

00071

Plutarco

CONTRIBUCION AL ESTUDIO
DE LA
INVESTIGACION TOXICOLOGICA
DEL
ACIDO CIANHIDRICO

(Modificación del procedimiento clásico de Chelle)

1071

TESIS

Presentada a la Facultad de Química y Farmacia, de la
Universidad Nacional de La Plata para optar
al grado de Doctor en Química y Farmacia

POR EL

DR. PLUTARCO R. ORELLA



Universidad Nacional de La Plata
Fac. de Ciencias Exactas. Bib. Central

50 y 115 1° subsuelo,
biblioteca@exactas.unlp.edu.ar
Tel 0221 422-6977/79 int. 129
Fax



DEX-01297

Lectura

LATA

4

1071

CONTRIBUCION AL ESTUDIO
DE LA
INVESTIGACION TOXICOLOGICA
DEL
ACIDO CIANHIDRICO

(Modificación del procedimiento clásico de Chelle)

T E S I S

Presentada a la Facultad de Química y Farmacia, de la
Universidad Nacional de La Plata para optar
al grado de Doctor en Química y Farmacia

POR EL

DR. PLUTARCO R. ORELLA



LA PLATA

1934

Al distinguido
colega Dr. Eduardo
Pratt, homenaje del autor.
G. J. Orellana
La Plata, 17 de IV - 1935

INTRODUCCIÓN

En este trabajo se estudian algunos aspectos de la investigación toxicológica del ácido cianhídrico libre y disimulado en forma de ácido sulfocianico, con el fin de precisar y aún de simplificar su determinación en medios tan complejos como es el de las vísceras frescas y viejas, en el cual primordialmente se ha realizado la labor.

Su exposición abarca varios capítulos. El primero comprende el contralor de los procedimientos usuales para la investigación de pequeñas cantidades de ácido cianhídrico en medios simples, previa descripción de los aparatos que se utilizaron en la realización de este trabajo. El segundo, trata de las experiencias efectuadas sobre animales (perros) con el objeto de comprobar la posibilidad de revelar, mediante el análisis, intoxicaciones con dosis mínimas de ácido cianhídrico. El tercero abarca las investigaciones efectuadas en medios simples y en vísceras de animales, orientadas hacia la simplificación del procedimiento de Chelle, para la determinación del ácido cianhídrico en vísceras viejas, consistente en la sustitución del sistema de arrastre gaseoso por el de la destilación, por una parte, y la sustitución de las soluciones alcalinas de fijación por el nitrato de plata amoniacal, por otra. En el cuarto capítulo se presentan análisis comparativos, entre el procedimiento clásico y el propuesto, de pequeñas cantidades de ácido cianhídrico en vísceras humanas. Finalmente en el quinto y último capítulo se consigna la interpretación de las experiencias efectuadas y conclusiones.

C A P I T U L O I

Contralor de los procedimientos usuales para la investigación de pequeñas cantidades de ácido cianhídrico

El procedimiento actualmente seguido para la determinación del ácido cianhídrico libre y combinado en vísceras es el de Chelle, que consiste en practicar una destilación directa en medio fosfórico (ácido cianhídrico libre) y subsiguiente arrastre del ácido cianhídrico generado por oxidación mediante mezcla sulfocrómica del ácido cianhídrico disimulado, merced a una corriente de aire desprovisto de anhídrido carbónico (J. Ogier y E. Kohn Abrest. *Chimie Toxicologique*, T. I, París, 1924, pág. 335). La figura 1, representa el aparato de destilación utilizado en la parte experimental de este trabajo.

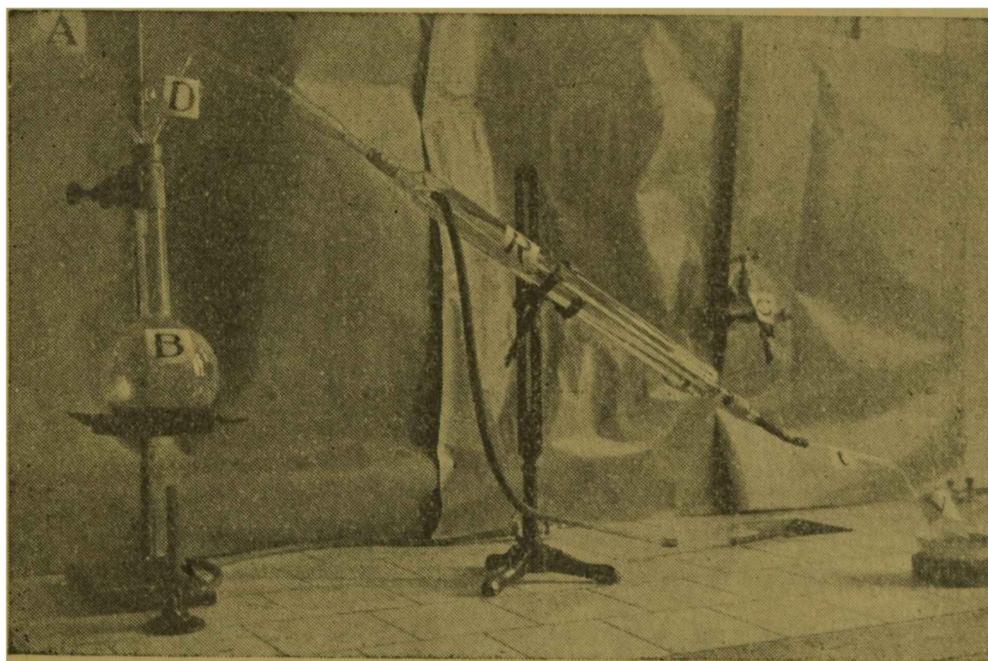


Figura nº 1

Consta de: B, balón, A, ampolla de decantación, D, deflegmador, R, refrigerante de Liebig (dimensiones: tubo 82 cms., camisa 52 cms.), t, tubo cuyo extremo es capilar, V, vaso de ppción.

Para la investigación del ácido cianhídrico disimulado, nosotros hemos usado el dispositivo de la figura 2.

Consta de las siguientes piezas: F, frasco de 20 litros de capacidad, lleno de agua; atraviesan su tapón, tres tubos de vidrio: uno C en comunicación con un grifo de agua, otro S sifón, provisto de una pinza a tornillo que permite el desagotamiento del agua contenida en el frasco y otro que tiene una

llave de tres vías y que comunica, por una de ellas, con el resto del aparato, cuando éste funciona y, por la otra, con el aire exterior cuando el frasco F, se llena de agua. L₁, lavador de 300 cm³. de capacidad con su tubo de burbujeo capilar, donde se verifica la reacción de fijación del ácido cianhídrico; L₂, ampolla de burbujeo vacía y seca, que sirve de trampa de seguridad; L₃, lavador de 400 cm³. de capacidad, destinado a contener el líquido a analizar. A, ampolla de decantación por la cual se vierte la mezcla cromosulfúrica; atraviesa el tapón esmerilado del frasco y su tubo interior llega al fondo del

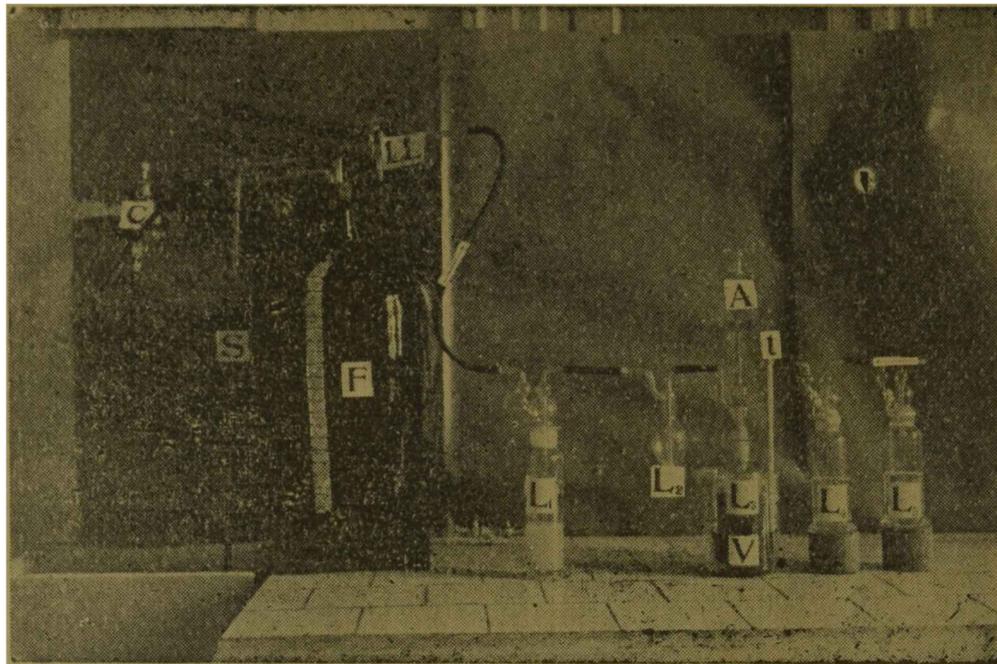


Figura n° 2

mismo; un tubo de mayor diámetro concéntrico con el de la ampolla, es el que conduce el aire desprovisto de anhídrido carbónico y comunica con los frascos lavadores antepuestos L₄ y L₅. El mismo tapón esmerilado del frasco destinado a contener el líquido a analizar, sirve para otros tres de capacidades menores y que fueron empleados cuando se trataba de operar con cantidades menores de líquido. El lavador L₃ está colocado en un vaso de precipitación V, que contiene agua a una temperatura de 40°, aproximadamente. t, termómetro; L₄ y L₅, lavadores de 200 cm³. de capacidad que contienen cada uno 100 cm³. de solución al 30 % de hidróxido de sodio, destinada a privar de anhídrido carbónico la corriente de aire.

Funcionamiento. — La corriente de aire necesaria para el arrastre del ácido cianhídrico la establecemos por la aspiración provocada por la salida del agua del frasco F, mediante el sifón S, cuyo brazo externo más largo, está provisto de una pinza a tornillo, con la cual se gradúa a voluntad, la salida del agua, dándole así a la corriente de aire la velocidad que se desea. El aire atmosférico pasa por los frascos lavadores L₅ y L₄, donde deja su anhídrido carbónico y va a burbujear en el líquido a analizar contenido en L₃; pasa por L₂ y burbujea en el lavador L₁, que contiene una solución fijadora de nitrato de plata amoniacal. Chelle emplea como fijador una solución diluída de hidróxido de potasio por lo que es condición indispensable que el aire esté desprovisto de anhídrido carbónico; en cambio nosotros, como se dijo, usamos como fijador una solución de nitrato de plata amoniacal, adicionada

de unas gotas de yoduro de potasio al 20 % con el objeto de utilizar la turbiedad provocada por el yoduro de plata coloidal formado como indicador. Operando en estas condiciones, podemos suprimir los frascos lavadores L_4 y L_5 , que contienen la solución de hidróxido de sodio, sin que la operación sea malograda. Con este motivo, hicimos algunas experiencias, obteniendo los mismos resultados que con el dispositivo completo.

La figura N° 3 muestra nuestro dispositivo sin los lavadores.

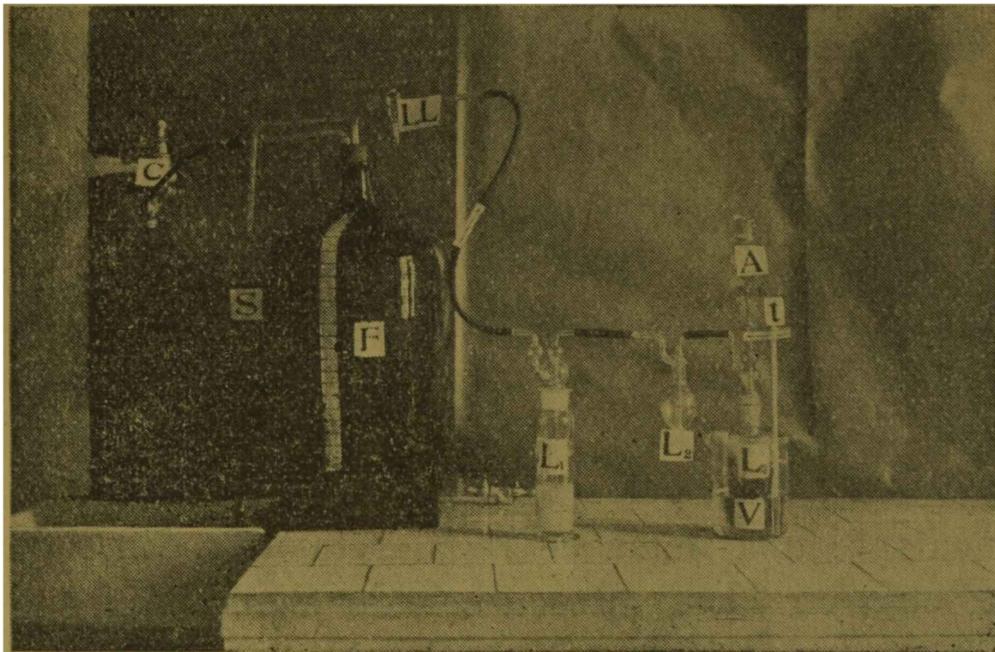


Figura n° 3

Hicimos primeramente varias destilaciones con el objeto de determinar el tiempo aproximado que tardaría en pasar el ácido cianhídrico libertado de una cantidad conocida de cianuro de potasio en solución, acidulada con ácido fosfórico en un total de 100 cm^3 , fijando el ácido cianhídrico libertado en una serie de tubos de ensayo que contenían solución de hidróxido de sodio $N/1$; cada cinco minutos se caracterizaba el ácido cianhídrico destilado, mediante la reacción del azul de Prusia, efectuada según la técnica de Chelle en la siguiente forma: al líquido a investigar se añade una o dos gotas de solución de fenolftaleína y se lleva con unas gotas de ácido sulfúrico normal a reacción neutra y luego con unas gotas de solución al 20 % de carbonato de sodio a una franca alcalinidad; se vierte luego unas gotas de sulfato ferroso preparado en el momento de usarlo (unos cristallitos en un tubo de ensayo, lavados previamente, con el objeto de eliminar las sales férricas siempre presentes). Hay que cuidar que el líquido permanezca alcalino y conviene dejar reaccionar el hidrato ferroso unos 10 minutos aproximadamente; transcurrido este tiempo, adicionar unas gotas de ácido clorhídrico diluído a medio volumen, hasta disolución del exceso de hidrato ferroso precipitado (Chelle emplea ácido clorhídrico concentrado; nosotros hemos comprobado que empleando ácido clorhídrico diluído, la reacción es de mayor sensibilidad). La reacción es positiva si aparece la coloración azulada de ferrocianuro férrico o azul de Prusia. Con vestigios de ácido cianhídrico aparece una coloración verdosa. De acuerdo a estas experiencias llegamos a la siguiente conclusión: usando el método de destilación con soluciones diluídas de cianuro de potasio bastan 30 minutos para destilar todo el ácido cianhídrico.

