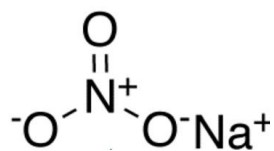




UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
SECCION DE BIOQUÍMICA Y FARMACOLOGIA HUMANA

MANUAL DE LABORATORIO TOXICOLOGIA



NOMBRE DEL ALUMNO:

GRUPO:

EQUIPO:

ASIGNATURA: TOXICOLOGIA

CLAVE CARRERA:10539 CLAVE ASIGNATURA:1737

CLAVE CARRERA:10540 CLAVE ASIGNATURA:1741

REVISION: FEBRERO 2026



INDICE

Introducción	2
Objetivos	3
Reglamento	4
Carta compromiso sobre Bienestar Animal, Uso de Material de Laboratorio y Criterios de Evaluación.....	6
Relación de las actividades experimentales con el programa de la asignatura.....	7
Cronograma.....	8
Criterios de evaluación	9
Material de uso común.....	11
Seguridad en el laboratorio	12
Práctica 1 Determinación de metanol en bebidas alcohólicas.....	16
Práctica 2. Determinación de plomo en vasijas de barro	23
Práctica 3. Determinación de etanol en una muestra biológica	30
Práctica 4. Identificación y cuantificación de cianuro en muestras vegetales.....	34
Práctica 5. Determinación de CL ₅₀ con artemias salinas.....	41
Práctica 6. Toxicidad aguda en semillas	49
Práctica 7. Determinación de nitritos en embutidos.....	56
Práctica 8. Determinación de alcaloides en orina	61
Práctica 9. Producción de metahemoglobina por nitritos y efecto protector de azul de metileno	67
Hojas para examen	72
Vales para solicitar material	82



INTRODUCCIÓN

A manera de introducción se puede decir que la Toxicología es la ciencia que estudia los efectos nocivos de los xenobióticos con los que pueden estar expuestos los organismos y es de vital importancia determinar la presencia de los principios activos y/o sus metabolitos principales en diferentes muestras orgánicas. Para esto se requiere la identificación rápida y confiable de las sustancias tóxicas que causan un cuadro clínico en estudio, por ello, es imprescindible capacitar al estudiante en el análisis químico Toxicológico en las diferentes áreas y en la interpretación de resultados en el campo analítico y para lograrlo es indispensable reconocer un laboratorio de Análisis Instrumental y su Aplicación a la Toxicología.

El laboratorio de Toxicología forma parte del plan de estudios de la Licenciatura de Bioquímica Diagnóstica y la Licenciatura en Farmacia, en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo I de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Estas prácticas han sido aportaciones de diferentes dependencias gubernamentales, trabajos de tesis, artículos científicos y técnicas realizadas en la actualidad, las cuales aportan al estudiante un mejor entendimiento del campo laboral relacionado con la Toxicología y se desarrollan en concordancia con el programa de estudios.

El manual presenta nueve prácticas, relacionadas con los conceptos seguidos en la teoría. Cada práctica consta de una introducción general al tema con el fin de darle una idea al estudiante sobre los conceptos que se van a trabajar, para que él con ayuda de las preguntas indicadas en la investigación previa pueda ahondar en estos conceptos y sea capaz de integrarlos y entender plenamente el tema. También se da a conocer al estudiante el objetivo general que se plantea para cada práctica y el cual se espera cumpla al final de ésta.

Se enlista el material y reactivos a utilizar en cada práctica y se desglosa de manera sencilla y lógica la metodología experimental a seguir para cumplir con los objetivos. Cada práctica cuenta además con tablas para que el alumno llene con sus resultados experimentales y una orientación para la disposición de los residuos generados durante su trabajo experimental.

El reporte se le pide al alumno en equipo y en formato de artículo para que además de lograr el análisis de sus resultados se vaya acostumbrando al diseño y elaboración de un artículo con todas sus partes.



OBJETIVO GENERAL DE LA ASIGNATURA

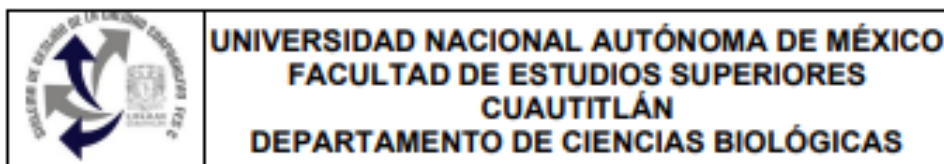
Comprender las áreas de estudio de la toxicología, que están relacionadas con el conocimiento de los xenobióticos a los cuales están expuestos los organismos en el medio ambiente.

Comprender el evento toxicológico al estudiar las etapas que lo integran para conocer el riesgo asociado a la dosis, tiempo de exposición, tipo de agente tóxico y el efecto inducido, así como los factores que lo modifican.

Reconocer la importancia de la toxicología en diferentes áreas con objeto de identificar y prevenir el riesgo, para que pueda aplicar dichos conocimientos durante su desarrollo profesional.

OBJETIVO DEL CURSO EXPERIMENTAL

El alumno aprenderá a identificar, extraer y cuantificar algunos principios activos presentes en diversas muestras biológicas con la finalidad de que conozca las técnicas y la utilización del equipo para este propósito y pueda inferir si el contenido del principio activo es nocivo o no a los organismos.



REGLAMENTO GENERAL PARA LOS LABORATORIOS DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

- 1) Este reglamento aplicará para personal académico, alumnos y laboratoristas.
- 2) Para todo trabajo realizado en el laboratorio, sobre la vestimenta se deberá utilizar bata blanca, con manga larga completamente abotonada, calzado cerrado o la vestimenta adecuada en cada laboratorio, así como traer el equipo de protección personal y el material requerido para la realización de la práctica.
- 3) La persona que use el pelo largo, deberá recogerlo, por seguridad.
- 4) La tolerancia para el inicio de la sesión de laboratorio será hasta de 10 minutos a partir del horario indicado para el inicio de la práctica.
- 5) Por seguridad, las puertas del laboratorio se mantendrán sin llave durante las prácticas y en caso de siniestro se deberán atender obligatoriamente las indicaciones de evacuación del personal de protección civil y/o brigadistas.
- 6) En todo momento se mantendrá una conducta de orden y disciplina en el área de trabajo.
- 7) Es obligación de todos para el buen funcionamiento de las prácticas, mantener limpio y ordenado el lugar de trabajo.
- 8) Queda prohibido en los laboratorios:
 - a) El ingreso a toda persona que no porte los elementos personales de protección mínimos requeridos.
 - b) Tirar basura fuera del cesto.
 - c) Ingerir alimentos y/o bebidas.
 - d) Fumar.
 - e) Recibir visita.
 - f) Colocar en las puertas de acceso o salida de emergencia cualquier objeto que imposibilite la evacuación.
 - g) La entrada a los inter-laboratorios a toda persona ajena a los mismos.
 - h) Realizar reuniones o convivios en los laboratorios.
 - i) Salir del laboratorio en el horario asignado para la sesión experimental.
 - j) Sentarse sobre las mesas de trabajo.
 - k) Mover el mobiliario de su lugar.
 - l) Utilizar las gavetas para guardar material que no corresponda a la asignatura.
 - m) Usar gorra ajena a las actividades de laboratorio.
 - n) El uso de audifonos y/o cualquier aparato o dispositivo electrónico ajeno al propósito de las actividades que se realicen.
- 9) Los residuos peligrosos deben depositarse en los contenedores destinados para tal fin, entendiendo por residuo peligroso: elementos, sustancias, compuestos, desechos o mezclas de ellos que en cualquier estado físico representan un riesgo para el ambiente, la salud o los recursos naturales, por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables o biológico-infecciosas (Art. 3º de la Ley General del Equilibrio y Protección del Ambiente).
- 10) El acceso al laboratorio se permitirá únicamente cuando esté presente uno de los profesores del grupo.



- 11) El uso del laboratorio para clases teóricas deberá cumplir con los incisos 2, 6 y 7 del presente reglamento y registrarlo en la bitácora.
- 12) El uso del laboratorio para trabajo extraordinario deberá programarse con el profesor responsable en un horario que no interfiera con el destinado para el desarrollo de las prácticas y registrarlo en la bitácora.
- 13) Para solicitar material y equipo, es requisito indispensable que el alumno firme el vale de material, dejando como depósito la credencial vigente de la UNAM.
- 14) El alumno deberá revisar el material y/o equipo al momento de recibirlo indicando cualquier anomalía (faltante o material dañado) y será devuelto en las condiciones en que se recibió.
- 15) A la persona que, por su negligencia o descuido inexcusable, cause daños al laboratorio, materiales o equipo, deberá cubrir los gastos que se generen con motivo de la reparación y/o reposición.
- 16) Los usuarios de laboratorios que sean sorprendidos haciendo uso indebido de equipos, sustancias, materiales, instalaciones, y demás implementos, serán sancionados conforme a la legislación universitaria que le corresponda, según la gravedad de la falta cometida.
- 17) El incumplimiento a estas disposiciones faculta al responsable para que instruya la salida del infractor y en caso de resistencia, la suspensión de la práctica.

Atentamente

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Estado de México a 5 de agosto del 2024

VoBo Comité de Calidad de Ciencias Biológicas	
Jefe del Comité de Calidad: M.C. Elizabeth Miranda Hernández 	
Representante del Jefe de CC: M.C. Ericka Torres Pérez 	
Jefes de Sección	Responsables de Calidad
I.A. Miriam Álvarez Velasco 	Q.F.B. Gabriela Escalante Reynoso 
Q.F.B. María de Lourdes Galván Ruiz 	Q.F.B. Ladislao Palomar Morales 
M.C. Javier Froylán Lazcano Reyes 	M.V.Z. Luis Jesús López Morales 
M. en M.V.Z. Sonia Torres Patiño 	M.C.E. Andrea De Santos López 
M.V.Z. Edna Maribel Legaspi Nuevo 	M.V.Z. Yesica Virginia Torres Durán 



CARTA COMPROMISO SOBRE BIENESTAR ANIMAL, USO DE MATERIAL DE LABORATORIO Y CRITERIOS DE EVALUACIÓN

Los alumnos de la asignatura de Toxicología, de la carrera de _____ grupo _____ en el semestre 2026-II, nos comprometemos de manera consciente y voluntaria a respetar y velar por el bienestar de los animales que se utilicen en la práctica de Metahemoglobina. Para ello, nos comprometemos a seguir en todo momento los principios éticos del uso de animales en la experimentación científica, aplicando el principio de las 3R (reducir, reemplazar y refinar), así como a acatar las indicaciones del docente responsable y el reglamento institucional vigente.

Nos abstendremos de realizar cualquier acción que cause sufrimiento innecesario, maltrato o daño a los animales utilizados, asumiendo plenamente la responsabilidad ética y académica que esto implica.

