



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA TECNOLOGÍA MÉDICA

TÍTULO:

“DETERMINACIÓN DE ALCOHOL METÁLICO EN MUESTRAS DE HUMOR VÍTREO QUE INGRESAN AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO, MEDIANTE EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES, DURANTE EL PERÍODO DE NOVIEMBRE 2012 - ABRIL DEL 2013”

Tesina de grado previo a la obtención del Título de Licenciadas en Ciencias de la Salud en la Especialidad Laboratorio Clínico e Histopatológico

AUTORAS:

Jessica Paola Machado Muñoz

Nadia Patricia Salazar Chacón

TUTOR:

Dr. Wilson Edwin Moncayo Molina

Riobamba-Ecuador

2013



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

TÍTULO:

“DETERMINACIÓN DE ALCOHOL METÁLICO EN MUESTRAS DE HUMOR VÍTREO QUE INGRESAN AL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DEL DEPARTAMENTO DE CRIMINALÍSTICA DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO, MEDIANTE EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES, DURANTE EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2012 - ABRIL DEL 2013”

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

_____	_____
Presidente (Lic. Ximena Robalíno)	FIRMA
_____	_____
Miembro 1 (Dr. Wilson Moncayo)	FIRMA
_____	_____
Miembro 2 (Dr. Celio García)	FIRMA

DERECHOS DE AUTORÍA

Nosotras, Jessica Paola Machado Muñoz y Nadia Patricia Salazar Chacón somos responsables de las ideas, pensamientos y criterios expuestos en el presente trabajo de investigación son de exclusiva responsabilidad y los derechos de autoría pertenecen a la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**

ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de Grado presentado por las señoritas **Machado Muñoz Jéssica Paola** con **C.I 180438137-2** y **Salazar Chacón Nadia Patricia** con **CI.020156776-5**, y que acepto asesorar a las estudiantes en calidad de tutor, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

TUTOR: Dr. Wilson Edwin Moncayo Molina

**Analista Químico Forense del Departamento de Criminalística de
Chimborazo**

AGRADECIMIENTO:

Nuestro eterno agradecimiento a Dios Todopoderoso por brindarnos la vida, salud, sabiduría, bienestar físico y espiritual a nuestros Padres por ser el pilar fundamental para poder culminar nuestros estudios llenos de éxito, a la Universidad Nacional de Chimborazo y a sus Autoridades, por habernos acogido en sus aulas y darnos la oportunidad de tener un estudio óptimo, el cual pondremos en práctica para el bien de la comunidad.

A nuestros amigos por ser una compañía y brindarnos una amistad verdadera.

A nuestros profesores que aportaron con sus conocimientos y de manera muy especial al Doctor Wilson Moncayo por su gran aportación científica que junto al Departamento de Criminalística de la Policía Judicial Chimborazo nos permitieron realizar la presente trabajo de investigación.

DEDICATORIA:

El presente trabajo dedico principalmente a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, A mi madre, por ser el pilar más importante en mi vida y por demostrarme su apoyo incondicional. A mi hermano quien es mi mayor fuerza para salir adelante. A mi familia en general que con su amor supieron llevarme por el sendero del bien y la honestidad, y estar junto a mí en los momentos más difíciles.

Nadia Salazar

DEDICATORIA:

El presente trabajo va a dedicado a Dios quien ha sido la guía en el largo camino de mi vida, a mis padres Laura Machado y Marco Moya, que desinteresadamente me apoyaron inculcándome principios y valores, impulsándome a seguir adelante en el trayecto de mi carrera profesional, a mis hermanos Laura y Mauro me brindaron su apoyo moral y sentimental.

Paola Machado.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN:	1
CAPÍTULO I	3
1 PROBLEMATIZACIÓN	3
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	4
1.3 OBJETIVOS	5
1.3.1 Objetivo general	5
1.3.2 Objetivos específicos	5
1.4 JUSTIFICACIÓN	6
CAPÍTULO II	7
2 MARCO TEÓRICO	7
2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL	7
2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	8
2.2.1 Alcohol metílico	8
2.2.2 Propiedades Físico – Químicas	9
2.2.3 Estructura Química	11
2.2.4 Toxicocinética	11
2.2.4.1 Cinética de absorción	11

2.2.4.2	Cinética de distribución	12
2.2.4.3	Cinética de Metabolización.....	14
2.2.4.4	Cinética de Eliminación	14
2.2.5	Toxicodinámica	15
2.2.6	Ventajas y desventajas del metanol.....	16
2.2.7	Síntomas.....	17
2.2.8	Tratamiento	18
2.2.9	Mecanismo de Acción	19
2.2.10	Usos	20
2.2.11	Transporte y distribución industrial.....	20
2.2.12	Obtención de metanol.....	21
2.2.13	Método de extracción.....	23
2.2.13.1	Destilación.....	23
2.2.13.2	Tipos de destilación.....	24
2.2.14	Cromatografía	30
2.2.15	Cromatografía de gases.....	32
2.2.15.1	Gas portador.....	34
2.2.15.2	Sistemas de introducción de muestras	35
2.2.15.3	Detectores	40
2.2.15.4	Columna cromatográfica	46

2.2.15.5	Soporte sólido	48
2.2.15.6	La fase estacionaria	49
2.2.16	Muestras para la determinación de alcohol metílico	53
2.2.17	Obtención de la muestra para análisis de humor vítreo.	54
2.2.18	Cadena de custodia.....	55
2.2.19	Guía para el transporte de muestras biológicas para análisis toxicológicos	59
2.2.20	Control de calidad	63
2.2.21	Normas de bioseguridad	64
2.2.21.1	Manejo de residuos	66
2.2.22	Determinación de metanol en muestras de humor vítreo.....	68
2.2.22.1	Toma de muestra de humor vítreo	69
2.2.22.2	Rotulación de las muestras de humor vítreo.....	70
2.2.22.3	Cadena de custodia, recepción de documentos legales y muestra para posterior análisis	72
2.2.22.4	Extracción y purificación del metabolito en la muestra de humor vítreo por destilación.....	74
2.2.22.5	Identificación del alcohol metílico mediante pruebas cualitativas (test del ácido cromotrópico)	75
2.2.22.5.1	Preparación de los reactivos de identificación:	75
2.2.22.5.2	Identificación del metabolito del alcohol metílico en la muestra de humor vítreo.....	78

2.2.22.6	Pasos de la cromatografía de gases para cuantificación de alcohol metílico	82
2.2.22.7	Cálculos y resultados	86
2.3	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	92
2.2.4	Hipótesis y variables.....	95
2.4.1	Hipótesis	95
2.4.2	Variables.....	95
2.4.2.1	Variable independiente	95
2.4.2.2	Variable dependiente	95
2.5	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	95
CAPÍTULO III.....		97
3	MARCO METODOLÓGICO	97
3.1	MÉTODO	97
3.5	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	97
3.5.1	Población.....	97
3.5.2	Muestra	97
3.6	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	98
3.7	TÉCNICAS E INSTRUMENTACIÓN.....	98

3.8	TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	98
	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	99
	CAPÍTULO IV	112
4	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	112
4.1	CONCLUSIONES.....	112
4.2	RECOMENDACIONES.....	113
	BIBLIOGRAFÍA	114

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO Nº 1.2:	Estructura química	11
GRÁFICO Nº 2.2:	Absorción de metanol	11
GRÁFICO Nº 2.3:	Absorción y eliminación del metanol	14
GRÁFICO Nº 2.4:	Obtención del metanol	21
GRÁFICO Nº 2.5:	Proceso de destilación	23
GRÁFICO Nº 2.6:	Destilación simple	24
GRÁFICO Nº 2.7:	Destilación fraccionada	26
GRÁFICO Nº 2.8:	Destilación vapor	27
GRÁFICO Nº 2.9:	Destilación vacío.....	28
GRÁFICO Nº 2.10:	Destilación molecular centrífuga	29
GRÁFICO Nº 2.11:	Destilación destructiva	30
GRÁFICO Nº 2.12:	Equipo cromatográfico de gases	32
GRÁFICO Nº 2.13:	Esquema de un cromatógrafo de gases.....	33
GRÁFICO Nº 2.14:	Inyector de muestra para un cromatógrafo de gases.....	35
GRÁFICO Nº 2.15:	Esquema de un inyector para columnas empaquetadas	36
GRÁFICO Nº 2.16:	Esquema de un inyector	40
GRÁFICO Nº 2.17:	Esquema de un detector de conductividad térmica	43
GRÁFICO Nº 2.18:	Sección de un detector de ionización de llama.....	44
GRÁFICO Nº 2.19:	Detector de captura electrónica	45
GRÁFICO Nº 2.20:	Columnas empaquetadas para cromatografía de gases	47
GRÁFICO Nº 2.21:	Tipos de columnas tubulares abiertas	48
GRÁFICO Nº 2.22:	Composición de la sangre	53
GRÁFICO Nº 2.23:	Anatomía del ojo	54
GRÁFICO Nº 2.24:	Extracción mediante punción	55
GRÁFICO Nº 2.25:	Cadena de custodia	55

GRÁFICO Nº 2.26:	Envase primario para el transporte de muestra de humor vítreo	60
GRÁFICO Nº 2.27:	Envase secundario que transporta el envase primario con la muestra de humor vítreo	61
GRÁFICO Nº 2.28:	Normas de bioseguridad	64
GRÁFICO Nº 2.29:	Toma de muestra de humor vítreo en una persona fallecida	68
GRÁFICO Nº 2.30:	Rotulado de la muestra	70
GRÁFICO Nº 2.31:	Procedimiento de recepción de documentos legales y muestra para posterior análisis.....	72
GRÁFICO Nº 2.32:	Proceso de destilación que se somete la muestra de humor vítreo:	74
GRÁFICO Nº 2.33:	Preparación de la 1 ^{ra} solución (KMnO ₄ 0,2 N)	75
GRÁFICO Nº 2.34:	Preparación de la 2 ^{da} solución (H ₂ SO ₄ al 25%)	76
GRÁFICO Nº 2.35:	Preparación de la 3 ^{ra} solución(Formaldehído al 2%)	77
GRÁFICO Nº 2.36:	Análisis de metanol en la muestra de humor vítreo	78
GRÁFICO Nº 2.37:	Proceso de la cromatografía de gases	82
GRÁFICO Nº 3.38:	Resultados de la determinación de alcohol metílico analizados por mes	100
GRÁFICO Nº 3.39:	Determinación de alcohol metílico analizados en el período Noviembre - 2012.....	101
GRÁFICO Nº 3.40:	Determinación de alcohol metílico analizados en el período Diciembre– 2012	102
GRÁFICO Nº 3.41:	Determinación de alcohol metílico analizados en el período Enero– 2013.....	103
GRÁFICO Nº 3.42:	Determinación de alcohol metílico analizados en el período Febrero – 2013.....	104
GRÁFICO Nº 3.43:	Determinación de alcohol metílico analizados en el período Marzo – 2013	105
GRÁFICO Nº 3.44:	Determinación de alcohol metílico analizados en el período Abril – 2013	106

GRÁFICO Nº 3.45: Determinación de alcohol metílico en muestras de humor vítreo de cadáveres masculinos y femeninos	107
GRÁFICO Nº 3.46: Muestras positivas y negativas de la determinación alcohol metílico.....	108
GRÁFICO Nº 3.47: Cuantificación de alcohol metílico en muestras de humor vítreo (positivas) en el período de Noviembre del 2012 – Abril del 2013.....	110

INDICE DE TABLAS

Tabla № 2.1:	Propiedades Físico –Químicas.....	9
Tabla № 3.2:	Datos Estadísticos de las muestras de humor vítreo	99
Tabla № 3.3:	Datos de la determinación de alcohol metílico en el período Noviembre- 2012	101
Tabla № 3.4:	Datos de la determinación de alcohol metílico en el período Diciembre- 2012	102
Tabla № 3.5:	Datos de la determinación de alcohol metílico en el período Enero-2013.....	103
Tabla № 3.6:	Datos de la determinación de alcohol metílico en el período Febrero-2013.....	104
Tabla № 3.7:	Datos de la determinación de alcohol metílico en el período Marzo-2013	105
Tabla № 3.8:	Datos de la determinación de alcohol metílico en el período Abril-2013	106
Tabla № 3.9:	Datos de la determinación de alcohol metílico en muestras de humor vítreo de cadáveres masculinos y femeninos	107
Tabla № 3.10:	Datos de muestras positivas y negativas de la determinación de alcohol metílico.....	108
Tabla № 3.11:	Datos de la cuantificación de alcohol metílico en muestras de humor vítreo (positivas).....	109
Tabla № 3.11:	Datos de la cuantificación de alcohol metílico en muestras de humor vitreo positivas	111

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1: Anfiteatro del cementerio municipal de la Provincia Chimborazo	117
ANEXO N° 2: Oficina de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo	117
ANEXO N° 3: Área de trabajo del Laboratorio de Química Forense de la Policía Judicial de Chimborazo	118
ANEXO N° 4: Reactivos y solventes existentes en el Laboratorio de Química Forense	119
ANEXO N° 5: Equipos existentes en el laboratorio de Química Forense	120
ANEXO N° 6: Toma de muestra de humor vítreo por parte del perito de turno	121
ANEXO N°7: Recepción de muestra y cadena de custodia por parte del químico analista en el Laboratorio de Química Forense	122
ANEXO N° 8: Revisión de datos de identificación requeridos	122
ANEXO N° 9: Refrigeración de la muestra si el análisis no es inmediato	123
ANEXO N° 10: Muestras positivas para la cuantificación por medio de Cromatografía de Gases.....	123
ANEXO N° 11: Soluciones estándar y estándar interno para Cromatografía de Gases.....	124
ANEXO N° 12: Muestra positiva de Alcohol Metílico.....	124
ANEXO N° 13: Equipo de Cromatografía de Gases para la cuantificación de Alcohol Metílico.....	125
ANEXO N° 14: Microjeringa inyectada en la cabeza de la columna cromatográfica	125
ANEXO N° 15: Revisión de resultados cuantitativos.....	126

ANEXO N°16: Entrega de resultados al fiscal de turno.....	126
ANEXO N°17: Modelo de Cadena de Custodia	127

RESUMEN

El alcohol metílico o metanol es un líquido incoloro, de escasa viscosidad, de olor y sabor frutal penetrante, miscible en agua y con la mayoría de los solventes orgánicos, causa diversos efectos ya sean a medio y largo plazo, actúan sobre múltiples órganos y sistemas en el organismo, por la misma razón la presente investigación tiene como finalidad determinar la presencia de alcohol metílico en muestras de humor vítreo, procedentes de cadáveres que han ingresado hasta la morgue del Cementerio General de la ciudad de Riobamba el cual se realizó en el Laboratorio de Química Forense de la Policía Judicial de la Provincia de Chimborazo, de la misma manera se debe conocer el comportamiento de esta sustancia a través de su toxicocinética, que implica la absorción, distribución, metabolismo y eliminación del alcohol metílico, lo que permite conocer el daño que puede ocasionar en el organismo de los seres vivos, posteriormente con las muestras obtenidas se realizó la extracción del tóxico mediante la destilación, por consiguiente se realiza pruebas cualitativas, test del ácido cromotrópico que es una técnica que ha permitido identificar la presencia de esta sustancia que se necesita para este estudio, seguidamente se desarrolla una prueba necesaria que constituye la cromatografía de gases siendo un método cuantitativo que permite la determinación de la concentración exacta del tóxico en la muestra obtenida, que sirve de vital importancia para tabular los resultados positivos obtenidos en la investigación, contribuyendo de esta manera con la medicina forense para determinar la causa de muerte de un individuo. Esta investigación permitirá de manera directa, un aporte oportuno para la población que desconoce del peligro que implica el consumo de esta sustancia que ponen en gran riesgo la vida de muchos seres humanos.

INTRODUCCIÓN

El alcohol metílico también conocido como metanol, alcohol de madera, se produce durante la obtención de licor en alambiques clandestinos, los cuales no garantizan una temperatura estable a lo largo del proceso de destilación, generando así un licor contaminado (mezcla de etanol y metanol), que en última instancia va al consumidor. Es de anotar que esta mezcla. Antiguamente además se obtenía de la destilación en seco de la madera; pero hoy se obtiene a nivel industrial como un subproducto de la producción de polímeros y se utiliza como removedor de pinturas, anticongelante, lacas, barnices, productos fotográficos, solventes.

El metanol es metabolizado por la enzima alcohol deshidrogenasa, la misma que metaboliza el etanol, pero esta enzima es 22 veces más afín por el etanol que por el metanol, razón por la cual se utiliza el etanol como antídoto de esta intoxicación, ya que al preferir la enzima como sustrato el etanol estamos evitando la formación de los metabolitos tóxicos del metanol, causante de los síntomas, los cuales son el formaldehído y el ácido fórmico

La dosis tóxica de metanol presenta variaciones individuales; para un adulto es de 60-250 ml de metanol al 40%, aunque se ha reportado sobriedad con 500-600 ml y muerte con tan sólo 15 ml. Los síntomas se inician entre los 40 minutos y 72 horas dependiendo del tiempo que se tardan en formarse los metabolitos tóxicos y consisten en embriaguez, cefalea, náuseas, vómito mucho más fuerte que el del etanol; dolor abdominal por lo que se debe descartar la presencia de pancreatitis; como manifestación de acidosis metabólica; dentro de los síntomas oculares tenemos disminución de la agudeza visual, midriasis que no responde a la luz, visión borrosa, hiperemia del disco óptico al fondo de ojo, fotofobia que es quizás el síntoma ocular inicial, diplopía y ceguera, se presentan además

mialgias, disminución de la fuerza, insuficiencia renal aguda, depresión del SNC, hipotensión, bradicardia, colapso circulatorio el cual es signo de mal pronóstico; finalmente las convulsiones, coma y muerte.

CAPÍTULOS:

CAPÍTULO I: Problematización

CAPÍTULO II: Marco Teórico

CAPÍTULO III: Marco Metodológico

CAPÍTULO IV: Conclusiones y Recomendaciones

CAPÍTULO I

1 PROBLEMATIZACIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido al consumo excesivo de alcohol a nivel Provincial, Nacional y Mundial, existe un sin número de personas intoxicadas a causa del alcohol metílico, debido principalmente a los malos procesos de destilación sin control por parte de personas o empresas clandestinas dedicadas a la producción industrial del alcohol, por consiguiente el alcohol inferior conocido como metanol una vez ingresado al organismo del ser humano, produce la formación de su metabolito altamente tóxico llamado formaldehído, dando lugar a cuadros clínicos agudos-severos como ceguera transitoria o permanente, convulsiones, coma e incluso llegar a la muerte.

Otro de las razones para la intoxicación de un número mayúsculo de personas debido este alcohol inferior es por causa relacionado con problemas sociales, económicos, familiares y sobre todo sentimentales que ocurren comúnmente en el medio, al intentar suicidarse debido a las causas antes mencionadas, al ingerir este tóxico volátil llamado alcohol industrial que se encuentra fácilmente disponible en el medio y la venta del mismo sin ningún control por parte de las distribuidoras de alcoholes destinadas a la venta de estos productos.

Además existen personas dedicadas a los actos delictivos o delincuenciales que proporcionan este alcohol en mezcla con el etanol u otras sustancias toxicas, con el fin de producir la intoxicación o muerte del individuo.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Determinar la presencia de alcohol metílico en muestras de humor vítreo mediante el método cuantitativo por cromatografía de gases, que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Determinar la presencia de alcohol metílico en muestras de Humor Vítreo, que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo en el periodo de Noviembre - Abril del 2013, mediante el método cuantitativo por cromatografía de gases.

1.3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Estudiar la toxicocinética del alcohol metílico (absorción, distribución, metabolismo y eliminación), al ingresar al organismo del ser vivo, con el propósito de realizar el proceso investigativo fundamentado en el conocimiento técnico científico.
- ✓ Extraer o purificar el alcohol metílico en muestras de humor vítreo que ingresan al Laboratorio de Química Forense de Criminalística mediante el proceso de destilación y obtener la muestra sin sustancias interferentes y con un alto grado de pureza.
- ✓ Determinar la cantidad o concentración de alcohol metílico mediante el método de alta tecnología de cromatografía de gases.
- ✓ Tabular los datos estadísticos obtenidos durante el trabajo de investigación analítico, determinado la incidencia del número de muertes a causa de la intoxicación del alcohol metílico.

1.4 JUSTIFICACIÓN

El metanol es la principal causa de intoxicación el mismo que al ser ingerido causa daños irreversibles, según datos del ministerio de salud publica el contenido de este elemento superó los niveles tolerables en los seres humanos pues, según la tabla de valores, un licor no alterado tienen 0,01 gramos por litro de alcohol metílico; si se encuentra en 0,2 es tóxico y causa un daño parcial; si llega a un nivel de 0,8 gramos por litro, existe peligro de muerte con daño irreversible y de allí hasta el 1,2 es letal

El siguiente trabajo investigativo se realizó con la finalidad de disminuir el consumo de esta sustancia tóxica comúnmente llamado alcohol industrial o alcohol de madera, al proporcionar la información adecuada y correcta sobre el daño que puede producir un alcohol adulterado en el que se encuentra presente el mismo a través de charlas, conferencias, trípticos y otros medios que especifiquen el proceso, al ingresar esta sustancia al organismo del ser vivo llegando a casos complejos de toxicidad e incluso la muerte.

Esta investigación no se ha realizado en ninguna otra Institución a nivel Provincial o Nacional, por consiguiente este proyecto es el único en la Universidad Nacional de Chimborazo que se pretende realizar en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo, el cual nos va a permitir reducir el índice de intoxicaciones por causa del alcohol metílico, cabe indicar mediante el mismo se pretende conseguir un mejor prestigio a la Institución y brindar un buen servicio a la sociedad y la comunidad en general.

CAPÍTULO II

2 MARCO TEÓRICO

2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL

Se ha realizado las indagaciones correspondientes para comprobar que no existen investigaciones de este tipo a nivel de la Universidad Nacional de Chimborazo, ni publicaciones en alguna institución, al igual que en el lugar donde se va a participar con la investigación.

Se pretende la determinación de alcohol metílico en muestras de humor vítreo mediante cromatografía de gases que ingresan al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo.

Con conocimiento de los grandes y múltiples problemas que acarrea un producto de deficiente calidad al momento de realizar nuestro trabajo como personal de laboratorio ha propuesto plantear la presente investigación para poder dar una solución a la problemática de la misma.

2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.2.1 Alcohol Metílico

GRÁFICO Nº 2.1: Alcohol Metílico



Fuente: <http://www.es.blog.naver.com>

El compuesto químico metanol, también conocido como alcohol metílico o alcohol de madera, es el alcohol más sencillo, se utiliza como anticongelante, removedor de pintura, solvente de goma de laca y de barnices, en síntesis de compuestos químicos.

En condiciones normales es un líquido incoloro, de escasa viscosidad y de olor y sabor frutal penetrante, miscible en agua y con la mayoría de los solventes orgánicos, muy tóxico e inflamable. El olor es detectable a partir de los 2 ppm.