Con el objeto de dar al método de destilación el máximo de precisión y sensibilidad, hemos verificado destilaciones en medio fosfórico con soluciones de cianuro de potasio de diferentes títulos 2 m/10, 2 m/100, 2 m/1000, fijando el ácido cianhídrico destilado en solución de nitrato de plata amoniacal, adicionada de unas gotas de solución al 20 % de yoduro de potasio como indicador.

METODO DE DESTILACION EN MEDIOS SIMPLES:

Soluciones empleadas: cianuro de potasio 2 m/10, 2 m/100 y 2 m/1000 y nitrato de plata N/10, N/100 y N/1000.

Método operatorio: Colocamos en el balón B, del aparato de destilación de unos 500 cm³. de capacidad, 5 cm³. de solución de cianuro de potasio, unos trocitos de piedra pómez y agua destilada en cantidad suficiente para completar 100 cm³; instalado el aparato se adicionan por la ampolla de decantación 0,5 cm³. de ácido fosfórico en solución al 50 % (densidad 1,35) con lo que se obtiene una acidez del medio aproximadamente N/10 y se destila con suavidad mediante una llama de regular tamaño. En todos los casos la destilación se efectúa en 30 minutos. El ácido cianhídrico que destila es fijado en 5 cm³. de una solución de nitrato de plata equivalente, volumen a volumen, a la de cianuro de potasio utilizado, a la cual se adiciona 10 cm³. de amoníaco, 1 gota de solución de yoduro de potasio al 20 % y 50 cm³ de agua destilada; en el transcurso de la destilación, se añade agitando yoduro de potasio hasta un total de 20 gotas. Si no se procede así, en el caso de soluciones N/10, el yoduro de plata formado no resulta coloidal, lo que es un gran inconveniente para el dosage. Con soluciones más diluídas de nitrato de plata no ocurren inconvenientes. El destilado se lleva a unos 100 cm³. agitando con frecuencia el líquido; al cabo de 30 minutos la operación se daba por terminada, la opalescencia a los 15 minutos estaba muy disminuída y a los 30 minutos casi desaparecida por completo. Si persiste se adiciona solución 2 m/10 de cianuro de potasio, hasta que se presente el líquido límpido; en todos los casos se gastó solamente gotas. Al retirar el líquido fijador al cabo de los 30 minutos, se continúa la destilación, durante 5 minutos más, recogiendo el destilado en un tubo de ensayo que contiene 2 cm³. de Na (OH) N/1; en este tubo, se comprueba la presencia de ácido cianhídrico, mediante la reacción del azul de Prusia, la que resultó siempre negativa. La misma comprobación se efectúa en una parte del líquido residual del balón de destilación.

Los resultados obtenidos aplicando este método de destilación pueden verse en los cuadros que siguen:

Solución de KCN 2 m/10 (5 cm³. de sol. KCN 2 m/10 contienen 0,027023 g. HCN).

Solución de AgNO₃ N/10.

Acido fosfórico al 50 % (Densidad 1,35) 0,5 cm³.

CUADRO N^o. 1. — Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

N ^o de orden	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia	R. az. Prusia en parte resid. líq. del balón
1	27,023	26,809	0,209	99%	1%	negativa	negativa
2	27,023	26,809	0,209	99%	1%	negativa	negativa
3	27,023	26,809	0,209	99%	1%	negativa	negativa

Solución de KCN 2 m/100 (5 cm³. sol. KCN 2 m/100 contienen 0,002702 g. HCN).

Solución de AgNO₃ N/100.

Acido fosfórico al 50 % (densidad 1,35) 0,5 cm³.

CUADRO N^o. 2. — Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

N ^o de orden	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia	R. az. Prusia en parte resid. líq. del balón
1	2,702	2,680	0.021	99%	1%	negativa	negativa
2	2,702	2,653	0.048	98%	2%	negativa	negativa
3	2,702	2,680	0.021	99%	1%	negativa	negativa

Solución de KCN 2 m/1000 (5 cm³. sol KCN 2 m/1000 contienen 0,000270 g. de HCN).

Solución de AgNO₃ N/1000.

Acido fosfórico al 50 % (densidad 1,35) 0,5 cm³.

CUADRO N^o. 3. — Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

N ^o de orden	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia	R. az. Prusia en parte resid. líq. del balón
1	0,270	0,268	0,002	99%	1%	negativa	negativa
2	0,270	0,268	0,002	99%	1%	negativa	negativa
3	0,270	0,268	0,002	99%	1%	negativa	negativa

Se practicó otra serie de experiencias con soluciones simples del mismo título que las anteriores, pero acidulando el líquido del balón con 0,18 cm³. de ácido sulfúrico (densidad 1,84), con lo que se obtiene en el líquido a destilar, aproximadamente, la misma concentración de acidez que con el empleo de 0,50 cm³. de ácido fosfórico.

Solución de KCN 2 m/10 (5 cm³. sol. KCN 2 m/10 contienen 0,027023 g. HCN).

Solución de AgNO₃ N/10.

Acido sulfúrico (densidad 1,84) 0,18 cm³.

CUADRO N° 1. — Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

N° de orden	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia	R. az. Prusia en parte resid. líq. del balón
1	27,023	26,809	0,209	99%	1%	negativa	negativa
2	27,023	26,809	0,209	99%	1%	negativa	negativa
3	27,023	26,809	0,209	99%	1%	negativa	negativa

Solución de KCN 2 m/100 (5 cm³. sol. KCN 2 m/100 contienen 0,002702 g. HCN).

Solución de AgNO₃ N/100.

Acido sulfúrico (densidad 1,84) 0,18 cm³.

CUADRO N° 2. — Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

N° de orden	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia	R. az. Prusia en parte resid. líq. del balón
1	2,702	2,653	0,048	98%	2%	negativa	negativa
2	2,702	2,653	0,048	98%	2%	negativa	negativa
3	2,702	2,653	0,021	99%	1%	negativa	negativa

Solución de KCN 2 m/1000 (5 cm³. de esta sol. KCN 2 m/1000 contienen 0,000270 g. de HCN).

Solución de AgNO₃ N/1000.

Acido sulfúrico (densidad 1,84) 0,18 cm³.

CUADRO N° 3. — Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

N° de orden	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia	R. az. Prusia en parte resid. líq. del balón
1	0,270	0,268	0,002	99%	1%	negativa	negativa
2	0,270	0,268	0,002	99%	1%	negativa	negativa
3	0,270	0,268	0,002	99%	1%	negativa	negativa

Como puede verse el método de destilación, en todas estas experiencias en medios simples asegura la recuperación casi total del ácido cianhídrico.

METODO DE CHELLE EN MEDIOS SIMPLES:

Realizamos mediante el procedimiento de Chelle, con nuestro dispositivo, figura 2, una serie de experiencias, con el objeto de determinar el tiempo que debe funcionar el aparato para arrastrar todo el ácido cianhídrico libertado de una solución de sulfocianuro de potasio de título conocido, descompuesta por una mezcla oxidante cromosulfúrica (25 cm³. de solución de cromato de potasio, cuya concentración es de 10 gramos en c. s. de agua para 100 cm³., y 10 cm³. de ácido sulfúrico al 1/5 en volumen, cantidades que se mantuvieron constantes en todas las experiencias realizadas en este trabajo). La primera parte del procedimiento de Chelle, consiste en practicar una destilación directa en medio fosfórico, para el ácido cianhídrico libre, que Chelle fija en solución de hidróxido de potasio diluída y nosotros, en estas operaciones en medio simple, en una solución de nitrato de plata amoniacal, en la misma forma que lo hicimos cuando se operaba con soluciones de cianuro de potasio. En estas experiencias, todas las condiciones se mantuvieron constantes como en las anteriores, con la diferencia, naturalmente, de que se reemplaza el cianuro por el sulfocianuro de potasio. En la segunda parte del procedimiento de Chelle ya se trata de operar con el residuo que resta en el balón de destilación y que contiene ácido sulfocianico y el ácido fosfórico adicionado en la primera operación.

Método operatorio: Eliminado el ácido cianhídrico libre, por destilación directa en medio fosfórico, se coloca el residuo del balón destilatorio, que contiene la solución de ácido sulfocianico y ácido fosfórico, en el frasco L₃ de nuestro dispositivo figura 2. Se prepara en el frasco L₁, el líquido fijador: 5 cm³. de solución de nitrato de plata N/10, 10 cm³ de amoníaco, 1 gota de solución de yoduro de potasio al 20 % y agua destilada en cantidad suficiente para 100 cm³; en el transcurso de la operación se añade yoduro de potasio hasta un total de 20 gotas. Tratándose de soluciones más diluídas de nitrato de plata como por ejemplo N/100 o N/1000, el líquido fijador se prepara adicionando de una sola vez 20 gotas de yoduro de potasio agitando fuertemente para que el yoduro de plata precipitado permanezca en suspensión coloidal. Se conectan todas las piezas del aparato, y se pone en funcionamiento el sifón S, para producir la salida del agua del frasco F, regulando la velocidad de salida con una pinza a tornillo. Por la ampolla de decantación A, se vierte la mezcla cromosulfúrica constituida por 25 cm³. de solución de cromato de potasio y 10 cm³. de ácido sulfúrico de las concentraciones antes indicadas. Estando el aparato en funcionamiento, se agita con frecuencia el líquido fijador y se cuida que el burbujeo se efectúe en forma regular en todos los frascos lavadores. En estas condiciones hicimos varias experiencias, variando el tiempo de funcionamiento del aparato, velocidad de la corriente gaseosa y calentamiento del líquido a analizar. Los resultados de ellas se dan a continuación:

Experiencias	Tiempo de funcionamiento	Velocidad litros por hora	Temperatura del líquido	% HCN recuperado
Nº 1	3 horas	1 litro	—	10%
” 2	7 ”	1 litro	40°	16%
” 3	6 ”	3 litros	40°	36%
” 4	16 ”	1.5 ”	40°	48%
” 5	9 ”	3 ”	40°	46%
” 6	12 ”	5 ”	40°	80%

De acuerdo a estos resultados, conviene que nuestro dispositivo funcione como mínimo 12 horas con una velocidad de salida del agua del frasco F, de 5 litros por hora y calentando el líquido a analizar, durante la operación, en un baño de agua a 40° de temperatura, con el objeto de acelerar la operación. Con soluciones de sulfocianuro de potasio de título 2 m/10, es necesario observar todas las reglas precedentes; tratándose de soluciones más diluídas de sulfocianuro de potasio, como ser: 2 m/100, 2 m/1000, la velocidad puede reducirse a 2 o 3 litros por hora. Estas condiciones de funcionamiento se mantuvieron constantes en todas las experiencias realizadas con este aparato en medios simples y en medios complejos (vísceras de animales y humanas).

Después de 12 horas de funcionamiento, tiempo que hemos establecido como suficiente para arrastrar todo el ácido cianhídrico disimulado, se continúa media hora más el arrastre, reemplazando el lavador L₁, por otro lavador de 50 cm³ de capacidad, que contiene 5 cm³ de solución Na (OH) N/1; en este líquido se investigó la presencia de ácido cianhídrico mediante la reacción azul de Prusia. En todas nuestras experiencias resultó negativa.

Los resultados de las experiencias en medios simples (soluciones de sulfocianuro de potasio de diferentes títulos) practicando destilación directa en medio fosfórico y procedimiento de Chelle, figuran en los cuadros siguientes:

Destilación directa en medio fosfórico (ácido cianhídrico libre).

Solución de KSCN 2 m/10 (5 cm³ de esta solución contienen 0,059083 de HSCN = 0,027023 de HCN).

Solución de AgNO₃ N/10

CUADRO Nº. 1 — Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

Nº de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	59,083	27,023	0	0	—	—	negativa
2	59,083	27,023	0	0	—	—	negativa
3	59,083	27,023	0	0	—	—	negativa

El residuo del balón de destilación que contiene sulfocianuro de potasio y ácido fosfórico, se analiza por el procedimiento de Chelle (ácido cianhídrico disimulado).

Solución de AgNO_3 N/10

Nº de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término del arrastre R. az. Prusia
1	59,083	27,023	22,158	4,865	82%	18%	negativa
2	59,083	27,023	21,618	5,405	80%	20%	negativa
3	59,083	27,023	21,618	5,405	80%	20%	negativa

Destilación directa en medio fosfórico (ácido cianhídrico libre).

Solución de KSCN 2 m/100 (5 cm³. de esta solución contienen 0,005908 de HSCN = 0,002702 de HCN).

Solución de AgNO_3 N/100.

CUADRO Nº. 2 — Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

Nº de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	5,908	2,702	0	0	—	—	negativa
2	5,908	2,702	0	0	—	—	negativa
3	5,908	2,702	0	0	—	—	negativa

El residuo del balón de destilación que contiene sulfocianuro de potasio y ácido fosfórico, se analiza por el procedimiento de Chelle (ácido cianhídrico disimulado).

