en vaina)	negativo
7. Tineco negro local	Hacienda Santa Clara	Agosto 71	al sol (en vaina)	negativo
<u>VARIETADES MEJORADAS</u>				
1. Zapotitán No. 1	Zapotitán	Cosecha 70	al sol (en vaina)	negativo
2. Porriño 70	Santa Cruz Porriño	Cosecha 70	al sol (en vaina)	negativo
3. Selección Rojo 70	Centro Nac. de Agron.	Cosecha 70	al sol (en vaina)	negativo
4. Selección Nacional 184 N	Centro Nac. de Agron.	Cosecha 70	al sol (en vaina)	negativo
5. 27 R	Centro Nac. de Agron.	Cosecha 70	al sol (en vaina)	negativo
6. San Andrés No. 1	San Andrés	Cosecha 70	al sol (en vaina)	negativo

## APARATOS EMPLEADOS

## APARATO DE GUTSEIT.



APARATO DE DESTILACION



## DISCUSION

Para iniciar la investigación de ácido cianhídrico en las diferentes variedades de frijol salvadoreño (*Phaseolus vulgaris*) se procedió a elaborar un patrón de comparación de la manera siguiente:

A partir del cianuro de potasio se preparó una solución disolviendo 250 mg. de esta sustancia en 1000 ml. de agua destilada, la cual era equivalente a 100 mg. de HCN en 1000 ml. de agua.

## PROCEDIMIENTO:

Peso molecular de C N K = 65 gr.      Peso Molecular H C N = 27 gr.

$$C = 12 \text{ gr.}$$

$$H = 1 \text{ gr.}$$

$$N = 14 \text{ ''}$$

$$C = 12 \text{ ''}$$

$$K = \frac{39.1}{65.1} \text{ ''}$$

$$N = \frac{14}{27} \text{ ''}$$

Si en 65.000 mg de KCN hay 26.000 mg de CN<sup>-</sup> en 1000 ml. de H<sub>2</sub>O dest.

250 mg de KCN hay X mg. de CN<sup>-</sup> en 1000 ml. de H<sub>2</sub>O destilada

$$X = 100 \text{ mg. en 1000 ml. de agua}$$

que por hidrólisis será equivalente a 100 mg. de HCN en 1000 ml. de H<sub>2</sub>O destilada.

Luego:

Si en 1000 ml. hay 100 mg.

en 1 ml. hay X

$$X = \frac{1 \times 100}{1000} = \frac{1}{10} = 0.1 \text{ mg/ml.}$$

$$X = 0.1 \text{ mg/ml} = 100 \mu\text{g/ml.}$$

sabiendo que la solución así preparada contendrá 100 g. de HCN por mililitro, procedemos a elaborar nuestro patrón según el procedimiento de Gutzeit, que consiste en impregnar papel filtro en solución de carbonato de sodio al 10% y secarlo a la temperatura ambiente. Luego en el momento que se va a usar se humedece con ácido pícrico al 1%. Se coloca el papel preparado en medio de las pestañas de un aparato de vidrio (especial para esta prueba) y se coloca sobre el frasco que contiene la muestra acidificada con ácido sulfúrico 1:20. Luego se somete a calentamiento suave, en baño María.

Número 1 = blanco

Número 2 = 0.25 ml = 25  $\mu$ g

Número 3 = 0.50 ml = 50  $\mu$ g

Número 4 = 0.75 ml = 75  $\mu$ g

Número 5 = 1.00 ml = 100  $\mu$ g

De esta manera se obtuvo la escala patrón cuya coloración fue ascendente hasta 50  $\mu$ g y de esta cantidad hasta 100  $\mu$ g la coloración se confundió.

Una vez obtenido el patrón se procedió a trabajar con las diferentes muestras de frijol molido en crudo, empleando el mismo procedimiento. El resultado para todas las muestras en esta prueba preliminar fue negativo.

Se procedió seguidamente a emplear los métodos indicados por Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemist, (AOAC), es decir, la extracción por arrastre de vapor usando los métodos de valoración ácido y básico siendo el primer método una valoración residual. En ambos casos los resultados también fueron negativos.

#### CONCLUSION.

De lo anterior podemos concluir que las variedades de frijol salvadoreño (*Phaseolus vulgaris*) no contienen ácido cianhídrico en cantidades tóxicas, pues de otro modo habrían acusado resultados positivos al emplear los procedimientos indicados.

De manera que en el caso de contener HCN lo contendrán en cantidades despreciables que serán aún más despreciables si recordamos que el ácido cianhídrico es un veneno volátil y que el frijol para ser ingerido es sometido a un elevado calentamiento por un tiempo considerable, suficiente para volatilizar el ácido en el caso de existir.

Por tanto que en caso de que las variedades investigadas contengan ácido cianhídrico (HCN), éste estará presente en cantidades tan pequeñas que no ofrecen ningún peligro para el consumo humano.

Además cualquier duda que quede acerca del contenido del ácido cianhídrico (HCN) en las variedades salvadoreñas (*Phaseolus vulgaris*) debe ser eliminada, pues para su ingestión se someten a

un calentamiento prolongado, suficiente para eliminar la volatilización del tóxico mencionado.