Es considerado como un producto petroquímico básico, a partir del cual se obtienen varios productos secundarios. (VALLEJO, M, 1975).

Las propiedades físicas más relevantes del metanol, en condiciones normales de presión y temperatura, se listan en la siguiente tabla:

2.2.2 Propiedades Físico – Químicas

TABLA Nº 2.1: Propiedades Físico –Químicas

PROPIEDADES FÍSICAS	PROPIEDADES QUÍMICAS
Peso Molecular 32 g/mol	Acidez: ~ 15,5 p _{ka}
Densidad 0.79 kg/l	Solubilidad en agua: totalmente miscible
Punto de fusión -97 °C	Producto de solubilidad : n/d
Punto de ebullición 65 °C	Momento dipolar: 1,69 D

Fuente: <http://www.es.blog.naver.com>

De los puntos de ebullición y de fusión se deduce que el metanol es un líquido volátil a temperatura y presión atmosféricas. Esto es destacable ya que tiene un peso molecular similar al del etanol (30 g/mol), y éste es un gas en condiciones normales.

La causa de la diferencia entre los puntos de ebullición entre los alcoholes y los hidrocarburos de similares pesos moleculares es que las moléculas de los primeros se atraen entre sí con mayor fuerza.

El metanol y el agua tienen propiedades semejantes debido a que ambos tienen grupos hidroxilo que pueden formar puente de hidrógeno. El metanol forma puente de hidrógeno con el agua y por lo tanto es miscible (soluble en todas las proporciones) en este solvente. Igualmente el metanol es muy

buen solvente de sustancias polares, pudiéndose disolver sustancias iónicas como el cloruro de sodio en cantidades apreciables.

De igual manera que el protón del hidroxilo del agua, el protón del hidroxilo del metanol es débilmente ácido. Se puede afirmar que la acidez del metanol es equivalente a la del agua.

El metanol es considerado como un producto o material inflamable de primera categoría; ya que puede emitir vapores que mezclados en proporciones adecuadas con el aire, originan mezclas combustibles. El metanol es un combustible con un gran poder calorífico, que arde con llama incolora o transparente y cuyo punto de inflamación es de 12,2 °C.

Al ser considerado como inflamable de primera categoría, las condiciones de almacenamiento y transporte deberán ser extremas. Está prohibido el transporte de alcohol metílico sin contar con los recipientes especialmente diseñados para ello. La cantidad máxima de almacenamiento de metanol en el lugar de trabajo es de 200 litros.

Las áreas donde se produce manipulación y almacenamiento de metanol deberán estar correctamente ventiladas para evitar la acumulación de vapores. Además los pisos serán impermeables, con la pendiente adecuada y con canales de escurrimiento. Si la iluminación es artificial deberá ser antiexplosiva, prefiriéndose la iluminación natural.

Para finalizar con las propiedades y características podemos decir que el metanol es un compuesto orgánico muy importante ya que el grupo hidroxilo se convierte con facilidad en cualquier otro grupo funcional. Así el metanol se oxida para obtener formaldehído (formol) y ácido fórmico; mientras que por su reducción obtenemos metano. Igualmente importantes son las reacciones de éter y esterificación. Alcohol Metílico, (en línea). Disponible en: <<http://www.qb.uson.mx/pissa/frames/hojas/alcohol%20metilico.pdf> .>

2.2.3 Estructura Química:

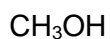
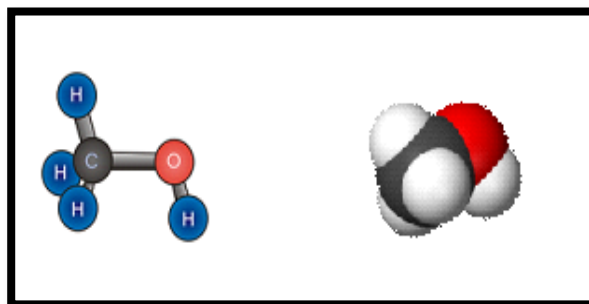


GRÁFICO Nº 1.2: Estructura Química



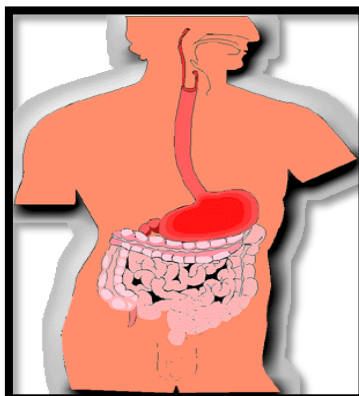
Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Metanol>

2.2.4 Toxicocinética

Entendemos por Toxicocinética el estudio cuantitativo de los procesos que se experimentan, en función del tiempo, un xenobiótico en un organismo vivo. Esta sustancia extraña al individuo considerado, sufre unos procesos de absorción, distribución, localización, metabolismo y excreción.

2.2.4.1 Cinética de Absorción:

GRÁFICO Nº 2.2: Absorción de Metanol



Fuente: <http://docentes.educacion.navarra.es/~metayosa/alcohol/alcohol.html>

Se define la absorción de un xenobiótico como su entrada en el torrente circulatorio, lo que es diferente de la aceptación vulgar de la palabra, que la hace sinónima de ingestión o inhalación. El alcohol metílico se absorbe por todas las vías (oral, dérmica y respiratoria), aunque la absorción por piel difícilmente pueda dar lugar a intoxicaciones agudas. Con frecuencia se plantea el problema bajo la forma de intoxicación crónica. Su carácter irritante genera frecuentes lesiones de entrada, muy típicas en la contaminación crónica por vía respiratoria.

- Piel
- Digestiva, más frecuente
- Pulmón
- Cerebro
- Humor acuoso

2.2.4.2 Cinética de Distribución:

Una vez que el xenobiótico está en la sangre, ésta lo transporta y distribuye por todos los tejidos corporales, de acuerdo con la irrigación de éstos y función de los coeficientes de reparto de la sustancia

Una vez absorbido se dirige al hígado donde sufre procesos de oxidación a una velocidad 7 veces menor comparada con las del alcohol etílico o etanol. La enzima responsable de su transformación es alcohol deshidrogenasa que lo oxida a formaldehído y éste a su vez es oxidado a ácido fórmico por el aldehído deshidrogenasa.

El metanol se distribuye rápidamente en los tejidos de acuerdo al contenido acuoso de los mismos. El volumen de distribución es de 0.6 l/Kg de peso. La mayor parte del metanol circula en el agua plasmática.

✓ **Intoxicación Aguda**

La vía más frecuente de absorción en una intoxicación aguda es la digestiva. La dosis letal varía entre 20 y 100 ml aunque algunos autores informan dosis letales de 240 ml. La muerte por metanol va siempre precedida de ceguera. Se sabe que incluso 15 ml de metanol han causado ceguera y el responsable de ello es el formaldehído. De acuerdo a la dosis absorbida, las formas de presentación son las siguientes:

Forma leve: sensación nauseosa, molestias epigástricas y cefaleas. Si el tiempo de absorción es de algunas horas se presenta visión borrosa

Forma moderada: se producen vómitos. Hay taquicardia y depresión del sistema nervioso central. Si se produce el cuadro de embriaguez, es poco intenso y corto en su duración. La piel está fría y sudorosa, la visión es borrosa y hay taquipnea.

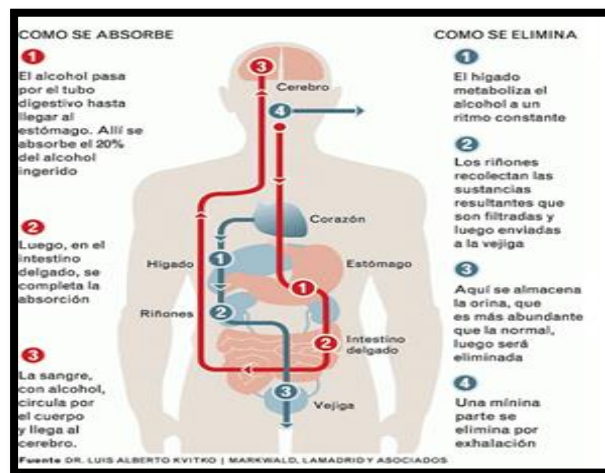
Forma grave: el paciente está en coma y presenta acidosis metabólica. La respiración es superficial y rápida. Las dificultades para respirar pueden llegar al edema agudo de pulmón. La orina y el aliento huele a formaldehído. Se presenta edema cerebral; coma y a veces convulsiones. Las intoxicaciones graves presentan insuficiencia renal aguda.

✓ **Intoxicación Crónica**

La exposición crónica al metanol, fundamentalmente por vía respiratoria, produce alteraciones mucosas en las vías respiratorias superiores y en la conjuntiva. Se favorecen extraordinariamente los procesos alérgicos respiratorios, que mejoran en cuanto se evita el contacto con la sustancia. Si la cantidad absorbida es suficientemente alta, pueden producirse trastornos de la visión que oscilan desde la pérdida de la agudeza visual hasta la ceguera. Metanol, (en línea). Disponible en: <<http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicología/.../metanol.html>>

2.2.4.3 Cinética de Metabolización

GRÁFICO Nº 2.3: Absorción y Eliminación del Metanol



Fuente:<http://docentes.educacion.navarra.es/~metayosa/alcohol/alcohol.html>

El metabolismo del metanol se produce de forma lenta, aunque mayoritaria, en el hígado (90-95%). Por orina se elimina un 12% y por pulmones el 3-5%.

Por acción de la alcohol deshidrogenasa se produce una oxidación, dando lugar a formaldehído que, rápidamente es transformado en ácido fórmico por aldehído deshidrogenasa.

2.2.4.4 Cinética de Eliminación:

Este concepto incluye todos los procesos que contribuyen a disminuir la concentración de los xenobióticos en el organismo.

Casi el 80% se metaboliza → eliminación

Casi el 10 al 20 % → no se metaboliza → eliminación por pulmones

Casi 3% → eliminación renal

La eliminación se realiza lentamente por vía respiratoria a través de los pulmones, pudiendo permanecer en el organismo hasta 4 días después de una dosis única. Alrededor de 3 a 5% se elimina sin metabolizar.

Estos procesos abarcan. La destrucción por biotransformación (fundamentalmente hepática) del toxico y su excreción por orina, heces, etc.

2.2.5 Toxicodinámica

La toxicidad del alcohol metílico viene determinada por la acumulación de sus dos metabolitos: formaldehído y ácido fórmico. El formaldehído es muy tóxico, pero su vida media es muy reducida, por lo que su toxicidad intrínseca no es importante. El ácido fórmico es un inhibidor de la citocromo-oxidasa mitocondrial; a dosis elevadas produce hipoxia histotóxica y es responsable de la acidosis metabólica y toxicidad ocular.

El efecto depresor del metanol sobre el SNC es similar al del etanol

✓ Clínica :

La dosis toxica del metanol es de 10-30 ml, siendo letal la ingesta de 60-240 ml. Los efectos clínicos tras la ingestión pueden aparecer en el curso de 40 min y hasta 72 h, aunque el periodo de latencia habitual se sitúa entre 12-25 h. La cantidad ingerida y el nivel de folatos que presente el sujeto son factores que condicionan el tiempo de aparición de los síntomas. Los síntomas originados por la intoxicación aguda se sitúan fundamentalmente en el SNC, ojos y tracto gastrointestinal.

✓ Sistema Nervioso Central:

En los casos leves o moderados la sintomatología se caracteriza por la aparición de la cefalea, vértigo, letargia y confusión, siendo los efectos

euforizantes del metanol menores que los producidos por el metanol. En las intoxicaciones graves aparecen cuadros convulsivos y coma.

✓ **Síntomas Oculares:**

Disminución de la agudeza visual, visión borrosa, fotofobia, dolor ocular y una sensación visual característica, denominada “paisaje nevado”, son los síntomas oculares habituales.

Además son comunes otros signos como la reducción del campo visual, midriasis y edema retiniano. La papilitis óptica y edema retiniano con ceguera subsiguiente se deben a la formación, a nivel de la retina, de formaldehído.

La instauración rápida de un tratamiento adecuado es fundamentalmente para la regresión de los síntomas, si bien en un 25% de los casos graves persiste la sintomatología a pesar de aplicar un tratamiento correcto.

✓ **Tracto Gastrointestinal:**

El alcohol metílico actúa como irritante mucoso, dando lugar a náuseas, vómito y dolor abdominal en el 50% de los casos. En estudios recientes se ha registrado la aparición de pancreatitis en dos casos estudiados. (BARRIOS, C, 2006).

2.2.6 Ventajas y Desventajas del Metanol

✓ **Ventajas del Metanol**

Las siguientes son algunas ventajas del metanol como combustible alternativo:

Produce menos contaminación ambiental que los combustibles fósiles.

Se pueden obtener a partir de materias y residuos renovables tales como pasto, bagazo de caña de azúcar, hojarasca, etc.

Su utilización no requiere una gran modificación de los vehículos de combustible fósil. Simplemente basta con cambiar las piezas plásticas del circuito de combustible.

✓ **Desventajas del Metanol**

El metanol tiene algunas desventajas que se intentan solucionar con la búsqueda de nuevas tecnologías. Pero, no obstante, éstas aún son muchas y le hacen perder puestos ante otros combustibles alternativos, a saber:

El metanol es muy tóxico y la exposición intensa puede producir graves problemas a la salud (esto repercute en los trabajadores de las fábricas de este combustible)

El metanol es corrosivo incluso para algunos metales como el aluminio. De ahí que haya que sustituir las piezas de plástico en los coches. Y por supuesto, hay que evitar el contacto con la piel.

Al ser tan tóxico su manejo en surtidores deben llevar más precaución y preparación por parte de los trabajadores. Ventajas y Desventajas, (en línea). Disponible en: <<http://www.enbuenasmanos.com/articulos/muestra.asp?art=2825>>

2.2.7 Síntomas

Las personas que sufren de alcoholismo o de abuso de alcohol con frecuencia:

- ✓ Siguen bebiendo, aun ven afectada la salud, el trabajo o la familia.
- ✓ Beben solas.
- ✓ Se vuelven violentas cuando beben.
- ✓ Se vuelven hostiles cuando se les pregunta por la bebida.
- ✓ No son capaces de controlar la bebida: son incapaces de suspender o reducir el consumo de alcohol.
- ✓ Inventan excusas para beber.

- ✓ Faltan al trabajo o al colegio o tienen una disminución en su desempeño debido a la bebida.
- ✓ Dejan de tomar parte en actividades debido al alcohol.
- ✓ Necesitan consumir alcohol la mayoría de los días para lograr pasar el día.
- ✓ Se descuidan para comer o no comen bien.
- ✓ No les importa o ignoran cómo están vestidos o si están limpios.
- ✓ Tratan de ocultar el consumo de alcohol.
- ✓ Tiemblan en las mañanas o después de períodos sin beber un trago.
- ✓ Los signos de la dependencia del alcohol abarcan:
- ✓ Lapsus de memoria (lagunas) después de beber compulsivamente.
- ✓ Una necesidad creciente de más y más alcohol para sentirse embriagado.
- ✓ Síntomas de abstinencia alcohólica cuando no se ha tomado un trago por un tiempo.

Farmacología, (en línea). Disponible en: http://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologiaespecifica/ToxAlim/ToxAlim_L22d.pdf

2.2.8 Tratamiento:

La rápida absorción del isopropanol (a los 30 min ya comienzan a parecer signos de depresión del SNC) determina la ineficiencia del lavado gástrico una vez superadas las 2 horas de la ingesta

Por otro lado, el carbón activado se muestra poco útil debido al escaso poder de adsorción sobre el isopropanol. No obstante, algunos autores, con los que coincidimos, recomiendan la administración de carbón activado junto con catárticos salinos.

Tanto la depresión respiratoria como la hipotensión indican una ingestión importante que requiere monitorización cuidadosa, tanto a nivel cardíaco como respiratorio, con vías venosas disponibles. La hemodiálisis está indicada en aquellos casos en la que la sintomatología es muy florida, o

bien cuando se sospecha ingestión de dosis letales o tóxicas de isopropanol. La diálisis peritoneal es poco eficaz. Los niveles de isopropanol pueden disminuir desde 440 mg/dl hasta 100 mg/dl con solo 5 horas de hemodiálisis, la vida media del isopropanol (8 -12 h) disminuye a 2-3 h gracias a la hemodiálisis. Etilismo, (en línea). Disponible en: <<http://www.dep19.san.gva.es/servicios/urgencias/files/protocolos/etilismo-final.pdf>>

2.2.9 Mecanismo de Acción:

El metanol produce acidosis metabólica por la producción de ácido fórmico. El ácido fórmico es aproximadamente 6 veces más tóxico que el metanol y se acumula por la lenta actividad de la vía dependiente de folato, además, inhibe la actividad citocromo P-450 en la mitocondria y aumenta esa inhibición de forma progresiva conforme el pH es más ácido. Esta inhibición explica la formación de ácido láctico en las intoxicaciones severas aumentando la acidosis.

El ácido fórmico atraviesa la barrera hematoencefálica, mientras que su forma disociada conocida como formato no la atraviesa. Por tal motivo la terapia alcalina agresiva es importante para mantener la mayoría del ácido fórmico disociado.

Uno de los órganos blanco del metanol es el ojo, y en él la retina, el disco óptico y el nervio óptico. La disfunción retiniana inducida por el metanol se puede producir aun en ausencia de acidosis metabólica. Parece que el ácido fórmico actúa como una toxina ocular directa y no indirecta a través de la producción de acidosis. La inhibición de complejo citocromo oxidasa aumenta con la disminución del pH y esto potencia el efecto tóxico del ácido fórmico sobre la célula. Toxicología Metanol, (en línea). Disponible en: <<http://www.fundacionbarcelo.com.ar/medicina/toxicologia%20medicina/Metanol%20y%20glicoles.pdf>>

2.2.10 Usos

- Fabricación de formaldehído, hormonas, pinturas, resinas de ésteres metílicos, productos farmacéuticos,
- Solvente en extracción de aceites animales y vegetales
- Alcohol de quemar madera (utilización doméstica).
- Como disolvente de lacas, barnices y pinturas.
- Como intermediario de síntesis en la fabricación de algunas materias plásticas y de algunos compuestos orgánicos (ésteres, formol, aldehídos), etc. Como anticongelante. Metanol, (en línea). Disponible en: <<http://es.wikipedia.org/wiki/Metanol>>

2.2.11 Transporte y distribución industrial

En todas las etapas del transporte y de la distribución, el metanol se debe almacenar con seguridad y manejar responsablemente. Esto reduce al mínimo el riesgo para la población y para el medio ambiente, y preserva la calidad del producto.

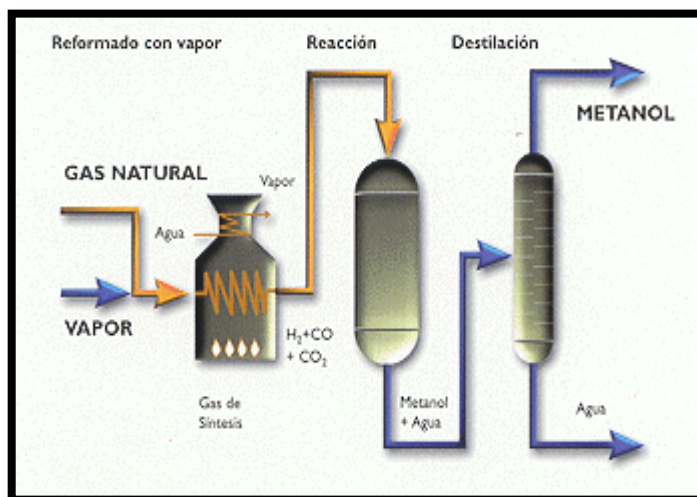
Los modos más comunes del transporte a granel del metanol por todo el mundo son por: navío, lancha a remolque, ferrocarril, camión y gasoductos. Al transferir o almacenar metanol, es preferible usar sistemas dedicados exclusivamente.

Los sistemas no dedicados deben lavarse con un chorro de agua y ser puestos a prueba antes de utilizarlos, para asegurar la integridad del producto.

El equipo se debe marcar claramente indicando que es sólo para el servicio del metanol. Cuando no esté en uso, el equipo debe protegerse contra la contaminación.

2.2.12 Obtención de metanol

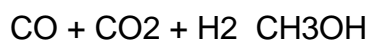
GRÁFICO Nº 2.4: Obtención del metanol



Fuente: <http://gustato.com/petróleo/metanol.html>

Originariamente se producía metanol por destilación destructiva de astillas de madera. Esta materia prima condujo a su nombre de alcohol de madera. Este proceso consiste en destilar la madera en ausencia de aire a unos 400 °C formándose gases combustibles (CO, C₂H₄, H₂), empleados en el calentamiento de las retortas; un destilado acuoso que se conoce como ácido piroleñoso y que contiene un 7-9% de ácido acético, 2-3% de metanol y un 0.5% de acetona; un alquitrán de madera, base para la preparación de antisépticos y desinfectantes; y carbón vegetal que queda como residuo en las retortas.

Actualmente, todo el metanol producido mundialmente se sintetiza mediante un proceso catalítico a partir de monóxido de carbono e hidrógeno. Esta reacción emplea altas temperaturas y presiones, y necesita reactores industriales grandes y complicados.



La reacción se produce a una temperatura de 300-400 °C y a una presión de 200-300 atm. Los catalizadores usados son ZnO o Cr_2O_3 .

El gas de síntesis ($\text{CO} + \text{H}_2$) se puede obtener de distintas formas. Los distintos procesos productivos se diferencian entre sí precisamente por este hecho. Actualmente el proceso más ampliamente usado para la obtención del gas de síntesis es a partir de la combustión parcial del gas natural en presencia de vapor de agua.

Gas Natural + Vapor de Agua $\text{CO} + \text{CO}_2 + \text{H}_2$

Sin embargo el gas de síntesis también se puede obtener a partir de la combustión parcial de mezclas de hidrocarburos líquidos o carbón, en presencia de agua.

Mezcla de Hidrocarburos Líquidos + Agua $\text{CO} + \text{CO}_2 + \text{H}_2$

Carbón + Agua $\text{CO} + \text{CO}_2 + \text{H}_2$

En el caso de que la materia prima sea el carbón, el gas de síntesis se puede obtener directamente bajo tierra. Se fracturan los pozos de carbón mediante explosivos, se encienden y se fuerzan aire 4 comprimido y agua. El carbón encendido genera calor y el carbono necesarios, y se produce gas de síntesis. Este proceso se conoce como proceso in situ. Este método no tiene una aplicación industrial difundida.