Solución de AgNO_3 N/100.

Nº de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término del arrastre R. az. Prusia
1	5,908	2,702	2,432	0,270	90%	10%	negativa
2	5,908	2,702	2,405	0,297	89%	11%	negativa
3	5,908	2,702	2,459	0,243	91%	9%	negativa

Destilación directa en medio fosfórico (ácido cianhídrico libre).

Solución de KSCN 2 m/1000 (5 cm³. de esta solución contienen 0,000590 g. de HSCN = 0,000270 g. de HCN).

Solución de AgNO_3 N/1000.

CUADRO N^o. 3 — Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

N ^o de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	0,590	0,270	0	0	—	—	negativa
2	0,590	0,270	0	0	—	—	negativa
3	0,590	0,270	0	0	—	—	negativa

El residuo del balón de destilación que contiene sulfocianuro de potasio y ácido fosfórico, se analiza por el procedimiento de Chelle (ácido cianhídrico disimulado).

Solución de AgNO₃ N/1000.

N ^o de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Encontrado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término del arrastre R. az. Prusia
1	0,590	0,270	0,254	0,016	94%	6%	negativa
2	0,590	0,270	0,259	0,010	96%	4%	negativa
3	0,590	0,270	0,254	0,016	94%	6%	negativa

C A P I T U L O I I

INVESTIGACION DE INTOXICACIONES POR DOSIS MINIMAS DE ACIDO CIANHIDRICO

En 1926 G. Sensi y M. Revello, publicaron en *Annali de Chimica applicata* (V 16 año 1926, pág. 273) un trabajo sobre “La producción de los ácidos cianhídrico y sulfociánico en el organismo animal por efecto de la putrefacción cadavérica considerada desde el punto de vista químico toxicológico”. Según estos autores la identificación del ácido sulfocianhídrico no prueba terminantemente si el envenenamiento por el ácido cianhídrico ha ocurrido. Además sostienen que cuando se administra justamente la cantidad de ácido cianhídrico para causar la muerte, éste no puede ser revelado aún inmediatamente después de la muerte. Por consiguiente, en el envenenamiento por el ácido cianhídrico gaseoso, cuando la muerte ocurre sin introducción en el organismo de un exceso de ácido cianhídrico, siempre es imposible su identificación. Para que el análisis toxicológico revele la presencia de ácido cianhídrico, es necesario que la cantidad de éste, administrada sea alrededor de tres veces la dosis letal y si el análisis no se practica dentro de breve plazo, después de la muerte, hasta dosis de esta magnitud pueden no ser reveladas. No todo el ácido cianhídrico introducido en el organismo se encuentra en el momento de la autopsia, aunque ésta se efectúe inmediatamente. Una parte es eliminada, otra viene destruída y la parte que queda libre se transforma parcialmente en ácido sulfocianhídrico.

G. Sensi y M. Revello, expresan que la putrefacción cadavérica puede dar lugar a la formación y también a la demolición del ácido sulfociánico.

A este respecto sostienen la hipótesis de que también el ácido sulfociánico está sometido a modificaciones y demoliciones por efecto de los compuestos numerosos que se producen en la putrefacción y atribuyen al hidrógeno nascente y activo que se libera, la propiedad de combinarse con el azufre de las sustancias proteicas, para dar hidrógeno sulfurado y también la de reaccionar con el ácido sulfociánico para liberar el ácido cianhídrico.

En sus experiencias, estos autores no encuentran ácido sulfociánico en vísceras normales el primer día, a los 10 días una cantidad apreciable, a los 30 días el máximo, a los 45 días empieza a destruirse y solamente encuentran vestigios a los 60 días.

Compenetrados de las conclusiones a que han llegado en sus experiencias estos autores, nació en nosotros la idea de comprobar experimentalmente las dos conclusiones más importantes por ellos obtenidas: la imposibilidad de revelar la presencia del ácido cianhídrico libre o disimulado en el caso de que la muerte se produzca por absorción de la dosis mínima letal y la posibilidad de revelarlo en casos en que la muerte del sujeto no se produjo por intoxicación cianhídrica.

A continuación se expone la parte experimental y los datos que hemos obtenido.

PARTE EXPERIMENTAL

La parte experimental de este trabajo, hemos creído más conveniente realizarla en perros, por dos razones: 1) porque es el animal carnívoro que más se presta a esta clase de experiencias; 2) porque al mismo tiempo, por su talla, nos suministraba la cantidad de vísceras necesarias para realizar nuestros análisis en la forma que más adelante indicaremos. Utilizamos en nuestras experiencias tres perros, aproximadamente de la misma talla. El perro N° 1, fué intoxicado el 23 de Enero de 1933, por vía respiratoria, es decir, por inhalación de vapores de ácido cianhídrico: el deceso se produjo a los 6 minutos aproximadamente.

Se procedió rápidamente a recoger la sangre por la yugular, en un frasco de boca ancha cerrado al esmeril. Inmediatamente se practicó la autopsia del animal y separadamente recogimos las diferentes vísceras, pulmón, corazón, cerebro, estómago y esófago, intestino, hígado, bazo y páncreas, riñón y vejiga.

El perro N° 2, fué intoxicado el 4 de Febrero de 1933, por vía bucal, mediante ingestión de una solución que contenía 0,20 g. de cianuro de potasio, equivalente a 0,082 de ácido cianhídrico.

Murió aproximadamente a los 8 minutos. Se procedió de inmediato a recoger la sangre y vísceras, en sus respectivos envases y en la misma forma que en el primer caso.

El perro N° 3, fué muerto por estrangulación el 10 de Marzo de 1933. Su muerte sobrevino a los 12 minutos. Se procedió en idéntica forma, tanto para recoger la sangre como las vísceras, que en los casos anteriores.

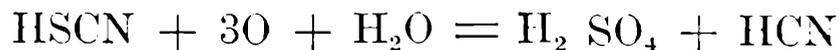
V Í S C E R A S	Perro N° 1	Perro N° 2	Perro N° 3
Vísceras torácicas: sangre, pulmón, corazón y cerebro	811 grs.	1077 grs.	738 grs.
Vísceras abdominales: estómago y esófago, intestino, hígado, bazo y páncreas, riñón y vejiga	1594 grs.	1016 grs.	738 grs.
Sangre	471 grs.	690 grs.	309 grs.
Pulmón	123 grs.	155 grs.	110 grs.
Estómago y esófago	165 grs.	128,5 grs.	106 grs.
Hígado	622 grs.	357 grs.	282 grs.

Las vísceras procedentes de los tres perros, en sus respectivos envases, fueron mantenidas a temperatura ambiente. La muerte de los perros la ocasionamos con intervalos de días suficientes para que los análisis resultaran escalonados y sin coincidencias de fechas.

En los tres casos se dispuso practicar los análisis en la forma que se indica a continuación:

Primer día (se entendié el día siguiente de la autopsia). — 1°. Practicar dos destilaciones directas en medio fosfórico (ácido cianhídrico libre), la una correspondiente al conjunto de las vísceras torácicas y la otra correspondiente al conjunto de las vísceras abdominales, tomando la octava parte en peso de cada órgano. 2°. Practicar el método de Chelle para el ácido cianhídrico disimulado, sobre los residuos de la destilación de las vísceras torácicas y abdominales. — **8° día**. Practicar los análisis de vísceras torácicas y abdominales como en el primer día y además los análisis parciales de sangre, pulmón, estómago y esófago e hígado, tomando para el análisis de cada uno de estos órganos siempre la octava parte. — **30° y 60° día**. Practicar los mismos análisis en idéntica forma que en el octavo día.

Los análisis fueron efectuados por el procedimiento de Chelle (C. R. Ac. Sciences — Octubre y Noviembre 1920) con algunas modificaciones que se indicarán oportunamente. Para el ácido cianhídrico libre Chelle practica una destilación directa de las vísceras en medio fosfórico, usando como líquido fijador una solución de hidróxido de potasio diluída. Para el ácido cianhídrico disimulado, es decir el transformado en sulfocianhídrico, opera sobre el residuo del balón destilatorio (órganos y ácido fosfórico) tratando con una solución caliente saturada de ácido pícrico, deja reposar hasta que las materias albuminoideas precipiten, filtra por gasa y el líquido resultante contiene el ácido sulfocianhídrico. Para poner en libertad el ácido cianhídrico, oxida el ácido sulfocianhídrico por el cromato de potasio y ácido sulfúrico (mezcla sulfocrómica), de acuerdo a la reacción siguiente:



El ácido cianhídrico libertado, es arrastrado por una corriente de aire desprovista de anhídrido carbónico y fijado en una solución de hidróxido de potasio diluída. Nosotros, en todas nuestras experiencias, para fijar el ácido cianhídrico disimulado, hemos empleado soluciones de nitrato de plata amoniacal. Hemos seguido, como se vé, la técnica de Chelle, con ciertas modificaciones en lo que respecta a los aparatos empleados y soluciones fijadoras del ácido cianhídrico.

PROCEDIMIENTO GENERAL USADO PARA EL ANALISIS DE LAS VISCERAS DE LOS PERROS

Para el análisis del conjunto de vísceras torácicas: sangre, pulmón, corazón, (incluyendo además el cerebro) tomábamos la octava parte del peso total de cada una de ellas y lo mismo para el análisis del conjunto de las vis-

ceras abdominales: estómago, esófago, intestino, hígado, bazo, páncreas, riñón y vejiga. Los análisis parciales de ciertas vísceras, como sangre, pulmón, estómago y esófago e hígado, se hicieron también tomando la octava parte del peso total del órgano.

MODO OPERATORIO GENERAL:

Las materias a analizar se reducen a una papilla homogénea y colocadas en el balón B, del aparato de destilación (figura 1), tomando previamente su reacción con papel de tornasol; se agrega agua destilada en cantidad suficiente para cubrirlas y unos trocitos de piedra pómez con el objeto de regular la ebullición y evitar asimismo la formación de espuma; cerramos el balón, con tapón de corcho, provisto como muestra la figura, de una ampolla de decantación A, para verter, en momentos de comenzar la destilación, el ácido fosfórico (empleado en todas las experiencias sobre vísceras) y una ampolla de Kjeldhal D, que sirve de deflegmador, adaptado por el otro extremo, mediante un tapón de corcho, al refrigerante R. de Liebig; el extremo de éste unido a un tubo t, encorvado en ángulo recto y cuyo extremo capilar va sumergido en 10 cm³. de una solución de hidróxido de sodio N/1, colocada en un vasito de ppción. V, de 50 cm³. de capacidad, para fijar el ácido cianhídrico libre que destila. Para la fijación y dosage del ácido cianhídrico obtenido en la destilación en vísceras no es posible utilizar soluciones de nitrato de plata amoniacal, porque siempre destila hidrógeno sulfurado que reacciona sobre el nitrato, dando un precipitado de sulfuro de plata negro.

Usamos siempre tapones de corcho recubiertos con colodión, para evitar posibles pérdidas.

Dispuesto todo en esta forma, iniciamos la operación, vertiendo por la ampolla de decantación A, 0.50 cm³. de ácido fosfórico al 50 % y unos cm³ de agua destilada, con el objeto de arrastrar todo el ácido y para comprobar además, por la observación del burbujeo del aire desalojado, en el líquido fijador, el buen ajuste del aparato.

En estas condiciones iniciamos la destilación, calentando con llama pequeña, de manera que se inicie la ebullición al cabo de algunos minutos, tratando que ésta sea lenta y regular para evitar en lo posible la formación de espuma, que se produce en ciertas vísceras y especialmente con sangre, como hemos podido comprobar a través de nuestras experiencias. En estos análisis, para obtener la destilación total del ácido cianhídrico, fué suficiente triplicar o cuadruplicar el volumen del líquido fijador con el producto de la destilación (sin descuidar en ningún momento que su reacción sea alcalina), cosa que se obtiene a los 30 o 35 minutos de destilación, cuando se trataba de los análisis parciales de vísceras, cuyo peso máximo llegaba a 50 gramos, pero cuando se trataba del conjunto de vísceras torácicas o abdominales cuyo peso era superior a 100 gramos, necesitábamos de 40 a 60 minutos.

Una vez que se ha triplicado o cuadruplicado el líquido fijador con el destilado, se retira el vasito de ppción. y se continúa la destilación recogiendo el destilado en un tubo de ensayo conteniendo 2 cm³ de Na (OH) N/1 hasta

duplicar el volumen y se practica, en el mismo tubo, la reacción azul de Prusia; si se obtiene resultado positivo es necesario continuar la destilación hasta que resulte negativo y así estaremos seguros que las vísceras no contienen más ácido cianhídrico libre. El ácido cianhídrico destilado se transforma en azul de Prusia, con el objeto de caracterizarlo; su dosage se hará en la forma que indicaremos más adelante. Terminada la destilación, se trata inmediatamente el residuo de las vísceras por 20 o 30 cm³. de solución saturada en caliente de ácido pícrico, se agita y se deja en reposo 15 minutos, aproximadamente; en ésta forma precipitan las materias albuminoideas. Al cabo de este tiempo filtramos por gasa, lavando las materias sólidas separadas, con agua destilada caliente y completando el líquido que se obtiene a 200 o 250 cm³. Este líquido, que contiene el ácido sulfocianico, se coloca en el frasco lavador L₃, cerrado al esmeril, provisto de una ampolla de decantación A, y su equipo correspondiente: V, vaso de ppección y t termómetro, como ilustra la fotografía; en el lavador L₁, donde se produce la fijación del ácido cianhídrico se colocan 5 o 10 cm³. de solución título conocido de nitrato de plata, que puede ser N|10, N|100 o N|1000; nosotros empleamos para los análisis de ácido cianhídrico disimulado en vísceras, solución N|100 de nitrato de plata, que es la que recomendamos y con la cual obtuvimos muy buenos resultados y aún tratándose de cantidades grandes de ácido cianhídrico disimulado. A la cantidad de solución de nitrato de plata que se tome, sean 5 ó 10 cm³., se agregan 10 cm³. de amoníaco, agua destilada 50 cm³, y gota a gota, agitando, solución al 20 o|o de yoduro de potasio, hasta un total de 20 gotas y se completa un volumen de 100 cm³. Procediendo en esta forma resulta un líquido homogéneo y opalescente, conteniendo yoduro de plata en suspensión coloidal, que constituye el mejor fijador del ácido cianhídrico .

