

VALORACION MICROBIOLOGICA DE LOS ACIDOS NICOTINICO, PANTOTENICO Y FOLICO EN ALFALFA Y HENO DE ALFALFA(*)

por

IRMA PENNACCHIOTTI M., MARTA VARGAS U., AURORA MATUS DE LA P.,
CARMEN VISCONTI P. y HANS FUCHTNER (**)

El presente trabajo tuvo por objeto estudiar los factores de crecimiento del complejo B, ácidos nicotínico, pantoténico y fólico, contenidos en la Alfalfa común (*Medicago sativa*).

Para estas valoraciones se emplearon los métodos microbiológicos, que por su sensibilidad y relativa sencillez, aventajan a los métodos químicos y biológicos. Estos métodos se basan en la observación de que ciertos microorganismos requieren determinada vitamina para su crecimiento. Usando un medio basal completo, excepto la vitamina a titular, las respuestas del crecimiento del microorganismo, dependerán de la cantidad de vitamina presente, en la solución standard y en las muestras problemas (1).

Las muestras analizadas, en su mayoría provienen de la zona central del país.

MATERIAL Y METODOS

Acido nicotínico. — El microorganismo empleado para el ensayo de esta vitamina fué el *Lactobacillus arabinosus* 17-5, cultivo 8014 (2). El método seguido fué el descrito por Snell y Wrigth, con modificaciones de Krehl y Barton-Wrigth (3).

La acidez producida se midió potenciométricamente y para el cálculo final se aplicó el método del "Slope-ratio", que tiene la ventaja de ser estadísticamente más preciso que el método de la curva simple (3).

Acido pantoténico. — La cepa empleada para su determinación fué también el *Lactobacillus arabinosus* 17-5, cultivo 8014 (4). Para la medición final de respuesta, se siguió el método potenciométrico, en vez

(*) Recibido para su publicación en Noviembre de 1956.

(**) Sección Química y Forrajes. Instituto de Investigaciones Veterinarias.

del titrimétrico, por ser más exacto y más rápido. En este caso se calculó el promedio de tres determinaciones y el resultado se interpoló en la curva establecida (4).

Acido fólico. — Para esta valoración se usó el *Streptococcus faecalis R* (*Streptococcus lactis R*) cultivo 8043 de la "American Type Culture Collection" como los anteriores. Los cálculos se hacen, leyendo sobre las curvas standards preparadas anteriormente y en forma simultánea con cada grupo de determinaciones, los valores obtenidos en el Espectrofotómetro Coleman Universal, Modelo 14, con filtro PC 4 y longitud de onda 640 milimicrones, por turbidimetría (5).

CUADRO N° 1

CONTENIDO EN ACIDO NICOTINICO DE LA ALFALFA VERDE Y HENO DE ALFALFA

	A L F A L F A		H E N O	
	Humedad g/100 g	Acido nicotínico mg/1000 g s. f.	Humedad g/100 g	Acido nicotínico mg/1000 g
Número de muestras	50	50	50	50
Prom. aritmético . .	72,48	10,62	12,94	28,14
Amplitud	82,22-68,33	13,19-6,53	14,90-12,00	35,40-23,12
Desv. stand.	$\pm$ 0,41	0,18	$\pm$ 0,117	0,369

CUADRO N° 2

CONTENIDO EN ACIDO PANTOTENICO DE LA ALFALFA VERDE Y HENO DE ALFALFA

	A L F A L F A		H E N O	
	Humedad g/100 g	Acido pantoténico mg/1000 g	Humedad g/100 g	Acido pantoténico mg/1000 g
Número de muestras	50	50	50	50
Prom. aritmético . .	75,14	6,13	12,19	17,60
Amplitud	63,48-88,76	2,62-8,98	10,06-14,90	14,67-20,50
Desv. stand.	—	$\pm$ 1,83	—	$\pm$ 1,08

CUADRO N° 3

CONTENIDO EN ACIDO FOLICO DE LA ALFALFA VERDE Y HENO DE ALFALFA

	A L F A L F A		H E N O	
	Humedad g/100 g	Acido fólico mg/1000 g	Humedad g/100 g	Acido fólico mg/1000 g
Número de muestras	50	50	50	50
Prom. aritmético . .	75,83	0,71	12,94	2,39
Amplitud	63,50-88,96	0,21-1,42	10,06-14,90	1,93-2,99
Desv. stand.	—	$\pm$ 0,229	—	$\pm$ 0,250

CUADRO COMPARATIVO N° 4

ENTRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL I. I. V. Y LOS DADOS
POR OTROS AUTORES

a) ALFALFA VERDE

Autores	Acido nicotínico mg/1000 g sust. seca	Acido pantoténico mg/1000 g sust. seca	Acido fólico mg/1000 g sust. seca
I. I. V.	38,9	24,7	2,9
Morrison (6)	78,5 *	—	8,16
Exp. Station Kansas (7) **	40,0	—	11,30

b) HENO DE ALFALFA

	Acido nicotínico (8) mg/1000 g sust. seca	Ac. pantoténico (9) mg/1000 g sust. seca	Acido fólico (10) mg/1000 g sust. seca
I. I. V.	32,38	20,50	2,76
Morrison (6)	42,38	19,80	—

* Resultados obtenidos sobre harina de hojas de alfalfa.