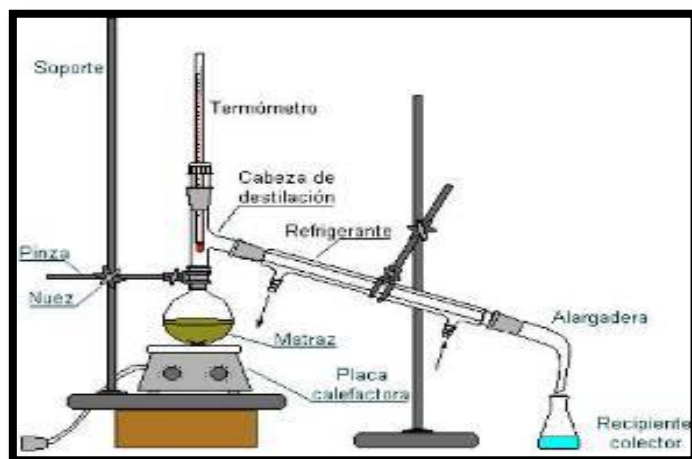
Los procesos industriales más ampliamente usados, usando cualquiera de las tres alimentaciones (gas natural, mezcla de hidrocarburos líquidos o carbón). Muestras para la Determinación del Metanol, (en línea). Disponible en:

<http://books.google.com.ec/books?id=tGifQZogzZ0C&pg=PA353&lpg=PA353&dq=muestras+para+la+determinacion+del+etanol+en+humor+vitreo&source=bl&ots=p2M8OboDD6&sig=kPs->>

2.2.13 Método de Extracción:

2.2.13.1 Destilación

GRÁFICO Nº2.5: Proceso de Destilación



Fuente: <http://www.quimicaorganica.net/destilacion.html>

Es un proceso que consiste en calentar un líquido hasta que sus componentes más volátiles pasan a la fase de vapor y, a continuación, enfriar el vapor para recuperar dichos componentes en forma líquida por medio de la condensación. El objetivo principal de la destilación es separar una mezcla de varios componentes aprovechando sus distintas volatilidades, o bien separar los materiales volátiles de los no volátiles. En la evaporación y en el secado, normalmente el objetivo es obtener el componente menos volátil; el componente más volátil, casi siempre agua, se desecha. Sin embargo, la finalidad principal de la destilación es obtener el componente más volátil en forma pura. Por ejemplo, la eliminación del agua de la glicerina evaporando el agua, se llama evaporación, pero la eliminación del agua del alcohol evaporando el alcohol se llama destilación, aunque se usan mecanismos similares en ambos casos.

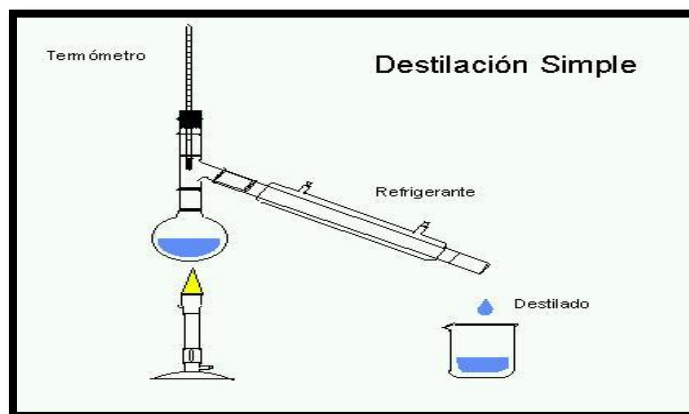
2.2.13.2 Tipos de Destilación

✓ Destilación Simple

Es el método que se usa para la separación de líquidos con punto de ebullición inferior a 150°C a presión atmosférica de impurezas no volátiles o de otros líquidos miscibles que presenten un punto de ebullición al menos 25°C superior al primero de ellos.

Es importante que la ebullición de la mezcla sea homogénea y no se produzcan proyecciones. Para evitar estas proyecciones suele introducirse en el interior del aparato de destilación nódulos de materia que no reaccione con los componentes. Normalmente se suelen utilizar pequeñas bolas de vidrio.

GRÁFICO Nº 2.6: Destilación Simple



Fuente: <http://www.taringa.net/posts/ciencia-educacion/11815464/Destilacion-fraccionada.htm>

✓ Destilación Fraccionada

La destilación fraccionada es un proceso de destilación de mezclas muy complejas y con componentes de similar volatilidad. Consiste en que una parte del destilado vuelve del condensador y gotea por una larga columna

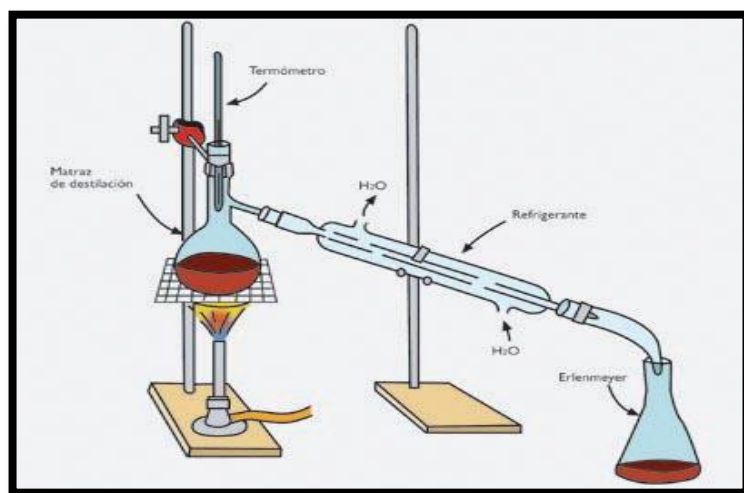
a una serie de placas, y que al mismo tiempo el vapor que se dirige al condensador hace burbujear al líquido de esas placas. De esta forma, el vapor y el líquido interaccionan de forma que parte del agua del vapor se condensan y parte del alcohol del líquido se evapora. Así pues, la interacción en cada placa es equivalente a una redestilación, y si se construye una columna con el suficiente número de placas, se puede obtener un producto destilado de altísima pureza, como el alcohol de 96%; en una única destilación. Además, introduciendo gradualmente la disolución original de baja concentración del componente a destilar en un punto en mitad de la columna, se podrá separar prácticamente todo este componente del disolvente mientras desciende hasta la placa inferior, de forma que no se desperdicie nada del componente a destilar.

Este proceso se utiliza mucho en la industria, no sólo para mezclas simples de dos componentes, como alcohol y agua en los productos de fermentación, u oxígeno y nitrógeno en el aire líquido, sino también para mezclas más complejas como las que se encuentran en el alquitrán de hulla y en el petróleo. La columna fraccionadora que se usa con más frecuencia es la llamada torre de burbujeo, en la que las placas están dispuestas horizontalmente, separadas unos centímetros, y los vapores ascendentes suben por unas cápsulas de burbujeo a cada placa, donde burbujan a través del líquido. Las placas están escalonadas de forma que el líquido fluye de izquierda a derecha en una placa, luego cae a la placa de abajo y allí fluye de derecha a izquierda. La interacción entre el líquido y el vapor puede ser incompleta debido a que puede producirse espuma y arrastre de forma que parte del líquido sea transportado por el vapor a la placa superior. En este caso, pueden ser necesarias cinco placas para hacer el trabajo de cuatro placas teóricas, que realizan cuatro destilaciones. Un equivalente barato de la torre de burbujeo es la llamada columna apilada, en la que el líquido fluye hacia abajo sobre una pila de anillos de barro o trocitos de tuberías de vidrio.

La única desventaja de la destilación fraccionada es que una gran parte, aproximadamente el 50%, del destilado condensado debe volver a la parte superior de la torre y eventualmente debe hervirse otra vez, con lo cual hay que suministrar más energía en forma de calor. Por otra parte, el funcionamiento continuo permite grandes ahorros de calor, porque el destilado que sale puede ser utilizado para precalentar la mezcla que entra.

Se usa para separar componentes líquidos que difieren de en menos de 25° en su punto de ebullición. Cada uno de los componentes separados se les denomina fracciones. Al calentar la mezcla el vapor se va enriqueciendo en el componente más volátil, conforme asciende en la columna.

GRÁFICO Nº 2.7: Destilación Fraccionada



Fuente:<http://www.taringa.net/posts/ciencia-educacion/11815464/Destilacion-fraccionada.html>

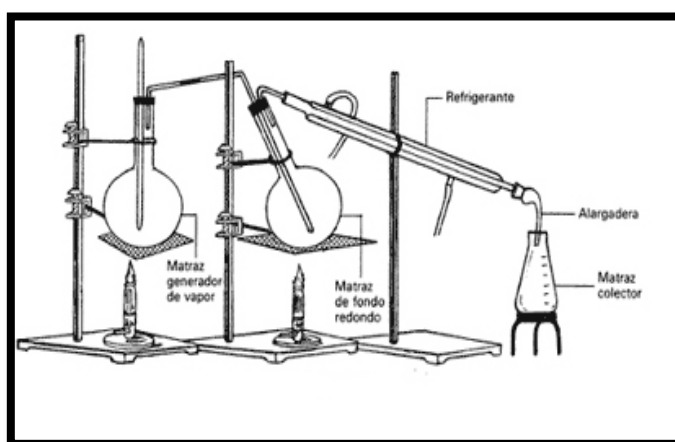
✓ Destilación por Vapor

Si dos líquidos insolubles se calientan, ninguno de los dos es afectado por la presencia del otro (mientras se les remueva para que el líquido más ligero no forme una capa impenetrable sobre el más pesado) y se evaporan en un grado determinado solamente por su propia volatilidad. Por lo tanto,

dicha mezcla siempre hierve a una temperatura menor que la de cada componente por separado.

El porcentaje de cada componente en el vapor sólo depende de su presión de vapor a esa temperatura. Este principio puede aplicarse a sustancias que podrían verse perjudicadas por el exceso de calor si fueran destiladas en la forma habitual.

GRÁFICO Nº 2.8: Destilación Vapor



Fuente: <http://neetescuela.com/destilación/>

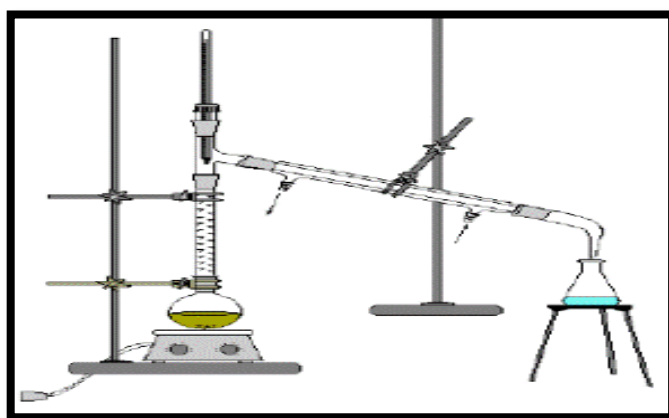
➤ Destilación al Vacío

Otro método para destilar sustancias a temperaturas por debajo de su punto normal de ebullición es evacuar parcialmente el alambique. Por ejemplo, la anilina puede ser destilada a 100 °C extrayendo el 93% del aire del alambique. Este método es tan efectivo como la destilación por vapor, pero más caro. Cuanto mayor es el grado de vacío, menor es la temperatura de destilación. Si la destilación se efectúa en un vacío prácticamente perfecto, el proceso se llama destilación molecular. Este proceso se usa normalmente en la industria para purificar vitaminas y otros productos inestables. Se coloca la sustancia en una placa dentro de un espacio evacuado y se calienta. El condensador es una placa fría, colocada tan

cerca de la primera como sea posible. La mayoría del material pasa por el espacio entre las dos placas, y por lo tanto se pierde muy poco.

Permite destilar líquidos a temperaturas más bajas que en el la destilación fraccionada debido que la presión es menor que la atmosférica con lo que se evita en muchos casos la descomposición térmica de los materiales que se manipulan.

GRÁFICO Nº 2.9: Destilación Vacío



Fuente: <http://neetescola.com/destilacion/>

➤ Destilación Molecular Centrifuga

Si una columna larga que contiene una mezcla de gases se cierra herméticamente y se coloca en posición vertical, se produce una separación parcial de los gases como resultado de la gravedad. En una centrifugadora de alta velocidad, o en un instrumento llamado vórtice, las fuerzas que separan los componentes más ligeros de los más pesados son miles de veces mayores que las de la gravedad, haciendo la separación más eficaz.

Por ejemplo, la separación del hexafluoruro de uranio gaseoso, UF_6 , en moléculas que contienen dos isótopos diferentes del uranio, uranio 235 y

uranio 238, puede ser llevada a cabo por medio de la destilación molecular centrífuga.

GRÁFICO Nº 2.10: Destilación Molecular Centrífuga



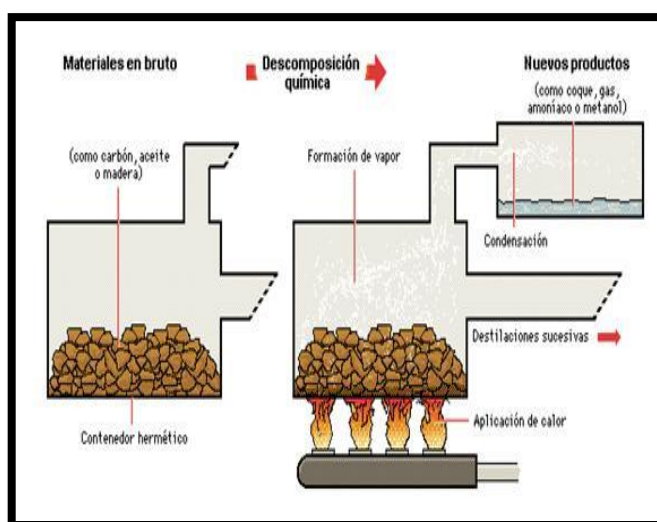
Fuente:<http://www.livebinders.com/play/play?Id=10909>

➤ Destilación Destructiva

Cuando se calienta una sustancia a una temperatura elevada, descomponiéndose en varios productos valiosos, y esos productos se separan por fraccionamiento en la misma operación, el proceso se llama destilación destructiva. Las aplicaciones más importantes de este proceso son la destilación destructiva del carbón para el coque, el alquitrán, el gas ciudad y el amoníaco, y la destilación destructiva de la madera para el carbón de leña, el ácido etanóico, la propanón y el metanol. Este último proceso ha sido ampliamente desplazado por procedimientos sintéticos para fabricar distintos subproductos. El craqueo del petróleo es similar a la destilación destructiva. Destilación, (en línea). Disponible en:

<http://www.bedri.es/Comer_y.../La_destilacion.htm >

GRÁFICO Nº 2.11: Destilación Destructiva



Fuente: <http://operaciones-unitarias-1.wikispaces.com/Tipos+de+Destilacion>

2.2.14 Cromatografía

La cromatografía es uno de los principales métodos para la separación de especies químicas estrechamente relacionadas en mezclas complejas. La cromatografía es un método físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil.

En todas las separaciones cromatográfica la muestra se disuelve en una fase móvil, que puede ser un gas un líquido o un fluido súper crítico. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria inmiscible, la cual se mantienen fija en una columna o sobre una superficie sólida. Las fases se eligen de tal forma que los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son retenidos con más fuerza por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo; por el contrario los

componentes que unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas discriminadas que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente.

De acuerdo con el mecanismo que produce la separación, se puede hablar de distintos tipos de cromatografía:

➤ **Cromatografía de Reparto:**

La fase estacionaria suele ser mantenida fija mediante un soporte inerte poroso (papel o celulosa). La fase móvil suele ser una mezcla de disolventes medianamente miscibles con el agua. Cuanto más soluble en agua sea la sustancia, más retenida y retrasada quedará en el desarrollo cromatográfico.

➤ **Cromatografía de Adsorción:**

La fase estacionaria retiene con más o menos poder a las sustancias a cromatografía por un fenómeno de adsorción en superficie. Para ello se utiliza alúmina, gel de sílice, etc. La cromatografía de afinidad es un tipo de cromatografía de adsorción en la que la fase estacionaria tiene afinidad biológica por la sustancia que se quiere separar. Se utilizan así parejas antígeno-anticuerpo, enzima-inhibidor, etc. En la cromatografía de intercambio iónico, la fase estacionaria retiene a las sustancias por su carga iónica. Las sustancias con carga opuesta a la de la resina quedarán retenidas en la fase estacionaria, mientras que las de la misma carga que la resina serán arrastradas por la fase móvil. Las sustancias que quedan unidas a la resina pueden eluirse cambiando las condiciones de la fase móvil (variando el pH, la fuerza iónica, etc.). Este tipo de cromatografía se hace sólo en columna y los soportes utilizados son polímeros tales como celulosa o poliestireno, carboxilados o poliaminados, etc.

De acuerdo con el soporte físico sobre el que se realiza la separación, se puede hablar de dos tipos de cromatografía:

➤ **Cromatografía en Capa Fina:**

La fase estacionaria se extiende sobre una placa como por ejemplo la cromatografía de capa fina.

➤ **Cromatografía en Columna:**

La fase estacionaria se empaqueta en una columna como por ejemplo la cromatografía de gases. Cromatografía, (en línea). Disponible en:

Fuente: <<http://www.S//investigacion/cromatografia/cromatografia>>

2.2.15 Cromatografía de Gases

GRÁFICO Nº 2.12: Equipo Cromatográfico de Gases



Fuente: http://es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ada_de_gases

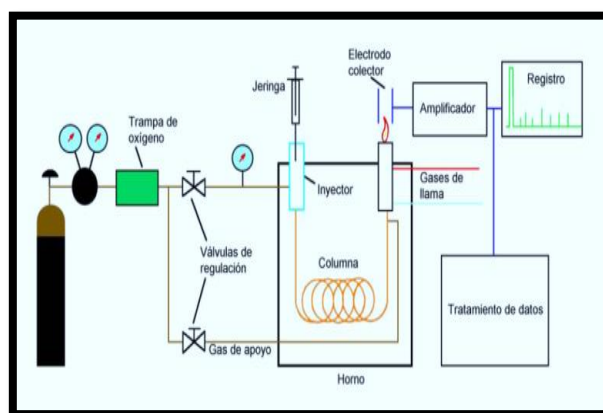
La cromatografía de gases es una técnica cromatográfica en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna

cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte. A diferencia de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interactúa con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna.

Existen dos tipos de cromatografía de gases (GC): la cromatografía gas-sólido (GSC) y la cromatografía gas-líquido (GLC), siendo esta última la que se utiliza más ampliamente, y que se puede llamar simplemente cromatografía de gases (GC). En la GSC la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos en ella se produce mediante el proceso de adsorción. Precisamente este proceso de adsorción, que no es lineal, es el que ha provocado que este tipo de cromatografía tenga aplicación limitada, ya que la retención del analito sobre la superficie es semipermanente y se obtienen picos de elución con colas. Su única aplicación es la separación de especies gaseosas de bajo peso molecular. La GLC utiliza como fase estacionaria moléculas de líquido inmovilizadas sobre la superficie de un sólido inerte.

La GC se lleva a cabo en un cromatógrafo de líquidos. Éste consta de diversos componentes como el gas portador, el sistema de inyección de muestra, la columna (generalmente dentro de un horno), y el detector.

GRÁFICO Nº 2.13: Esquema de un Cromatógrafo de Gases



Fuente:http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf

2.2.15.1 Gas Portador

El gas portador cumple básicamente dos propósitos: Transportar los componentes de la muestra, y crear una matriz adecuada para el detector. Un gas portador debe reunir ciertas condiciones:

- Debe ser inerte para evitar interacciones (tanto con la muestra como con la fase estacionaria)
- Debe ser capaz de minimizar la difusión gaseosa
- Fácilmente disponible y puro
- Económico
- Adecuado al detector a utilizar

El gas portador debe ser un gas inerte, para prevenir su reacción con el analito o la columna. Generalmente se emplean gases como el helio, argón, nitrógeno, hidrógeno o dióxido de carbono, y la elección de este gas en ocasiones depende del tipo de detector empleado. El almacenaje del gas puede ser en balas normales o empleando un generador, especialmente en el caso del nitrógeno y del hidrógeno. Luego tenemos un sistema de manómetros y reguladores de flujo para garantizar un flujo estable y un sistema de deshidratación del gas, como puede ser un tamiz molecular.

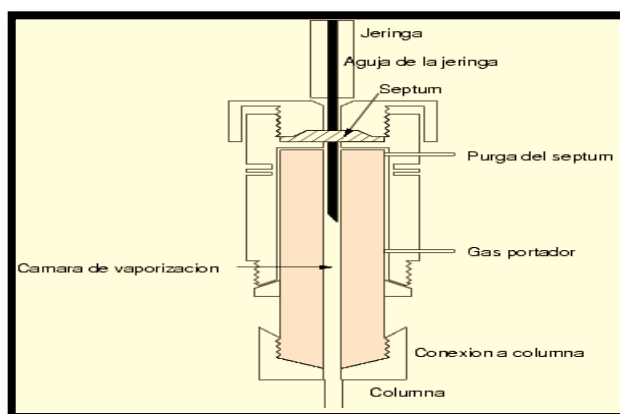
Las presiones de entrada varían entre 10 y 25 psi, lo que da lugar a caudales de 25 a 150 ml/min en columnas de relleno y de 1 a 25 ml/min en columnas capilares. Para comprobar el caudal se puede utilizar un rotámetro o un simple medidor de pompas de jabón, el cual da una medida muy exacta del caudal volumétrico que entra a la columna.

La pureza de los gases es sumamente importante, se requieren niveles 4.5 o mayores es decir 99.995 % de pureza. Sin embargo, debido al cuidado que se debe tener con la fase activa de la columna, se hace completamente necesario la instalación de trampas a la entrada del Gas carrier, estas

trampas obviamente tienen una capacidad limitada, pero son importantísimas al momento de usar el Cromatógrafo.

2.2.15.2 Sistemas de Introducción de Muestras

GRÁFICO Nº 2.14: Inyector de Muestra para un Cromatógrafo de Gases



Fuente: http://es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ada_de_gases

En esencia, los dispositivos de inyección de muestras para cromatografía de gases tienen la misión de vaporizar la muestra a analizar e incorporarla a la corriente de gas portador que se dirige hacia la columna. La vaporización e introducción de las muestras en el sistema, debe realizarse cumpliendo una serie de requisitos:

- 1.- La vaporización de la muestra debe ser lo más rápida posible.
- 2.- La vaporización debe realizarse sin discriminar ningún componente de la muestra.
- 3.- La muestra debe llegar a la columna como una banda lo más fina posible.

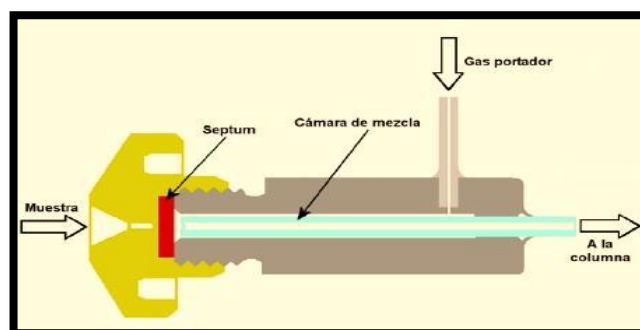
➤ Inyectores para Columnas Empaquetadas

La inyección de muestras en columnas empaquetadas no presenta

problemas particulares; este tipo de columnas admiten cantidades de muestra relativamente elevadas, y la inyección de unos cuantos microlitros de muestra no conduce a una merma apreciable de la eficacia de la columna.