En las experiencias realizadas en perros, para el ácido cianhídrico disimulado hemos empleado siempre 5 cm³. de solución de nitrato de plata N|100, cantidad que ha sido suficiente y que se mantuvo constante.

Instalado el aparato, se pone en marcha el aspirador y se observa el burbujeo, en todos los frascos lavadores que contienen líquido, con el objeto de constatar el buen funcionamiento del aparato. Después de cinco minutos de funcionamiento, se vierte, por la empolla de decantación, la mezcla cromosulfúrica. El aparato se hizo funcionar en todos los casos, durante 12 horas, tiempo que se determinó como necesario en las experiencias preliminares.

Además, hemos creído conveniente mantener el líquido a analizar a 40^o de temperatura, aproximadamente, mediante agua caliente, colocada en el vaso de ppección V, para facilitar el desprendimiento del ácido cianhídrico libertado. Al cabo de las 12 horas de funcionamiento del aparato, establecidas, reemplazamos el lavador L₁, por otro lavador pequeño de unos 50 cm³. de capacidad, conteniendo 5 cm³., de solución de hidróxido de sodio N/1 y continuamos el arrastre, durante 30 minutos más; en este líquido, se practica la reacción azul de Prusia, la que siempre nos resultó negativa, en los ensayos practicados.

DOSAGE DEL ACIDO CIANHIDRICO LIBRE:

El dosage del ácido cianhídrico libre, podemos hacerlo por gravimetría y por colorimetría. Para el dosage gravimétrico procedimos de la siguiente manera: una vez que se ha realizado la caracterización del ácido cianhídrico mediante su transformación en azul de Prusia, en el vasito de ppción. que contiene el destilado, se filtra en un crisol de Gooch, previamente desecado y tarado, se le lava con agua destilada y por último con éter sulfúrico, con objeto de privarlo de las materias grasas que puede contener, se deseca en estufa a 100-105° C., se enfría en un desecador y se pesa; el peso hallado multiplicado por 0.5651, nos da el peso correspondiente al ácido cianhídrico. El dosage gravimétrico resulta conveniente cuando se trata de cantidades grandes de azul de Prusia. Para cantidades pequeñas el dosage colorimétrico es cómodo, rápido y preciso. Para practicarlos, preparamos dos escalas de tubos, con cantidades conocidas de ácido cianhídrico, que se transformó en azul de Prusia, mediante la técnica de Chelle.

La primera escala consta de 8 tubos y es la que está representada en la figura 4. Se preparó con soluciones de cianuro de potasio 2 m|100 y 2 m|1000 de la siguiente manera:

Colocamos en cada tubo 0.2 cm³. de solución de Na(OH) N/1 y cantidades variables de solución de cianuro de potasio, como se indica:

Tubo No	1-1,85	cm ³ . de sol.	2m/100	de cianuro	potasio	,equiv.	a	0,001	gr.	de HCN
"	2-1,4	"	"	"	"	"	"	"	0,00075	" " "
"	3-0,9	"	"	"	"	"	"	"	0,0005	" " "
"	4-0,45	"	"	"	"	"	"	"	0,00025	" " "
"	5-1,85	"	"	2m/1000	"	"	"	"	0,0001	" " "
"	6-1,4	"	"	"	"	"	"	"	0,000075	" " "
"	7-0,9	"	"	"	"	"	"	"	0,00005	" " "
"	8-0,45	"	"	"	"	"	"	"	0,000025	" " "

A cada tubo se adiciona 1 gota de solución de fenolftaleína para controlar la reacción del medio, se lleva a neutralización con unas gotas de ácido sulfúrico N/1 y se vuelve a medio alcalino franco, con unas gotas de solución de carbonato de sodio al 20 o|o. Se adiciona entonces 0.1 cm³. de solución de sulfato ferroso, preparada en el momento de usarla, disolviendo en un tubo de ensayo, unos cristallitos de sulfato ferroso con agua destilada. Se deja reaccionar el hidrato ferroso precipitado durante 10 minutos, cuidando que el líquido permanezca alcalino y al cabo de ese tiempo se acidula con gotas de ácido clorhídrico diluído. Después de algunas horas se completa el volumen a 5 cm³. en cada tubo.

ESCALA COLORIMÉTRICA PARA EL DOSAGE DEL ÁCIDO CIANHÍDRICO

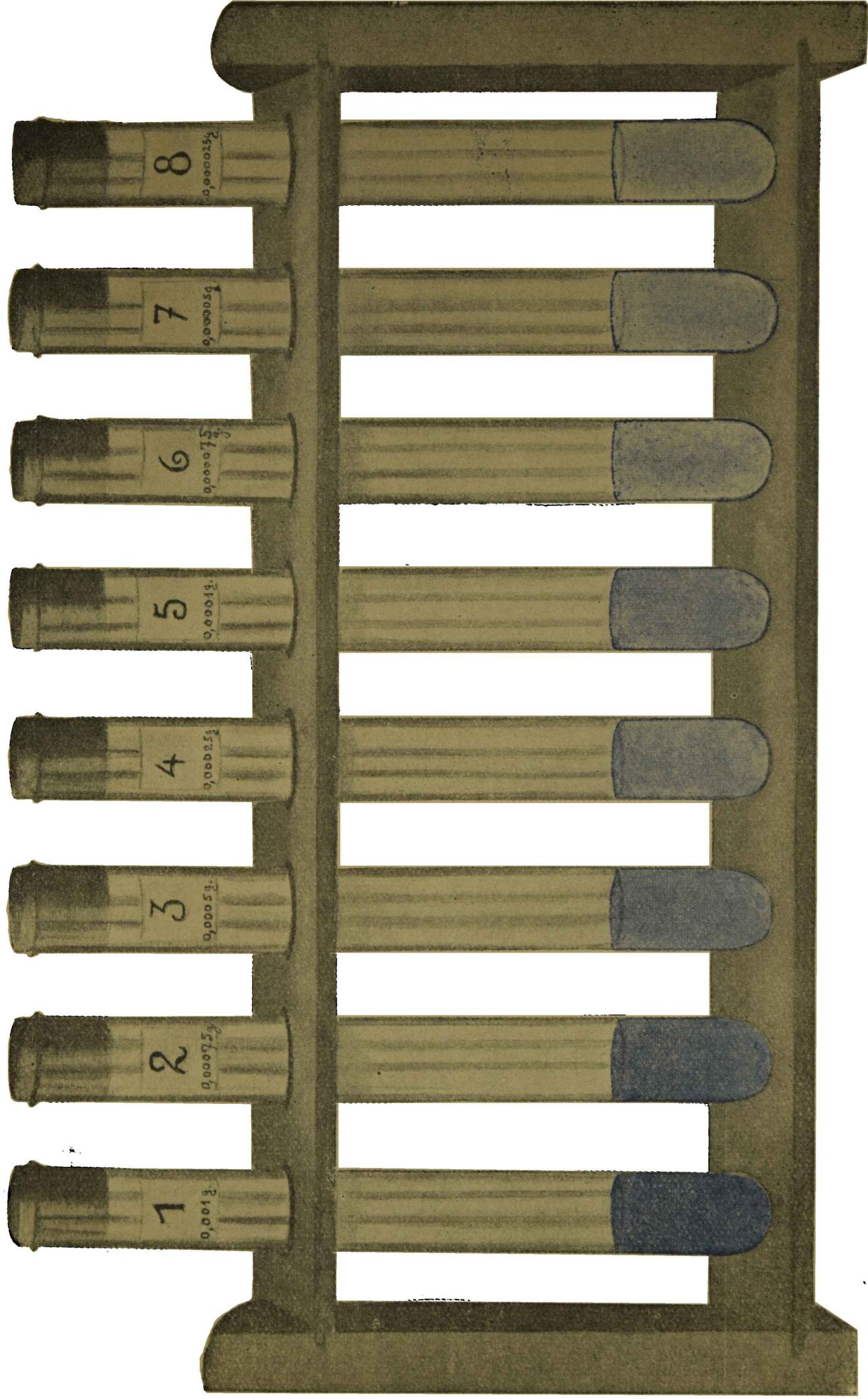


Figura no 4.

Las concentraciones del ácido cianhídrico están indicadas en todos los tubos para el volumen de 5 cm³.

La segunda escala consta de 10 tubos, preparada con solución de cianuro de potasio 2 m/1000. En cada tubo se introducen 0.2 cm³ de solución de hidróxido de sodio N/1 y las cantidades variables de solución de cianuro de potasio que se indican:

Tubo N°	cm ³ .	sol.	2m/1000	de cianuro	potasio	equiv.	a	0,00020	grs.	de HCN
1	3,70	"	"	"	"	"	"	"	0,00018	"
2	3,33	"	"	"	"	"	"	"	0,00016	"
3	2,96	"	"	"	"	"	"	"	0,00014	"
4	2,59	"	"	"	"	"	"	"	0,00012	"
5	2,22	"	"	"	"	"	"	"	0,00010	"
6	1,85	"	"	"	"	"	"	"	0,00008	"
7	1,48	"	"	"	"	"	"	"	0,00006	"
8	1,11	"	"	"	"	"	"	"	0,00004	"
9	0,74	"	"	"	"	"	"	"	0,00002	"
10	0,37	"	"	"	"	"	"	"		"

La precipitación del azul de Prusia se verifica como antes. Para la práctica del dosage se precipita el ácido cianhídrico libre destilado, al estado de azul de Prusia, se lleva a un volumen dado, del cual se toma 5 cm³., para comparar con los tubos de una u otra escala. La cantidad encontrada se refiere al volumen total de líquido.

CARACTERIZACION Y DOSAGE DEL ACIDO CIANHIDRICO COMBINADO

De la solución de nitrato de plata amoniacal contenida en el lavador L₁, después de haber hecho el arrastre durante 12 horas, con el objeto de fijar el ácido cianhídrico disimulado al estado de cianuro de amonio y cuyo volumen es de 100 cm³., se toma una parte, por ejemplo, 10 cm³. para caracterizar el ácido cianhídrico disimulado y el resto para el dosage del mismo .

Para la caracterización usamos uno u otro de los dispositivos que muestra la **figura 5**.

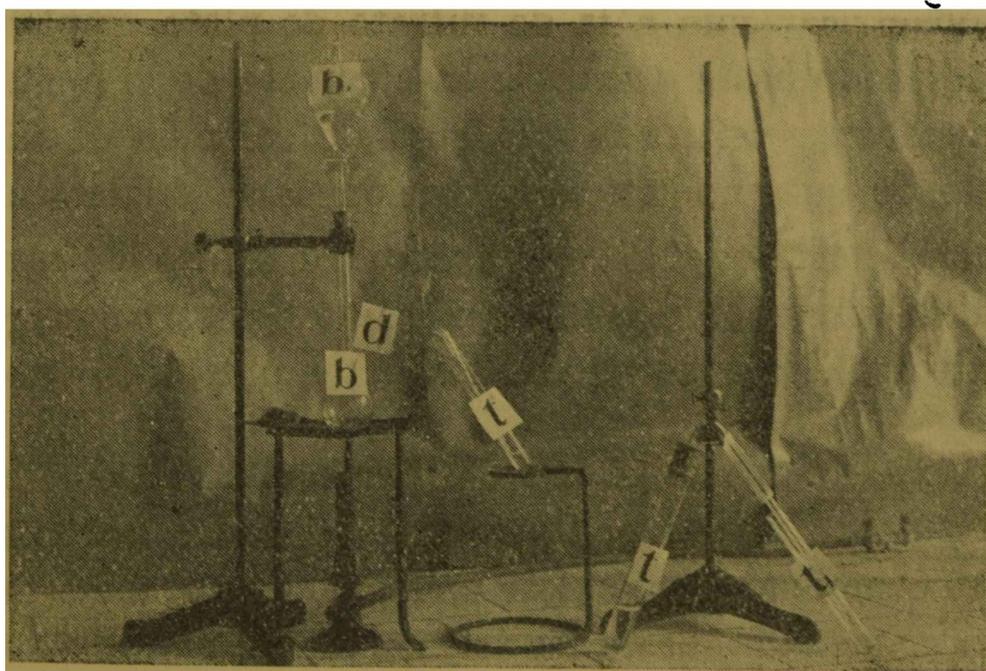


Figura n° 5

El primero consta de un baloncito **b** de 50 cm³. de capacidad, cerrado por un tapón de corcho, atravesado por la ampolla de decantación **b₁**; de la parte

media del cuello deriva un tubo lateral **d** que forma un ángulo agudo (aproximadamente 75°) con el cuerpo del balón y cuyo extremo capilar llega al fondo del tubo de ensayo **t**. La parte de la solución destinada a la caracterización del ácido cianhídrico se introduce en el baloncito **b**, con unos trocitos de piedra pómez y un trocito de papel azul de tornasol, con el objeto de comprobar la reacción del medio; se instala el aparato y en el tubo **t** se introduce 1 cm^3 . de solución de hidróxido de sodio N/1. Por la ampolla **b**₁ se añaden 15 ó 20 cm^3 . de ácido sulfúrico diluído 1:1, con el objeto de acidular el líquido. Se destila suavemente hasta duplicar el cm^3 . de Na (OH) N/1, colocado en el tubo de ensayo y en este líquido se procede a la caracterización mediante la reacción azul de Prusia. En ciertos casos, en que la cantidad de ácido cianhídrico es muy pequeña, conviene operar con cantidades grandes del líquido fijador y aún con la totalidad para la caracterización del ácido cianhídrico. En este caso se reemplaza el baloncito **b**, por uno mayor de 200 cm^3 . de capacidad y en lo demás se procede como antes.