Asimismo, nos comprometemos a hacer un uso adecuado, responsable y cuidadoso del material y equipo de laboratorio asignado durante la práctica. En caso de que algún material de uso grupal se rompa, se extravíe o resulte dañado por mal uso, el costo correspondiente deberá ser cubierto por la totalidad del grupo.

De igual manera, estamos enterados de que para poder obtener la calificación final de la asignatura será requisito indispensable que todo el material pendiente haya sido cubierto en su totalidad, sin excepción.

En relación con las inasistencias, se nos informa que la presentación de un justificante únicamente servirá para eliminar la falta administrativa y evitar la baja por acumulación de inasistencias; sin embargo, la práctica correspondiente no será calificada bajo ninguna circunstancia. La calificación de dicha práctica se considerará como no realizada y seguirá contabilizando para el promedio final del laboratorio, afectándolo conforme a los criterios de evaluación establecidos.



RELACION DE LAS ACTIVIDADES EXPERIMENTALES CON EL PROGRAMA DE LA ASIGNATURA

Práctica de laboratorio	Número y nombre de la Unidad Temática en el programa de la Asignatura
Identificación y cuantificación de cianuro en muestras vegetales	Unidad 1. Introducción
Cuantificación de metanol en bebidas alcohólicas	Unidad 2. Conceptos básicos de importancia toxicológica
Determinación de nitritos en embutidos	Unidad 2. Conceptos básicos de importancia toxicológica
Determinación de la CL50 con artemias	Unidad 2. Conceptos básicos de importancia toxicológica
Toxicidad aguda en semillas de	Unidad 2. Conceptos básicos de importancia toxicológica
Cuantificación de plomo en vasijas de barro	Unidad 3. Bases moleculares de la toxicología Unidad 5. Efectos fisiopatológicos de origen tóxico
Determinación de alcaloides en orina	Unidad 4. Biotransformación
Determinación de etanol en una muestra biológica	Unidad 5. Efectos fisiopatológicos de origen tóxico
Determinación de metahemoglobina	Unidad 5. Efectos fisiopatológicos de origen tóxico



CRONOGRAMA 2026-II

CARRERA	GRUPO	PROFESORES DE LABORATORIO
BQD	2701	QFB Gabriela Escalante Reynoso, Dra. Dolores Molina Jasso
BQD	2751	Dra. Patricia Ramírez Noguera, Dra. Azucena Lee Mendoza, Dra Sofia Piña Olmos
BQD	2752	Dra. Dolores Molina Jasso, Dra Laura Denise López Barrera, MD Ma. Veronica Vazquez Cianca
F	2751	Dra. Dolores Molina Jasso, Dra. Azucena Lee Mendoza, Dra Laura Denise López Barrera

SEMANA	ACTIVIDAD
1	-----
2	Inscripción y presentación del curso
3	Determinación de metanol en bebidas alcohólicas
4	- Determinación de plomo en vasijas de barro - Determinación de etanol en una muestra biológica
5	Discusión del bloque 1
6	Identificación y cuantificación de cianuro en muestras vegetales
7	- Determinación de CL₅₀ con artemias salinas - Toxicidad aguda en semillas, <i>parte 1</i>
8	- Toxicidad aguda en semillas, <i>parte 2</i> - Determinación de nitritos en embutidos
9	Discusión del bloque 2
10	Determinación de alcaloides en orina
11	Producción de metahemoglobina y efecto protector del azul de metileno
12	Inhábil
13	Discusión del bloque 3/ Examen final
14	Inhábil
15	Entrega de calificaciones
16	-----



CRITERIOS DE EVALUACIÓN

La evaluación del curso consiste en el 70% de teoría y 30% de laboratorio.
La evaluación del laboratorio se hará con base en:

CONCEPTO	PORCENTAJE
Promedio de prácticas	70
Exámen final	20
Seminarios	10

ASISTENCIA. Es requisito indispensable para acreditar el laboratorio, tener el 80% del total de prácticas y demás actividades realizadas y aprobadas.

PUNTUALIDAD. Se dará una tolerancia de **10 minutos** para la entrada a la práctica, lo cual no significa que siempre se les permitirá la entrada a la hora indicada y 10 minutos, es obligación de todos estar a la hora de la sesión.

PROMEDIO DE PRÁCTICAS. Para obtener el promedio de cada práctica se consideran el trabajo en el laboratorio, el reporte y el examen previo (se realizará el día de la práctica y solo será válido si se realiza en las hojas destinadas para ello proporcionadas en el manual y si es resuelto con tinta negra o azul).

EXAMEN FINAL. Se realizará después de la última discusión e incluirá preguntas y problemas de las prácticas que se realizaron.

TRABAJO EN EL LABORATORIO. El trabajo de laboratorio se evalúa de acuerdo con el desarrollo que cada alumno tiene durante la práctica y el desempeño que tengan del trabajo a realizar, mediante un rubrica considerando que se llenará cada sesión experimental. De igual forma se consideran los resultados obtenidos durante la experimentación, así como el orden y limpieza en que se anotan en el manual. El **cuestionario previo se entrega el día de la práctica** y debe de llevar referencias al igual que el **diagrama de flujo que debe de incluir** en su mayoría **imágenes**.

REPORTE. Se entrega una semana después de realizada la práctica. Se entrega por equipo con un formato de artículo impreso por ambos lados y a dos columnas que debe incluir:



Formato del Reporte

Título: Original diferente al del manual, resaltar dos puntos en el tamaño de letra y con negritas Autores: Apellido, Primera letra del Nombre; en orden alfabético Carrera, Asignatura, Grupo, Equipo, Fecha de entrega (0.5 pto)	
Resumen: Renglón corrido de 250-300 palabras o 12-15 renglones. Expresar las generalidades del objetivo de su trabajo, que se hizo, como se hizo, que resultados obtuvieron y que concluyen de esos resultados Palabras clave: 4-6 palabras clave Abstract: Traducción del resumen a idioma ingles Keywords: 4-6 en inglés (0.5 ptos)	
Introducción: Dos columnas, máximo 3, incluir citas. (0.5 ptos) • Antecedentes • Toxicocinética, toxicodinámica. • Datos de referencia, límites máximos permisibles. • LOAEL: Lowell Observable Adverse Effect Levels • Normatividad o legislación aplicada en la regulación y control de tóxicos. • Redacción a modo impersonal. • Redacción de objetivos	Discusión: Columnas que considere necesarias (3.0 ptos) • Justificación de resultados con base en la literatura citada. • Explicar el porqué de los resultados obtenidos independientemente de si son los esperados o no. • Indicar los efectos toxicológicos si existe una exposición al xenobiótico evaluado y que cantidad sería necesaria para producir el efecto, considerar variables biológicas.
Materiales y métodos: Media columna, máximo una columna. (0.5 ptos) Redacción de la descripción general de la metodología empleada (concentraciones, volúmenes, temperatura)	Conclusiones: Máximo media columna (1.5 ptos) Claras, concretas tomando en cuenta los resultados y los objetivos.
Resultados: Columnas que considere necesarias (2.5 ptos) • Cálculos: Solo un ejemplo explicando el método de cálculo. • Tablas: Título en el parte superior acompañado de la descripción o anotaciones • Gráficos: Título en el pie de la gráfica. Acompañada de una breve descripción. • Figuras: Título en el pie de figura. Descripción que indique lo que se quiere transmitir con la figura.	Referencias: Mínimo 7 (0.5 ptos) Estilo APA *Las imágenes y las gráficas deben de estar acorde al formato APA Presentación (0.5 ptos) • Ortografía • Calidad de la impresión • Imágenes, graficas, tablas de la práctica • Impresión a doble cara • Tamaño de letra 12



MATERIAL DE USO COMÚN

I. MATERIAL INDIVIDUAL

Manual de prácticas engargolado con pastas de color NARANJA tamaño carta
Bata blanca de manga larga hasta la rodilla limpia y en buenas condiciones
Cubrebocas nivel 3
Guantes de nitrilo
Lentes de seguridad aun cuando se usen anteojos
Propipeta o perilla individual
Marcador indeleble de punto fino
Escobillón
Regla y tijeras
Cerillos o encendedor
Franela grande y jerga
Detergente para trastes
1 rollo de servitoallas desechables
1 pinzas de disección
Masking

II. MATERIAL POR EQUIPO

Fecha	Práctica	Muestra
16-19-Febrero-2026	Determinación de metanol en bebidas alcohólicas	100 ml de bebida alcohólica
23-27-Febrero-2026	- Determinación de plomo en vasijas de barro - Determinación de etanol en una muestra biológica	3 vasijas de barro iguales con capacidad de 100 mL - Aguja 21x32 - Sistema vacutainer - Tubo de EDTA
9-13-Marzo-2026	Identificación y cuantificación de cianuro	2 g de la semilla elegida - Yuca o sorgo 20 g
16-20-Marzo-2026	- Determinación de CL₅₀ en artemias salinas - Toxicidad aguda de semillas <i>parte 1</i>	1 bolsa de artemias salinas *Papel filtro para la de semillas - Detergente
23-27-Marzo-2026	- Toxicidad aguda en semillas <i>parte 2</i> - Determinación de nitritos en embutidos	- Embutido 1 g - Regla
13-17-Abril-2026	Determinación de alcaloides en orina	Muestra de orina de una persona que haya consumido drogas de abuso
20-24-Abril-2026	Producción de metahemoglobina y efecto protector del azul de metileno	2 agujas insulínicas - Tubo de EDTA



SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

El término seguridad en el laboratorio se refiere a controlar en la medida de lo posible a controlar aquellas circunstancias de riesgo que nos pueden llevar a tener un accidente. En el laboratorio de toxicología al estudiar sustancias tóxicas por su misma naturaleza es importante concientizar a los alumnos para que hagan un buen manejo de estas, así como de los reactivos empleados ya que de igual forma muchos de ellos son venenos o ácidos o bases fuertes. Es indispensable por lo tanto el uso adecuado y constante del equipo de seguridad.

Otro aspecto relevante en los aspectos de seguridad, son los primeros auxilios, los cuales son los cuidados o la ayuda inmediata, temporal y necesaria que se le da a una persona que ha sufrido un accidente, enfermedad o agudización de ésta hasta la llegada de un médico o profesional paramédico que se encargará, sólo en caso necesario, del trasladado a un hospital tratando de mejorar o mantener las condiciones en las que se encuentra.

Es imprescindible el contar con las hojas de datos de seguridad de las sustancias químicas con que se trabaja en el laboratorio para consulta específica en caso de accidente, así como conocer los símbolos de peligrosidad o pictogramas que aparecen en las etiquetas e informan mediante un dibujo, del peligro que conlleva su manejo y de las precauciones que deberán aplicarse. Existen 10 símbolos distintos. Los cuatro primeros están relacionados con la posibilidad de provocar una explosión, iniciar un incendio o favorecer la amplitud de incendios ya declarados. Es fundamental que las sustancias que lleven cualquiera de estos símbolos se almacenen en el laboratorio en lugares convenientes, debidamente aislados y alejados de las fuentes de calor. Los otros seis símbolos están relacionados con el potencial tóxico de las sustancias para los seres vivos, sus propiedades corrosivas e irritantes.