** Resultados obtenidos sobre alfalfa deshidratada.

CONCLUSIONES

1. Se determinó el contenido de los ácidos nicotínico, pantoténico y fólico en 50 muestras de alfalfa verde y 50 de heno de alfalfa.

2. Se valoró el ácido nicotínico utilizando el método microbiológico con *Lactobacillus arabinosus* 17-5.

3. Los valores obtenidos fueron:

- a) Para alfalfa verde: 10,62 mg/1000 g sust. fresca $\pm$ 0,18
- b) Para heno de alfalfa: 28,14 mg/1000 g sust. fresca 0,369

4. Del estudio comparativo se deduce que nuestros valores son más bajos que los señalados por Morrison. Esta diferencia se explica porque aquí se analizó la alfalfa completa y Morrison refiere sus resultados a harina de hojas de alfalfa.

5. Se valoró el ácido pantoténico por el método microbiológico utilizando el *Lactobacillus arabinosus* 17-5.

6. Los valores obtenidos fueron:

- a) Para alfalfa verde: 6,13 mg/1000 g sust. fresca $\pm$ 1,83
- b) Para heno de alfalfa: 17,60 mg/1000 g sust. fresca 1,08

7. Del estudio comparativo de los resultados obtenidos en el presente trabajo y los de otros autores respecto al heno de alfalfa, se deduce que los valores son semejantes entre sí. No fué posible encontrar

cifras para Alfalfa verde en la literatura consultada, tanto nacional como extranjera.

8. Se valoró el ácido fólico utilizando el método microbiológico con *Streptococcus faecalis* R 8043. Se escogió el método turbidimétrico para la medición final, por haberse demostrado que es más exacto que el potenciométrico y el titrimétrico.

9. Los valores obtenidos fueron:

- a) Alfalfa verde: 0,71 mg/1000 g sust. fresca $\pm$ 0,229
- b) Heno de alfalfa: 2,39 mg/1000 g sust. fresca 0,250

10. Del estudio comparativo con Morrison se deduce que las cifras obtenidas en el I. I. V. son mucho más bajas; ello tendría también su explicación en que Morrison refiere sus valores a harina de alfalfa. No fué posible encontrar valores de ácido fólico tanto para alfalfa como para el heno, en la literatura nacional ni extranjera.

12. Los resultados se han expresado en mg/1000 g de sust. fresca en vez de hacerlo en porcentaje, por considerar esta medida de mayor interés práctico para la preparación de raciones alimenticias.

SUMMARY

Alfalfa and alfalfa hay were tested for their content of three vitamins; nicotinic, panthotenic and folic acids, by means of a microbiological method.

The microorganisms used were *Lactobacillus arabinosus* 17-5 for the nicotinic and panthotenic acids, and *Streptococcus faecalis* R 8043 for folic acid.

In the cases of nicotinic and panthotenic acids the pH meter was used instead of titrating with NaOH; the turbidimetric method was used for testint folic acid.

The figures obtained were:

	nicotinic acid	panthotenic acid	folic acid
Alfalfa (dry matter):	38.9 mg/1000	24.7 mg/1000	2.9 mg/1000
Alfalfa hay (dry matter):	32.38 mg/1000	20.50 mg/1000	2.76 mg/1000

These figures were compared with those given by Morrison.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—GYORGY, P. — Vitamin methods. Vol. 1, pág. 332-339. New York. Ed. Academic Press. (1950).

- 2.—BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology. Pág. 357. Baltimore. Ed. The Williams & Wilkins Co. (1948).
- 3.—BARTON-WRIGHT. — Practical Methods for the Microbiological Assay of the vitamin B complex and essential Amino Acids. Pág. 15. London. Ed. Ashe Laboratories (1945).
- 4.—DIFCO. — Manual of Dehydrated Culture Media. Pág. 219-220. Michigan. Ed. Difco Laboratories, 9th Ed. (1948-1952).
- 5.—DIFCO. — Manual of Dehydrated Culture Media. Pág. 21-225. Michigan. Ed. Difco Laboratories, 9th Ed. (1952).
- 6.—MORRISON, F. B. — Alimentos y Alimentación del Ganado. Vol. II, pág. 1320. México. Ed. UTHEA. (1951).
- 7.—PENNACCHIOTTI, M. I.; VARGAS, U. M. y col. — Segunda contribución al estudio químico de la Alfalfa común (*Medicago sativa*) (Minerales, vitaminas y amino ácidos). Trabajo enviado al Congreso de Sao Paulo. Abril de 1954.
- 8.—MATUS DE LA P., AURORA. — Valoración microbiológica de ácido nicotínico en alfalfa y heno de alfalfa. Tesis de prueba para optar al Título de Químico Farmacéutico, Univ. de Chile, 1953.
- 9.—FUCHTNER, HANS. — Valoración microbiológica de ácido pantoténico en alfalfa y heno de alfalfa. Tesis de prueba para optar al Título de Químico Farmacéutico. Univ. de Chile, 1953.
- 10.—VISCONTI P., CARMEN. — Determinación microbiológica de ácido fólico en alfalfa y heno de alfalfa. Tesis de prueba para optar al Título de Químico Farmacéutico, Univ. de Chile, 1953.