La mayoría de los cromatógrafo comerciales utilizan cámaras de inyección termostatzada.

GRÁFICO Nº 2.15: Esquema de un Inyector para Columnas Empaquetadas



Fuente:http://www.mcn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf

Básicamente, un inyector está formado por un bloque metálico, buen conductor del calor, provisto de un sistema de calentamiento, un termostato capaz de mantener su temperatura constante y un aislamiento térmico adecuado; en el interior de este horno, se encuentra alojado el sistema de inyección. En éste, el gas portador, previamente calentado, pasa de forma continua por el sistema; la muestra es inyectada en el interior de la cámara, por medio de una microjeringa de precisión, a través de un diafragma perforable (septum) con capacidad de autosellado en el momento en que se retira la aguja; una vez inyectada la muestra, ésta es vaporizada de forma instantánea, mezclándose con el gas portador en una cámara de mezcla ("liner") construida de un material lo más inerte posible (acero inoxidable, níquel, vidrio o cuarzo). La muestra, una vez vaporizada, es arrastrada rápidamente por la corriente de gas portador en dirección a la columna.

El diseño de la cámara de inyección debe ser estudiado minuciosamente. El volumen de la cámara ha de estar proporcionado con el tipo de columna a utilizar para evitar mezclas incompletas o bandas de muestra excesivamente anchas; en lo posible, es preciso evitar la formación de turbulencias en el paso de la cámara de inyección a la columna; se ha de evitar cuidadosamente la existencia de volúmenes muertos, no barridos por la corriente de gas portador, dentro de la cámara para evitar deformaciones de la banda de muestra; el volumen existente entre la cámara de inyección y la columna debe ser el menor posible para evitar ensanchamientos de banda; la temperatura ha de ser homogénea en toda la cámara de inyección para evitar la discriminación de alguno de los componentes de la muestra, etc.

El sistema de inyección de un cromatógrafo es un punto extremadamente crítico, y la utilización de una técnica de inyección inadecuada o una mala elección del sistema de inyección pueden echar a perder completamente la capacidad de separación de una columna.

Existen algunos tipos de inyectoros que permiten utilizar uno de los extremos de la columna cromatográfica como cámara de mezcla. La introducción de la muestra por medio de este tipo de inyectoros (inyección en columna), está libre de muchos de los problemas mencionados anteriormente, además de ofrecer ventajas adicionales tales como permitir la utilización de temperaturas más bajas para la vaporización.

➤ **Inyectoros para Columnas Capilares**

Los sistemas de introducción de muestras utilizados para trabajar con columnas capilares, están basados sobre los mismos principios de los inyectoros utilizados para columnas empaquetadas, por lo que las consideraciones generales sobre ellos siguen siendo válidas.

La diferencia fundamental entre los sistemas que utilizan columnas

empaquetadas y los que utilizan columnas capilares, radica en que la cantidad de muestra que estas últimas pueden separar es mucho menor que en el primer caso; por otra parte, las columnas capilares son muy afectadas por los disolventes, de forma que los volúmenes que se pueden inyectar en ellas son extremadamente bajos.

Dado que no existen jeringas capaces de medir con precisión volúmenes inferiores a 0,1 μl , los inyectores utilizados para trabajar con este tipo de columnas, además vaporizar la muestra y mezclarla con el gas portador, deberán ser capaces de introducir en la columna sólo una alícuota de la muestra total inyectada. Existen muchas más técnicas de inyección para columnas capilares que para columnas empaquetadas, y de entre ellas, se comentarán a continuación algunas de las más utilizadas.

➤ **Inyección con División de Muestra**

Este tipo de inyección (más conocida como inyección “split”), es el más sencillo de los que se utilizan en cromatografía capilar. El inyector de “split”, consta básicamente de los mismos elementos que un inyector normal, con la única adición de un sistema de división de flujo a la salida de la cámara de mezcla. Por medio de este tipo de inyector, el flujo de gas portador que pasa a través del inyector (y por lo tanto también la muestra vaporizada), se divide en dos; una parte es introducida en la columna y la otra escapa fuera del sistema a través de una válvula de aguja que permite regular la proporción de gas que es introducido en la columna.

Dado que en este tipo de inyectores la mayor parte del caudal del gas portador se dirige hacia la atmósfera, la válvula de “split” dispone de un sistema de apertura y cierre automáticos para que únicamente permita la salida de gas hacia la atmósfera durante el proceso de inyección.

El control del flujo de gas portador que pasa a través de la columna, se realiza en este tipo de sistemas manteniendo constante la presión en la

cámara de inyección, lo que permite que el caudal de gas que pasa a través del inyector pueda variar en función de que la válvula de “split” esté abierta o cerrada.

➤ **Inyección en Columna**

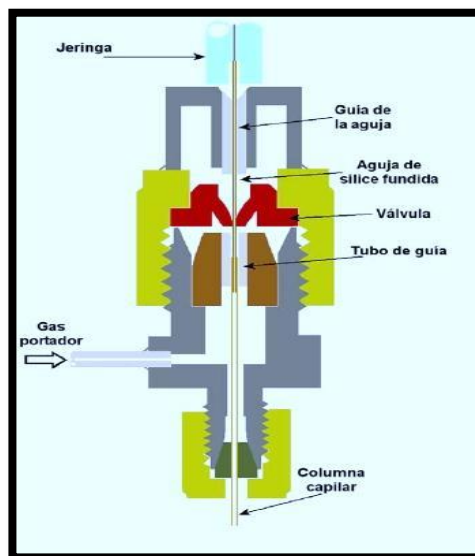
Ya se ha comentado que uno de los principales problemas de los sistemas de inyección utilizados con columnas capilares, es la posibilidad de discriminación entre los componentes de la muestra durante los procesos de vaporización de la muestra y paso de la muestra vaporizada a la columna. Evidentemente, la única forma de asegurarse de que la muestra que alcanza la columna se corresponde al 100 % con la muestra inyectada, es realizar la inyección directamente en la columna.

Los sistemas de inyección en columna (normalmente conocidos por su nombre inglés de (“on-column”), han sido diseñados para posibilitar la introducción de muestras directamente en el interior de columnas capilares.

Es evidente que la introducción de una muestra por medio de una jeringa directamente en el interior de una columna capilar (de 0,23 mm de diámetro interno), requiere la utilización de agujas extremadamente finas (suelen utilizarse agujas de sílice fundida de 0,15 mm de diámetro) que, en consecuencia, son incapaces de perforar un septum; la característica básica de un inyector “on-column”, es la utilización de un sistema de válvulas y tubos de guía que permitan la introducción en el sistema de una aguja extremadamente fina.

GRÁFICO Nº 2.16: Esquema de un Inyector

ON-COLUMN



Fuente:http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf

Los sistemas de inyección en columna (normalmente conocidos por su nombre inglés de “on-column”), han sido diseñados para posibilitar la introducción de muestras directamente en el interior de columnas capilares. Es evidente que la introducción de una muestra por medio de una jeringa directamente en el interior de una columna capilar (de 0,23 mm de diámetro interno), requiere la utilización de agujas extremadamente finas (suelen utilizarse agujas de sílice fundida de 0,15 mm de diámetro) que, en consecuencia, son incapaces de perforar un septum; la característica básica de un inyector “on-column”, es la utilización de un sistema de válvulas y tubos de guía que permitan la introducción en el sistema de una aguja extremadamente fina.

2.2.15.3 Detectores

Una vez que los componentes de la muestra han sido separados por la columna, se hace preciso el disponer a la salida de ésta de un sistema de

detección, capaz de señalar la elución de un componente de la muestra y ofrecer, al mismo tiempo, una señal proporcional a la cantidad de sustancia que pasa a través de él.

Los detectores utilizados en cromatografía de gases son de tipo diferencial, no ofrecen señal cuando pasa por ellos solamente el gas portador y responden ante alguna propiedad que pueda variar cuando éste se encuentra mezclado con alguna sustancia eluida de la columna.

Las características de un detector ideal son:

- Sensibilidad: Es necesario que pueda determinar con precisión cuándo sale analito y cuando sale sólo el gas portador. Tienen sensibilidades entre 10^{-8} y 10^{-15} g/s de analito.
- Respuesta lineal al analito con un rango de varios órdenes de magnitud.
- Tiempo de respuesta corto, independiente del caudal de salida.
- Intervalo de temperatura de trabajo amplio, por ejemplo desde temperatura ambiente hasta unos 350-400 °C, temperaturas típicas trabajo.
- Estabilidad y reproducibilidad, es decir, a cantidades iguales de analito debe dar salidas de señal iguales.
- Alta fiabilidad y manejo sencillo, o a prueba de operadores inexpertos.
- Respuesta semejante para todos los analitos, o
- Respuesta selectiva y altamente predecible para un reducido número de analitos.

➤ Tipos de Detectores

Los detectores usados en cromatografía de gases, pueden dividirse de forma genérica en detectores universales y detectores específicos; los primeros ofrecen la ventaja de responder prácticamente ante cualquier

compuesto que pueda eluir de la columna, no obstante, esta misma propiedad puede convertirse en un serio inconveniente cuando se procede al análisis de mezclas muy complejas; en este último caso, la utilización de detectores específicos resulta muy ventajosa ya que, al responder únicamente frente a un grupo limitado de compuestos, los cronogramas que ofrecen resultan muy simplificados.

➤ **Detector de Conductividad Térmica**

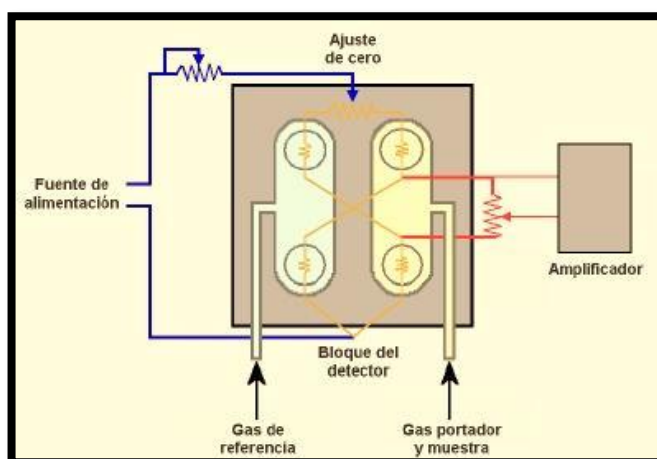
Uno de los primeros detectores utilizados para el trabajo de rutina en cromatografía de gases, ha sido el detector de conductividad térmica o detector de hilo caliente. Este tipo de detector responde a la diferencia de conductividad térmica existente entre el gas portador puro y el gas portador mezclado con alguna otra sustancia; la magnitud de la respuesta dependerá de la diferencia de conductividad térmica entre el compuesto que eluye de la columna y el gas portador.

En un detector de conductividad, el gas procedente de la columna pasa a través de una cavidad termostatzada que contiene el elemento sensor, un hilo de metal calentado o un termistor. Cuando pasa a través del detector gas portador puro, la pérdida de calor del sensor es función de la diferencia de temperatura entre éste y la pared de la cavidad y de la conductividad térmica del gas portador; cuando eluye una sustancia mezclada con el gas portador, la conductividad térmica varía, y como consecuencia se produce un cambio de temperatura en el sensor; el cambio de temperatura, se traduce en una variación de una señal eléctrica (resistencia o voltaje según sea el elemento sensor), que es convenientemente amplificada y registrada. Un esquema de un detector típico de conductividad térmica.

El detector de conductividad térmica es universal y no es destructivo; por lo general se utiliza para el análisis de gases permanentes, hidrocarburos ligeros y otros tipos de compuestos que ofrecen una respuesta pobre en

otros tipos de detectores. Su sensibilidad oscila entre 10^{-6} y 10^{-8} g, con un rango dinámico lineal de aproximadamente cuatro órdenes de magnitud.

GRÁFICO Nº 2.17: Esquema de un Detector de Conductividad Térmica



Fuente: http://www.mcn.csic.es/docs/repositorio/es_E

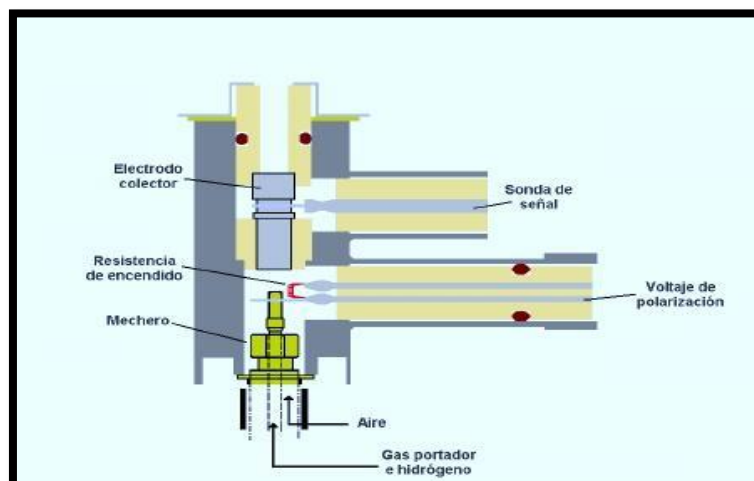
➤ Detector de Ionización de LLama

El detector de ionización de llama, es tal vez el más ampliamente utilizado en cromatografía de gases. Este tipo de detector es en la práctica de respuesta universal, ya que es selectivo hacia los compuestos que presenten enlaces C-H, por lo que son muy pocos los compuestos que no dan señal en él.

En un detector de ionización de llama, el gas procedente de la columna se mezcla con hidrógeno y esta mezcla se quema en una cámara con exceso de aire. Por encima de la llama, se dispone un colector cilíndrico polarizado con el fin de recoger los iones generados; sobre este dispositivo, se mide

la corriente iónica que se establece entre la punta del quemador y el electrodo colector.

GRÁFICO Nº 2.18: Sección de un Detector de Ionización de LLama



Fuente:http://www.mcn.csic.es/docs/repositorio//es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf

El mecanismo de generación de iones en este detector es complejo y no del todo conocido, ya que la energía de la llama es demasiado baja para explicar la generación de iones; generalmente, se cree que éstos son generados por medio de un proceso de ionización química, en el que la energía liberada por reacciones fuertemente exotérmicas es retenida por las moléculas orgánicas, generándose iones a partir de las moléculas excitadas.

Los detectores de ionización de llama ofrecen una elevada sensibilidad, gran estabilidad y un rango dinámico lineal excepcionalmente elevado.

➤ **Detector de Captura Electrónica**

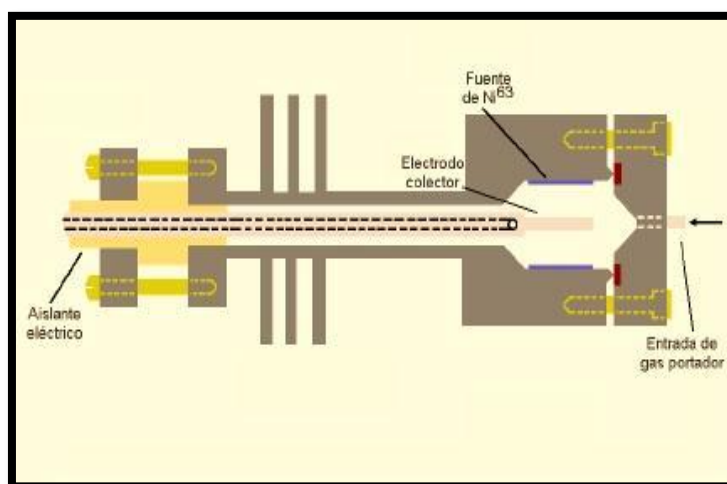
El detector de captura electrónica ocupa probablemente el segundo lugar entre los detectores de más alta utilización, debiéndose este hecho a su excepcional sensibilidad (el detector de captura electrónica es

probablemente el dispositivo analítico más sensible que se conoce). Este hecho junto a su selectividad hacia compuestos de enorme interés (fundamentalmente en los campos de medio ambiente y toxicología), hacen que sea enormemente utilizado para la detección y cuantificación de trazas.

En un detector de captura electrónica, se utiliza una fuente de radiación β - para bombardear el gas portador que pasa a través de una cámara de ionización, generándose de esta forma un plasma de iones positivos, radicales libres y electrones térmicos.

El detector de captura electrónica ofrece unas características muy buena tanto por su sensibilidad como por su especificidad, no obstante, hay que resaltar que el manejo de estos detectores no es sencillo, ya que su respuesta puede ser muy variable en función de las condiciones experimentales (potencial de polarización, temperatura, caudal de gas portador, etc.)

GRÁFICO Nº 2.19: Detector de Captura Electrónica



Fuente: <http://www.mcn.csic.es/docs/repositorio//es>

2.2.15.4 Columna Cromatográfica

Al igual que sucede en todas las técnicas cromatográficas, la columna es el corazón del cromatógrafo de gases. Es necesario tener siempre presente que la columna es el auténtico elemento de separación de los componentes de la muestra; así, una mala elección de la columna, una columna deteriorada o unas condiciones de trabajo inadecuadas, nunca permitirán obtener buenos resultados aunque se disponga del mejor equipo en el resto del cromatógrafo, siendo además las causas citadas las responsables de la inmensa mayor parte de los problemas que se encuentran a la hora de realizar un análisis por cromatografía de gases.

Una columna para cromatografía de gases, está formada por un tubo, que puede ser de diversos materiales (preferiblemente inertes), dentro del cual se encuentra la fase estacionaria.

➤ Columnas Empaquetadas

Las columnas empaquetadas consisten, como ya se ha mencionado, en un tubo (normalmente de vidrio o acero inoxidable) con un diámetro interno que varía entre 2 y 5 mm y de una longitud que oscila entre 1 y 15 m, arrollado de una forma adecuada para poderse introducir en el interior del horno del cromatógrafo.

En el interior del tubo, se dispone la fase estacionaria bajo la forma de un líquido soportado sobre un material adecuado finamente pulverizado; el diámetro de las partículas del relleno debe ser, al menos, 10 veces inferior al diámetro del tubo, con el fin de conseguir una buena uniformidad en su distribución.

GRÁFICO Nº 2.20: Columnas Empaquetadas para Cromatografía de Gases



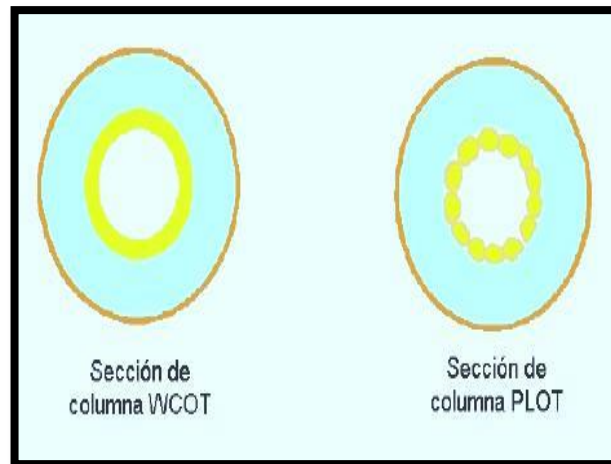
Fuente: http://www.mcn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf

➤ Columnas Tubulares Abiertas

Las columnas tubulares abiertas (conocidas normalmente como columnas capilares) fueron descritas inicialmente por Golay en 1957, y se encuentran entre las más ampliamente utilizadas debido a la gran eficacia de separación que proporcionan.

Básicamente, una columna tubular está formada por un tubo (normalmente de vidrio o sílice fundida) de un diámetro comprendido entre 0,2 y 0,8 mm, en cuya pared interna se dispone la fase estacionaria. Según sea la forma en que se dispone la fase estacionaria sobre la pared del tubo, se distinguen básicamente dos tipos de columnas:

GRÁFICO 2.21: Tipos de Columnas Tubulares Abiertas



Fuente:http://www.mcn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf

➤ Columnas WCOT (Wall Coated Open Tubular)

En este tipo de columnas (que son las de uso más frecuente), la fase estacionaria se encuentra depositada formando una película líquida directamente sobre las paredes del tubo.

➤ Columnas PLOT (Porous Layer Open Tubular)

En estas columnas la pared interna del tubo está recubierta por una capa de un soporte adsorbente; si a su vez el soporte está impregnado con una fase estacionaria líquida.

2.2.15.5 Soporte Sólido

La misión de los soportes sólidos utilizados en algunos tipos de columnas es la de proporcionar una superficie sobre la que se deposita la fase estacionaria líquida en forma de película uniforme.

Deben presentar una superficie específica relativamente elevada, con el fin

de que la fase estacionaria pueda distribuirse de manera uniforme y ofreciendo la máxima superficie de contacto con la fase móvil para facilitar los procesos de intercambio.

- Deben ser porosos, con el fin de no provocar caídas excesivas de presión
- Deben ser relativamente duros para que sus partículas no se rompan durante los procesos de impregnación y llenado de las columnas.
- Deben ser térmicamente estables.
- La superficie de los soportes debe ser químicamente inerte y no debe provocar fenómenos de adsorción que puedan influir en la separación cromatográfica.

Ninguno de los materiales probados hasta este momento cumple todas las condiciones expuestas por lo que, en la práctica, es necesario elegir de entre los soportes existentes el que mejor se adapte a cada separación concreta aunque sea a costa de sacrificar alguna de las propiedades deseables.

2.2.15.6 La Fase Estacionaria

La fase estacionaria tiene en cromatografía de gases un papel fundamental, ya que la fase móvil es cromatográficamente inerte y las separaciones son debidas exclusivamente a las interacciones específicas que se dan entre los componentes de la muestra y la fase estacionaria.

Como en casi todos los casos, las propiedades deseables de una fase estacionaria son con frecuencia contradictorias, por lo que no existe la fase estacionaria ideal. Las propiedades que debería cumplir una fase estacionaria son:

- Debería tener un rango de temperaturas de utilización lo más amplio posible (idealmente entre -60 y 400 EC).

- Debe tener una presión de vapor lo más baja posible.
- Debe ser térmicamente estable.
- Debe ser químicamente inerte.
- Debe tener baja viscosidad en las condiciones de trabajo.
- Debe mojar bien el soporte, presentando además una adherencia suficiente como para que no sea arrastrada por la fase móvil.

Además de cumplir estos requisitos generales, la fase estacionaria debe ser selectiva frente a los compuestos a separar. Evidentemente, no existe ninguna fase estacionaria que cumpla todos los requisitos anteriores, aunque para realizar separaciones a temperaturas elevadas, la utilización de polímeros “líquidos” de elevado peso molecular ofrece resultados bastante buenos.

➤ **Caracterización de las Fases Estacionarias**

Las características de mayor interés a la hora de seleccionar una fase estacionaria concreta son el rango de temperaturas de trabajo, la viscosidad de la fase dentro de este rango y su capacidad para interaccionar de forma selectiva con diferentes solutos.