- **EXPLOSIVOS:** Sustancias y preparados que pueden explosionar bajo el efecto de una llama o que son más sensibles a los choques o a la fricción que el dinitrobenceno.
- **COMBURENTES:** Sustancias y preparados que, en contacto con otros, particularmente con los inflamables, originan una reacción fuertemente exotérmica.
- **INFLAMABLES:** Sustancias y preparados cuyo punto de destello sea igual o superior a 21°C e inferior o igual a 55 °C.
- **EXTREMADAMENTE INFLAMABLES:** Sustancias y preparados líquidos cuyo punto de destello sea inferior a 0 °C, y su punto de ebullición inferior o igual a 35°C.



- **TÓXICOS:** Sustancias y preparados que por inhalación, ingestión o penetración cutánea puedan entrañar riesgos graves, agudos o crónicos e incluso la muerte.
- **MUY TÓXICOS:** Sustancias y preparados que por inhalación, ingestión o penetración cutánea puedan entrañar riesgos extremadamente graves agudos o crónicos e incluso la muerte.
- **CORROSIVOS:** Sustancias y preparados que en contacto con los tejidos vivos puedan ejercer sobre ellos una acción destructiva.
- **NOCIVOS:** Sustancias y preparados que por inhalación, ingestión o penetración cutánea puedan entrañar riesgos de gravedad limitada.
- **IRRITANTES:** Sustancias y preparados no corrosivos que por contacto inmediato, prolongado o repetido con la piel o mucosas puedan provocar una reacción inflamatoria.
- **PELIGRO BIOLÓGICO:** bacterias y virus que entrañen peligro para personas y/o animales.
- **PELIGROSOS PARA EL MEDIO AMBIENTE:** Sustancias y preparados cuya utilización presenta o puedan presentar riesgos inmediatos o diferidos para el medio ambiente.

Además, se busca en esta sección brindar al alumno la información básica necesaria para actuar en forma adecuada durante una emergencia o accidente. Lo más importante siempre es **AVISAR A SU ASESOR Y SEGUIR SUS INSTRUCCIONES**.

Los accidentes más frecuentes en el laboratorio de toxicología son:

1.- Cortes y heridas

Quitar cualquier prenda de vestir que cubra la herida, protegerse las manos con guantes o una bolsa de plástico limpia. Lavar la parte del cuerpo afectada con agua y jabón. No importa dejar sangrar algo la herida, pues ello contribuye a evitar la infección. Aplicar después agua oxigenada y cubrir con gasa, tapar después con gasa esterilizada y sujetar con venda o tela adhesiva. Si persiste la hemorragia o han quedado restos de objetos extraños (trozos de vidrio, etc.), se acudirá a un centro sanitario.



2.- Quemaduras o corrosiones

- Por fuego u objetos calientes:

Nota: Quitar la ropa que cubra el área afectada, si está pegada a la zona no quitar

QUEMADURA	QUÉ HACER	QUÉ NO HACER
Primer grado (enrojecimiento, inflamación ligera y dolor)	Aplique agua fría y/o una gasa esterilizada seca	No aplique ningún ungüento casero
Segundo grado (formación de ámpulas, inflamación, dolor severo)	Sumerja en agua fría, seque con una tela esterilizada. Consiga atención médica.	No reventar ámpulas, no quitar jirones de tejido.
Tercer grado (presencia de tejido carbonizado, no hay dolor)	Cubra con una tela estéril. Consiga atención médica.	No retirar ropa pegada, no aplicar hielo.

- Por ácidos, en la piel. Cortar lo más rápidamente posible la ropa empapada por el ácido. Agregar abundante agua a la parte afectada. Neutralizar la acidez de la piel con disolución de bicarbonato sódico al 1%. (Si se trata de ácido nítrico, utilizar disolución de bórax al 2%). Después vendar.

- Por álcalis, en la piel. Aplicar agua abundante y aclarar con ácido bórico, disolución al 2 % o ácido acético al 1 %. Después secar, cubrir la parte afectada con pomada y vendar.

- Por otros productos químicos. En general, eliminar los fluidos emanados con grandes cantidades de agua cuando menos por 5 minutos. Conseguir atención médica.

3.- Salpicaduras en los ojos

- Por ácidos. Inmediatamente después del accidente irrigar los dos ojos con grandes cantidades de agua templada de ser posible. Mantener los ojos abiertos, de tal modo que el agua penetre debajo de los párpados. Continuar con la irrigación por lo menos durante 15 minutos. A continuación, lavar los ojos con disolución de bicarbonato sódico al 1 % con ayuda de la bañera ocular, renovando la disolución dos o tres veces, dejando por último en contacto durante 5 minutos. Obtener ayuda médica.

- Por álcalis. Inmediatamente después del accidente irrigar los dos ojos con grandes cantidades de agua, templada a ser posible. Mantener los ojos abiertos, de tal modo



que el agua penetre debajo de los párpados. Continuar con la irrigación por lo menos durante 15 minutos. A continuación, lavar los ojos con disolución de ácido bórico al 1 % con ayuda de la bañera ocular, renovando la disolución dos o tres veces, dejando por último en contacto durante 5 minutos.

- Por otros productos químicos. Inmediatamente después del accidente, irrigar ambos ojos con grandes cantidades de agua, a ser posible templada, a chorro o con ayuda de una pera de goma grande. Mantener los ojos abiertos. Si es necesario, coger los párpados, estirarlos hacia el exterior de modo que el agua penetre por debajo de los mismos. Continuar la irrigación al menos 15 minutos.

4.- Ingestión de productos químicos

Antes de cualquier actuación concreta: REQUERIMIENTO URGENTE DE ATENCIÓN MÉDICA. Retirar el agente nocivo del contacto con el paciente. No darle a ingerir nada por la boca ni inducirlo al vómito.

- Ácidos corrosivos. No provocar jamás el vómito. Administrar lechada de magnesia en grandes cantidades. Administrar grandes cantidades de leche.

- Álcalis corrosivos. No provocar jamás el vómito. Administrar abundantes tragos de disolución de ácido acético al 1 %. Administrar grandes cantidades de leche.

5.- Inhalación de productos químicos

Aislar a la víctima de la atmósfera tóxica y hacerle respirar aire puro. Si se observa paro respiratorio practicarle las maniobras de resucitación en el ambiente exterior del mismo lugar del accidente.

Referencias:

- ❖ Hackett, W. y Robbins, G. (1992). Manual de Seguridad y Primeros Auxilios. Editorial Alfaomega.
- ❖ Garibay, C., Peláez, I. 2006. Manual de Primeros auxilios Básicos. UNAM.
- ❖ Mateo, P., González, A. 2004. Manual para el Técnico en prevención de riesgos laborales. FC Editorial, Tomo I.
- ❖ <http://www.quimicaweb.net/ciencia/paginas/laboratorio/auxilios.html> (Agosto 2008)
- ❖ <http://www.quimicaweb.net/ciencia/paginas/laboratorio/normas.html> (Agosto 2008)



Práctica 1

Determinación de metanol en bebidas alcohólicas

El metanol es un líquido incoloro, venenoso, con olor a etanol y cuando está puro puede tener un olor repulsivo. Arde con flama no luminosa. Es utilizado industrialmente como disolvente; materia prima en la obtención de formaldehído, metil-ter-butil éter, ésteres metílicos de ácidos orgánicos e inorgánicos. También es utilizado como anticongelante en radiadores automovilísticos; en gasolinas y diesel; en la extracción de aceites de animales y vegetales y agua de combustibles de automóviles y aviones; en la desnaturalización de etanol; como agente suavizante de plásticos de piroxilina y otros polímeros y como disolvente en la síntesis de fármacos, pinturas y plásticos (UNAM, 2016).

El consumo de bebidas alcohólicas adulteradas se considera un serio problema de salud pública debido a la alta toxicidad y mortalidad asociada a ellas (que puede llegar hasta al 50% de los casos), por lo que requiere de un tratamiento oportuno de cuidados intensivos hospitalarios. Durante la pandemia el problema de intoxicación aumentó debido al confinamiento que prevalecía y a la poca distribución de bebidas alcohólicas en todo el mundo. El estado con mayor número de decesos fue Puebla, con 70 fallecimientos, seguido por Jalisco, con 43; Morelos, 29; Yucatán, 15, y dos más en Veracruz. (El Universal, 2020). Aunque la Norma Oficial Mexicana sobre bebidas alcohólicas dispone que la única materia prima permitida debe ser el alcohol etílico de origen vegetal, se ha encontrado en diversas ocasiones y regiones del país, productos de origen informal, que para su elaboración han utilizado como materia principal al metanol y que puede ser añadido como un sustituto del alcohol etílico para adulterar las bebidas alcohólicas. También han sido identificadas otras sustancias tóxicas como el propanol, el etilenglicol, los aldehídos, entre otras (CNA, 2020).

En los procesos de producción de alcohol artesanal o clandestino de diversas comunidades del país, no ha sido posible la vigilancia, el control y/o la denuncia de la producción simultánea de metanol, por lo que su concentración puede exceder los límites máximos de consumo humano, además de las condiciones de higiene con las cuales se realiza. En cualquiera de los casos no son aptas para el consumo humano (CNA, 2020). Si se consumió una bebida alcohólica adulterada, puede presentar alguno o varios de los siguientes síntomas en las 48 horas después de haberlo ingerido: Dolor de cabeza (principalmente del tipo punzante), vómitos, dolor abdominal, sueño excesivo, mareo, vértigo, visión borrosa, molestia excesiva provocada por la luz, percepción de colores alrededor de los objetos, incoordinación motora, dificultad para respirar, convulsiones (CNA, 2020). Las principales pruebas de identificación y cuantificación están clasificadas como presuntivas y método de Deninges respectivamente, las cuales se basan en principios de oxido-reducción, proporcionando un color característico en presencia de metanol.



Objetivos

Identificar y cuantificar la presencia de metanol en diferentes bebidas alcohólicas comerciales, mediante pruebas presuntivas y la reacción modificada de Deniges, y comparar las concentraciones de este tóxico con la normatividad vigente.

Cuestionario previo

1. Mencionar las fuentes de exposición a metanol.
2. Explicar la toxicocinética y la toxicodinámica del metanol.
3. Explicar cuáles son los efectos tóxicos de metanol en una intoxicación aguda y crónica.
4. Explicar el fundamento químico de las pruebas presuntivas y del método modificado de Deniges.
5. Explicar cuál es la importancia de decolorar con el ácido oxálico.
6. Explicar los cálculos a realizar para obtener la concentración de metanol en la bebida elegida.

Actividades previas a la práctica

Conseguir una bebida alcohólica destilada de origen casero o de dudosa procedencia y/o calidad con objeto de tener mayor posibilidad de encontrar metanol en ella.

Tabla 1. Lista de bebidas alcohólicas por grupo.