El segundo aparatito empleado para la caracterización es más sencillo y nos ha dado igualmente buenos resultados; se trata como indica la figura 5 de dos tubos de ensayo de vidrio Pyrex **t** y **t**₁, cerrado el primero con un tapón de corcho atravesado por un tubo de vidrio, cuyo extremo capilar llega al fondo del tubo **t**₁. Este aparatito lo utilizábamos cuando se trataba de operar con pequeñas cantidades. Se coloca en el tubo **t**₁, 1 cm^3 . de solución de Na (OH) N/1 y se sumerge el tubo de extremo capilar; en el tubo **t** se introduce 10 cm^3 . del líquido a analizar, unos trocitos de piedra pomez y de papel azul de tornasol, se acidifica rápidamente con ácido sulfúrico diluído 1:1, se cierra el tubo con su correspondiente tapón y se destila con una llamita pequeña, durante unos 10 minutos, al cabo de los cuales, se caracteriza como de costumbre el ácido cianhídrico en el líquido destilado.

El dosage del ácido cianhídrico disimulado se practica sobre el líquido que resta después de la caracterización, con una solución de cianuro de potasio equivalente volumétricamente a la de nitrato de plata empleada, añadiendo gota a gota y agitando hasta desaparición completa de la opalescencia, límite que puede comprobarse vertiendo una gota de solución de nitrato de plata del mismo título, lo que produce la aparición de la opalescencia.

A continuación haremos un breve comentario, sobre los resultados obtenidos en los análisis correspondientes a cada uno de los perros y acompañaremos al mismo tiempo, los cuadros con los datos obtenidos en cada caso.

PERRO N^o. 1.—La investigación del ácido cianhídrico libre, dió en todos los casos resultado negativo. En cambio en todos los casos se encontró ácido cianhídrico combinado, notándose un aumento, en todos los órganos analizados, desde el primer día hasta los treinta días y una disminución a partir de los treinta días, llegando casi a la cantidad inicial. Parecería tratarse de una destrucción del ácido sulfocianico, formado en los primeros días.

Debemos advertir que en el hígado el ácido cianhídrico disimulado fué en ascenso hasta los sesenta días.

EXPERIENCIA N° 1

Perro muerto por inhalación de (HCN) ácido cianhídrico en un ambiente saturado de este gas.

ACIDO CIANHIDRICO LIBRE POR EL METODO DE DESTILACION

O R G A N O S		Peso total en gramos	1.º día	8.º día	30.º día	60.º día	Total de los parciales de ácido cianhídrico libre
Vísceras torácicas:	Sangre	58,9 grs.					
	Pulmón	15 "					
	Corazón	18 "	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	0
	Incl. cerebro	9 "					
Vísceras abdominales	Estómago y esófago	20,6 "					
	Intestinos	74,6 "					
	Hígado	77,9 "	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	0
	Bazo y páncreas	13,1					
	Riñón y vejiga	13,1					
Sangre		58,9	No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0
Pulmón		15	No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0
Estómago y esófago		20,6	No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0
Hígado		77,9	No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0

ACIDO CIANHIDRICO COMBINADO DE LAS VISCERAS ANALIZADAS POR EL METODO DE CHELLE

O R G A N O S		Peso total en gramos	1.º día	8.º día	30.º día	60.º día	Total parcial de ácido cianhídrico combinado evaluado en miligrs.
Vísceras torácicas		100,9	0,18	0,48	0,54	0,18	1,38
Vísceras abdominales		199,1	0,06	0,30	0,36	0,06	1,78
Sangre		58,9	No se efectuó	0,12	0,42	0,18	0,72
Pulmón		15	No se efectuó	0,36	0,24	0,12	0,72
Estómago y esófago		20,6	No se efectuó	0,12	0,30	0,12	0,54
Hígado		77,9	No se efectuó	No se efec.	0,30	0,60	0,90

PERRO N^o. 2.—El análisis efectuado el primer día reveló presencia de ácido cianhídrico libre en las vísceras torácicas. El dosage no se efectuó por haberse malogrado la muestra. En cambio se obtuvo resultado negativo con las vísceras abdominales, resultado inexplicable y que debe responder a algún error que no pudo precisarse.

A los 8 días, no encontramos ácido cianhídrico libre en las vísceras torácicas, ni abdominales; en cambio, se encuentran vestigios en sangre y una cantidad apreciable en el estómago 0,67 miligramos. Este resultado parece indicar que la repartición del tóxico en los órganos no es uniforme.

A los 30 y 60 días, no se encuentra ácido cianhídrico libre, ni en vísceras torácicas, ni abdominales.

En cambio, la investigación del ácido cianhídrico combinado, acusa los resultados anotados en el cuadro correspondiente, observándose un aumento del ácido cianhídrico combinado desde el primero hasta los treinta días y una disminución a partir de los treinta días, fenómeno análogo al ocurrido con las vísceras del perro N^o. 1.

La observación de los cuadros muestra que, tanto para las vísceras del perro N^o. 1, como para las del perro N^o. 2, los datos analíticos obtenidos son poco claros, pues la reunión de varios órganos aparece, en algunos casos, destilando menos ácido cianhídrico que uno solo de ellos, lo que es inadmisiblemente. Con todo los datos tienen su valor, por cuanto demuestran que tratándose de muertes producidas por dosis mínimas de ácido cianhídrico, se encuentran en el análisis cantidades muy pequeñas y que distan mucho de la cantidad que provoca la muerte, pero son revelables, en contra de las conclusiones de Sensi y Revello.

Con el objeto de aclarar el resultado inadmisiblemente de la ausencia de ácido cianhídrico libre en las vísceras abdominales analizadas el primer día, se sacrificó un cuarto perro, también por ingestión de 0,20 grs. de cianuro de potasio. Efectuada la autopsia, se practicó la investigación de ácido cianhídrico libre, sobre la octava parte del peso total (564 grs.) del estómago y su contenido y sobre la octava parte del peso total de la sangre (568 grs.), separadamente; en ambos casos el resultado fué positivo, determinándose las cantidades de 0,018 gr. y de 0,24 miligramos, respectivamente.

Esta experiencia es muy ilustrativa, por cuanto demuestra que en los casos de intoxicación por vía bucal conviene efectuar la investigación del ácido cianhídrico libre no sólo en el estómago, sino también en la sangre.

EXPERIENCIA N° 2

Perro muerto por ingestión de 20 centigramos de cianuro de potasio, equivalente a 0,082 grs. de ácido cianhídrico

ACIDO CIANHIDRICO LIBRE POR EL METODO DE DESTILACION

O R G A N O S	Peso total en gramos	1.º día	8.º día	30.º día	60.º día	Total de ácido cianhídrico libre en mgr.
Visceras torácicas:						
Sangre	86 grs.					
Pulmón	19 "					
Corazón	18,5 "	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	0
Incl. cerebro	10 "					

Visceras abdominales						
Estómago y esófago..	16 "					
Intestino	45 "					
Hígado	44,5 "	?	Negativa	Negativa	Negativa	0
Bazo y páncreas	8,5 "					
Riñones y Vejiga	12 "					
Sangre	86	No se efectuó	Positiva	Negativa	Negativa	0
Pulmón	19	No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0
Estómago y esófago	16	No se efectuó	0,67	Negativa	Negativa	0,67
Hígado	44,5	No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0

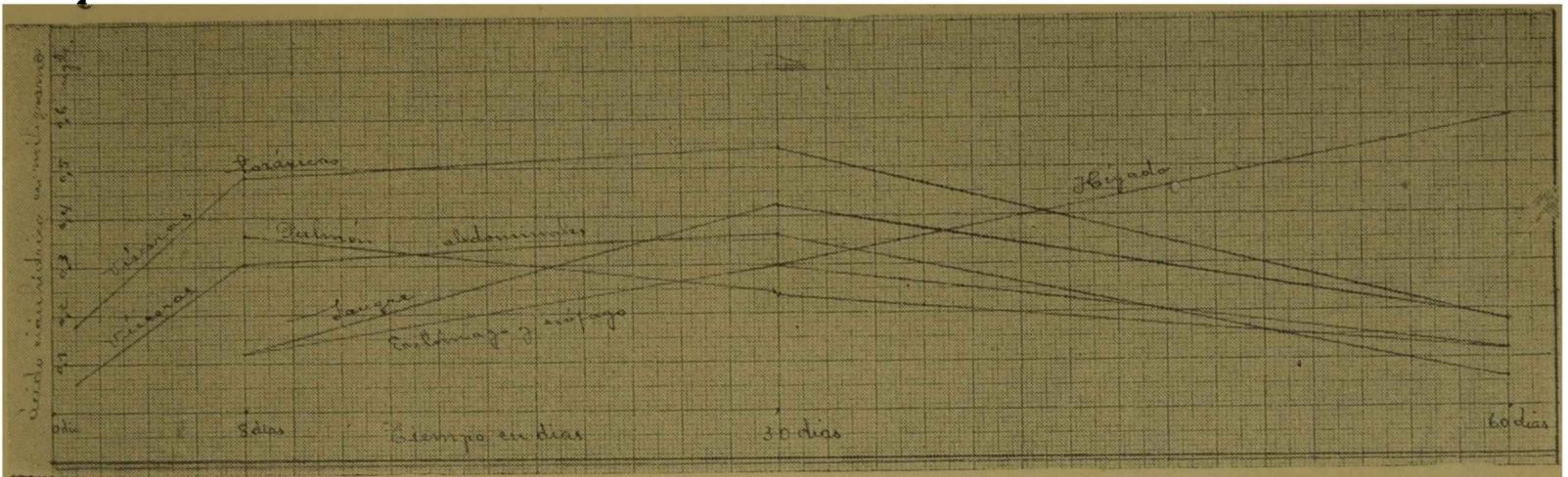
ACIDO CIANHIDRICO COMBINADO DE LAS VISCERAS ANALIZADAS POR EL METODO DE CHELLE

O R G A N O S	Peso total en gramos	1.º día	8.º día	30.º día	60.º día	Total parcial de ácido cianhídrico combinado evaluado en miligrs.
Visceras torácicas	133,5	0,06	0,36	0,54	0,36	1,32
Visceras abdominales	126	0,42	0,30	0,42	0,24	1,38
Sangre	86	No se efectuó	0,36	1,02	0,54	1,92
Pulmón	19	No se efectuó	0,36	0,54	0,36	1,26
Estómago y esófago	16	No se efectuó	0,48	1,08	0,42	1,98
Hígado	44,5	No se efectuó	0,30	0,48	0,06	0,84

PERRO N^o. 3.—Los análisis no revelaron en ningún caso presencia de ácido cianhídrico libre o combinado, resultado interesante, por cuanto demuestra que la observación de Sensi y Revello, acerca de la generación del ácido sulfociánico, en vísceras de animales, que no habían experimentado la intoxicación cianhídrica, no puede aceptarse, sin un buen contralor, realizado examinando muchos casos y en especial, para vísceras humanas, sobre los que no se tenga ninguna duda acerca de que la muerte del sujeto no ha sido producida por intoxicación cianhídrica, lo que podría ser motivo de un trabajo por demás interesante.

PERRO N° 1

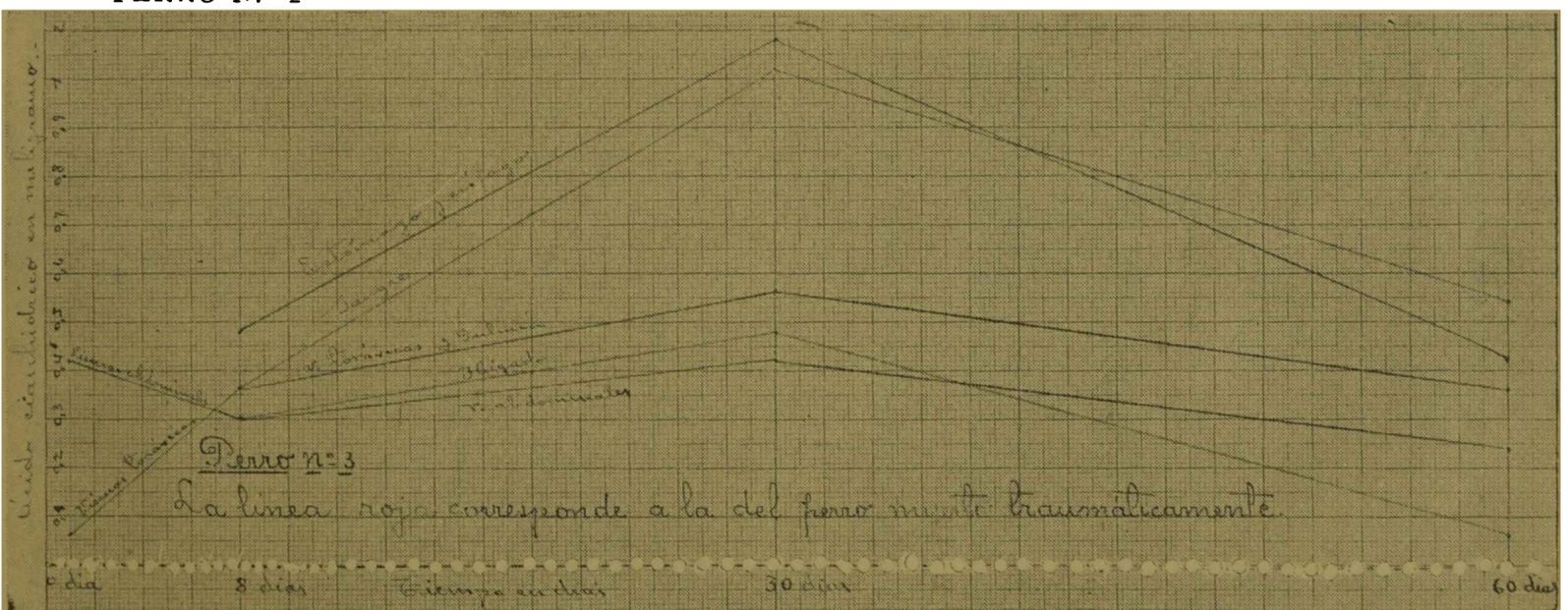
Representación gráfica de la cantidad evaluada de ácido cianhídrico "disimulado" o combinado.