Como norma general, la temperatura más baja de utilización de una fase estacionaria corresponde a su temperatura de fusión. El límite superior de temperatura de una fase estacionaria es la temperatura más elevada a la que puede mantenerse sin que se produzcan descomposiciones o sangrados significativos. Muchas fases estacionarias poliméricas presentan una dispersión importante en su rango de pesos moleculares, por lo que los oligómeros que puedan contener se evaporarán dejando la columna con una proporción de fase estacionaria mucho menor de lo previsto; en estos casos, la máxima temperatura de uso se define como aquella a la que se puede mantener la fase estacionaria durante 24 horas

sin cambios apreciables en las características de retención de la columna. Generalmente, en columnas comerciales, la fase estacionaria se presenta enlazada y entrecruzada para impedir su pérdida durante las operaciones de elución o lavado. De esta forma se obtiene una monocapa adherida químicamente a la superficie de la columna. La reacción implicada suele ser la adición de un peróxido al líquido a fijar, iniciándose una reacción por radicales libres que tenga como resultado la formación de un enlace carbono-carbono que además incrementa su estabilidad térmica. Otra forma es la irradiación con rayos gamma.

El grosor de la película varía entre 0,1 y 5 μm ; el grosor depende de la volatilidad del analito. Así, un analito muy volátil requerirá una capa gruesa para aumentar el tiempo de interacción y separar más efectivamente los diferentes componentes de la mezcla. Para columnas típicas (diámetros internos de 0,25 o 0,32 mm) se emplean grosores de 0,25 μm , y en las columnas macrocapilares el grosor sube hasta 1 μm . El grosor máximo suele ser de 8 μm .

➤ **Aplicaciones de la Técnica de Cromatografía de Gases**

La Cromatografía de Gases tiene dos importantes campos de aplicación. Por una parte su capacidad para separar mezclas orgánicas complejas, compuestos organometálicos y sistemas bioquímicos. Su otra aplicación es como método para determinar cuantitativa y cualitativamente los componentes de la muestra. Para el análisis cualitativo se suele emplear el tiempo de retención, que es único para cada compuesto dadas unas determinadas condiciones (mismo gas portador, rampa de temperatura y flujo), o el volumen de retención. En aplicaciones cuantitativas, integrando las áreas de cada compuesto o midiendo su altura, con los calibrados adecuados, se obtiene la concentración o cantidad presente de cada analito

➤ **Montaje de Técnicas**

El montaje de una técnica analítica de la cromatografía de gases es netamente empírica, el perfil de los analitos que se quiera determinar, la elección de la fase móvil, los tiempos de retención (elución) estarán dados exclusivamente por las condiciones particulares de la columna (fase estacionaria) frente al equipo. Las rampas de temperatura a seleccionar bien pueden isotérmicas o escalonadas.

La elección del gas dependerá del tipo de detector, la elección de la columna (fase estacionaria) dependerá de la polaridad de los compuestos a separar, el detector dependerá del tipo de compuestos a detectar.

Usualmente una técnica analítica de GC consumirá muchas horas de un cromatografista en ser desarrollada e instalada por el método del ensayo y error antes de ser validada como real.

La elección de los estándares es fundamental en el desarrollo de la técnica. La estabilización de la línea base de la fase móvil en la fase estacionaria (posterior al frente del solvente) a través del tiempo es fundamental para establecer un método. Una línea de base (solvente) poco estable o irregular que cambia de intensidad frente al detector a medida que eluye debe ser afinada y estabilizada antes de introducir los analitos.

Los parámetros del rango de temperatura del horno, la adecuada elección de la columna y su fase estacionaria (incluye, tipo, largo y diámetro), la elección adecuada del tipo de detector, las temperaturas del detector e inyector, los volúmenes de analito, deberán ser establecidas de modo tal que se obtenga la mayor eficacia en separar los analitos, y con la mejor resolución posible. La pureza de la muestra dependerá de la preparación previa de la misma.

La Cromatografía de gases es una metodología altamente efectiva. Una derivación de esta técnica es la Cromatografía HPLC que funciona en base a la afinidad del analito por la fase móvil líquida en vez de gaseosa.

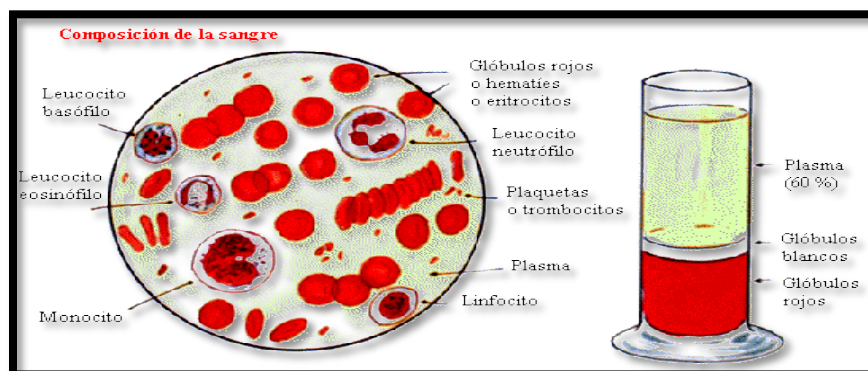
La sensibilidad de la técnica de cromatografía de gases puede incluso detectar microgramos del analito si está bien montada. La cuantificación se basa en cálculos del área bajo la curva que es proporcional a la concentración del analito. Comúnmente se usa en estándar interno de trabajo. Cromatografía, (en línea). Disponible en:

<http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf>

2.2.16 Muestras para la Determinación de Alcohol Metílico:

➤ Sangre:

GRÁFICO Nº 2.22: Composición de la Sangre



Fuente: <http://donantesalmeria.wordpress.com/requisitos-para-donar>

En general se trabaja con sangre de pacientes intoxicados con metanol o bien con sangre cadavérica de personas fallecidas por intoxicación metanólica. El método se puede aplicar también tanto a otros fluidos biológicos como a homogenatos de vísceras.

No se debe usar alcohol como antiséptico, se recomienda cloruro mercúrico al 0,5%. Usar fluoruro de sodio 1% como anticoagulante para inhibir el

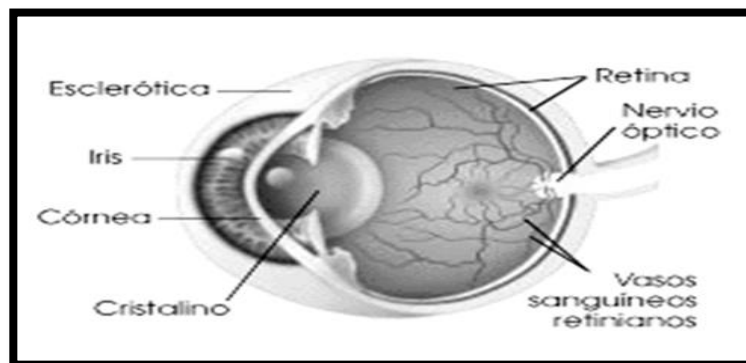
desarrollo microbiano dado que al inhibir la glicólisis se evita la formación de sustancias oxidantes que podrían actuar sobre el metanol. Tampoco debe usar EDTA ni heparina. Transvasar a un tubo plástico, llenar completamente el tubo y cerrar. Conservar en heladera (4°C).

➤ **Humor Vítreo:**

El humor vítreo (gel vítreo) es una estructura gelatinosa que se mantiene unida por una fina red fibrilar (tejido intraocular) compuesta fundamentalmente por largas moléculas de proteoglicano. El colágeno representa tan solo el 0,01 % del volumen; el 99 % es agua.

Con el envejecimiento normal, o por alguna patología, el humor vítreo se licúa, formándose masas o filamentos de gel compactado, siendo de utilidad para los fines toxicológicos. (MONCAYO, M, 2010).

GRÁFICO Nº 2.23: Anatomía del Ojo



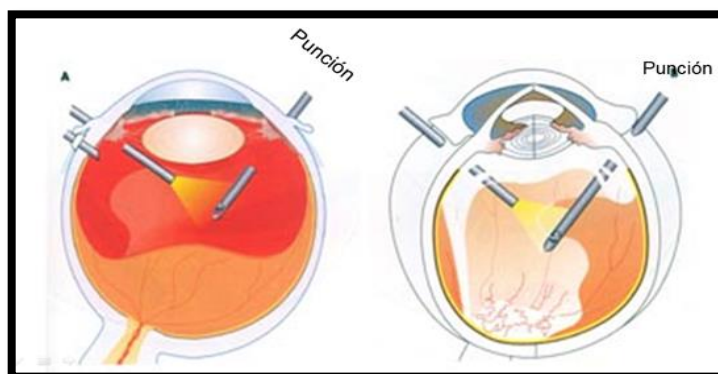
Fuente: Partido Judicial del Estado de Baja California, Médico-Toxicólogo Forense-Benjamín Vargas

2.2.17 Obtención de la Muestra para Análisis de Humor Vítreo.

La muestra se toma resecaando completamente el globo ocular o bien a través de una punción con ajuga o jeringa, aunque cabe indicar que muchas veces se remite humor acuoso y no humor vítreo, ya que la densidad de este último hace dificultosa

la extracción. Colocar en viales de capacidad adecuada, sellar, rotular y colocarlo en refrigeración hasta su ingreso a laboratorio. (VALLEJOS, M, 1986).

GRÁFICO Nº 2.24: Extracción Mediante Punción



Fuente: Partido Judicial del Estado de Baja California, Médico-Toxicólogo Forense-Benjamín Vargas

2.2.18 Cadena de Custodia

GRÁFICO Nº 2.25: Cadena de Custodia



Fuente;<http://travesiametodologica.blogspot.com/2012/07/1a-cadena-de-custodia.html>

La cadena de custodia es el procedimiento de control que se emplea para los indicios materiales afines al delito, desde su ubicación, hasta que son valorados por los diferentes funcionarios encargados de su análisis, normalmente peritos, y que tiene como finalidad no viciar el manejo que de ellos se haga, y así evitar la contaminación, alteración, daños, reemplazos, contaminación o destrucción. Desde la ubicación, fijación, recolección, embalaje y traslado de la evidencia en la escena del siniestro, hasta la presentación al debate, la cadena de custodia debe garantizar que el procedimiento empleado ha sido exitoso, y que la evidencia que se recolectó en la escena, es la misma que se está presentando ante el tribunal, o el analizado en el respectivo dictamen pericial.

Al recolectar las pruebas, lo importante es el significado, el valor que va a tener en el proceso de investigación y por medio de la cadena de custodia, este valor va a ser relevante, debido a que no se va a poder impugnar, al haberse acatado el procedimiento.

El procedimiento que se debe seguir en cuanto a la evidencia en la escena, y en todo proceso de investigación, es el siguiente:

- ✓ Recolección adecuada de los indicios.
- ✓ Conservación adecuada de los indicios.
- ✓ Entrega fiscalizada.

Los elementos básicos que componen una cadena de custodia son:

- ✓ Identificación física y marcada de los materiales certificados.
- ✓ Separación estricta de materiales certificados y no certificados.
- ✓ Sistema de garantía del origen en cada etapa de producción.
- ✓ Documentación y registros de control.
- ✓ Sistema de procesado y mantenimiento de la información.
- ✓ Identificación del producto final certificado.
- ✓ Formación de los trabajadores.

➤ **La Cadena de Custodia de la Prueba**

Se define como el procedimiento controlado que se aplica a los indicios materiales relacionados con el delito, desde su localización hasta su valoración por los encargados de su análisis, normalmente peritos, y que tiene como fin no viciar el manejo de que ellos se haga y así evitar alteraciones, sustituciones, contaminaciones o destrucciones.

➤ **Las Etapas de la Cadena de Custodia son las Siguietes:**

1. Extracción o recolección de la prueba.
2. Preservación y embalaje de la prueba.
3. Transporte o traslado de la prueba.
4. Traspaso de la misma, ya sea a los laboratorios para su análisis, o a las diferentes fiscalías para su custodia.
5. Custodia y preservación final hasta que se realice el debate. (Investigación Policial, Tomo III).

➤ **Principios de la Cadena de Custodia**

1. Es el sistema que garantiza la autenticidad e integridad de los Elementos Materiales Probatorios recolectados y examinados.
2. Está conformada por los funcionarios y personas bajo cuya responsabilidad se encuentren los elementos probatorios respectivos, durante las diferentes etapas del proceso penal. Por consiguiente, todo funcionario que reciba, genere o analice muestras o elementos probatorios y documentos forma parte de esta cadena.
3. Se inicia con la observación general de la escena, continua con la protección de la misma, la fijación, recolección, embalaje y rotulado de los Elementos Materiales Probatorios, desde el mismo momento en que se

conoce la conducta presuntamente delictiva, en la diligencia de inspección al cadáver o inspección judicial y finaliza con la entrega del informe pericial a la autoridad solicitante y la sustentación del mismo en el juicio oral ante el Juez de Conocimiento, por parte del perito y los diferentes funcionarios judiciales que en ella intervinieron.

4. Los procedimientos de Custodia deben aplicarse a todo Elemento Material Probatorio, sea este un cadáver, un documento o cualquier otro elemento. Esta misma protección y vigilancia debe ejercerse de manera idéntica sobre formatos, informes u oficios que acompañen este material.

5. Es responsabilidad de todo funcionario que participa en el proceso de Cadena de Custodia, conocer y ejecutar los procedimientos generales y específicos establecidos para tal fin.

6. Cada uno de los funcionarios que participe en el proceso de Cadena de Custodia es responsable del control y registro de su actuación directa dentro del proceso.

7. Al momento de recolectar los Elementos Materiales Probatorios se debe dejar constancia en el formato de la diligencia correspondiente, haciendo la descripción completa de los mismos, registrando su naturaleza, el sitio exacto de donde fueron removidos o tomados y la persona o funcionario que los recolectó.

8. Toda muestra o Elemento Material Probatorio debe tener el registro de Cadena de Custodia, el cual debe acompañar a cada uno de los Elementos Materiales Probatorios a través de su curso judicial. Por consiguiente toda transferencia de custodia debe quedar consignada en el registro indicando: Fecha, hora, nombre, firma de quien recibe y de quien entrega.

9. Toda muestra o Elemento Material Probatorio debe estar debidamente embalado y rotulado. Los remanentes, muestras y demás elementos se les deben garantizar la correcta aplicación del sistema Cadena de Custodia.

10. Todo funcionario que analiza muestras o Elemento Materiales Probatorio debe dejar constancia escrita en el informe con la descripción detallada de los mismos, de las técnicas y procedimientos de análisis utilizados, así como las modificaciones realizadas sobre los Elementos Materiales Probatorios, mencionando si éstos se agotaron en los análisis o quedaron remanentes.

11. La Cadena de Custodia implica que tanto los elementos probatorios como los documentos que los acompañan, se deben mantener siempre en un lugar seguro.

12. Los Laboratorios Forenses podrán abstenerse de analizar el Elemento Material Probatorio, enviados por las autoridades competentes, cuando se compruebe que no ha existido Cadena de Custodia o que esta se ha interrumpida. Cadena de Custodia, (en línea). Disponible en: < <http://www.bonesforum.blogspot.com/.../cadena-de-custodia>>.

2.2.19 Guía para el Transporte de Muestras Biológicas para Análisis Toxicológicos

Los objetivos de estas guías son:

- ✓ Preservar la integridad de la muestra
- ✓ Contemplar los factores que puedan afectarla, poniendo en riesgo la certeza del resultado
- ✓ Garantizar el cumplimiento de las condiciones de bioseguridad para el traslado de este tipo de material

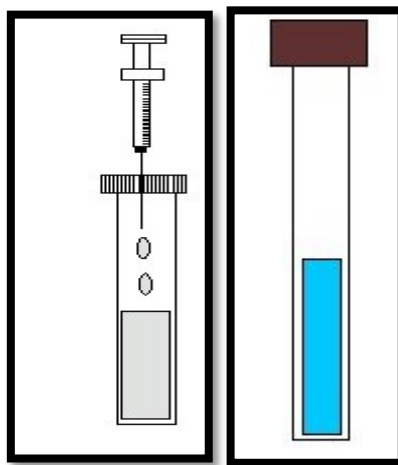
➤ **Acondicionamiento de las Muestras para el Transporte:**

Deberán respetarse las siguientes condiciones:

➤ **Recipiente Primario**

Es el que contiene el material a transportar. Puede ser de polipropileno o poliestireno cerrado herméticamente a fin de evitar pérdidas. En el caso de ser de vidrio deberán tomarse todos los recaudos que prevengan la rotura. Todos los componentes del contenedor que estén en contacto con la muestra deberán estar libres de sustancias que puedan interferir con el test de laboratorio y su resultado.

GRÁFICO Nº 2.26: Envase Primario para el Transporte de Muestra de Humor Vitreo



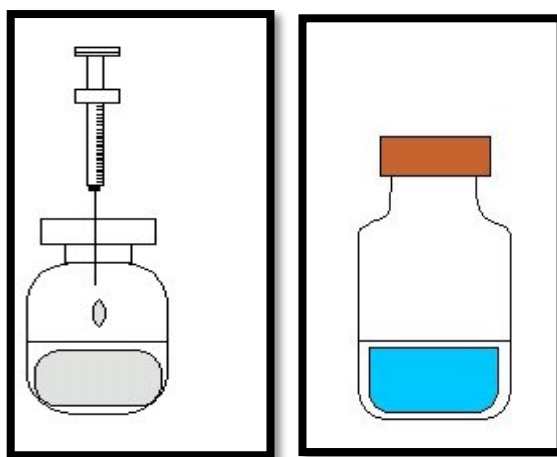
Fuente:<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap1.htm>

➤ **Recipiente Secundario**

Es el que contiene el o los recipientes primarios. Debe ser de un material irrompible, con tapa con cierre hermético y de volumen adecuado que permita retirar el recipiente primario. Debe contener un material absorbente:

papel, algodón o paño capaz de absorber el fluido contenido en el recipiente primario en el caso de que éste se dañe.

GRÁFICO Nº 2.27: Envase Secundario que Transporta el Envase Primario con la Muestra de Humor Vitreo



Fuente:<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap1.htm>

Varios recipientes primarios pueden disponerse en recipientes secundarios. En este caso se deberá cumplir:

1. Que el volumen total de los recipientes primarios no exceda los 50 ml.
2. Establecer un sistema de separación de los recipientes primarios de manera de impedir choque entre ellos.
3. Disponer los recipientes primarios de manera tal que se permita colocar material absorbente capaz de absorber fluidos contenidos en los recipientes primarios.
4. En el exterior del recipiente secundario se deberá colocar la información que se detalla en rótulos.

➤ **Temperatura de Envío de las Muestras**

La muestra deberá transportarse refrigerada entre 4 y 8 °c. Para ello se utilizará un recipiente terciario que corresponde al recipiente de transporte exterior. Debe ser de un material que resista el peso y el daño relacionado con la manipulación, el embarque y transporte.

➤ **Consideraciones Especiales para el Transporte de Muestra en Cadena de Frío**

Los transportes respetando la cadena de frío, requieren de acondicionamiento especial con material, apto para mantener la temperatura, usualmente el utilizado es el llamado hielo seco o dióxido de carbono.

Los contenedores terciarios de poliestireno de grosor adecuado son los apropiados pues permiten la liberación del gas de dióxido de carbono y evitan la concentración de presión que podría romper el paquete.

El hielo seco debe ser colocado entre el recipiente secundario y el terciario.

La cantidad depende de la capacidad de aislamiento del contenedor de traslado y del tiempo que la muestra recorrerá en su traslado. El exceso de espacio aéreo o de material de envoltura, dentro del contenedor de traslado puede causar que el hielo seco se disipe rápidamente.

➤ **Etiquetado y Rotulación**

Todos los rótulos y etiquetas deben efectuarse con elementos de escritura indelebles para evitar que se borren por efecto de la humedad o rotura de los contenidos.

Todos los datos de identificación del material deben constar en el envase secundario.

La información que debe contener la ficha es la siguiente:

- ✓ Descripción del material
- ✓ Responsable: Institución en la cual se obtuvo la muestra. Dirección completa
- ✓ Lugar de destino (describir Instituciones y Responsables)
- ✓ Cantidad de material en el interior
- ✓ Fecha de salida
- ✓ Plan de contingencia
- ✓ Cadena de frío. Transporte de Muestras, (en línea). Disponible

en:<http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-2957200800010000>

2.2.20 Control de Calidad

En general este control debe identificar, monitorear, evaluar y aprobar metodologías relativas al identificar la presencia de agentes tóxicos. En este contexto el control de calidad en el Laboratorio de Química Forense envuelve el monitoreo de los, reactivos, instrumentos, procedimientos y el personal, para asegurar una adecuada práctica en el aislamiento, identificación y caracterización de agentes tóxicos para el organismo y su correspondiente análisis para su adecuada identificación.

Un programa de control de calidad debe incluir además un Manual de Procedimientos, validación de metodologías y equipos, el desarrollo de ciclos de educación continuada, elementos de bioseguridad y una supervisión sobre los reportes generados. En éste sentido se hace énfasis en la correcta valoración de las pruebas de laboratorio de Química Forense, los agentes tóxicos causales de envenenamiento o muerte de los individuos y la interpretación correcta de las pruebas realizadas en las diferentes muestras sean biológicas o no biológicas.

El control de calidad en el laboratorio tiene como objetivo, que el producto final del trabajo tenga un grado aceptable de seguridad, de conformidad con los límites establecidos.

2.2.21 Normas de Bioseguridad

GRÁFICO Nº 2.28: Normas de Bioseguridad



Fuente:<http://angel09h.blogspot.com/2011/07/laboratorio-clinico.html>

Las medidas de Seguridad en Laboratorios son un conjunto de medidas preventivas destinadas a proteger la salud de los que allí se desempeñan frente a los riesgos propios derivados de la actividad, para evitar accidentes y contaminaciones tanto dentro de su ámbito de trabajo, como hacia el exterior. Las reglas básicas aquí indicadas son un conjunto de prácticas de sentido común realizadas en forma rutinaria.

➤ **Medidas Generales de Bioseguridad**

- ✓ Ingreso al laboratorio restringido permanentemente cuando se está trabajando
- ✓ Mantener vestuario personal en casilleros o lugares acondicionados para ello
- ✓ Utilizar delantal, con cierre posterior, cuando se realicen procedimientos con fluidos corporales de alto riesgo
- ✓ Al quitarse los guantes, después de cualquier procedimiento, se debe lavar las manos y al terminar la jornada antes de salir del laboratorio
- ✓ Prohibido pipetear con la boca, salvo que se trate de material estéril.
- ✓ No se permite comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos.(en caso de requerir colar, se deberá acudir a lugares habilitados por el hospital para dicho fin)
- ✓ Utilizar cuando proceda: guantes, mascarilla, lentes, gorro protector para el pelo
- ✓ Todo el personal debe advertir al jefe directo de laboratorio de cualquier tratamiento o enfermedad que le impida un normal desenvolvimiento en su trabajo.
- ✓ Cualquier equipo que presente fallas no debe utilizarse.
- ✓ Preparación diaria de solución de hipoclorito de sodio.
- ✓ Evitar llevarse las manos a la nariz, ojos, oídos, cara o boca.
- ✓ El lápiz u otro instrumento debe mantenerse alejado de la boca.
- ✓ Todos los desechos deben ser descontaminados y/o autoclavados antes de su eliminación definitiva. (121 °c por 30 minutos)
- ✓ El material infeccioso debe ser fácilmente identificable como tal y ser esterilizado lo antes posible.
- ✓ Los reactivos deben estar etiquetados y almacenados adecuadamente.