Eq.	Bebida alcohólica / Marca	% de alcohol en la etiqueta o teórico
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		



Desarrollo experimental

1. Colocar 50 mL de la bebida alcohólica asignada en el matraz de bola con 4 perlas de ebullición y armar el equipo de destilación como se muestra en la figura 1.

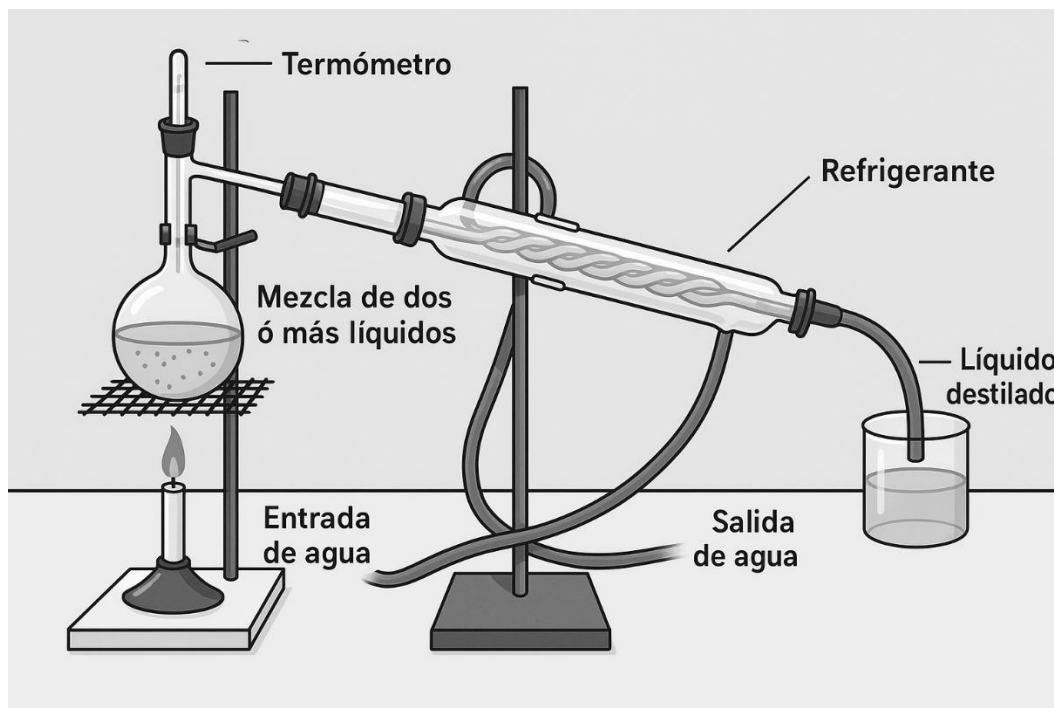


Fig. 1. Montaje del sistema de destilación.

2. El destilado deberá recibirse en un vaso de precipitados de 250 mL que contenga 10 mL de agua destilada, cuidar que el codo quede en contacto con el agua para evitar la evaporación de la muestra. Preferentemente este destilado no deberá de contener más de 3 a 5 % de metanol.
3. Calentar cuidando que la temperatura se mantenga constante a 78.5 °C durante 20 minutos.
4. Medir el volumen total obtenido después de transcurrido el tiempo de destilación.

Pruebas de identificación

1. **Reacción presuntiva para alcoholes:**
 - a) En un tubo de ensayo colocar 1.0 mL del destilado y añadir 1.0 mL de solución de dicromato de potasio al 10 % en ácido sulfúrico.
Una coloración azul – verde indica la presencia de alcohol en la bebida.



2. Reacción presuntiva para metanol:

- En un tubo de ensayo colocar 1.0 mL del destilado y una gota de una solución al 2.5 % de dicromato de potasio en ácido sulfúrico al 50 %.
- Dejar en reposo a la temperatura ambiente durante 5 minutos.
- Agregar una gota de etanol y unos cristales de ácido cromotrópico (solo la punta de una espátula chica) y agitar.
- Estratificar con 1.0 mL de ácido sulfúrico concentrado adicionando lentamente por la pared del tubo **SIN AGITAR**. En caso positivo para metanol se producirá un color púrpura en la interfase de los 2 líquidos.

3. Prueba de oxidación o reacción modificada de Deninges:

Esta reacción se realizará **simultáneamente** para un tubo blanco, la curva patrón y el destilado obtenido de cada bebida en estudio.

Uno o dos equipos asignados por su asesor realizarán la curva y el blanco.

Nota: Antes de iniciar, verificar quiénes la están realizando y en qué paso van. Mantener el reactivo de Schiff a 4 °C hasta su uso.

- A 2.0 mL del destilado obtenido de la bebida o 2.0 mL del sistema correspondiente de la curva patrón, se le adicionan los reactivos respetando el siguiente orden:
 - 2.0 mL de permanganato de potasio al 2.5 %.
 - 160 µL de ácido sulfúrico concentrado.
- Mezclar con cuidado y dejar reposar 3 minutos.
- Agregar 800 µL de ácido oxálico al 8 %, agitando vigorosamente en el vortex hasta la decoloración total (tener cuidado, la reacción es exotérmica).

Nota: Si no decolora indicar a su asesor para recibir instrucciones.

- Una vez decolorada la muestra, adicionar con cuidado:
 - 400 µL de ácido sulfúrico concentrado
 - 2.0 mL de reactivo de Schiff.
 - Dejar reposar 3 min a temperatura ambiente.

Nota: si hay coloración violeta leer los tubos antes de transcurridos 5 minutos. Si no se obtuvo coloración incubar tres minutos en baño maría a 30°-35 °C.

- Leer todos los tubos a 540 nm ajustando el espectrofotómetro a cero con el tubo blanco (De la curva de calibración).



- f) En caso de ser necesario realizar diluciones a los sistemas problema que permitan cuantificar el metanol presente.

Curva patrón

- a) Se preparará de la siguiente manera una curva patrón con concentraciones conocidas de metanol:

Tabla 2. Preparación de la curva patrón de metanol.

TUBO	% Metanol	μL Metanol	μL Etanol	mL Agua destilada	Absorbancia
Blanco	0	----	100	9.9	
1	0.05	5	95	9.9	
2	0.1	10	90	9.9	
3	0.3	30	70	9.9	
4	0.5	50	50	9.9	
5	0.7	70	30	9.9	
6	0.9	90	10	9.9	
Ecuación de la curva:					

- b) Una vez preparados los sistemas de la curva, tomar un volumen de cada sistema (por ejemplo 2.0 mL de cada uno y continuar como se indica en el punto a) de la Prueba de oxidación y en adelante con objeto de calcular la cantidad de metanol en la bebida en estudio.

De ser necesario hacer los ajustes necesarios a la curva o diluciones a las muestras problema.

Disposición de residuos

En base a las normas NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y NOM-052-SEMARNAT 2005:

- La bebida alcohólica que haya quedado en el matraz se puede desechar a la tarja.
- El resto de las soluciones provenientes de las distintas reacciones serán depositadas en frascos por separado debidamente etiquetados.



Resultados

Tabla 3. Resultados de las pruebas presuntivas por grupo.

Eq.	Bebida Alcohólica	Alcoholes (+, ++, +++, -) y color	Metanol (+, ++, +++, -) y color
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

Tabla 4. Resultados de la prueba de Deninges por grupo.

Eq.	Bebida alcohólica	mL de destilado	Abs	% de Metanol calculado	mg de metanol /100 mL de alcohol anhidro
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					



Referencias

1. Comisión Nacional contra las Adicciones. (2020). Intoxicación por bebidas alcohólicas adulteradas en México. <https://www.gob.mx/salud/conadic/documentos/intoxicacion-por-bebidas-alcoholicas-adulteradas-en-mexico>
2. El Universal. (2020). La otra epidemia en México: morir por alcohol adulterado. <https://www.eluniversal.com.mx/estados/la-otra-epidemia-en-mexico-morir-por-alcohol-adulterado/>
3. UNAM. (2016). Hoja de seguridad del metanol. <https://quimica.unam.mx/wp-content/uploads/2016/12/9metanol.pdf>
4. NMX-V-021-1986. Bebidas alcohólicas destiladas. Determinación de metanol. Consultado el 24 de enero de 2016. Recuperado de: https://www.gob.mx/documentos/consultar?gfe_rd=cr&ei=pbJSVcdY7KbzB-H-gOgN&gws_rd=ssl#q=norma+%09NMX-V-021-1986



Práctica 2

Determinación de plomo en vasijas de barro

Los metales pesados constituyen un riesgo para la salud por el contacto frecuente que se presenta a nivel laboral, ambiental y/o domiciliario, siendo los más peligrosos: el plomo, mercurio, arsénico y cadmio (Pérez & Azcona, 2012). Entre ellos, se considera al plomo como un metal tóxico ubicuo, ya que se le puede detectar prácticamente en todas las fases inertes del ambiente y en sistemas biológicos (Goyer & Clarkson, 2005).

El plomo es un metal maleable, flexible, de muy baja temperatura para fundirse, se le utiliza para hacer diversas aleaciones, que pueden ser usadas en la fabricación de baterías, acumuladores, pigmentos, pinturas, recubrimiento de cables eléctricos, productos metalmecánicos, municiones, antidetonantes, cerámica, plaguicidas, soldaduras, pulidores, plásticos, cosméticos, joyería, juguetes, y en la petroquímica, es decir, en la época moderna ha tenido un amplio uso (Calderón & Maldonado, 2008).

Las principales vías por las que el plomo puede ingresar al organismo humano a través del alimento, aire, tierra, agua potable y diversos materiales que están en contacto con la piel, siendo la vía oral donde se presenta la mayor absorción, de un 10-15% en adultos y del 50% en niños y mujeres embarazadas. Los efectos tóxicos del plomo se manifiestan principalmente a nivel de sistema nervioso, hematopoyético, digestivo y renal; su efecto puede ser proporcional a la cantidad presente en el organismo (Poma, 2008; Calderón & Maldonado, 2008). La determinación de plomo en sangre venosa es la prueba más sensible de exposición al plomo, se recomienda que los niveles en sangre se mantengan debajo de 5 µg/dL (Poma, 2008; DOF, 2017).

Muchos casos de intoxicación con plomo se asocian a productos disponibles en el hogar, y una fuente de plomo es la vajilla de cerámica vidriada, para el vidriado de estas, se utilizan compuestos de plomo. Sin embargo, no todos los vidriados cerámicos desprenden plomo, depende de su proceso de fabricación y frecuencia de uso. Pero se han reportado casos de intoxicación con plomo como resultado del consumo de bebidas ácidas almacenadas en recipientes cerámicos vidriados (Flores et. al., 2016), por lo que resulta importante determinar el contenido de metales pesados de los artículos cerámicos que entran en contacto con los alimentos, al ser sometidos a pruebas de extracción utilizando soluciones similares de prueba, para tratar de reproducir las condiciones más extremas de uso de dichos artículos.