PERROS N° 2 y 3

Representación gráfica de la cantidad evaluada de ácido cianhídrico "disimulado" o combinado.

PERRO N.° 2



(La línea roja a que hace referencia el gráfico, es la abscisa punteada).

E X P E R I E N C I A N ° 3

Perro muerto por estrangulación

ACIDO CIANHIDRICO LIBRE POR EL METODO DE LA DESTILACION

O R G A N O S	Peso to- tal en gramos	1. día	8. día	30. día	60. día	Total de los parcia- les de ácido cianhí- drico libre
Sangre	37,5 grs.					
Pulmón	13,7 "					
Corazón	12,8 "					
Incl. cerebro	8,5 "					
<hr/>						
Estómago y esófago	13,2 "					
Intestinos	28,9 "					
Hígado	35 "					
Bazo y Páncreas	6,4 "					
Riñón y Vejiga	9,2 "					
Vísceras	37,5					
Pulmón	13,7					
Estómago y esófago	13,2					
Hígado	35					
		No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0
		No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0
		No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0
		No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0

ACIDO CIANHIDRICO COMBINADO DE LAS VISCERAS ANALIZADAS POR EL METODO DE CHELLE

O R G A N O S	Peso to- tal en gramos	1. día	8. día	30. día	60. día	Total de ácido cianhídrico combinado
Vísceras torácicas	72,5	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	0
Vísceras abdominales	92,7	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	0
Sangre	37,5	No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0
Pulmón	13,7	No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0
Estómago y Esófago	13,2	No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0
Hígado	35	No se efectuó	Negativa	Negativa	Negativa	0

CAPITULO III

SUSTITUCION DEL PROCEDIMIENTO DE CHELLE POR EL DE LA DESTILACION

El procedimiento de Chelle tiene el inconveniente de exigir un tiempo excesivo para el arrastre total del ácido cianhídrico. Por esta razón, se pensó en la posibilidad de sustituirlo por una destilación en un medio oxidante, constituido por la mezcla sulfocrómica habitual.

La investigación toxicológica del ácido cianhídrico libre y combinado se reduciría en estas condiciones a practicar dos destilaciones sucesivas en el mismo aparato: la primera en medio fosfórico, para el ácido cianhídrico libre hasta eliminación total del mismo y la segunda previa adición al residuo de la mezcla sulfocrómica, la que pone en libertad el ácido cianhídrico del sulfocianico. El procedimiento sería de una sencillez notable, pero, previamente, era necesario dilucidar dos cuestiones importantes:

- 1º.) La posibilidad de oxidación del ácido cianhídrico generado por la mezcla sulfocrómica, por efecto de la temperatura.
- 2º.) La posibilidad de generar en esas condiciones ácido cianhídrico a expensas de las materias proteicas.

Con el objeto de aclarar el primer punto hicimos una serie de experiencias en medios simples, con soluciones de sulfocianuro de potasio de diferentes títulos 2 m/10, 2 m/100 y 2m/1000. Las experiencias fueron realizadas en el aparato destilatorio de la figura 1.

METODO DE DESTILACION EN MEDIOS SIMPLES:

Primera destilación.—El método operatorio seguido fué exactamente el descrito para los ensayos preliminares, con la única diferencia, desde luego que se sustituyó el cianuro de potasio por 5 cm³. de la solución de sulfocianuro de potasio.

Todas las demás condiciones permanecieron constantes.

Los datos obtenidos figuran en los cuadros que siguen. Como resultado de estas experiencias puede establecerse que en las condiciones anotadas el ácido sulfocianico no pone ácido cianhídrico en libertad.

Segunda destilación.—Al residuo de la operación anterior, se añadía 25 cm³. de solución de cromato de potasio y 10 cm³. de ácido sulfúrico de las concentraciones acostumbradas y se comenzaba la destilación con las precauciones habituales. Después de media hora la operación se daba por terminada. En todos los casos se constataba mediante el procedimiento acostumbrado, que el ácido cianhídrico había sido totalmente eliminado al cabo de ese tiempo. En el líquido se determinaba la cantidad de ácido cianhídrico fijado, dosificando el exceso de nitrato de plata.

Los resultados figuran en los cuadros que siguen. Como puede observarse son análogos a los obtenidos con el procedimiento de Chelle.

CUADRO N^o 1. — 1^a Destilación directa en medio fosfórico (ácido cianhídrico libre).

Solución de KSCN 2m/10 (5 cm³. de esta solución contienen 0,059083 gr. de HSCN = 0,027023 de HCN).

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

N ^o de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Destilado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	59,083	27,023	0	0	—	—	negativa
2	59,083	27,023	0	0	—	—	negativa
3	59,083	27,023	0	0	—	—	negativa

2^a.—Destilación (ácido cianhídrico combinado).

Residuo de la destilación anterior adicionado de 25 cm³. de solución de cromato de potasio y 10 cm³. de solución de ácido sulfúrico.

N ^o de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Destilado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	59,083	27,023	21,614	5,405	80%	20%	negativa
2	59,083	27,023	22,158	4,865	82%	18%	negativa
3	59,083	27,023	21,614	5,405	80%	20%	negativa

CUADRO N^o 2. — 1^a Destilación directa en medio fosfórico (ácido cianhídrico libre).

Solución de KSCN 2m/100 (5 cm³. de esta solución contienen 0,005908 gr. de HSCN = 0,002702 gr. de HCN).

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

N ^o de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Destilado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	5,908	2,702	0	0	—	—	negativa
2	5,908	2,702	0	0	—	—	negativa
3	5,908	2,702	0	0	—	—	negativa

2ª.—Destilación (ácido cianhídrico combinado).

Residuo de la destilación anterior adicionado de 25 cm³. de solución de cromato de potasio y 10 cm³. de solución de ácido sulfúrico.

Nº de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Destilado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	5,908	2,702	2,432	0,270	90%	10%	negativa
2	5,908	2,702	2,405	0,297	89%	11%	negativa
3	5,908	2,702	2,482	0,216	92%	8%	negativa

CUADRO N° 3. — 1ª Destilación directa en medio fosfórico (ácido cianhídrico libre).

Solución de KSCN 2m/1000 (5 cm³. de esta solución contienen 0,000590 gr. de HSCN = 0,000270 gr. de HCN).

Nº de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Destilado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	0,590	0,270	0	0	—	—	negativa
2	0,590	0,270	0	0	—	—	negativa
3	0,590	0,270	0	0	—	—	negativa

2ª.—Destilación (ácido cianhídrico combinado).

Residuo de la destilación anterior adicionado de 25 cm³ de solución de cromato de potasio y 10 cm³ de solución de ácido sulfúrico.

Nº de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Destilado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	0,590	0,270	0,243	0,027	90%	10%	negativa
2	0,590	0,270	0,248	0,021	92%	8%	negativa
3	0,590	0,270	0,237	0,032	88%	12%	negativa

Se realizó otra serie de experiencias que difieren de las anteriores únicamente en que la primera destilación fué practicada en medio sulfúrico (0,14 cm³. de ácido sulfúrico de D = 1,84, con lo que se obtiene aproximadamente la misma concentración de iones hidrógeno que con 0,50 cm³. de ácido fosfórico de D = 1,35).

Los resultados se dan a continuación:

CUADRO N° 1. — 1ª Destilación directa en medio sulfúrico (ácido cianhídrico libre).

Solución de KSCN 2m/10 (5 cm³. de esta solución contienen 0,059083 gr. de HSCN = 0,027023 gr. de HCN).

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico.

Nº de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Destilado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	59,083	27,023	0	0	—	—	negativa
2	59,083	27,023	0	0	—	—	negativa
3	59,083	27,023	0	0	—	—	negativa

2ª.—Destilación (ácido cianhídrico combinado).

Residuo de la destilación anterior adicionado de 25 cm³. de solución de cromato de potasio y 10 cm³. de solución de ácido sulfúrico).

Nº de orden	HSCN Presente	HCN Teórico	HCN Destilado	HCN Perdido	HCN % recuperado	HCN % Perdido	Término de la dest. R. az. Prusia
1	59,083	27,023	22,698	4,324	84%	16%	negativa
2	59,083	27,023	21,614	5,405	80%	20%	negativa
3	59,083	27,023	22,158	4,865	82%	18%	negativa

EXPERIENCIAS EN VISCERAS DE BUEY

Con el propósito de comprobar si podía generarse ácido cianhídrico en vísceras normales, realizamos una serie de experiencias en vísceras de buey.

Se operó con una mezcla homogénea constituida por los siguientes órganos: sangre, pulmón, corazón e hígado.

Colocamos en el balón B, del aparato de destilación 50 gramos de la mezcla anterior, reducida a papilla, unos trocitos de piedra pomez y por la ampolla de decantación A, 0,50 cm³. de ácido fosfórico al 50 % (densidad 1,35), 10 cm³. de solución saturada en caliente de ácido pícrico, 25 cm³. de solución de cromato de potasio y 10 cm³. de solución de ácido sulfúrico y por último agua destilada en cantidad suficiente como para completar 100 cm³. de líquido, aproximadamente. Se efectuó la destilación con llama de regular tamaño por espacio de una hora, recibiendo el destilado cada 10 minutos en 5 cm³. de solución de Na (OH) N/1, colocada en tubos de ensayo, en cada uno de los cuales se practicó la reacción azul de Prusia.

Este ensayo se practicó a intervalos de tiempo que está indicado en los cuadros que siguen.

Con 50 gramos de las mismas vísceras practicamos el método de Chelle y con otra cantidad igual el método de la doble destilación, tal como quedó indicado, efectuando una primera destilación en medio fosfórico y una segunda destilación previa oxidación con mezcla cromosulfúrica.

En ningún caso pudimos constatar formación del ácido cianhídrico a expensas de las materias proteicas.

CUADRO N° 1:

Análisis sobre vísceras de buey por el método de destilación							
ORGANOS	Peso total en gramos	1°. día	2°. día	8°. día	60°. día	120°. día	
Muestra homogénea	Sangre Pulmón Corazón Hígado	50	negativa	negativa	negat.	negat.	negativa

CUADRO N° 2:

Muestra analizada	Antigüedad de las vísceras	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle		Sust. del procedimiento de Chelle por el de la destilación	
			A	B	A	D
Muestra homogénea: Sangre, pulmón, corazón e hígado: 50 grs.	12-1-933	3-VIII-933	negat.	negat.	negativa	negativa

- A) Destilación directa sobre hidróxido de sodio en medio de ácido fosfórico (ácido cianhídrico libre).
- B) Arrastre con aire desprovisto de anhídrido carbónico, del ácido cianhídrico libertado por oxidación con la mezcla cromosulfúrica, previa defecación con ácido péricio (ácido cianhídrico combinado).
- D) Destilación sobre nitrato de plata amoniacal, del ácido cianhídrico libertado por oxidación con mezcla cromosulfúrica (ácido cianhídrico combinado).

CAPITULO IV

DATOS COMPARATIVOS SOBRE LA INVESTIGACION DEL ACIDO CIANHIDRICO EN VISCERAS HUMANAS POR EL PROCEDIMIENTO DE CHELLE Y POR EL DE DESTILACION PROPUESTO.

Las experiencias anteriores demuestran:

- 1º.) Que la recuperación del ácido cianhídrico por oxidación del sulfocianico es análoga, desde el punto de vista cuantitativo, operando sea con el procedimiento de Chelle o por destilación.
- 2º.) Que en las condiciones experimentales fijadas no se genera ácido cianhídrico a expensas de las materias proteicas.

Faltaba, antes de adoptar definitivamente el procedimiento, comprobar la verdad de estas conclusiones, mediante análisis sobre vísceras humanas normales y procedentes de sujetos muertos por intoxicación cianhídrica, paralelamente ejecutados con el procedimiento clásico de Chelle y con el procedimiento propuesto.

Para fijar el ácido cianhídrico libre se empleó 10 cm³. de una solución de hidróxido de sodio al 50 %, ya que no es posible emplear aquí una solución de nitrato de plata amoniacal, debido al desprendimiento de hidrógeno sulfurado. Conviene emplear solución de hidróxido de sodio al 50 % y no soluciones diluídas, porque dada la fácil hidrolización de las soluciones de cianuro, alcalinas, pueden ocurrir pérdidas de ácido cianhídrico.

Para la fijación del ácido cianhídrico procedente de la segunda destilación, puede emplearse la solución de nitrato de plata amoniacal, sin el menor inconveniente, por cuanto en el transcurso de la primera destilación todo el hidrógeno sulfurado existente ha sido desalojado.

En la mayoría de los casos es suficiente llevar la destilación durante unos cuarenta minutos para asegurar el pasaje de todo el ácido cianhídrico libre. No obstante en algunos casos (vísceras que contenían abundante cantidad de ácido cianhídrico libre) operando sólo con 5 gramos de muestra, hemos tenido necesidad de prolongar la destilación hasta el agotamiento del líquido del balón destilatorio, adicionar nueva agua destilada y proseguir la destilación y sólo en esta forma hemos logrado arrastrar todo el ácido cianhídrico libre empleando hasta tres horas para el ensayo.

La evaluación del ácido cianhídrico libre se hacía gravimétrica o colorimétricamente.

La segunda destilación en ningún caso fué necesario prolongarla más de cincuenta minutos.

Se ha observado que la destilación con la mezcla sulfocrómica es bien regular y no hay sino muy poca formación de espuma.