- ✓ Todos los laboratorios deben disponer de un equipo de primeros auxilios.
- ✓ Prohibido poner alimentos y objetos personales en mesones de trabajo.
- ✓ La preparaciones que involucren ácidos u álcalis fuertes se debe realizar con precaución, a puertas cerradas y extractores de aire funcionando.

2.2.21.1 Manejo de Residuos

Hoy en día, es sumamente importante que todos nosotros conozcamos la manera adecuada de manejar los desechos que generamos.

A causa de las graves consecuencias que algunos compuestos generan en el medio ambiente y el impacto negativo que pueden tener en la salud y en los recursos naturales, es indispensable destacar que los residuos se clasifican de la siguiente manera:

➤ Residuos no Peligrosos

Aquellos que por su naturaleza no presentan ningún riesgo para la salud ni para el medio ambiente. Son los residuos biodegradables, inertes, reciclables y comunes.

➤ Residuos Peligrosos

Aquellos que por su naturaleza y composición presentan gran riesgo para la salud y el medio ambiente. Comúnmente son producidos por las industrias y en éstos se incluyen aquellos con características combustibles, radioactivas, explosivas, corrosivas, reactivas, inflamables o tóxicas.

A) Residuos infecciosos o de riesgo biológico-Aquellos que contienen microorganismos tales como bacterias, virus, parásitos u hongos que pueden producir enfermedades infecciosas en huéspedes susceptibles

B) Residuos Químicos-Aquellos que cuentan con propiedades físico-químicas en su naturaleza y composición.

C) Residuos Tóxicos-Aquellos que cuentan con propiedades químicas y toxicológicas en su naturaleza y composición.

D) Residuos Radioactivos- Aquellos cuya composición contiene elementos químicos radioactivos.

E) El manejo adecuado de residuos no peligrosos es comúnmente conocido, pues, éstos se dividen a su vez en orgánicos e inorgánicos y sobre esta clasificación pueden ser reciclados por los centros de acopio y/o reutilizados en el hogar y la industria. Por otra parte, los residuos peligrosos de laboratorios e industrias usualmente son sometidos a tratamientos que reducen, eliminan o desactivan las características que los hacen riesgosos.

F) Una vez que se conoce el manejo adecuado de residuos peligrosos en los laboratorios e industrias; queda por exponer lo que tú puedes hacer en el hogar si es que alguna vez te encuentras cara a cara con algún residuo especial o peligroso:

G) Coloca los residuos sanitarios en cajas o bolsas de color rojo y recuerda no mezclarlos con otros residuos, a pesar de que sean inorgánicos.

H) Tapa los polos de las pilas con cinta canela, colócalas en botellas de plástico y busca un centro de recolección en tu ciudad. Si no encuentras uno entonces colócalas en contenedores de residuos especiales.

I) Coloca las lámparas fluorescentes en bolsas o cajas para evitar el derrame del mercurio que contienen, ya que, además de que contamina el agua y el suelo es muy peligroso para tu salud.

J) Evita consumir productos en envases de aerosol, ya que, los envases no son reciclables.

K) Vierte el aceite comestible en una botella de plástico y ciérrala muy bien, nunca lo arrojes por el fregadero, ya que, es insoluble en el agua.

Normas de Bioseguridad, (en línea).Disponible en:

<<http://www.enbuenasmanos.com/articulos/normasdebioseguridad?art=2825>>

2.2.22 Determinación de Metanol en Muestras de Humor Vítreo:

GRÁFICO Nº 2.29: Toma de Muestra de Humor Vítreo en una Persona Fallecida



a)



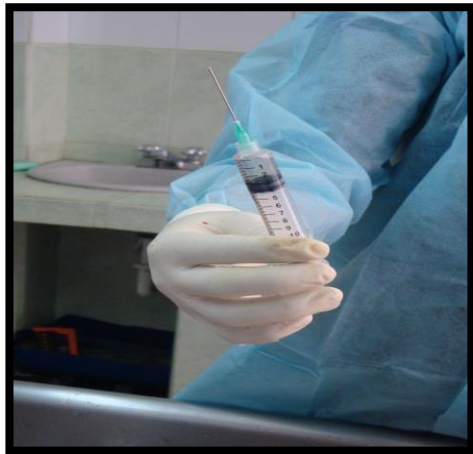
b)



c)



d)



e)



f)

Fuente: Fotos tomadas en el Anfiteatro del Cementerio General de Riobamba

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

2.2.22.1 Toma de Muestra de Humor Vítreo

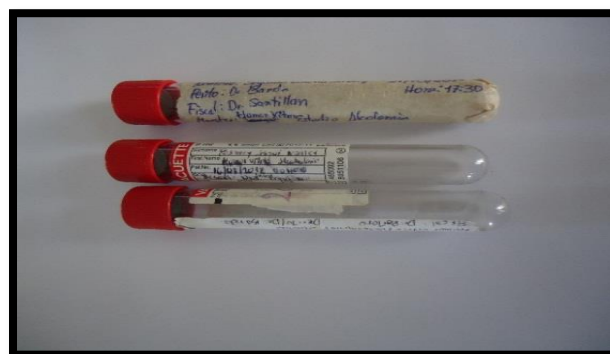
- a) El cadáver se traslada desde el lugar de los acontecimientos hacia la morgue del Cementerio Municipal en el vehículo de medicina legal.
- b) Una vez ingresado el cadáver a la sala de autopsias se procede al equipamiento del personal que van intervenir en el proceso: Fiscal de

Turno, Médico, Legista, Químico Forense y Diseccionador. Se registran los nombres completos del fallecido, hora, fecha de muerte y causa posible o percance que sufrió la víctima. Se observa externamente al cadáver para analizar todos los cambios que presenta la víctima.

- c) Se examina el lugar de punción para verificar si no existe ninguna dificultad al momento de realizar la toma de muestra de humor vítreo para enviar al Laboratorio de Química Forense.
- d) Se procede a la recolección de la muestra de humor vítreo introduciendo una jeringuilla en la zona ocular adecuada.
- e) Se extrae de 3 a 5ml de la muestra de humor vítreo y se adiciona en un tubo esterilizado, procediendo a rotular los nombres y apellidos del fallecido, fecha y hora de la toma, médico legista y fiscal de turno.
- f) La muestra se traslada desde la morgue del cementerio con su respectiva cadena de custodia por parte de un agente policial, analista, o miembro del Ministerio Público con destino al Laboratorio de Química Forense de Criminalística de la Provincia.

2.2.22.2 Rotulación de las Muestras de Humor Vítreo

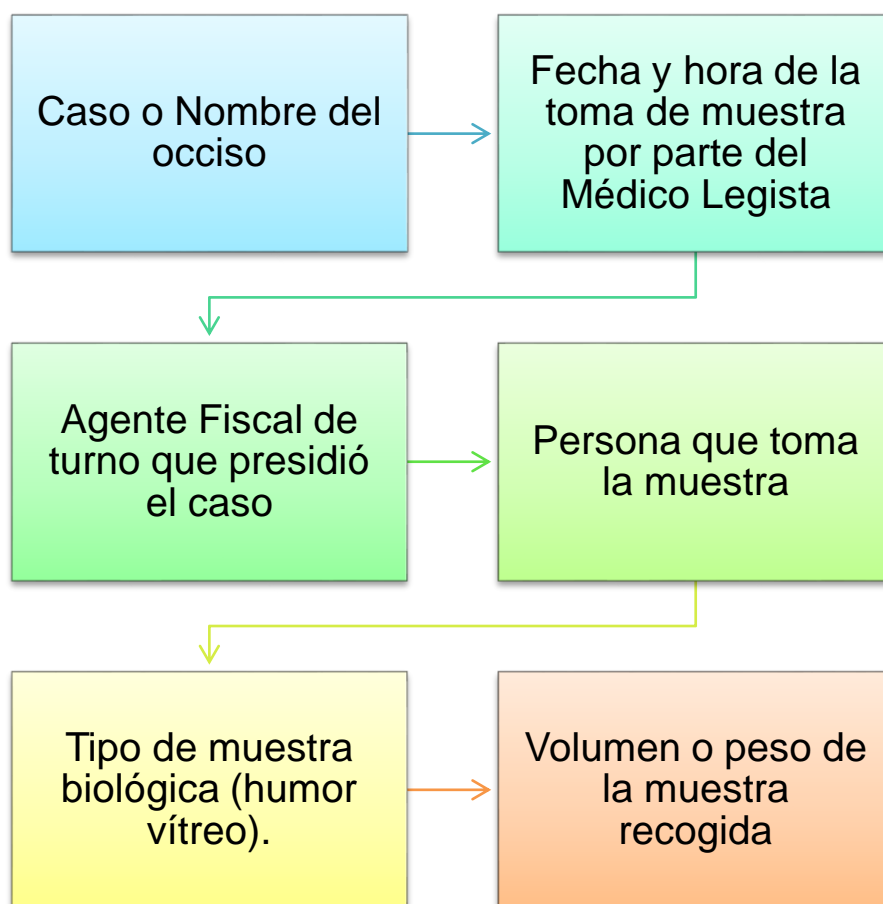
GRÁFICO Nº 2.30: Rotulado de la Muestra



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

Para un correcto análisis toxicológico debe constar la siguiente información:



Elaborado por: Machado Paola, Salazar Nadia



e)



f)

Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

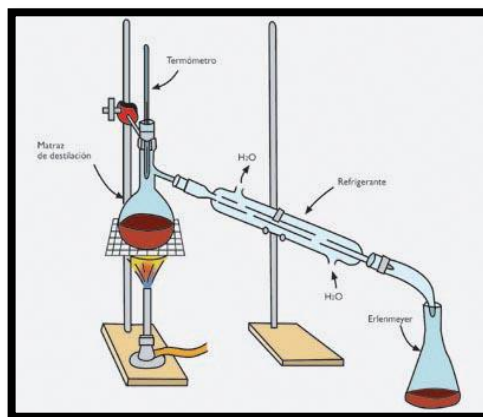
- a) El agente policial entrega la evidencia al analista del Laboratorio de Química Forense, en el cual se debe verificar, las características de la muestra, caso o nombres completos del occiso, fiscal de turno, fecha y hora de entrega, persona que entrega y recibe la muestra.
- b) La entrega de la muestra se lo debe realizar con su respectiva Cadena de Custodia, en el cual debe constar detalladamente los parámetros escritos en el literal a), en ya que es un documento legal que será utilizado con fines legales investigativos.
- c) Se debe verificar que conste en el documento cada uno de los datos evidenciados y establecidos, con el propósito de evitar errores durante el proceso de investigación.
- d) Hoja de Cadena de Custodia completa y en la misma debe constar los nombres, cédula de identidad y firmas por parte de los miembros competitivos.
- e) Fotografiar la evidencia antes de realizar el análisis toxicológico
- f) Refrigerar la muestra si el análisis no es inmediato, con la finalidad de evitar reacciones de descomposición o putrefacción y lo más importante que el tóxico volátil se evapore debido a su bajo punto de ebullición.

2.2.22.4 Extracción y Purificación del Metabolito en la Muestra de Humor Vítreo por Destilación.

GRÁFICO Nº 2.32: Proceso de Destilación que se Somete la Muestra de Humor Vítreo:



a)



b)



c)

Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalista de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

- a) Se toma la muestra de humor vítreo y se adiciona 10ml de agua destilada, para la posterior destilación del metabolito.
- b) La evidencia se somete al proceso de destilación, con el propósito de separar y purificar el tóxico en función de su punto de ebullición.

- c) El metabolito se encuentra purificado listo para ser sometido al análisis cualitativo mediante pruebas de coloración y cuantitativo por cromatografía de gases.

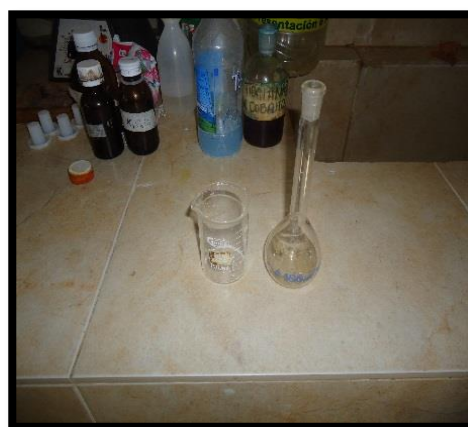
2.2.22.5 Identificación del Alcohol Metílico Mediante Pruebas Cualitativas (test del ácido cromotrópico)

2.2.22.5.1 Preparación de los Reactivos de Identificación:

GRÁFICO Nº 2.33: Preparación de la 1^{ra} Solución (KMnO_4 0,2 N)



a)



b)



c)



d)

Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio De Química Forense del Departamento de Criminalística De La Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

- a) Se pesa 0,63 g de Permanganato de Potasio (KMnO_4).

b) En un vaso de precipitación que contiene 100ml de agua destilada se adiciona 0,63 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ para su respectiva disolución del compuesto sólido.

c) Se coloca la solución en un balón aforado volumétrico de 100ml y se afora correctamente con agua destilada.

d) Se coloca el reactivo preparado en el interior de un frasco oscuro, evitando el contacto directo con los rayos ultravioletas y posterior reducción del compuesto.

GRÁFICO Nº 2.34: Preparación de la 2^{da} Solución (H_2SO_4 al 25%)



a)



b)



c)

Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

a) Se toma el volumen exacto de 26,12 ml de (H_2SO_4 concentrado) mediante la ayuda de una probeta y pipetas aforadas volumétricas.

b) Se adiciona la solución preparada en el interior del balón volumétrico de 100ml y por último se afora adecuadamente con agua destilada obteniendo una solución de H_2SO_4 al 25%.

c) Se coloca el reactivo en un frasco oscuro evitando el contacto directo con la luz solar.

GRÁFICO Nº 2.35: Preparación de la 3^{ra} Solución (Formaldehído al 2%)



a)



b)



c)

Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

a) Se toma un volumen exacto de 5,40 ml de (Formaldehído al 37%) y se coloca en una probeta graduada que contenga 100ml de agua destilada con el fin de evitar pérdidas por volatilización

b) Posteriormente se adiciona la solución en el interior de un balón aforado volumétrico de 100ml y se afora con agua destilada hasta su volumen final correspondiente.

d) Se coloca el reactivo preparado en el interior de un frasco oscuro y se cierra herméticamente evitando se evapore la sustancia y de igual forma el contacto con los rayos ultravioletas.

2.2.22.5.2 Identificación del Metabolito del Alcohol Metílico en la Muestra de Humor Vítreo:

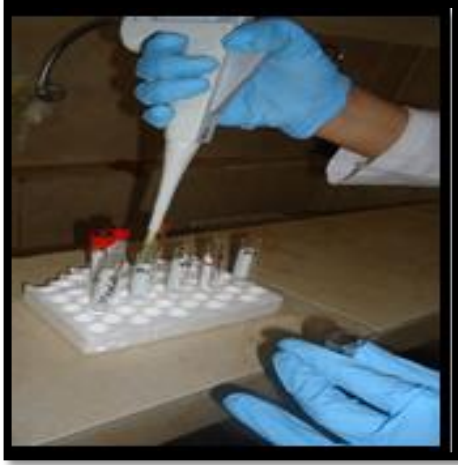
GRÁFICO Nº 2.36: Análisis de Metanol en la Muestra de Humor Vítreo



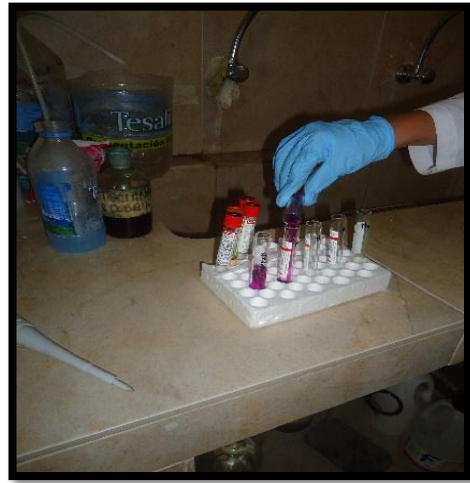
a)



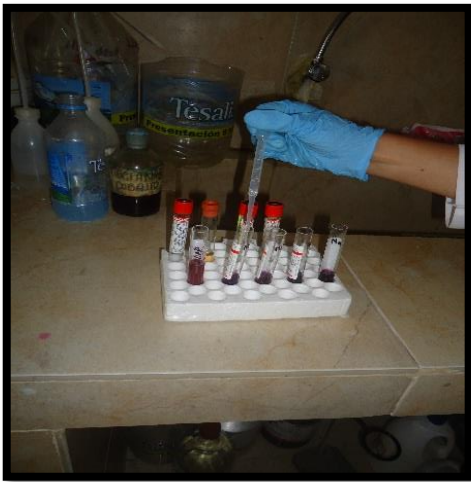
b)



c)



d)



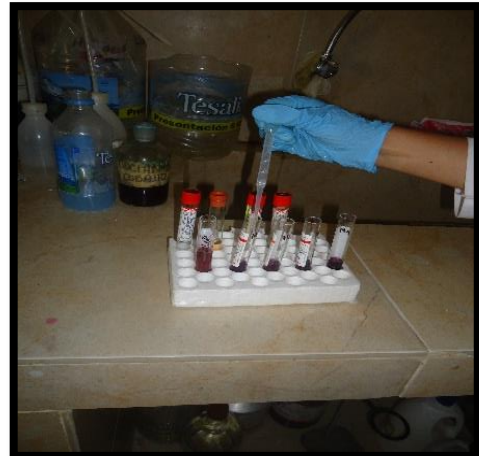
e)



f)



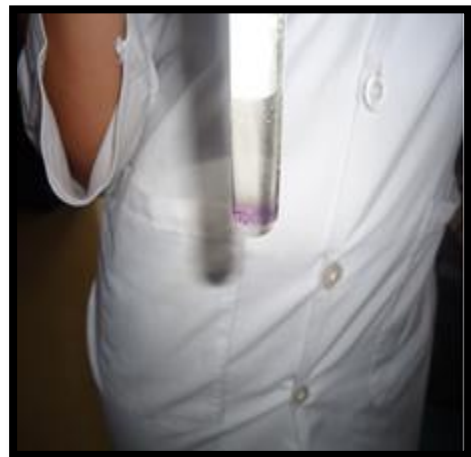
g)



h)



i)



j)

Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

a) Como primer punto para la identificación del tóxico se debe tener listo los recipientes esterilizados para la adición del reactivo, estándar y las respectivas muestras purificadas.

- b) Al primer tubo de ensayo se debe adicionar 3ml de solución estándar (Formaldehído al 2%).
- c) Posteriormente a los otros tubos de ensayo de acuerdo al número de muestras se debe adicionar el mismo volumen 3ml de sustancias purificadas (tóxico en estudio), después de haber sido sometidas al proceso de destilación).
- d) A cada uno de los tubos que contienen el estándar y las muestras para análisis, se agrega 4 ml de la solución de kmno_4 0,2 N recién preparado.
- E) Seguido se adiciona a cada tubo, 1ml de la solución de H_2SO_4 al 25%
- f) Se agita constantemente con cuidado los recipientes evitando que se derrame las sustancias y se deja reaccionar y después se deja en reposo periodo de 10 minutos.
- g) Después de transcurrido el tiempo de reacción, se debe filtrar las soluciones con el propósito de eliminar las sustancias interferentes.
- h) Luego se adiciona una mínima cantidad de ácido cromotrópico (punta de una espátula pequeña o tres a cinco gotas de solución concentrada).
- l) Por último por las paredes de los tubos se adiciona de 2 a 3 ml de H_2SO_4 concentrado.
- j) El estándar inmediatamente presentará un anillo de color violeta en la interface, al igual que las sustancias purificadas que contengan el metabolito de formaldehído propio del metabolismo del alcohol metílico.

2.2.22 Pasos de la Cromatografía de Gases para Cuantificación de Alcohol Metílico

Determinación cuantitativa de la concentración de alcohol metílico que existe en la muestra de humor vítreo por cromatografía de gases

GRÁFICO Nº 2.37: Proceso de la Cromatografía de Gases



a)



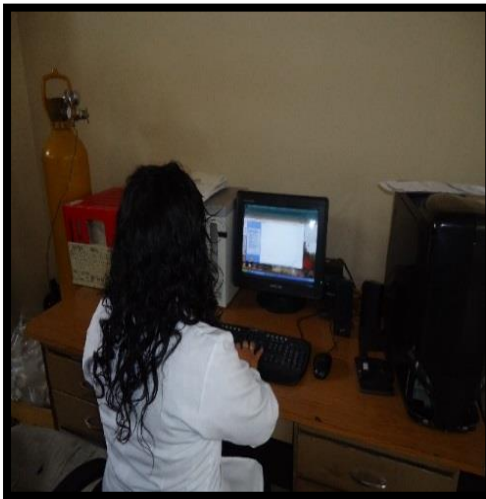
b)



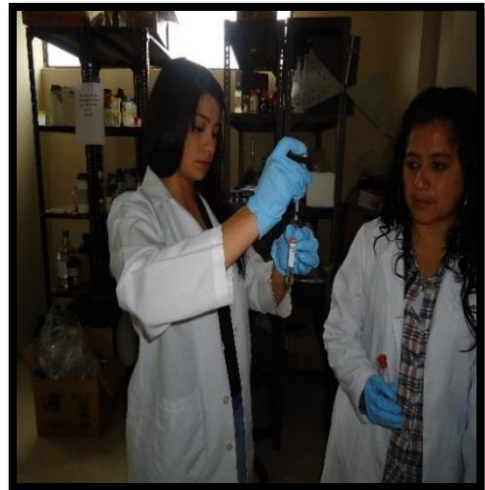
c)



C1)



d)



e)



f)



g)



h)

Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

PROCEDIMIENTO:

a) Se prepara una solución estándar de 100 μ l de formaldehído en 100ml de agua destilada

b) Se prepara una solución estándar interno de 100 μ l de acetaldehído en 500ml de agua destilada

c) Se abre la llave del tanque de presión que contiene la fase móvil (nitrógeno) y se enciende el cromatógrafo de gases seguido del computador e ingresar al programa Peak Sample u otros programas de instalación, ordenar una temperatura de 200°C durante dos horas teniendo presente que la presión de la fase móvil sea de 40 psi .

c1) Se prende el equipo generador de hidrógeno y se deja pasar el gas hacia el interior del cromatógrafo a una presión de 30 psi y posteriormente prender el FID (Detector de Ionización de Flama)

d) A través del programa mediante el computador se ordena al equipo cromatográfico las siguientes condiciones de temperatura de la siguiente manera:

1era	2da
Ti: 35°C	Ti: 160°C
Tiempo: 1 minuto	Tiempo: 1 minuto
Rampa: 30	Rampa: 0
Tf: 160°C	Tf: 160°C

e) Se prepara las soluciones de análisis en tubos de ensayo completamente estériles, tanto del estándar total y las muestras que se sospecha contienen el metabolito, adicionando a cada tubo 1ml de solución estándar interno, al tubo del estándar total 100ul de estándar y a los otros tubos 100ul del destilado purificado.

f) Posteriormente luego de haber aplicado las condiciones de trabajo, mediante el ayuda de una microjeringa inyectar 0,1 μ l de agua destilada en el inyector de la columna cromatográfica y hacer correr el programa por lo menos durante tres veces, con el propósito de lavar la columna y eliminar impurezas, luego inyectar 0,1 μ l de solución estándar total (1ml de Sol. E y 100 μ l de Sol. Y hacer correr el programa mínimo tres veces y obtener los resultados que presentan las áreas del estándar y estándar interno y sacar el valor promedio como resultado de referencia.

g) Luego de haber realizado el proceso anterior de igual manera se debe inyectar 0,1 μ l de muestra preparada (1ml de Sol E.I y 100 μ l de analito purificado), hasta obtener resultados similares con respecto a las áreas, o a su vez sacar el valor promedio.

h) Se deben verificar los resultados obtenidos de la cuantificación del metabolito que arroja el equipo tecnológico de cromatografía de gases a través del programa que contiene el computador.