Objetivos

Determinar cualitativamente la presencia de plomo en vasijas de barro a diferentes valores de pH.

Cuestionario previo

1. ¿Cuáles son los usos más importantes del plomo?
2. ¿Cómo influye la edad de un individuo en la absorción gastrointestinal de plomo?
3. ¿Cuáles son los factores importantes que hacen variar el grado de toxicidad de los compuestos de plomo?
4. ¿Cuáles son los efectos tóxicos que causa el plomo en los organismos?
5. ¿Por qué es importante cuidar el pH durante la determinación de plomo?
6. ¿Cuál es la normativa vigente de las concentraciones de plomo en vasijas de barro en México?

Actividades previas a la práctica

1. Conseguir 3 pocillos o cazuelitas de **barro vidriado iguales** de por lo menos 100 mL de capacidad en algún mercado o población cercana.
2. Colocar dentro de los 3 pocillos, 50 mL de la solución ácida elegida por cada equipo (vinagre, salsa, refresco etc.).
3. Realizarlo durante 7 días previos a la práctica. En caso de que el contenido se evapore agregar más de la solución.
4. Transcurridos los 7 días, traer las 3 vasijas sin el contenido (vasijas con las que se va a trabajar en clase).

Nota: Medir el pH en su casa o traer máximo 3.0 mL de la muestra para medir el pH el día de la práctica.

Tabla 1. Muestras para las vasijas

Eq.	Muestra	pH de la muestra
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		



Desarrollo experimental

1. Identificación de plomo liberado de vasijas de barro a diferentes pH.

- a. En 2 vasos de precipitado rotulados como B y C preparar 100 mL de solución ácida o básica de acuerdo con la siguiente tabla:

Reactivo	Vaso de precipitados	
	B	C
Agua destilada	99 mL	99 mL
HCl 10 N	1 mL	-----
NaOH 10 N	-----	1 mL

- b. Etiquetar las tres vasijas de barro nuevas como A, B, C.
c. En cada una de ellas, agregar 50 mL de la solución indicada en la tabla:

Vasija		
A	B	C
Agua destilada	Solución de HCl	Solución de NaOH

- d. Medir el pH en cada vasija
e. Calentar las vasijas a ebullición por 30 min., **cuidando de mantener el volumen constante, agregando más solución conforme se vaya evaporando.**
f. Enfriar la solución y medir el pH nuevamente.
g. Rotular tres tubos de ensaye como A, B y C y agregar lo siguiente:

Reactivo	Tubo		
	A	B	C
Solución de vasija	2.0 mL	2.0 mL	2.0 mL
HNO ₃ conc.	3 gotas	3 gotas	3 gotas

- h. Adicionar a cada tubo gota a gota una solución de KI de 16.5 g/100 mL, sin agitar y observar si se forma un precipitado.
i. Un precipitado amarillo indica la presencia de plomo en la solución de la vasija correspondiente.

Disposición de residuos

En base a las normas NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y NOM-052-SEMARNAT 2005.

- a) La solución A y B se neutralizan y se desechan a la tarja
b) Los tubos con solución de KI se colocan en el frasco correspondiente debidamente etiquetado.



Resultados

Tabla 2. Observaciones grupales de los cambios en la vasija A

Eq.	Muestra	Antes de calentar		Después de calentar	
		pH	Observaciones	pH	Observaciones
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

**Tabla 3.** Observaciones grupales de los cambios en la vasija B.

Eq.	Muestra	Antes de calentar		Después de calentar	
		pH	Observaciones	pH	Observaciones
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					



Tabla 4. Observaciones grupales de los cambios en la vasija C.

Eq.	Muestra	Antes de calentar		Después de calentar	
		pH	Observaciones	pH	Observaciones
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

**Tabla 5.** Resultados de la prueba cualitativa de plomo.

Eq.	Observaciones de los tubos		
	A	B	C
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

Referencias

1. Calderón, J.V., Maldonado, M. (2008). *Contaminación e intoxicación por plomo*. Trillas.
2. Diario Oficial de la Federación (DOF, 30/08/2017). Norma Oficial Mexicana. NOM-199-SSA1-2000. Salud ambiental. Niveles de plomo en sangre y acciones como criterios para proteger la salud de la población expuesta no ocupacionalmente.
https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5495551&fecha=30/08/2017&print=true
3. Flores M. E., Idrovo, M.M., Flores, D.V. (2016) Evaluación de la extracción de plomo y cadmio de vajilla cerámica vidriada. *Maskana*, 7(1), 97-106
4. Goyer, R.A., Clarkson, T.W. (2005). Efectos tóxicos de los metales. En: C.D. Klaassen & J.B. Watkins (Eds.), *Casarett y Doull. Fundamentos de Toxicología* (pp. 354-366). McGraw-Hill Interamericana.
5. Pérez, P.E., Azcona, M.I. (2012). Los efectos del cadmio en la salud. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 17(3), 199-205.
6. Poma, P.A. (2008). Intoxicación por plomo en humanos. *Anales de la Facultad de Medicina*, 69(2), 120-126.



Práctica 3

Determinación de etanol en una muestra biológica

El etanol es un líquido incoloro, volátil, con un olor característico y sabor picante, también conocido como alcohol etílico. De manera natural, se obtiene a través de fermentación, por medio de levaduras a partir de frutas, caña de azúcar, maíz, cebada, sorgo, papas y arroz entre otros, generando las variadas bebidas alcohólicas que existen en el mundo. Es muy utilizado como disolvente en síntesis de fármacos, plásticos, lacas, perfumes, cosméticos, etc. También se utiliza en mezclas anticongelantes, como combustible, como antiséptico en cirugía, como materia prima en síntesis y en la preservación de especímenes fisiológicos y patológicos (UNAM, 2008).

Aunque se trata de una droga legal, el alcohol etílico contribuye a más muertes en los jóvenes que el conjunto de todas las drogas ilegales. Tres millones de personas mueren cada año en todo el mundo como consecuencia del consumo nocivo de alcohol (una cada 10 segundos), lo que representa aproximadamente el 5% de todas las muertes. Un número desproporcionado de estas muertes se produce entre los jóvenes, ya que el 13,5% de todas las muertes entre las personas de 20 a 39 años están relacionadas con el alcohol (OMS, 2022).

El consumo de alcohol está relacionado con toda una serie de problemas de salud, entre ellos trastornos mentales y del comportamiento, en particular la dependencia del alcohol; graves enfermedades no transmisibles, como la cirrosis hepática, algunos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares; y lesiones y muertes por violencia y accidentes de tránsito (OMS, 2022).

Niveles de intoxicación por etanol (Lasarte, 2022):

- Intoxicación legal (50-100 mg/dL): euforia, verborrea, desinhibición e incoordinación.
- Intoxicación leve (100-200 mg/dL): farfullar de palabras, labilidad emocional, torpeza motora, ataxia, alteración de reflejos, somnolencia y náuseas.
- Intoxicación moderada (200-300 mg/dL): lenguaje incoherente, agresividad, letargia, estupor y vómitos.
- Intoxicación grave (300-400 mg/dL): depresión del SNC, coma. El coma suele ser profundo sin signos de focalidad. Aparecerán hipotermia, midriasis bilateral poco reactiva, hipotonía, abolición de los reflejos osteotendinosos, bradicardia e hipotensión.
- Intoxicación potencialmente letal (> 400 mg/dL): depresión respiratoria, convulsiones, «shock» y muerte. La muerte puede sobrevenir también por aspiración de un vómito, por coma cetoacidótico, por hipoglucemia y por enfriamiento.



Objetivo

Determinar cualitativa y cuantitativamente la presencia de etanol en una muestra sanguínea utilizando el método de Conway.

Relacionar la concentración de etanol obtenida con los signos y síntomas que se presentan en una intoxicación en el ser humano.

Cuestionario previo

1. Explicar los tipos de intoxicación que se presentan por el consumo de etanol.
2. Explicar la toxicocinética y toxicodinamia del etanol.
3. Explicar el fundamento químico de la técnica de microdifusión.
4. Explicar de manera breve que otro tipo de técnicas se pueden utilizar para la cuantificación de etanol en muestras biológicas.
5. ¿Qué valores de alcoholemia se consideran de importancia médico legal?

Desarrollo experimental

1. Al iniciar la sesión del laboratorio, un voluntario del grupo donará una muestra de sangre a la que se añadirá una cantidad conocida de etanol de acuerdo con las instrucciones de su asesor.
2. Una vez obtenida la muestra, preparar la cámara de Conway de acuerdo con lo siguiente:
 - a) Aplicar en el borde externo de la cámara de Conway suficiente silicona o vaselina, para que la cámara quede bien sellada al cerrarla y evitar pérdida del etanol difundido de la muestra.
 - b) En el compartimento interno de la cámara, agregar 2.0 mL de la solución de dicromato de potasio (5 mg/mL en ácido sulfúrico al 25%).
 - c) En el compartimento externo de la cámara, agregar 1.0 mL de la sangre por analizar, posteriormente adicionar a la muestra de sangre, 1.0 mL solución saturada de carbonato de potasio. **Cerrar inmediatamente la cámara con su tapa de vidrio**, vigilar que dicha tapa selle perfectamente con la vaselina o silicona.
 - d) Con un movimiento rotatorio suave, mezclar las soluciones que se encuentran en el compartimento externo.
 - e) Dejar en reposo a la temperatura del laboratorio durante 15 min a temperatura ambiente.



- f) Transferir la solución del compartimento interno a un matraz volumétrico de 10 mL, lavando 3 veces con 2.0 mL de agua destilada el compartimento interno y aforar a 10 mL.
- a) Para preparar el estándar de referencia (estándar de dicromato de potasio), colocar 2.0 mL de la solución de dicromato de potasio (5 mg/mL en ácido sulfúrico al 25%) en un matraz volumétrico de 10 mL y aforar con agua destilada.
- b) Leer las soluciones en un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 430 nm, ajustando con el blanco (solución de ácido sulfúrico al 25%).

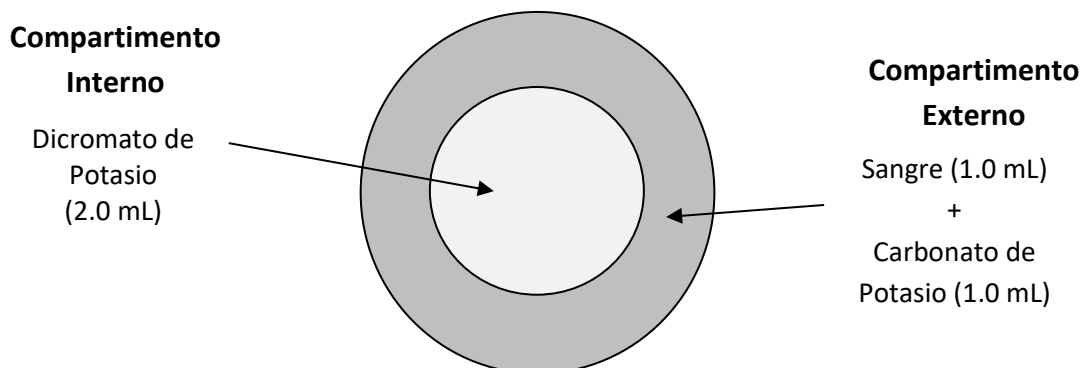


Fig. 1. Reactivos en la Cámara de Conway.