La acción de la mezcla sulfocrómica sobre las vísceras, en caliente, trae como consecuencia generación de anhídrido carbónico. Por esta circunstancia las soluciones diluídas de hidróxido de sodio no convienen para fijar el ácido cianhídrico, lo que pudo comprobarse en la siguiente forma: Se emplearon 10 cm³. de solución de hidróxido de sodio N/1, como fijador del ácido cianhídrico en un frasco lavador de unos 50 cm³. de capacidad (en lugar del vaso de precipitación V) unido a un tubo cuyo extremo capilar está sumergido en una solución de nitrato de plata amoniacal en la que pudo caracterizarse el ácido cianhídrico al final de la operación.

Por esta razón, si se desea emplear como solución fijadora la de hidróxido de sodio, también para el ácido cianhídrico disimulado, conviene que sea lo más concentrada posible (alrededor de 50 %). Con todo, mucho más segura como fijador es la solución de nitrato de plata amoniacal y a ella conviene recurrir siempre que no sea posible el desprendimiento de hidrógeno sulfurado, como ocurre para la destilación del ácido cianhídrico disimulado.

A continuación figuran los cuadros con los datos comparativos de los diferentes métodos de investigación del ácido cianhídrico en vísceras humanas clasificadas por persona.

Para cada caso fueron realizados los siguientes ensayos:

- A) Destilación directa sobre hidróxido de sodio en medio de ácido fosfórico (ácido cianhídrico libre).
- B) Arrastre con aire desprovisto de anhídrido carbónico del ácido cianhídrico libertado por oxidación con mezcla cromosulfúrica, previa defecación con ácido pícrico (ácido cianhídrico combinado).
- C) Destilación sobre hidróxido de sodio del ácido cianhídrico libertado por oxidación con mezcla cromosulfúrica (ácido cianhídrico combinado).
- D) Destilación sobre nitrato de plata amoniacal del ácido cianhídrico libertado por oxidación con mezcla cromosulfúrica (ácido cianhídrico combinado).

Los análisis que figuran en el cuadro N^o. 1, fueron efectuados sobre vísceras procedentes de una persona intoxicada con ácido cianhídrico, 18 meses después de la autopsia. Las vísceras presentaban reacción alcalina. Se encontró ácido cianhídrico libre y combinado en estómago y su contenido en todos los análisis. El segundo ensayo sobre trozos de distintas vísceras no reveló ácido cianhídrico libre, ni combinado por ninguno de los métodos.

El 5^o. ensayo se practicó sobre nuevas muestras de vísceras, no encontrándose ácido cianhídrico libre y sí combinado, tanto por el procedimiento de Chelle, como por el de destilación propuesto.

CUADROS COMPARATIVOS DE DIFERENTES METODOS DE INVESTIGACION DE ACIDO CIANHIDRICO

CUADRO N.º 1:

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico

N.º de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle				Modificación del procedimiento de Chelle	
				A	B	A	C		A
1	K. G. - Estómago y su contenido 58,3 grs.	2-1-932	18-5-933	4.73	2.85	—	—	7.00	2.83
2	K. G. - Trozos de distintas vísceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro, 43,3 grs.	2-1-932	21-5-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa
3	K. G. - Estómago y su contenido 58,3 grs.	2-1-932	15-6-933	—	—	Negativa	0.75	—	—
4	K. G. - Estómago y su contenido 18,3 grs.	2-1-932	9-7-933	1.50	1.91	1.60	0.60	1.60	2.70
5	K. G. - Trozos de distintas vísceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro.. 45 grs.	2-1-932	11-7-933	Negativa	0.90	Negativa	0.40	Negativa	0.81

A) Destilación directa sobre hidróxido de sodio en medio fosfórico (ácido cianhídrico libre).

B) Arrastre con aire desprovisto de anhídrido carbónico, del ácido cianhídrico libertado por oxidación con mezcla cromosulfúrica, previa defecación con ácido pícrico (ácido cianhídrico combinado).

C) Destilación sobre hidróxido de sodio, del ácido cianhídrico libertado por oxidación con mezcla cromosulfúrica (ácido cianhídrico combinado).

D) Destilación sobre nitrato de plata amoniacal del ácido cianhídrico libertado, por oxidación con mezcla cromosulfúrica (ácido cianhídrico combinado).

Estas mismas indicaciones sirven para los cuadros siguientes.

Los análisis que figuran en el cuadro N° 2, fueron realizados sobre vísceras procedentes de una persona intoxicada con ácido cianhídrico, 60 días después de la autopsia. En el primer ensayo de análisis de estómago y su contenido, no encontramos ácido cianhídrico libre ni combinado por el procedimiento de Chelle, ni por el propuesto; atribuimos la pérdida del tóxico a la reacción ácida que presentaban las vísceras. En el segundo ensayo sobre trozos de distintas vísceras, encontramos ácido cianhídrico libre y combinado por el procedimiento de Chelle y por el propuesto; en estas vísceras, la reacción era ligeramente alcalina.

CUADRO N° 2:

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico

N° de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle		Modificación del procedimiento de Chelle			
				A	B	A	C	A	D
1	F. R. - Estómago y su contenido 50 grs.	11-4-933	23-6-933	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
2	F. R. - Trozos de distintas vísceras: Corazón, pulmón, riñón, hígado, bazo y cerebro.. 50 grs.	11-4-933	27-6-933	1.20	0.61	1.20	Vestigios	1.00	0.46

Los análisis del cuadro N.º 4, corresponden a vísceras de una persona intoxicada con ácido cianhídrico. La reacción de las vísceras era alcalina. El primer ensayo, lo efectuamos 110 días después de la autopsia sobre estómago y su contenido y trozos de distintas vísceras, por el procedimiento de Chelle y por el propuesto con resultados semejantes tanto para el ácido cianhídrico libre, como para el ácido cianhídrico combinado. Los demás ensayos se realizaron dos meses después sobre nuevas muestras de vísceras, siendo necesario reducir las muestras sometidas al análisis, por la cantidad de ácido cianhídrico que contenían.

CUADRO N.º 4:

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico

N.º de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha		Procedimiento de Chelle		Modificación del procedimiento de Chelle				
		de la autopsia	Fecha del análisis	A	B	A	C	A	D	
1	A. B. - Mezcla: Estómago y su contenido y trozos de distintas vísceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro 90 gramos.....	15-1-933	5-5-933	12.87	0.72	—	—	11.79	0.80	—
2	A. B. - Estómago y su contenido 5 grs.	15-1-933	15-7-933	—	—	16.00	0.80	—	—	—
3	A. B. - Estómago y su contenido 5 grs.	15-1-933	18-7-933	—	—	14.00	Vestigios	—	—	—
4	A. B. - Estómago y su contenido 5 grs.	15-1-933	20-7-933	18.00	1.02	—	—	16.00	1.15	—
5	A. B. - Estómago y su contenido 16.66 grs.	15-1-933	21-7-933	—	—	50.00	2.00	—	—	—
6	A. B. - Estómago y su contenido 5 grs.	15-1-933	21-7-933	—	—	16.00	0.80	—	—	—
7	A. B. - Estómago y su contenido 5 grs.	15-1-933	22-7-933	—	—	16.00	0.60	—	—	—

El análisis del cuadro N.º 5, fué realizado sobre vísceras procedentes de una persona intoxicada con ácido cianhídrico, 70 días después de la autopsia. La reacción de las vísceras era alcalina.

CUADRO N.º 5:

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico

N.º de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle						
				A	B	C	D			
1	N.N. - Estómago y su contenido 10 grs.	11-5-933	25-7-933	4.80	0.33	4.00	4.80	Vestigios	4.80	0.40

El análisis del cuadro N.º 6, corresponde a vísceras procedentes de una persona intoxicada con ácido cianhídrico y fué realizado 22 meses después de la autopsia. La reacción de las vísceras era fuertemente alcalina.

CUADRO N.º 6:

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico

N.º de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle					
				A	B	C	D		
1	O.G. - Estómago y su contenido 16.16 grs.	10-9-921	28-7-933	Negativo	0.36	Negativo	Vestigios	Negativa	0.23

Los análisis del cuadro N.º 7, fueron efectuados sobre vísceras procedentes de una persona intoxicada con ácido cianhídrico, 22 meses después de la autopsia. La reacción de las vísceras era alcalina. En el ensayo N.º 1, los análisis efectuados en estómago y su contenido, por el procedimiento de Chelle y por el de destilación propuesto, arrojaron resultados concordantes: se encuentra ácido cianhídrico libre y combinado, pero en mayor cantidad éste último. El ensayo N.º 2, realizado con nuevas muestras, dió resultado negativos.

CUADRO N.º 7:

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico

N.º de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle		Modificación del procedimiento de Chelle			
				A	B	A	C	A	D
1	G. R. - Estómago y su contenido 51,6 grs.	11-7-931	22-5-933	2.93	6.00	—	—	4.30	6.18
2	G. R. - Trozos de distintas vísceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro, 56.6 grs.	11-7-931	24-5-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa
3	J. R. - Estómago y su contenido 51.6 grs.	11-7-931	15-6-933	—	—	—	—	2.50	6.04

Los análisis del cuadro N.º 8, se efectuaron sobre vísceras procedentes de una persona intoxicada con ácido cianhídrico, después de seis meses. La reacción era alcalina.

CUADRO N.º 8:

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico

N.º de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia		Fecha del análisis		Procedimiento de Chelle				Modificación del procedimiento de Chelle			
		A	B	A	B	A	B	A	C	A	B	C	D
1	V. M. A. V. - Estómago y su contenido . . . 50 grs.	21-12-932	26-5-933	5.31	2.34	—	—	6.10	—	—	—	—	2.10
2	V. M. A. V. - Trozos de distintas vísceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro, 65 grs.	21-12-932	26-5-933	Negativo	Negativo	—	—	Negativo	—	—	—	—	Negativo

El análisis del cuadro N.º 9, corresponde a vísceras procedentes de una persona intoxicada con ácido cianhídrico y fué realizado 13 meses después de la autopsia, sobre estómago y su contenido, obteniéndose resultados concordantes con el procedimiento de Chelle y con el propuesto. La reacción de las vísceras era alcalina.

CUADRO N.º 9:

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico

N.º de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia		Fecha del análisis		Procedimiento de Chelle				Modificación del procedimiento de Chelle			
		A	B	A	B	A	B	A	C	A	B	C	D
1	F. D. V. - Mezcla: Estómago y su contenido: Corazón, pulmón hígado, riñón, bazo y cerebro, 75 grs.	16-4-932	1-5-933	0.50	Vestigios	—	—	0.75	—	—	—	—	Vestigios

Los análisis del cuadro N.º 10, fueron efectuados sobre vísceras procedentes de una persona no intoxicada con ácido cianhídrico, después de 10 meses. Tenía una fuerte reacción ácida. En el ensayo N.º 1, sobre estómago y su contenido, los análisis efectuados por el procedimiento de Chelle y el de la destilación propuesto, no se encontró ácido cianhídrico libre ni combinado, y lo mismo ocurrió con el ensayo N.º 2 efectuado sobre trozos de distintas vísceras.

Cuadro N.º 10:

N.º de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle		Modificación del procedimiento de Chelle			
				A	B	A	C	A	D
1	B. G. T. - Estómago y su contenido 56 grs.	16-2-932	2-6-933	Negativo	Negativo	—	—	Negativo	Negativo
2	B. J. T. - Trozos de distintas vísceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro.. 56 grs.	16-2-932	4-6-933	Negativo	Negativo	—	—	Negativo	Negativo

Los análisis del cuadro N°. 11, corresponden a vísceras de una persona no intoxicada por el ácido cianhídrico y se realizaron después de transcurridos 15 meses. La reacción era fuertemente alcalina. Los análisis practicados sobre estómago y su contenido y sobre trozos de distintas vísceras efectuados por el procedimiento de Chelle y por el propuesto, no revelaron ácido cianhídrico libre ni combinado.

Cuadro N°. 11:

N°. de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle		Modificación del procedimiento de Chelle			
				A	B	A	C	A	D
1	H. K. - Estómago y su contenido 27.5 grs.	12-3-932	8-6-933	Negativo	Negativo	—	—	Negativo	Negativo
2	H. K. - Trozos de distintas vísceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro 52.5 grs.	12-3-932	10-6-933	Negativo	Negativo	—	—	Negativo	Negativo

El análisis del cuadro N.º 12, fué efectuado sobre vísceras de una persona no intoxicada con ácido cianhídrico, de 12 meses de antigüedad. La reacción era alcalina. El ensayo realizado sobre una muestra homogénea de estómago y su contenido y trozos de distintas vísceras, por el procedimiento de Chelle y el de destilación propuesto, no reveló presencia de ácido cianhídrico libre ni combinado.

CUADRO N.º 12:

N.º de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle		Modificación del procedimiento de Chelle				
				A	B	A	C	A	A	D
1	A. C. - Mézcla: Estómago y su contenido: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro, 56 grs.	1-7-932	16-6-933	Negativo	Negativo	—	—	Negativo	Negativo	Negativo

El análisis del cuadro N.º 13, corresponde a vísceras procedentes de una persona no intoxicada por ácido cianhídrico, de 11 meses de antigüedad. La reacción de estas vísceras era alcalina. El ensayo realizado sobre una muestra homogénea, de estómago y su contenido y trozos de distintas vísceras, mediante el procedimiento de Chelle y el de destilación, no revela presencia de ácido cianhídrico libre ni combinado.

CUADRO N.º 13:

N.º de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle		Modificación del procedimiento de Chelle				
				A	B	A	C	A	A	D
1	J. P. - Mezcla: Estómago y su contenido: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro, 56 grs.	4-7-932	18-6-933	Negativo	Negativo	—	—	Negativo	Negativo	Negativo

El análisis del cuadro N° 14, fué efectuado sobre vísceras procedentes de una persona no intoxicada por el ácido cianhídrico, de 15 meses de antigüedad; la reacción era francamente alcalina. El ensayo fué efectuado tomando una muestra homogénea de estómago y su contenido y trozos de distintas vísceras, no pudiendo revelarse, ácido cianhídrico libre o combinado, ni por el procedimiento de Chelle, ni por el de la destilación.