2.2.22.7 Cálculos y Resultados

➤ Permanganato de Potasio

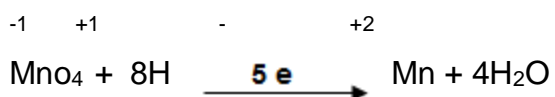
Pesos Moleculares de Cada Elemento:

K= 39,102 g/mol

Mn= 54,98 g/mol

$$O_4 = 16 \times 4 = 64 \text{ g/mol}$$

Igualación del Ión Electrón



$$\frac{0,2 \text{ eq g } kmno_4 \times 100 \text{ ml sln } kmno_4 \times 1 \text{ mol } kmno_4 \times 158,1 \text{ g } kmno_4}{1000 \text{ ml sln } kmno_4} = \frac{5 \text{ eq g } kmno_4}{1 \text{ mol } kmno_4}$$

$$\frac{3,162}{5000} = 0,63 \text{ g } kmno_4$$

Ácido Sulfúrico al 25%

Datos:

$$C_1: 95,7 \%$$

$$V_1: ?$$

$$C_2: 25\%$$

$$V_2: 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{25\% \times 100 \text{ ml}}{95,7 \%} = 26,12 \text{ ml sln } H_2SO_4$$

Formaldehido 2 %

Datos:

$$C_1: 37 \%$$

$$V_1: ?$$

$$C_2: 2 \%$$

$$V_2: 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{2 \% \times 100 \text{ ml}}{37 \%} = 5,40 \text{ ml sln } CH_2O$$

La determinación de la concentración del metabolito a partir de muestras de humor vítreo, se realiza en función de las áreas de cada uno de los componentes como son el estándar, estándar interno y las muestras totales o purificadas.

NOTA: La concentración del alcohol metílico tiene relación directa con su producto metabólico (formaldehído)

Cg/L Concentración de formaldehído en gramos/litro

A₁ Área de la muestra

A₂ Área del estándar interno/muestra

A_x Relación de A₁ con respecto A₂

A₃ Área del estándar

A₄ Área del estándar interno/estándar

A_y Relación de A₃ con respecto A₄

A_z Porcentaje de formaldehído en muestra purificada

A_{z1} Porcentaje de formaldehído en humor vítreo total

0,8 Factor de multiplicación para determinar formaldehído en humor vítreo.

1,18 Factor de división cuando se trata de muestra purificada.

Nota: cuando se trabaja con humor vítreo total no interviene el factor de división.

CÁLCULO DE FORMALDEHÍDO EN MUESTRA PURIFICADA

$$A_z = \frac{A_x}{A_y} \times 0,8 / 1,18$$

CÁLCULO DE FORMALDEHÍDO EN HUMOR VÍTREO TOTAL

- Fórmula para la Determinación de la Concentración de Formaldehído en g/L en Muestras de Humor Vítreo

$$A_x = \frac{A_1}{A_2} \quad A_y = \frac{A_3}{A_4}$$

$$Cg/L = \frac{\frac{A_1}{A_2}}{\frac{A_3}{A_4}} \times 0,8$$

$$Cg/L = \frac{A_1 \times A_4}{A_2 \times A_3} \times 0,8$$

- Ejemplos de muestras de humor vítreo que resultaron positivas, que contienen el metabolito formaldehído con sus respectivas áreas obteniendo diferentes concentraciones

➤ **Muestra con Baja Concentración del Metabolito**

Muestra N° 55



$$Cg/L = \frac{A_1 \times A_4}{A_2 \times A_3} \times 0,8 / 1,18 = \frac{172 \times 225}{410 \times 218} \times 0,8 / 1,18 = 0,29 \text{ g/L}$$

➤ **Muestra de Mediana Concentración del Metabolito**

Muestra N° 60



$$Cg/L = \frac{A_1 \times A_4}{A_2 \times A_3} \times 0,8 / 1,18 = \frac{182 \times 243}{240 \times 194} \times 0,8 / 1,18 = 0,64 \text{ g/L}$$

➤ **Muestras de Alta Concentración de Alcohol**

Muestra N° 56



$$\mathbf{Cg/L} = \frac{A_1 \times A_4}{A_2 \times A_3} \times 0,8 / 1,18 = \frac{195 \times 287}{202 \times 204} \times 0,8 / 1,18 = \mathbf{0,92 \text{ g/L}}$$

2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Ácido Láctico: Es un ácido carboxílico, con un grupo hidroxilo en el carbono adyacente al grupo carboxilo.

Acidosis Metabólica: La acidosis metabólica es un desequilibrio de ph en el que el organismo ha acumulado demasiado ácido y no tiene suficiente bicarbonato para neutralizar con eficacia los efectos del ácido

Biotransformación: La biotransformación es un proceso que luego de la interacción del medicamento con el receptor, se realizan acciones metabólicas por medio de los cuales se termina con la acción medicamentosa, la biotransformación se puede producir entre el momento de la absorción hasta la excreción, por esto a veces la desoxidación tiene una similitud semántica con la biotransformación.

Bradycardia: La bradicardia es una anomalía de los latidos del corazón. En adultos se define por un ritmo cardiaco de menos de 60 latidos por minuto.

Catárticos: purgante no excesivamente fuerte

Citocromo: Los citocromos son proteínas que desempeñan una función vital en el transporte de energía química en todas las células vivas

Disnea: La disnea es una dificultad respiratoria que se suele traducir en falta de aire

Ebullición: es el proceso físico en el que la materia pasa a estado gaseoso.

Edema: El edema (o hidropesía) es la acumulación de líquido en el espacio tisular intercelular o intersticial, además de las cavidades del organismo

Esterificación: Se denomina esterificación al proceso por el cual se sintetiza un éster

Fusión: procedimiento de carácter físico que implica un cambio de estado en una materia que pasa de sólido a líquido.

Hidroxilo: El grupo hidroxilo es un grupo funcional formado por un átomo de oxígeno y otro de hidrógeno, característico de los alcoholes, fenoles y ácidos carboxílicos entre otros compuestos orgánicos.

Iónicas :En Química, un enlace iónico o electrovalente es la unión de átomos que resulta de la presencia de atracción electrostática entre los iones de distinto signo, es decir, uno fuertemente electropositivo (baja energía de ionización) y otro fuertemente electronegativo (alta afinidad electrónica)

Isopropanol: Alcohol secundario de tres átomos de carbono que se encuentra en el petróleo.

Letargia: Es un estado intermedio de trance, que corresponde al primer grado del estado hipnótico, entre la vigilia y el sonambulismo. La letargia se manifiesta en un cuerpo con la pérdida de la fuerza muscular a consecuencia de la extrema relajación. Durante este estado aumenta la sensibilidad de la persona. Médicamente la letargia es considerada un sueño patológico.

Midriasis: La midriasis es un aumento del diámetro o dilatación de la pupila

Miscibilidad: es un término usado en química que se refiere a la propiedad de algunos líquidos para mezclarse en cualquier proporción, formando una mezcla.

Papilitis: Inflamación de la cabeza del nervio óptico.

Peritoneal: El peritoneo es la membrana que envuelve la mayor parte de los órganos del abdomen

Relevante: Sobresaliente, excelente. Importante o significativo.

Subaracnoidea: Espacio subaracnoideo Espacio entre la membrana que cubre la médula espinal y la médula misma.

Taquipnea: La taquipnea consiste en un aumento de la frecuencia respiratoria por encima de los valores normales (>20 inspiraciones por minuto).

Tóxico: Sustancia que puede producir algún efecto nocivo sobre un ser vivo, alterando sus equilibrios vitales

Xenobiótico: Se aplica a los compuestos cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos sintetizados por el hombre en el laboratorio. La mayoría han aparecido en el medio ambiente durante los últimos 100 años.

2.2.4 Hipótesis y Variables

2.4.1 Hipótesis

El método de cromatografía de gases es de amplia efectividad en la determinación de alcohol metílico en muestras de humor vítreo en cadáveres.

2.4.2 Variables

2.4.2.1 Variable Independiente

Cromatografía de gases

2.4.2.2 Variable Dependiente

Concentración de alcohol metílico en muestras de humor vitreo en cadáveres.

2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES	TÉCNICAS INSTRUMENTOS
VARIABLE INDEPENDIENTE			Escala Ordinal: Función de las áreas y la concentración.	
Cromatografía de gases	Método de separación en la que actúa una fase móvil y una fase estacionaria.	Método tecnológico avanzado	Baja concentración: 0,01 g/l. Mediana concentración: 0,2 g/l	Técnicas de análisis

		Alta concentración: 0,8 g/l	
VARIABLE DEPENDIENTE			
Alcohol Metílico	El metanol es el principal componente del destilado en seco de la madera. Es uno de los disolventes más universales, en el organismo causa ceguera transitoria o temporal, lapsus de memoria (lagunas) después de beber compulsivamente, y en la mayoría de casos la muerte.	Sustancia tóxica volátil	Nivel de tolerancia: 0,01 g/l. Pérdida de la concentración de los movimientos: nausea, vomito e irritabilidad, 0,2 g/l Daño irreversible: ceguera, complicaciones a nivel del organismo. 0,8 g/l Letal: convulsiones, coma y muerte.
Humor Vítreo	Está compuesto en un 99 % por agua. El resto en pequeñas cantidades en cloro, sodio, glucosa, potasio, ácido hialurónico, colágeno y proteínas.	Es un líquido, gelatinoso y transparente.	Escala Nominal: Observación. Irrigada por ningún vaso sanguíneo. Protegido de los traumatismos

CAPÍTULO III

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 MÉTODO

En la presente investigación se utilizara el método inductivo-deductivo con un procedimiento analítico-sintético.

3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Para la elaboración del presente trabajo se realiza una investigación descriptiva, el cual nos conducirá a la investigación explicativa.

3.3 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Es una investigación de campo

3.4 TIPO DE ESTUDIO

Es un estudio longitudinal

3.5 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.5.1 Población

La población de esta investigación estará conformada por 50 muestras.

3.5.2 Muestra

La investigación no requiere extracción de muestra ya que la población es pequeña la misma que constituye el universo.

3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos fueron recolectados del Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de la Provincia de Chimborazo.

3.7 TÉCNICAS E INSTRUMENTACIÓN:

3.7.1 Técnicas:

Observación Directa

3.7.2 Instrumentación:

Pruebas Cualitativas

Pruebas Cuantitativas

3.8 TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se utilizó la tabulación, cuadros, gráficos, utilizando Excel, el mismo que nos permite interpretar de mejor manera los datos y el correspondiente análisis.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Tabla Nº 3.2:

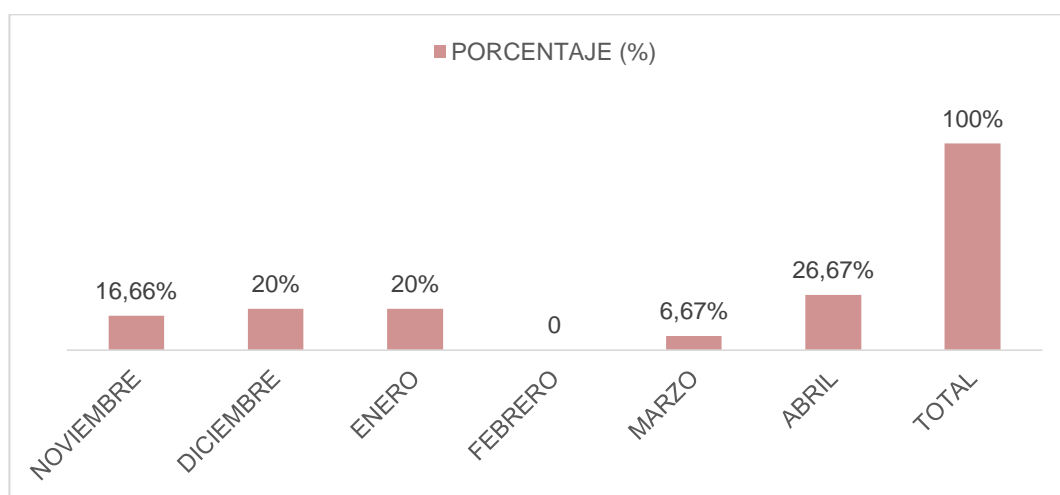
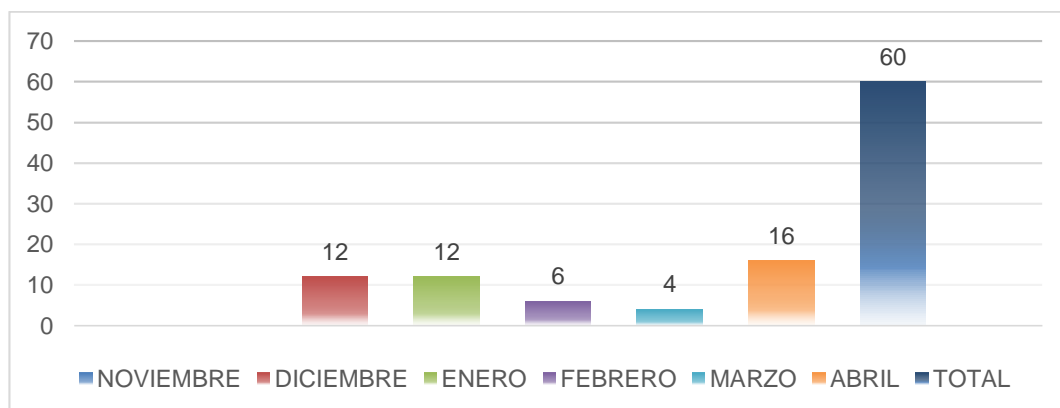
Datos Estadísticos de las muestras de humor vítreo que ingresaron al Laboratorio de Química Forense en el período Noviembre del 2012 - Abril del 2013

RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE ALCOHOL METÁLICO ANALIZADOS EN EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2012 – ABRIL 2013		
MES	Nº MUESTRAS	PORCENTAJE (%)
NOVIEMBRE	10	16,66%
DICIEMBRE	12	20%
ENERO	12	20%
FEBRERO	6	10%
MARZO	4	6,67%
ABRIL	16	26,67%
TOTAL	60	100%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

GRÁFICO Nº 3.38: Resultados de la Determinación de Alcohol Metílico Analizados por Mes



Interpretación de Resultados

Según se puede observar de acuerdo al gráfico correspondiente en el mes de Abril se registró el 26.67% verificando un alto índice de muertes por la ingesta o no de alcohol metílico versus el 6,67 referente al mes de Marzo existiendo menos número de muertes.

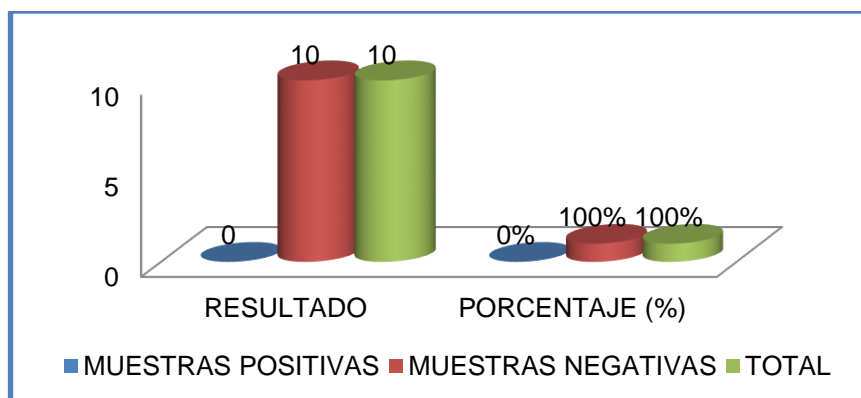
Tabla Nº 3.3: Datos de la Determinación de Alcohol Metílico en el Período Noviembre- 2012

DETERMINACIÓN DE ALCOHOL METÍLICO ANALIZADOS EN EL PERÍODO NOVIEMBRE-2012		
MUESTRAS	RESULTADO	PORCENTAJE (%)
MUESTRAS POSITIVAS	0	0%
MUESTRAS NEGATIVAS	10	100%
TOTAL	10	100%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

GRÁFICO Nº 3.39: Determinación de Alcohol Metílico Analizados en el Período Noviembre - 2012



Interpretación de Resultados

En el mes de Noviembre, ingresaron 10 muestras de humor vitreo, de las cuales al realizar el análisis correspondiente resultaron negativos para alcohol metílico, dando como resultado el 100%, por lo que se puede determinar que no existieron muertes causadas por la de la ingesta de metanol.

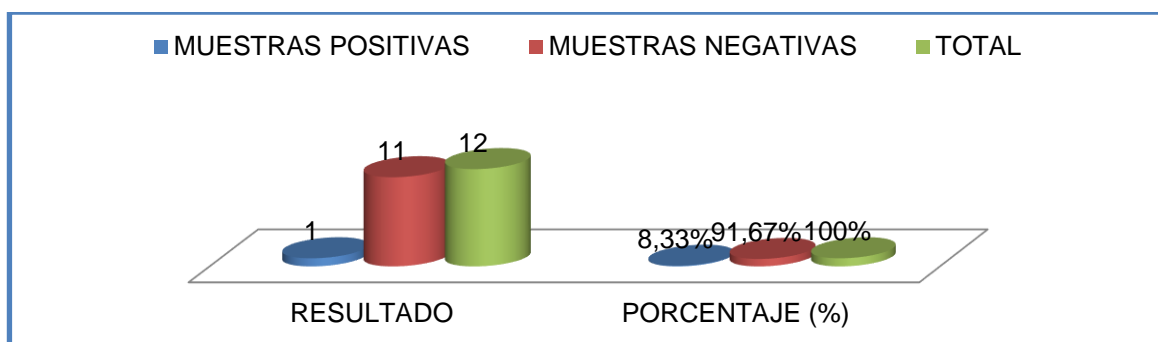
Tabla Nº 3.4: Datos de la Determinación de Alcohol Metílico en el Período Diciembre- 2012

DETERMINACIÓN DE ALCOHOL METÍLICO ANALIZADOS EN EL PERÍODO		
DICIEMBRE- 2012		
MUESTRAS	RESULTADO	PORCENTAJE (%)
MUESTRAS POSITIVAS	1	8,33%
MUESTRAS NEGATIVAS	11	91,67%
TOTAL	12	100%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

GRÁFICO Nº 3.40: Determinación de Alcohol Metílico Analizados en el Período Diciembre- 2012



Interpretación de Resultados

En el mes de Diciembre, ingresaron 12 muestras de humor vítreo de las cuales el 91,67% analizado resultaron negativos, y el 8,33% resultaron positivos para alcohol metílico, por lo cual se puede evidenciar que existe la presencia de alcohol adulterado que ocasiono la muerte de un ser humano a causa de esta sustancia altamente toxica.

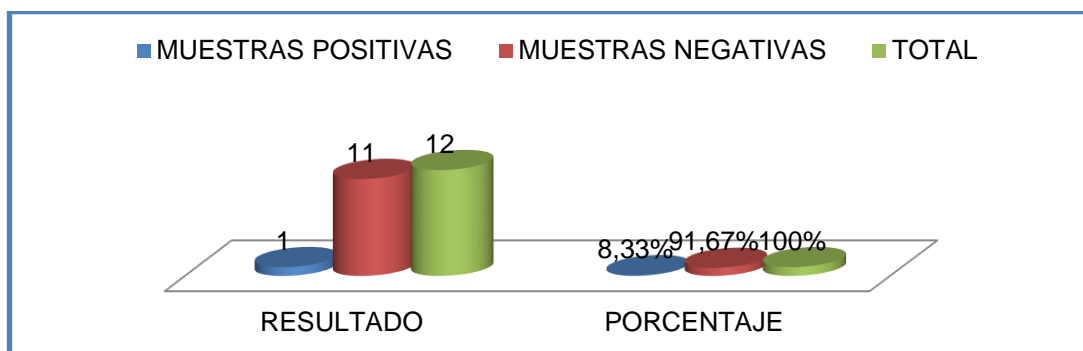
Tabla Nº 3.5: Datos de la Determinación de Alcohol Metílico en el Período Enero-2013

DETERMINACIÓN DE ALCOHOL METÍLICO ANALIZADOS EN EL PERÍODO ENERO-2013		
MUESTRAS	RESULTADO	PORCENTAJE
MUESTRAS POSITIVAS	1	8,33%
MUESTRAS NEGATIVAS	11	91,67%
TOTAL	12	100%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

GRÁFICO Nº 3.41: Determinación de Alcohol Metílico Analizados en el Período Enero– 2013



Interpretación de Resultados

En el mes de Enero, ingresaron 12 muestras de humor vítreo de las cuales los 91,67% analizados resultaron negativos, mientras que el 8,33% resultaron positivos para alcohol metílico, por lo que se puede establecer que existe la presencia de este tóxico debido a los malos procesos de destilación en bebidas alcohólicas.