3. Relacionar la concentración de etanol de las muestras problema con los efectos que presentarían en el individuo desde un punto de vista legal.

Disposición de residuos

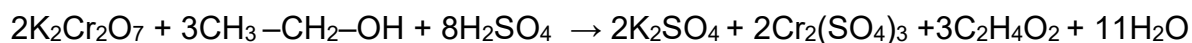
En base a las normas NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y NOM-052-SEMARNAT 2005:

- Los sobrantes de la bebida alcohólica pueden ser vertidos en la tarja.
- Los residuos de la cámara serán depositados en frascos etiquetados adecuadamente.



Resultados

1. Anotar los valores obtenidos de la absorbancia de cada muestra en la tabla 1.
2. Calcular la concentración de alcohol en sangre tomando como base la absorbancia obtenida del blanco de reactivos. Las lecturas obtenidas de la absorbancia corresponden al dicromato de potasio que ya no reaccionó con el alcohol.
3. Por medio de un cálculo estequiométrico, calcular la concentración de alcohol presente en la muestra de sangre, de acuerdo con la siguiente reacción:



Este método se basa en la oxidación del alcohol con dicromato de potasio en medio ácido y se determina la absorbancia a la que da lugar el remanente de dicromato.

Tabla 1. Determinación de alcohol en sangre por el método de Conway.

Eq.	Absorbancia	Alcohol/ sangre (mg/dL)
Estándar		-----
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		

Referencias

1. Lasarte J. (2022). Intoxicaciones por alcoholes. <http://www.cij.gob.mx/tratamiento/pages/pdf/JRLasarte.pdf>
2. OMS. (2022). La OMS señala la existencia de grandes lagunas en la reglamentación de la comercialización transfronteriza del alcohol. <https://www.who.int/es/news/item/10-05-2022-who-highlights-glaring-gaps-in-regulation-of-alcohol-marketing-across-borders>
3. UNAM. (2008). Hoja de seguridad. <https://quimica.unam.mx/wp-content/uploads/2008/05/12etanol.pdf>



Práctica 4

Identificación y cuantificación de cianuro en muestras vegetales

Los compuestos cianogénicos son sustancias que contienen en su estructura un grupo funcional nitrilo ($-\text{CN}$) terminal. En condiciones fisiológicas, dentro del organismo de los mamíferos, tanto los cianuros simples (como el cianuro de hidrógeno, de sodio o de potasio) como las cianohidrinás pueden disociarse para formar el anión cianuro (CN^-), el cual representa la especie tóxica activa (Amy Lavin Williams & DeSesso, 2023). En particular, el cianuro puede unirse a los azúcares para formar glucósidos cianogénicos. La familia Rosaceae incluye diversas especies frutales cuyas semillas contienen pequeñas cantidades de estos glucósidos, como es el caso de la manzana, pera, membrillo, durazno, ciruela, cereza, fresa, almendra amarga, zarzamora y frambuesa. Esta familia también comprende numerosas especies ornamentales, entre ellas las rosas, que destacan por su valor en jardinería y en la industria de la perfumería.

Numerosas plantas y cultivos de relevancia en la nutrición animal pueden acumular glucósidos cianogénicos capaces de liberar cianuro o ácido cianhídrico tras su hidrólisis. Para que una planta sea considerada cianogénica, su contenido de HCN debe ser al menos de 1 mg por cada 100 g de planta fresca (equivalente a 10 ppm). La intoxicación por cianuro puede presentarse cuando este contenido supera los 20 mg/100 g (200 ppm) de planta verde (Torres, 1984). En total, más de 2,500 especies vegetales contienen compuestos cianogénicos, entre las que se incluyen la almendra, trigo, cebada, sorgo, yuca, manzana y linaza (Jones, 1998). Un contenido elevado de estos compuestos puede representar un riesgo para la salud humana y animal, además de limitar el aprovechamiento alimentario de estas plantas.

En el sorgo forrajero, la presencia de concentraciones elevadas del glucósido cianogénico durrina puede reducir la productividad del cultivo y, en ocasiones, provocar la muerte de animales en pastoreo. Este riesgo se incrementa durante periodos de sequía, cuando los cultivos presentan retraso en el crecimiento y, por lo tanto, mayores niveles de durrina. Por su parte, la yuca constituye una fuente esencial de calorías para más de 500 millones de personas (FAO, 1996). Su uso como alimento animal y como materia prima para la obtención de almidón ha aumentado considerablemente. Sin embargo, las dietas ricas en yuca pueden generar toxicidad crónica tanto en humanos como en animales, debido a la presencia de los glucósidos cianogénicos linamarina y lotaustralina, en una proporción aproximada de 20:1. Estos compuestos, al ser hidrolizados por la enzima endógena linamarasa, liberan ácido cianhídrico. La concentración de estos compuestos tóxicos varía ampliamente entre especies y también según las condiciones ambientales.



Objetivos

Determinar la concentración de cianuro en semillas de frutos de la familia de la *Rosaceae*.

Cuantificar la cantidad de cianuro presente en algunas plantas y forrajes, mediante el método de la titulación alcalina.

Cuestionario previo

1. ¿Cuáles son las fuentes de exposición a cianuro que pueden causar una intoxicación accidental, incidental o intencional?
2. Explicar el fundamento de la técnica de Guignard.
3. ¿En qué se fundamenta el tratamiento para las intoxicaciones con cianuro?
4. ¿Cuáles son los glucósidos cianogénicos más frecuentes en las plantas?
5. ¿Cuáles son las consecuencias de alimentar a los animales con plantas que tienen estos glucósidos?

Actividades previas a la práctica

Elegir por equipo las muestras

Nota: Las semillas que pueden elegirse son: *Durazno, nectarina, chabacano, manzana, capulín, pera, ciruela y cereza*

- Guardar y dejar secar al sol las semillas del fruto asignado
- Abrir las semillas y traer la almendra seca, se requieren por lo menos 1-2 g.

Tabla 1. Muestras de semilla.

Eq.	Semilla	gramos
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		



Desarrollo experimental

Técnica de Guignard

A. Preparación de la curva estándar de cianuro (Stock 12 mg/50 ml)

El equipo _____ prepara la curva de calibración.

- a) La curva estándar de cianuro se prepara colocando en matraces volumétricos de 25 mL, los volúmenes de la solución patrón indicados en la siguiente tabla y aforando con agua destilada.

Tabla 2. Curva estándar de cianuro.

Sistema	Solución patrón (mL)	Concentración (mg/mL)
Blanco	0.0	-----
1	0.2	0.001
2	0.4	0.003
3	0.8	0.007
4	1.2	0.011
5	1.6	0.015
6	2	0.019
7	2.4	0.023

- b) Una vez preparadas las soluciones de la curva patrón, pasarlas inmediatamente a los frascos, debidamente etiquetados.
- c) Avisar al grupo que pueden comenzar a triturar su muestra problema.
- d) A cada frasco con la muestra problema, adicionar 2 gotas de cloroformo y 1.0 mL de la solución de HCl 0.5 N y colocar la tira reactiva tapando **inmediatamente**.
- e) Incubar a baño maría a 40 °C por una hora agitando suavemente el frasco cada 15 minutos.

Nota: trabajar simultáneamente la curva y las muestras problema. (El gas de HCN liberado reacciona con el reactivo de Guignard de la tira reactiva, formando un complejo **NO TÓXICO**).

B. Preparación de la muestra problema

- f) Pesar 0.5 g de la muestra problema seca (semillas de los frutos seleccionados por equipo). Colocar las semillas en el mortero y **ESPERAR** hasta que esté lista la curva estándar de cianuro.



- g) El equipo asignado por el asesor preparará la curva estándar de cianuro. Una vez que el equipo asignado haya preparado las soluciones de la curva estándar y se encuentre ya en los frascos de reacción correspondientes, cada equipo empezará a triturar sus semillas.
- h) En el momento que empieza el molido de las semillas, se daña el tejido y comienza la liberación del cianuro, por lo que se debe **triturar rápidamente** las semillas con el mortero, hasta obtener una papilla fina.
- i) Colocar la papilla en el frasco de reacción correspondiente y agregar 25 mL de agua destilada con pipeta volumétrica, después añadir 2 gotas de cloroformo y 1.0 mL de HCl 0.5 N.

Nota: se pueden realizar varios lavados con agua destilada en el mortero para no perder muestra, pero sin exceder los 25 mL de agua y vaciar cada lavado en el frasco de reacción correspondiente y después añadir los reactivos (2 gotas de cloroformo y 1.0 mL de HCl 0.5N).

- j) Colocar con cuidado una tira de papel reactivo Guignard en el frasco (previamente humedecida ligeramente en el extremo inferior). Teniendo **PRECAUCIÓN** de no mojar esta tira reactiva Guignard con los reactivos que se encuentran ya dentro del frasco y tapar **inmediatamente** cada uno de los frascos con un tapón.
- k) Colocar los frascos en un baño de agua a 40°C durante 1 h, agitando suavemente a intervalos de 15 min, teniendo **precaución** de que el contenido del matraz no tenga contacto con la tira reactiva de Guignard.

C. Tratamiento de la muestra problema, curva estándar y blanco

- l) Una vez transcurrido el tiempo de incubación, los frascos se sacan del baño maría y se dejan enfriar.
- m) Se observan las tiras reactivas de las muestras problema y aquellas que no muestren ni siquiera una leve coloración café-rojiza se considerarán como prueba negativa
- n) Las que sí presenten coloración café-rojiza, son positivas y se introducen en un tubo de ensaye, al cual se le adiciona 10 mL de agua destilada, se tapa y agita vigorosamente con el fin de extraer el pigmento colorido; se procede en caso necesario a filtrar (con papel Whatman No. 40) para eliminar residuos de la tira de papel.
- o) Se determina la absorbancia de las muestras y de la curva patrón en el espectrofotómetro a 520 nm.



Método de titulación alcalina

Nota: Para la titulación las muestras pueden ser: *sorgo, yuca, tallo del sorgo, flor del sorgo*

Tabla 3. Muestras para titulación alcalina.

Eq.	Muestras	gramos
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		

Actividades previas

- Un día antes de la sesión experimental en el horario acordado, pesar entre 10 y 20 g de la muestra y cortarla en trozos pequeños. Anotar peso exacto para los cálculos de cuantificación.
- Colocar la muestra pesada en un matraz de bola de 500 mL, agregar 200 mL de agua destilada, tapar con parafilm y rotular.
- Dejar en reposo para la autólisis por lo menos 14 horas.

El matraz con la muestra debe permanecer tapado hasta que esté listo el equipo de destilación.