CUADRO N° 14:

N° de ord.	Muestra analizada y su peso	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle		Modificación del procedimiento de Chelle			
				A	B	A	C	A	D
1	E. F. - Mezcla: Estómago y su contenido: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro.....	12-3-932	20-6-933	Negativo	Negativo	—	—	Negativo	Negativo

Con fines ilustrativos se acompañan análisis de vísceras de cobayos intoxicados mediante inyecciones intraperitoneales de dosis mínimas de ácido cianhídrico, los que fueron efectuados, después de varios años. Las vísceras fueron conservadas en frascos de vidrio cerrados al esmeril. Los resultados son interesantes, porque demuestra la posibilidad de revelar cantidades muy pequeñas de ácido cianhídrico, después de transcurridos largos intervalos de tiempo a condición de que el material sea conservado adecuadamente.

Las cantidades están expresadas en miligramos de ácido cianhídrico

Nº. de ord.	Muestra analizada y su peso	Cantidad de HCN inyectado en milgrs.	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle			Modificación del procedimiento de Chelle				
					A	B	A	A	C	A	D	
1	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 162 grs.	4	4-10-924	14-5-928	Negativa	Positiva	—	—	—	—	—	—
2	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 154 grs.	2	18-1-924	16-5-928	Negativa	Vestigios	—	—	—	—	—	—
3	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 148 grs.	5	24-3-924	17-5-931	Negativa	débil posit.	—	—	—	—	—	—
4	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 151 grs.	5	23-1-924	7-5-932	Negativa	Negativa	—	—	—	—	—	—
5	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 152 grs.	5	18-1-924	28-3-933	Negativa	0.06	—	—	—	—	—	—
6	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 146 grs.	5	18-1-924	29-3-933	Negativa	0.60	—	—	—	—	—	—
7	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 166 grs.	5	20-1-924	30-3-933	Negativa	0.42	—	—	—	—	—	—
8	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 178 grs.	5	23-1-924	14-4-933	Negativa	Negativa	—	—	—	—	—	—
9	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 170 grs.	5	25-1-924	21-4-933	Negativa	Negativa	—	—	—	—	—	—
10	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 180 grs.	5	25-1-924	5-8-933	Negativa	0.78	—	—	—	—	—	—
11	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 188 grs.	5	29-1-924	6-8-933	Negativa	0.48	—	—	—	—	—	—
12	Vísceras torácicas, abdominales y cerebro 175 grs.	5	31-1-924	8-8-933	—	—	—	—	—	—	Negativa	0.42

**CUADRO COMPARATIVO DE LOS DATOS OBTENIDOS POR DIFERENTES METODOS DE INVESTIGACION
DE ACIDO CIANHIDRICO**

Las cantidades de ácido cianhídrico están expresadas en miligramos

N° de ord.	MUESTRA ANALIZADA Y SU PESO	Fecha de la autopsia	Fecha del análisis	Procedimiento de Chelle			Modificación del procedimiento de Chelle		
				A	B	C	A	C	D
1	K. G. - Estómago y su contenido..	2-1-932	18-5-933	4.73	2.58	—	—	7.07	2.83
2	K. G. - Trozos de distintas visceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro.....	2-1-932	21-5-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa
3	K. G. - Estómago y su contenido..	2-1-932	15-6-933	—	—	—	—	—	—
4	K. G. - Estómago y su contenido..	2-1-932	9-7-933	1.50	1.91	—	—	1.60	2.70
5	K. G. - Trozos de distintas visceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro.....	2-1-932	11-7-933	Negativa	0.90	Negativa	0.40	Negativa	0.81
6	F. R. - Estómago y su contenido	11-4-933	23-6-933	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
7	F. R. - Trozos de distintas visceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro..	11-4-933	27-6-933	1.20	0.61	1.20	Vestigios	1.00	0.46
8	H. A. - Estómago y su contenido.	25-1-932	1-7-933	Vestigios	2.62	Vestigios	0.80	Vestigios	2.80
9	H. A. - Trozos de distintas visceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro.	25-1-932	4-7-933	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
10	H. A. - Estómago y su contenido.	25-1-932	29-7-933	3.20	3.00	—	—	—	—
11	H. A. - Estómago y su contenido..	25-1-932	31-7-933	3.20	3.32	—	—	—	—
12	A. B. Mezcla: Estómago y su contenido y trozos de distintas visceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro. . .	15-1-933	5-5-933	12.87	0.72	—	—	11.79	0.80
13	A. B. - Estómago y su contenido.	15-1-933	15-7-933	—	—	16.00	0.80	—	—
14	A. B. - Estómago y su contenido.	15-1-933	18-7-933	—	—	14.00	Vestigios	—	—
15	A. B. - Estómago y su contenido.	15-1-933	20-7-933	18.00	1.02	—	—	16.00	1.15
16	A. B. - Estómago y su contenido.	15-1-933	21-7-933	—	—	50.00	2.00	—	—
17	A. B. - Estómago y su contenido.	15-1-933	21-7-933	—	—	16.00	0.80	—	—
18	A. B. - Estómago y su contenido.	15-1-933	22-7-933	—	—	16.00	0.60	—	—
19	N. N. - Estómago y su contenido..	11-5-933	25-7-933	4.80	0.33	4.00	Vestigios	4.80	0.40
20	O. R. - Estómago y su contenido.	10-9-931	28-7-933	Negativa	0.36	Negativa	Vestigios	Negativo	0.23
21	J. R. - Estómago y su contenido.	11-7-931	22-5-933	2.93	6.00	—	—	4.30	6.18
22	J. R. - Trozos de distintas visceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro... .	11-7-931	24-5-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa
23	J. R. - Estómago y su contenido.	11-7-931	15-6-933	—	—	—	—	2.50	6.04
24	V. M. A. V. Estómago y contenido	21-12-932	26-5-933	.31	2.34	—	—	6.10	2.10
25	V. M. A. V. - Trozos de dist. visceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro.	21-12-932	26-5-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa
26	P. D. V. - Mezcla: Estómago y su contenido: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro... .	16-4-932	1-5-933	0.50	Vestigios	—	—	0.75	Vestigios
27	B. G. T. - Estómago y su contenido	16-2-932	2-6-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa
28	B. G. T. - Trozos de distintas visceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro.....	16-2-932	4-6-933	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
29	H. K. - Estómago y su contenido.	12-3-932	8-6-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa
30	H. K. - Trozos de distintas visceras: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro.	12-3-932	10-6-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa
31	A. C. - Mezcla: Estómago y su contenido: Corazón, pulmón, hígado, riñón, bazo y cerebro.	1-7-932	16-6-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa
32	J. P. - Mezcla: Estómago y su contenido: Corazón, pulmón, hígado, bazo, riñón y cerebro.	4-7-932	18-6-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa
33	E. J. - Mezcla: Estómago y su contenido: Corazón, pulmón, hígado, bazo, riñón y cerebro.	12-3-932	20-6-933	Negativa	Negativa	—	—	Negativa	Negativa

A) Destilación directa sobre hidróxido de sodio en medio de ácido fosfórico (ácido cianhídrico libre).

B) Arrastre con aire desprovisto de anhídrido carbónico, del ácido cianhídrico libertado por oxidación, con mezcla cromosulfúrica (ácido cianhídrico combinado).

C) Destilación sobre hidróxido de sodio, del ácido cianhídrico libertado por oxidación con mezcla cromosulfúrica (ácido cianhídrico combinado).

D) Destilación sobre yoduro de plata coloidal del ácido cianhídrico libertado por oxidación con mezcla cromosulfúrica (ácido cianhídrico combinado)

CAPITULO V

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Esta serie de análisis permite comprobar que los resultados obtenidos mediante el procedimiento de Chelle y mediante el de destilación propuesto, son comparables a condición de emplear como solución fijadora, para el ácido cianhídrico disimulado, el nitrato de plata amoniacal. Los resultados que se obtienen empleando solución de hidróxido de sodio al 50 % son, en todos los casos, más bajos que los obtenidos empleando nitrato de plata amoniacal, lo que indica, muy probablemente, que hay pérdida. El hecho no queda terminantemente demostrado, por cuanto no es posible una repartición homogénea del tóxico en los órganos, pero tampoco es posible admitir que a los análisis en que la fijación del ácido cianhídrico era efectuada por solución de hidróxido de sodio, correspondiesen siempre las partes de órganos más pobres en tóxico, máxime vista la similitud de resultados obtenidos por el método de Chelle y por el de destilación, en los que se empleaba nitrato de plata amoniacal. Por esta circunstancia conviene abstenerse, en lo posible, de emplear soluciones de hidróxido de sodio como fijadoras para el ácido cianhídrico salvo en aquellos casos en que no es posible el empleo de la de nitrato de plata amoniacal.

CONCLUSIONES

De los datos obtenidos en las experiencias realizadas y expuestas precedentemente, se desprenden las siguientes conclusiones:

- 1º.)—El análisis toxicológico permite revelar intoxicaciones por dosis mínimas de ácido cianhídrico, ocurridas por vía respiratoria o por vía gástrica.
- 2º.)—El mejor fijador para el ácido cianhídrico es la solución de nitrato de plata amoniacal, la que debè ser preferida en el análisis toxicológico.
- 3º.)—Las soluciones de hidróxidos alcalinos empleados como fijadores en los casos en que no conviene la de nitrato de plata amoniacal, deben ser fuertemente concentradas.
- 4º.)—En ningún caso ha podido constatarse generación de ácido cianhídrico, por la putrefacción, en vísceras normales, humanas y de animales (buey y perro).
- 5º.)—En ningún caso ha podido constatarse igualmente generación de ácido cianhídrico por la acción de la mezela sulfocrómica, en frío o en caliente, sobre las materias proteicas de las vísceras.
- 6º.)—Puede sustituirse con gran ventaja, dada su rapidez y aplicación sencilla, el método de Chelle por el de destilación en medio oxidante, para la investigación del ácido cianhídrico disimulado.
- 7º.)—Los resultados obtenidos por el método de Chelle y por el de destilación en medio oxidante, son perfectamente comparables.

La Plata, 2 de Noviembre de 1933.

PLUTARCO R. ORELLA.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—J. OGIER, E. KOHN ABREST.—Chimie Toxicologique, T. I, París 1924, pág. 335.

- 2.—A. ANDERSON.—Essai des méthodes les plus importantes pour la recherche qualitative de HCN. — **Bs. Ch. F. 23-245, 1916.**

- 3.—KOLTHOFF, J. M.—Sur la recherche et le dosage de petites quantités de HCN.—**Bs. Ch. F. 26, 266, 1918.**

- 4.—ROSENTHALER L. y SEILER H.—Microdosificación del HCN. — **Bs. Ch. F. 34, 1638 1923.**

- 5.—L. CHELLE.—Búsqueda y dosificación de trazas de HCN y HSCN en medios complejos. — **Bull. de la Soc. de Pharmacie de Burdeaux — 3, 154, 1918.**

- 6.—L. CHELLE.—Influencia de la putrefacción en el HCN. — **C. R. de Sciences — Octubre y Noviembre, 1920.**

- 7.—G. MAGNIN.—Algunos conceptos sobre la investigación del HCN en toxicología por medio de la reacción de Chelle. — **Journal Pharmacie et Chimie — 2, 336, 1925.**

- 8.—ROOZENDAAL N. A.—Búsqueda del ácido cianhídrico.—**Chem. Zentr—11, 143, 1927.**

- 9.—KOHN ABREST E. AND. LUP.—Escape del ácido cianhídrico. — **Compt. rend. — 187, 362, 1928.**

- 10.—TUPI CALDAS.—El mecanismo de la acción del hiposulfito de sodio sobre el ácido cianhídrico. — **Boll. Assoc. Brasil Pharm.—8, 25, 1927.**

- 11.—MILANESI E.—El hiposulfito de sodio como antídoto del envenenamiento del ácido cianhídrico. — **Arch. Intern. Pharmacodynamie — 32, 156, 1926.**

12.—L. DE SAINT RAT.—Explicación de una sorprendente resistencia a la acción tóxica del ácido cianhídrico. — *Apoth. Ztg.* — 65, 139, 1927.

13.—ALEXANDER HYND.—Antagonismo de la glucosa y cianuros in vivo. — *Biochem. J.* — 21, 1094, 1927.

14.—SENSI G. y REVELLO M.—La producción del ácido cianhídrico y sulfocianico en el organismo animal, por efecto de la putrefacción cadavérica, mirado desde el punto de vista químico toxicológico. — *Annali di Chimica Applicata*—16, 268, 1926.

15.—SENSI G.—Investigación espectroscópica del ácido cianhídrico en la sangre. — *Ann. Chim. Applicata* — 16, 612 1926.

16.—C. HEYMANS y D. SOMEU.—La glucosa no impide el envenenamiento por los compuestos cianógenos. — *Compt. Rend. Soc. Biol* — 96, 202, 1927.

17.—LAVIALLE P. y VARENNE L.—Caracterización del ácido cianhídrico en toxicología por la reacción del sulfocianuro férrico. — *J. Pharm. Chim.* — 12, 74, 1915.

18.—BARCROFT JOSEPH.—La toxicidad de la atmósfera que contenga ácido cianhídrico.—*G. HYG.* — 31, 1, 1931.

19.—F. MORETTI y G. MUSCOLINO.—Influencia de algunos carbohidratos en la toxicidad del ácido cianhídrico. — *Arch. Farmacol. Sper.*—51, 135, 1930.

20.—F. KEESER.—La presencia del hierro y la resistencia del organismo para el ácido cianhídrico e hidrógeno sulfurado.—*Arch. Expth. Path. Pharmakol.* 156, 340, 1930.

21.—J. MAGNIN.—Investigación del ácido cianhídrico y sus sales alcalinas por medio de su transformación en azul de Prusia. — *Anales de Farmacia y Bioquímica* — 2, 103, 1930.