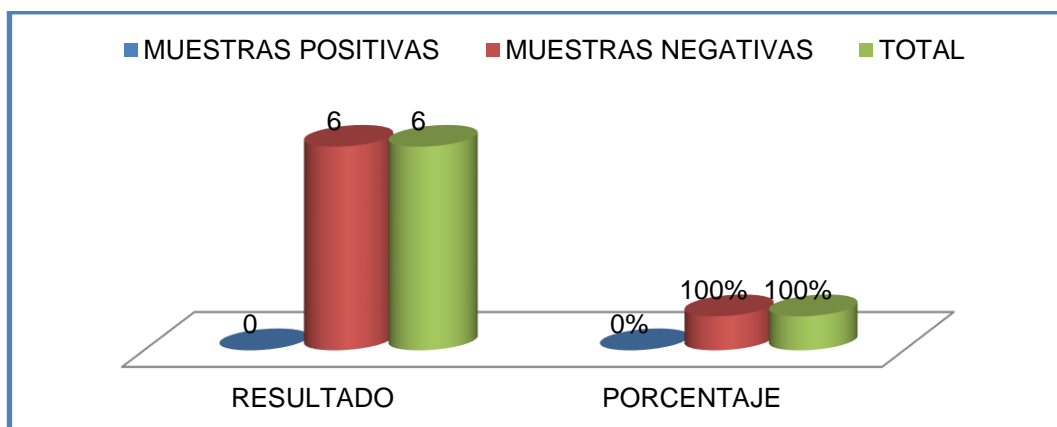
Tabla № 3.6: Datos de la Determinación de Alcohol Metílico en el Período Febrero-2013

DETERMINACIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO ANALIZADOS EN EL PERÍODO FEBRERO-2013		
MUESTRAS	RESULTADO	PORCENTAJE
MUESTRAS POSITIVAS	0	0%
MUESTRAS NEGATIVAS	6	100%
TOTAL	6	100%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

GRÁFICO № 3.42: Determinación de Alcohol Metílico Analizados en el Período Febrero – 2013



Interpretación de Resultados

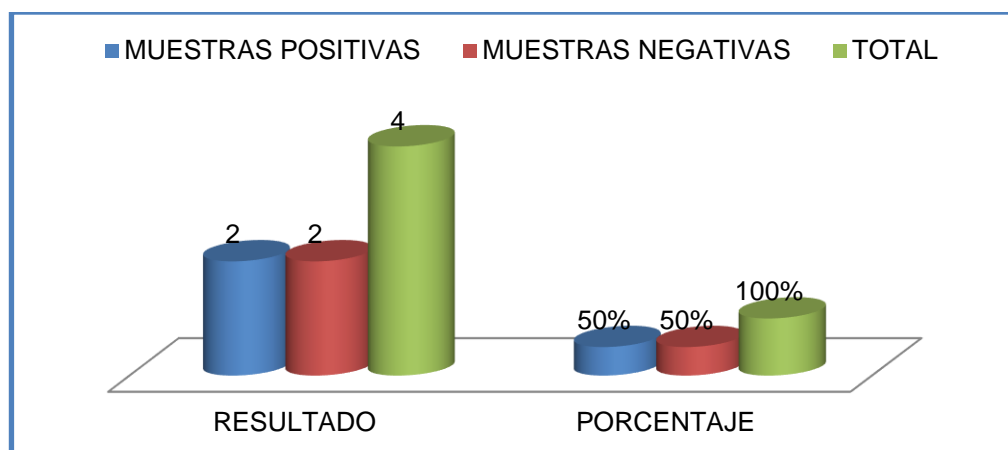
En el mes de Febrero, ingresaron 6 muestras al Laboratorio de Química Forense de Criminalística, de las cuales al ser analizadas resultaron negativas para alcohol metílico, dando como resultado el 100%. Indicando que no existieron muertes causadas por la de la ingesta de alcohol metílico.

Tabla Nº 3.7: Datos de la Determinación de Alcohol Metílico en el Período Marzo-2013

DETERMINACIÓN DE ALCOHOL METÍLICO ANALIZADOS EN EL PERÍODO MARZO-2013		
MUESTRAS	RESULTADO	PORCENTAJE
MUESTRAS POSITIVAS	2	50%
MUESTRAS NEGATIVAS	2	50%
TOTAL	4	100%

Fuente: Machado Paola, Salazar Nadia

GRÁFICO Nº 3.43: Determinación de Alcohol Metílico Analizados en el Período Marzo – 2013



Interpretación de Resultados

En el mes de Marzo ingresaron 4 muestras de humor vítreo al Laboratorio de análisis, de las cuales el 50% analizadas resultaron positivas, y el otro 50% resultado negativo, para alcohol metílico, lo que se puede indicar que existe una llamada de alerta para la Provincia a causa de la existencia de alcohol adulterado.

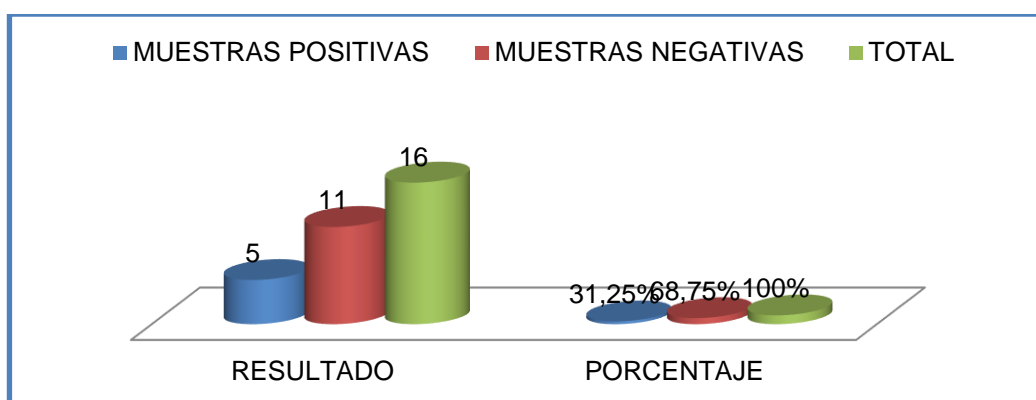
Tabla № 3.8: Datos de la Determinación de Alcohol Metílico en el Período Abril-2013

DETERMINACIÓN DE ALCOHOL METÍLICO ANALIZADOS EN EL PERÍODO ABRIL-2013		
MUESTRAS	RESULTADO	PORCENTAJE
MUESTRAS POSITIVAS	5	31,25%
MUESTRAS NEGATIVAS	11	68,75%
TOTAL	16	100%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

GRÁFICO № 3.44: Determinación de Alcohol Metílico Analizados en el Período Abril – 2013



Interpretación de Resultados

En el mes de Abril del 2013 siendo el período de mayor acogida de muestras de humor vitreo, 5 de las cuales resultaron positivas, correspondiendo al 31,25%, mientras que el 68,75% restantes resultaron negativos, se determina que durante este mes ha existido un alto índice de muertes a causa de esta sustancia altamente tóxica.

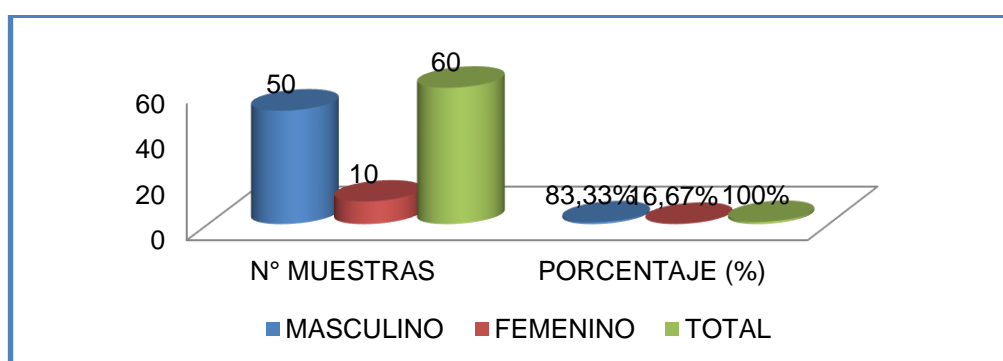
Tabla № 3.9: Datos de la Determinación de Alcohol Metílico en Muestras de Humor Vítreo de Cadáveres Masculinos y Femeninos

DETERMINACIÓN DE ALCOHOL METÍLICO EN MUESTRAS DE HUMOR VÍTREO DE CADÁVERES MASCULINOS Y FEMENINOS		
SEXO	N° MUESTRAS	PORCENTAJE (%)
MASCULINO	50	83,33%
FEMENINO	10	16,67%
TOTAL	60	100%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

GRÁFICO № 3.45: Determinación de Alcohol Metílico en Muestras de Humor Vítreo de Cadáveres Masculinos y Femeninos



Interpretación de Resultados

En la investigación se trabajó con 60 muestras de humor vítreo, las cuales el 83,33% corresponden a cadáveres de sexo masculino, y el 16,67% pertenecen al sexo femenino. Se evidenció que las personas de sexo masculino son las que consumen con mayor incidencia alcohol, el mismo que presenta este compuesto sumamente tóxico como es el alcohol metílico, provocando daños lesiones en el organismo y en algunos casos causando muerte.

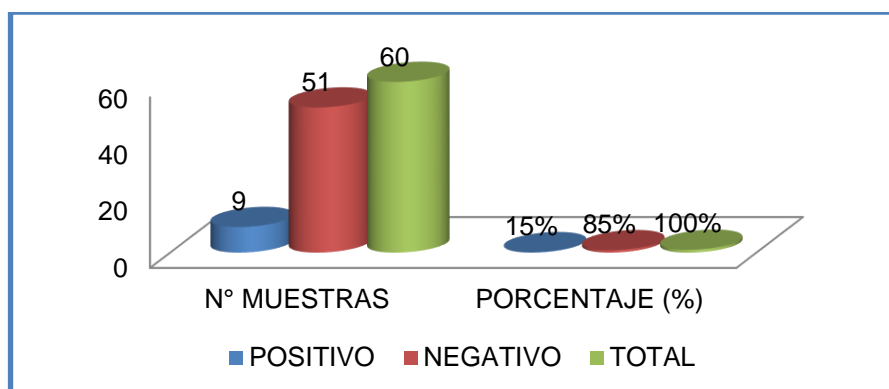
Tabla № 3.10: Datos de Muestras Positivas y Negativas de la Determinación de Alcohol Metílico

MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS DE LA DETERMINACIÓN ALCOHOL METÍLICO		
METÍLICO		
RESULTADO	N° MUESTRAS	PORCENTAJE (%)
POSITIVO	9	15%
NEGATIVO	51	85%
TOTAL	60	100%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

GRÁFICO Nº 3.46: Muestras Positivas y Negativas de la Determinación Alcohol Metílico



Interpretación de Resultados

En el período de Noviembre de 2012 – Abril 2013 se trabajaron 60 muestras las cuales al realizar el análisis cuantitativo el 15% resultaron positivas, los 85% restantes son negativos, de esta manera se puede establecer que existen productos (bebidas alcohólicas), que a más de contener alcohol etílico presentan alcohol metílico.

Tabla Nº 3.11: Datos de la Cuantificación de Alcohol Metílico en Muestras de Humor Vítreo (Positivas)

CUANTIFICACIÓN DE ALCOHOL METÍLICO EN MUESTRAS DE HUMOR VÍTREO (POSITIVAS) EN EL PERÍODO DE NOVIEMBRE DEL 2012 – ABRIL DEL 2013



Muestra N° 14 •0,33 cg/L	Muestra N° 25 •0,21 cg/L	Muestra N° 37 •0,13 cg/L
Muestra N° 40 •0,8 cg/L	Muestra N° 50 •0,17 cg/L	Muestra N° 52 •0,10 cg/L
Muestra N° 55 •0,29 cg/L	Muestra N° 56 •0,92 cg/L	Muestra N° 60 •0,64 cg/L

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

GRÁFICO Nº 3.47: Cuantificación de Alcohol Metílico en Muestras de Humor Vítreo (positivas) en el Período de Noviembre del 2012 – Abril del 2013



Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de química forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo

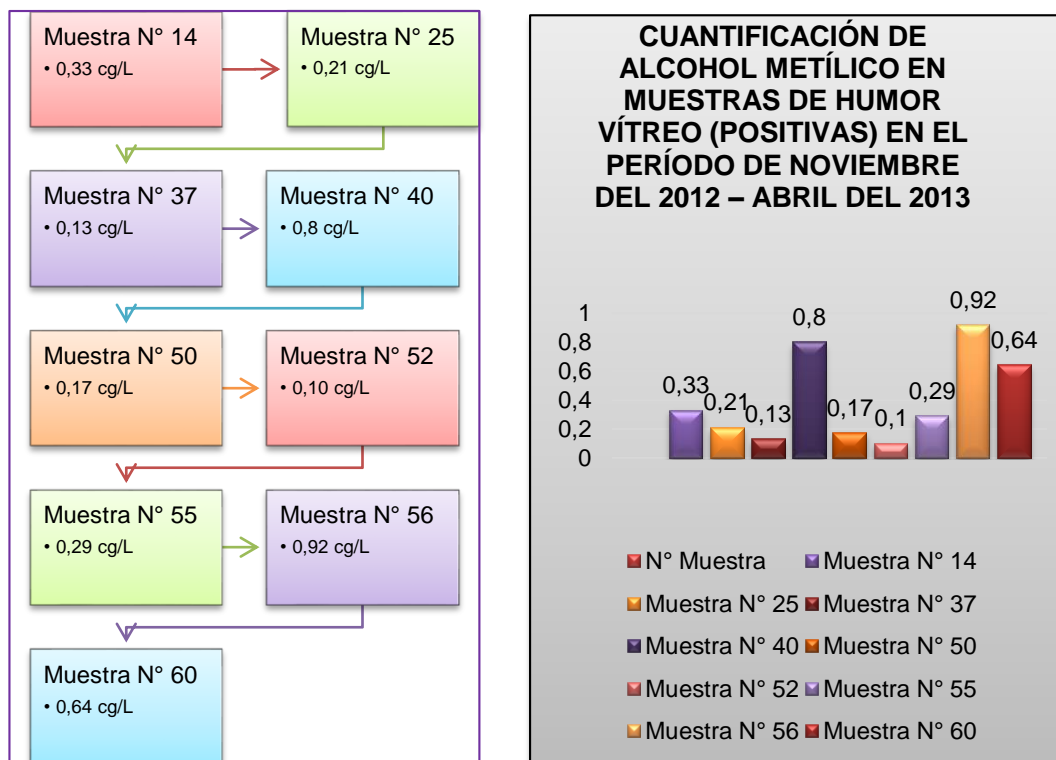
Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

Interpretación de Desultados

Durante el período de estudio se obtuvo como resultado de las 60 muestras analizadas, 9 fueron positivas representando el 15%, dándonos diferentes concentraciones (baja 0, 29, medianas 0, 64 y altas 0, 92), evidenciando que determinadas bebidas alcohólicas no tienen un riguroso control, ya que se puede observar la presencia de alcohol metílico, al ser ingerido provoca daños en el organismo y en algunos casos hasta la muerte.

3.9 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS:

Tabla Nº 3.11: Datos de la Cuantificación de Alcohol Metílico en Muestras de Humor Vitreo Positivas



En la tabla 3.11 y la ilustración del gráfico se puede evidenciar que de las 60 muestras de humor vitreo tomadas de los cadáveres, una vez aplicado el método de cromatografía de gases, el 15% resultaron positivas, y el 85% restante son negativas, de esta manera se puede concluir que la hipótesis prevista en la investigación, queda comprobada, ya que este método es de amplia efectividad para la determinación exacta del toxico.

CAPÍTULO IV

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- Por medio de la cromatografía de gases se determinó la presencia de alcohol metílico en muestras de humor vitreo que ingresaron al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo.
- Nuestro estudio investigativo se revisó a través de fuentes bibliográficas y medios tecnológicos electrónicos sobre la toxicocinética del alcohol metílico, desde su absorción, distribución, metabolismo y eliminación, identificando así el comportamiento del tóxico en el ser humano.
- Mediante el proceso de destilación se consiguió separar el metabolito del metanol a partir de las muestras de humor vítreo, en su máxima concentración y pureza.
- A través de la prueba cualitativa del ácido cromotrópico se identificó el formaldehído y mediante la cromatografía de gases se determinó la concentración exacta del tóxico de cada una de las muestras que ingresaron al Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo.
- Después de tabular los datos obtenidos para el análisis de alcohol metílico, se concluyó que de las 60 muestras procesadas, 9 de ellas resultaron positivas lo que significa el 15%, mientras que 51 fueron negativas, que representa el 85% del total de las muestras analizadas durante el tiempo de estudio de la presente investigación. Por consiguiente existe un alto índice de intoxicación a causa de este tóxico por diferentes factores y causas de consumo.

4.2 RECOMENDACIONES

- En la toma de muestra se debe cumplir con todos los pasos de ley entre ellos la cadena de custodia para evitar errores al momento de la toma, transporte, recepción y análisis de la misma, y de esta manera dar una adecuada identificación del tóxico en estudio para los fines legales investigativos.
- Conociendo que las muestras biológicas producen contaminación y las muestras químicas producen intoxicación, se recomienda utilizar todas las normas de bioseguridad en el laboratorio (mandil, guantes, mascarilla, gafas, etc.).
- Al realizar la extracción del toxico volátil mediante destilación se debe tomar en cuenta la temperatura, y conseguir una adecuada purificación y extracción del compuesto en estudio y obtener resultados confiables y satisfactorios.
- En la cuantificación por cromatografía de gases se recomienda revisar que no exista fuga de gases de la fase móvil (nitrógeno) y del hidrógeno con la finalidad de evitar errores cuantitativos y accidentes en el área de trabajo de laboratorio.
- En la preparación del estándar y del estándar interno se lo debe realizar con precisión y exactitud con la finalidad de evitar errores durante la cuantificación mediante cromatografía de gases.
- Los reactivos utilizados para las pruebas deben ser recién preparados para obtener resultados confiables y precisos.

BIBLIOGRAFÍA:

1. (Barrios. C,) Repetto M. Toxicocinética. En: M. Repetto (ed) Toxicología de postgrado 06. Área de Toxicología Univ. Sevilla, 2006
2. (MONCAYO. W) Recopilación de Técnicas Toxicológicas (Manual).
3. (VALLEJO. M) Manual de análisis toxicológicos. Colombia 1975 1^{ra} Edición.
4. (VALLEJO. M) MANUAL DE ANÁLISIS TOXICOLÓGICO, BOGOTA-COLOMBIA 1986, Primera Edición.
5. (Investigación Policial, Tomo III).Investigación Policial, Procedimientos y Técnicas científicas Tomo III.

LINKOGRAFÍA:

1. Alcohol Metílico, (en línea).Disponible en:
<<http://www.qb.uson.mx/pissa/frames/hojas/alcohol%20metilico.pdf>>
10. Cromatografía, (en línea).Disponible en:
<http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio//es_ES//investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf>
11. Cadena de Custodia, (en línea).Disponible en: <http://www.bonesforum.blogspot.com/.../cadena-de-custodia>.
12. Normas de Bioseguridad, (en línea).Disponible en:
<<http://www.enbuenasmanos.com/articulos/normasdebioseguridad?art=2825>>
2. Metanol, (en línea).Disponible en:
<<http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicología/.../metanol.html>>
3. Ventajas y Desventajas, (en línea).Disponible en:
<<http://www.enbuenasmanos.com/articulos/muestra.asp?art=2825>>

4. Farmacología, (en línea).Disponible en:
<http://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologiaespecifica/ToxAlim/ToxAlim_L22d.pdf>
5. Etilismo, (en línea).Disponible en:
<<http://www.dep19.san.gva.es/servicios/urgencias/files/protocolos/etilismo-final.pdf>>
6. Toxicología Metanol, (en línea).Disponible en:
<<http://www.fundacionbarcelo.com.ar/medicina/toxicologia%20medicina/Metanol%20y%20glicoles.pdf>>
7. Muestras para la Determinación del Metanol, (en línea).Disponible en:
<<http://books.google.com.ec/books?id=tGifQZogzZ0C&pg=PA353&lpg=PA353&dq=muestras+para+la+determinacion+del+etanol+en+humor+vitreo&source=bl&ots=p2M8OboDD6&sig=kPs->>>
8. Destilación, (en línea).Disponible en:
<http://www.bedri.es/Comer_y.../La_destilacion.htm >
9. Cromatografía, (en línea).Disponible en: Fuente:
<<http://www.S//investigación/cromatografía/cromatografía>>

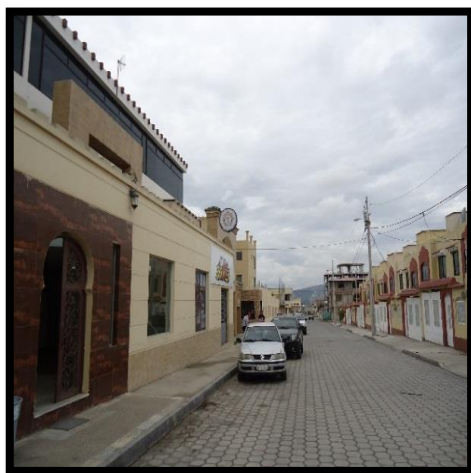
ANEXOS

ANEXO N° 1: Anfiteatro del Cementerio Municipal de la Provincia Chimborazo



Fuente: Fotos tomadas en el Cementerio General de la Ciudad de Riobamba
Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO N° 2: Oficina de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

**ANEXO N° 3: Área de Trabajo del Laboratorio de Química Forense
de la Policía Judicial de Chimborazo**



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO N° 4: Reactivos y Solventes Existentes en el Laboratorio de Química Forense



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO N° 5: Equipos Existentes en el Laboratorio de Química Forense

REFRIGERADORES



EXTRACTOR DE GASES



CROMATÓGRAFO DE GASES



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO N° 6: Toma de Muestra de Humor Vítreo por Parte del Perito de Turno



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO 7: Recepción de Muestra y Cadena de Custodia por Parte del Químico Analista en el Laboratorio de Química Forense



Fuente: Fotos tomadas en Cementerio General de la Ciudad de Riobamba

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO N° 8: Revisión de Datos de Identificación Requeridos



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO N° 9: Refrigeración de la Muestra si el Análisis no es Inmediato



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO N° 10: Muestras Positivas para la Cuantificación por Medio de Cromatografía de Gases



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO N° 11: Soluciones Estándar y Estándar Interno para Cromatografía de Gases



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO N° 12: Muestra Positiva de Alcohol Metílico



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO N° 13: Equipo de Cromatografía de Gases para la Cuantificación de Alcohol Metílico



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

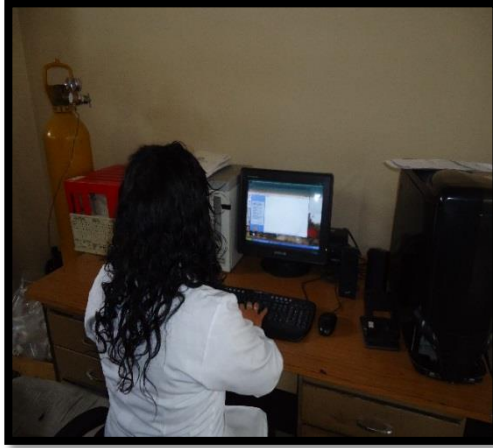
ANEXO N° 14: Microjeringa Inyectada en la Cabeza de la Columna Cromatográfica



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO 15: Revisión de Resultados Cuantitativos



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

ANEXO 16: Entrega de Resultados al Fiscal de Turno



Fuente: Fotos tomadas en el Laboratorio de Química Forense del Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo

Realizado por: Machado Paola, Salazar Nadia