- Armar el aparato de destilación. Colocar en la salida del refrigerante un codo de manera que la punta toque 10 mL de una solución de NaOH al 2.5% y hasta el último destapar el matraz y conectarlo.
- Destilar y recibir 60 mL del destilado y aforar el volumen del destilado a 100 mL con agua destilada.
- Tomar 2 alícuotas de 25 mL c/u y adicionar a cada una:
 - 2.0 mL de NH_4OH 6N.
 - 0.5 mL de solución de KI al 5%



4. Titular la mezcla con una solución de AgNO_3 0.02N. El punto final de la titulación se reconoce por la turbidez verde lechosa que se torna permanente en la solución durante 30 segundos por lo menos. Este punto final es más fácilmente observable en un fondo negro.
5. Calcular la concentración de HCN de acuerdo con la siguiente equivalencia:

$$1.04 \text{ mL de } \text{AgNO}_3 (0.02\text{N}) = 1.08 \text{ mg HCN.}$$

Disposición de residuos

Con base a las normas NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y NOM-052-SEMARNAT 2005:

- Las cáscaras de las semillas, las tiras reactivas y los restos serán depositados en la basura municipal ya que no son residuos peligrosos.
- Las soluciones de la curva estándar y las muestras de los frascos serán depositados en un frasco etiquetado.
- Los restos sólidos de la titulación alcalina serán depositados en la basura municipal ya que no son residuos peligrosos.
- El residuo líquido que haya quedado en el matraz de bola puede ser vertido en la tarja.
- Las soluciones de la curva estándar y las muestras de los frascos serán depositados en un frasco etiquetado.
- El destilado y las alícuotas tituladas serán depositadas en otro frasco debidamente etiquetado

Resultados

Tabla 4. Absorbancias de la curva estándar de cianuro

Concentración (mg/mL)	Absorbancia
0.001	
0.003	
0.007	
0.011	
0.015	
0.019	
0.023	
Ecuación de la curva:	

**Tabla 5.** Resultados de reacción de Guignard

Eq.	Semilla	Color de la tira	Abs	Dilución	Concentración (mg/mL)	Concentración de CN en mg /g de semilla
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						

Tabla 6. Resultados de la Titulación alcalina.

Eq.	Muestra vegetal	Peso g	mg HCN/g de muestra
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

Referencias

1. Dreisbach, R. (2003). *Manual de Toxicología Clínica*. Manual Moderno.
2. Torres Rodríguez, E. (2022). Determinación de cianuro en harina y almidón de yuca (*Manihot esculenta*) de la variedad censa 64-7329. *Revista Cubana Química*, 34 (3),
3. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/8463/1/BQ%2064.pdf>
4. Ramírez, Augusto V. (2023). Toxicidad del cianuro: Investigación bibliográfica de sus efectos en animales y en el hombre. *Anales de La Facultad de Medicina*, 71(1), 54–61. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832010000100011



Práctica 5

Determinación de CL50 con artemias salinas

Para evaluar el efecto de los detergentes y otros xenobióticos en modelos biológicos, se puede recurrir a la ecotoxicología, disciplina que se ha definido como “el estudio de los efectos nocivos de los productos químicos sobre los ecosistemas”. En este tipo de estudios no solo se observan los efectos directos sobre los organismos individuales, sino que el objetivo principal es comprender las consecuencias a nivel de poblaciones y ecosistemas completos (Zhou et al., 2019).

Los detergentes, ampliamente utilizados en el ámbito doméstico, industrial y agrícola, constituyen una fuente significativa de contaminación acuática y terrestre. Su presencia en cuerpos de agua puede alterar la tensión superficial, modificar la biodisponibilidad de otros contaminantes, e interferir con procesos fisiológicos esenciales en organismos acuáticos, como la respiración, la osmorregulación y la reproducción. Por ello, su evaluación toxicológica es fundamental para estimar riesgos ambientales y establecer límites seguros de uso y disposición.

El bioensayo de toxicidad es una herramienta simple, económica y reproducible que se emplea para determinar el efecto biológico de diversos contaminantes. Los resultados de estos ensayos suelen correlacionarse bien con pruebas más específicas de bioactividad (Karchesy et al., 2016). Estos bioensayos se han aplicado con éxito tanto en la evaluación de la calidad del agua como en la detección de toxinas naturales o contaminantes sintéticos, incluyendo detergentes, pesticidas y metales pesados.

Para llevar a cabo estos estudios se utilizan distintos modelos biológicos experimentales, cuya elección depende del tipo de exposición y del ecosistema a evaluar. Entre los modelos más comunes se encuentran el pez cebra (*Danio rerio*), la pulga de agua (*Daphnia magna*), la artemia salina (*Artemia sp.*), semillas de diversas especies vegetales y lombrices de tierra (*Eisenia fetida*), entre otros. Estos organismos permiten evaluar respuestas agudas o crónicas, como la letalidad, la inhibición del crecimiento, la reducción en la germinación o la afectación de la reproducción, proporcionando así una visión integral del impacto ambiental potencial de los detergentes.



Objetivos

Determinar la CL₅₀ de cianuro en el modelo de *Artemia salina*, por el método Probit.

Observar y describir el comportamiento de las *Artemias salinas* expuestas al xenobiótico.

Cuestionario previo

1. Investigar el ciclo de vida de la artemia salina y qué factores pueden afectar el ciclo de vida.
2. Mencionar las ventajas y desventajas del uso de artemias salinas.
3. ¿Qué son las unidades Probit y cómo se calculan?
4. ¿Qué componentes de los productos de limpieza podrían ser responsables de su toxicidad en organismos acuáticos?
5. ¿Cuál es el mecanismo de acción de los tensioactivos sobre las membranas celulares de los organismos acuáticos?
6. ¿Cómo afecta la presencia de detergentes a parámetros como la oxigenación del agua y la tensión superficial?

Desarrollo experimental

Determinación de la CL₅₀ en Artemia salina

1. Elegir 9 envases pequeños y separar dentro de cada uno de ellos 15 artemias salinas.
2. En otros 9 envases agregar los mL de agua con sal o agua con el xenobiótico problema (Pinol o detergente) de acuerdo a tabla 2 y 3 dependiendo del que les haya tocado.

Tabla 1. Muestra que se va a trabajar

Eq.	Muestra
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Tabla 2. Cantidades de detergente y agua salina para preparar los diferentes sistemas.

Sistema	mL de agua con sal	mL de detergente	% concentración
Control (-)	25	-----	-----
Control (+)	-----	-----	-----
1	24.4	0.6	
2	24.1	0.9	
3	23.8	1.2	
4	23.5	1.5	
5	22.0	3	
6	21.0	4	
7	20.0	5	

*Control positivo son 25 mL de cloro

Tabla 3. Cantidades de Pinol y agua salina para preparar los diferentes sistemas.

Sistema	mL de agua con sal	mL del pinol	% concentración
Control (-)	25	-----	-----
Control (+)	-----	-----	-----
1	24.95	0.05	
2	24.9	0.1	
3	24.8	0.2	
4	24.7	0.3	
5	24.6	0.4	
6	24.5	0.5	
7	24.4	0.6	

*Control positivo son 25 mL de cloro

3. Etiquetar los envases con las concentraciones
4. Antes de vaciar la solución preparada en las artemias, quitar el excedente del agua con la que vienen. Tratar en lo posible que las 15 artemias sean adultas o tengan un tamaño semejante.
5. Cuando tengan listos los sistemas entonces vaciar el contenido de los frascos que tienen la solución de semillas a diferentes concentraciones en cada uno de los frascos con las artemias correspondientes y anotar la hora.
6. Observar el comportamiento de las artemias durante 60 minutos para los sistemas de detergente y 30 min para los de pinol , anotando si tienen algún



comportamiento distinto al control negativo y entre las diferentes concentraciones del tóxico, o dificultades para nadar, etc.

7. Registrar únicamente el número de artemias vivas y muertas al final de los 30 y 60 min de exposición. Tabular los resultados y graficar para obtener la CL_{50} . Los resultados serán grupales.

Cálculo de unidades Probit

A través del método Probit, también conocido como “Método de Unidades Probabilísticas” se evalúa la relación concentración respuesta de un contaminante sobre un organismo, medido en términos de la concentración letal media (CL_{50}) y su precisión o intervalo de confianza.

Para calcular las unidades Probit se requieren los siguientes datos:

1. Concentración de sustancia (C)
2. Número de individuos (n): las artemias totales empleadas por cada tóxico por todo el grupo.
3. Organismos muertos (r)
4. Porcentaje de efecto (P)

Con los datos anteriores se debe realizar una gráfica de P vs C, la cual es la relación concentración-respuesta, se obtendrá una curva parabólica que dificulta un modelo lineal. Debido a lo anterior se transforma “C” a una escala logarítmica y se gráfica P vs Log C, la cual debe mostrar una relación concentración-respuesta de forma sigmoidea normal.

Se calcula la probabilidad, estos valores se emplearán para obtener las unidades Probit de la tabla de la pág. 47. Los datos anteriores servirán para realizar la última gráfica, unidades Probit vs Log C, se realiza la regresión lineal ($y=mx+b$), entre el Log C y los valores Probit. Esta ecuación ayudará para obtener la CL_{50} , por lo cual es necesario considerar lo siguiente:

$$50 \% = 5 \text{ unidades Probit}$$

Al Log C, posteriormente se sacará el antilogaritmo y ese será el resultado de la CL_{50} para el tóxico correspondiente.

Disposición de residuos

Con base a las normas NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y NOM-052-SEMARNAT 2005:



- La solución de semillas y las artemias deberán de filtrarse, el líquido puede irse a la tarja y los residuos sólidos deberá de juntarse y desecharse en una bolsa a fuera del laboratorio.

Resultados

Tabla 2. Observaciones de las artemias expuestas al detergente

Sistema	Antes de la exposición	después de la exposición
C-		
C+		
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		

Tabla 3. Observaciones de las artemias expuestas al pinol

Sistema	Antes de la exposición	después de la exposición
C-		
C+		
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		



Tabla 4. Resultados por equipo

Sistema	Artemias totales (n)	Vivas	Muertas (r)	Probabilidad $P=(r/n)$	%E $(P*100)$	Unidades probit	Conc (C)	Log (C)
C (-)								
C (+)								
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								



Gráfica 1. Log concentración vs Unidades Probit

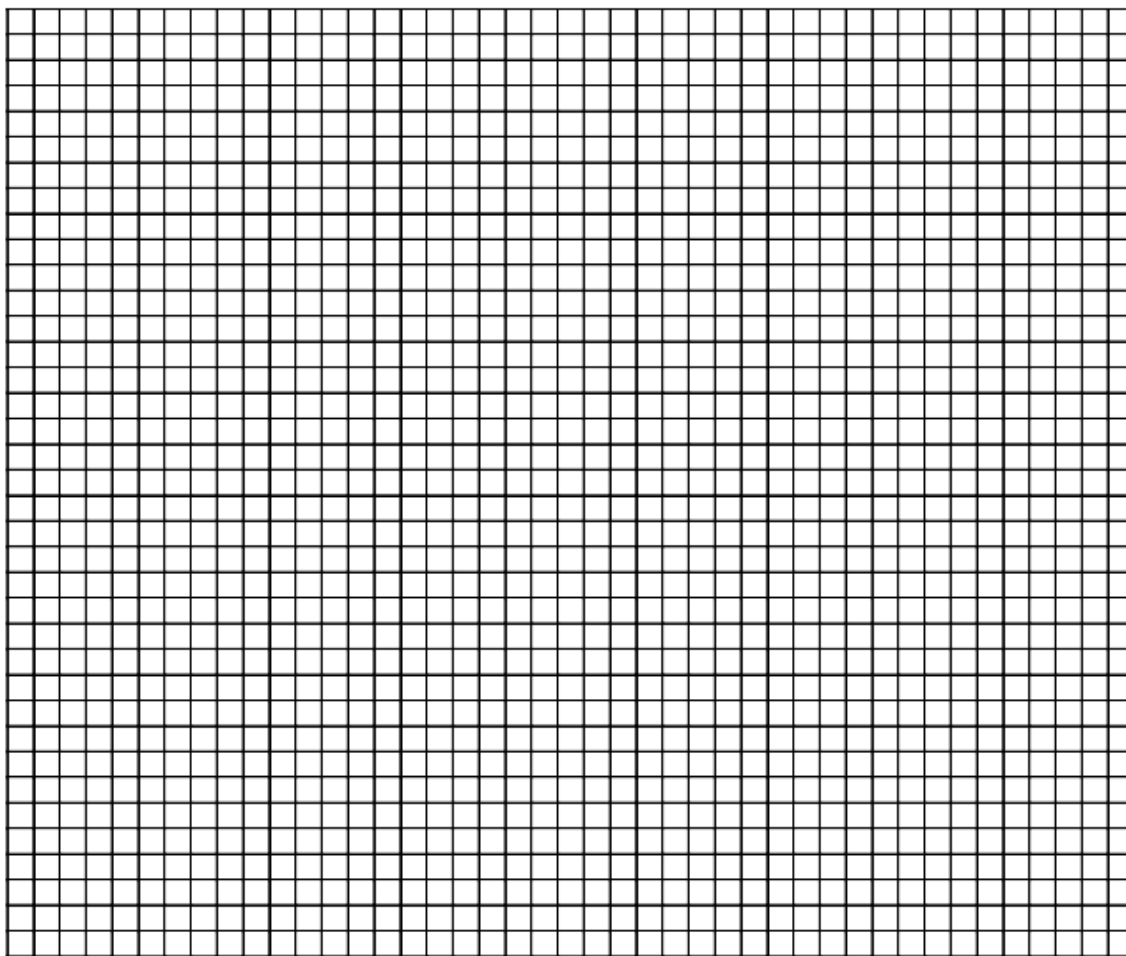


Tabla 5. Resultados por grupo de la CL₅₀ del Detergente

Eq.	CL ₅₀ (%) en 60 min



Tabla 6. Resultados por grupo de la CL₅₀ del Pinol

Eq.	CL ₅₀ (%) en 30 min

Tabla 7. Tabla de unidades Probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

Referencias

1. Dreisbach, R. (2003). *Manual de Toxicología Clínica*. Manual Moderno.
2. Karchesy, Y. M., Kelsey, R. G., Constantine, G. H., & Karchesy, J. J. (2016). Biological screening of selected Pacific Northwest forest plants using the brine shrimp (*Artemia salina*) toxicity bioassay. *SpringerPlus*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2145-1>
3. Amy Lavin Williams, & DeSesso, J. M. (2023). Revisiting the testicular toxicity of cyanide: Assessment of the new and existing literature. *Birth Defects Research*, 115(7), 687–709. <https://doi.org/10.1002/bdr2.2160>
4. Zhou, H., Xiang, N., Xie, J., & Diao, X. (2019). *Ecotoxicology: The History and Present Direction*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.10888-7>



Práctica 6

Toxicidad aguda en semillas

Los fertilizantes pueden aumentar la productividad de los cultivos, y también mejorar la calidad del suelo al proporcionar nutrientes esenciales para el crecimiento saludable de los cultivos y corregir deficiencias nutricionales. Sin embargo, por su composición química, son capaces de inducir efectos tóxicos en diferentes especies.

Uno de los principales desafíos en la agricultura, es mejorar la eficiencia en la producción de manera sustentable. Por tanto, es necesario desarrollar productos capaces de suministrar a las plantas los nutrientes en la forma y la cantidad necesarios en cada fase del crecimiento, sin provocar impactos negativos en los diferentes ecosistemas (Hurtado et al, 2024). La urea se utiliza ampliamente como fertilizante nitrogenado en la agricultura. Sin embargo, los mecanismos fisiológicos subyacentes de la urea, en particular los efectos adversos sobre la germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas bajo estrés salino, siguen siendo inciertos (Bu et al., 2024).

En esta práctica se utilizarán semillas como chía, rábano, lechuga y lentejas que presentan una germinación rápida y sensible a condiciones de estrés químico, que las convierten en un bioindicador confiable para evaluar la presencia de contaminantes o exceso de nutrientes en el medio de cultivo (Ayerza y Coates, 2005). Estas semillas son utilizadas ampliamente en pruebas de toxicidad por su capacidad de mostrar alteraciones visibles en la elongación radicular y la tasa de germinación frente a diferentes concentraciones de fertilizantes o sustancias químicas (Hernández Aguilar, 2020).

Para cuantificar estos efectos, se utiliza la Concentración Inhibitoria de la Germinación 50 (IG₅₀) mediante el método Probit, permitiendo determinar el nivel de urea al que se inhibe el 50% de la germinación. Estos estudios proporcionan información valiosa para definir concentraciones seguras de fertilización y prevenir los impactos ambientales asociados al uso excesivo de urea.

Es importante destacar que los resultados obtenidos en esta práctica son indicativos de la toxicidad aguda en el modelo de las semillas y pueden variar en función del xenobiótico evaluado, así como las condiciones específicas del experimento. Además, esta prueba forma parte de un conjunto de enfoques utilizados en la evaluación de riesgos toxicológicos y no debe considerarse como una evaluación completa del riesgo (Cruz et al., 2013; Smith et al., 2006; Tran et al., 2023).



Objetivos

Determinar la concentración inhibitoria 50 (CI_{50}) de la urea en semillas, mediante la evaluación de su efecto sobre la germinación y elongación del hipocótilo y la radícula.

Cuestionario previo

1. ¿Cuáles son las etapas del proceso de germinación de una semilla?
2. ¿Por qué las semillas pueden utilizarse como modelos biológicos en estudios de fitotoxicidad?
3. ¿Qué parámetros se evalúan comúnmente en una prueba de toxicidad con semillas?
4. Explicar la diferencia entre CL_{50} y CI_{50} .
5. ¿Por qué la urea puede generar efectos fitotóxicos en las semillas?

Desarrollo experimental

Ensayo preliminar

- Traer 15 días previos a la práctica las semillas y colocar en una caja Petri 15 semillas y adicionar agua para observar la germinación de éstas.
- Revisarlas a la semana y si más del 80% de las semillas germina se podrán utilizar para el experimento de lo contrario se tendrán que utilizar otras.

Primera parte.

Preparación de los sistemas.

- a) Etiquetar los vasos o recipientes de plástico y preparar las diluciones como se indica en la tabla 1. El control (+) es cloro doméstico.



Tabla 1. Preparación de los diferentes sistemas.

Sistema	mL de sustancia tóxica	mL de agua	Concentración g/mL
C+			
C-			
1			
2			
3			
4			
5			
6			

- b) Medir el papel filtro y cortar círculos de acuerdo con el tamaño de las cajas Petri.
- c) Colocar el papel filtro dentro de las cajas Petri etiquetarlas conforme a los sistemas preparados.
- d) Colocar de 4-5 mL de la mezcla en cada caja Petri permitiendo que el papel filtro sea humedecido y sin formar burbujas.
- e) Con ayuda de unas pinzas colocar 15 semillas cuidando que guarden espacio entre ellas.
- f) Tapar las cajas Petri y colocarlas en bolsas plásticas para evitar la pérdida de humedad. Dado que algunas variedades de semillas requieren oscuridad para que se produzca la germinación, las cajas de Petri deben cubrirse de la luz inmediatamente después de colocar las semillas en su interior y durante el periodo de ensayo.
- g) Incubar por 168 horas (7 días) a una temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$

Segunda parte.

- a) Al finalizar el periodo de germinación contar las semillas que germinaron en cada uno de los sistemas y determinar el % CI_{50} de la germinación.
- b) Registrar de signos de fitotoxicidad en la parte de observaciones en la tabla tomando en cuenta: necrosis en pelos absorbentes, pelos absorbentes poco desarrollados, radículas ensortijadas o manchas.
- c) Medir utilizando una regla la longitud de la radícula y del hipocotilo de cada una de las plantas de los diferentes tratamientos.
- d) Calcular el % CI_{50} de la longitud del hipocótilo y de la radícula mediante el método Probit.

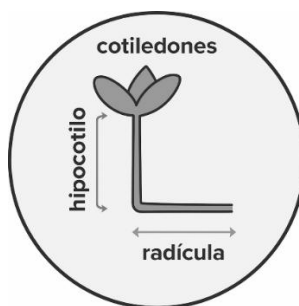


Fig 1. Morfología de la semilla y la plántula de lechuga *Lactuca sativa*.

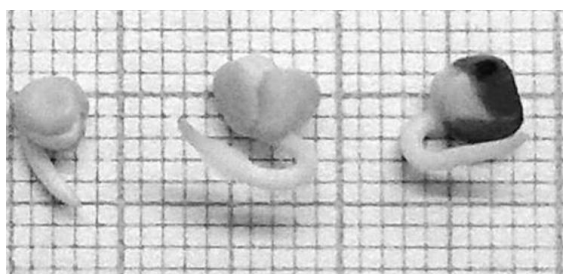


Fig 2. Estadios por los que atraviesa la semilla de rábano (*Raphanus sativus*) durante el ensayo de germinación

Interpretación de los resultados

Los efectos cuantificados sobre la elongación de la radícula o del hipocotilo son efectos subletales. La inhibición en la germinación podría considerarse como un efecto letal siempre y cuando podamos corroborar que finalizada la exposición a una muestra las semillas no germinaron por muerte del embrión y que no existe simplemente un retraso en el proceso de germinación, manteniéndose la viabilidad de la semilla.

Disposición de residuos

En base a las normas NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y NOM-052-SEMARNAT 2005:

- Las semillas expuestas al ensayo, así como el papel filtro deberán depositarse en una bolsa y pueden desecharse en la basura municipal.
- Las soluciones de prueba pueden ser desechadas en la tarja.



Resultados

Tabla 2. Resultados por equipo de la CI₅₀.

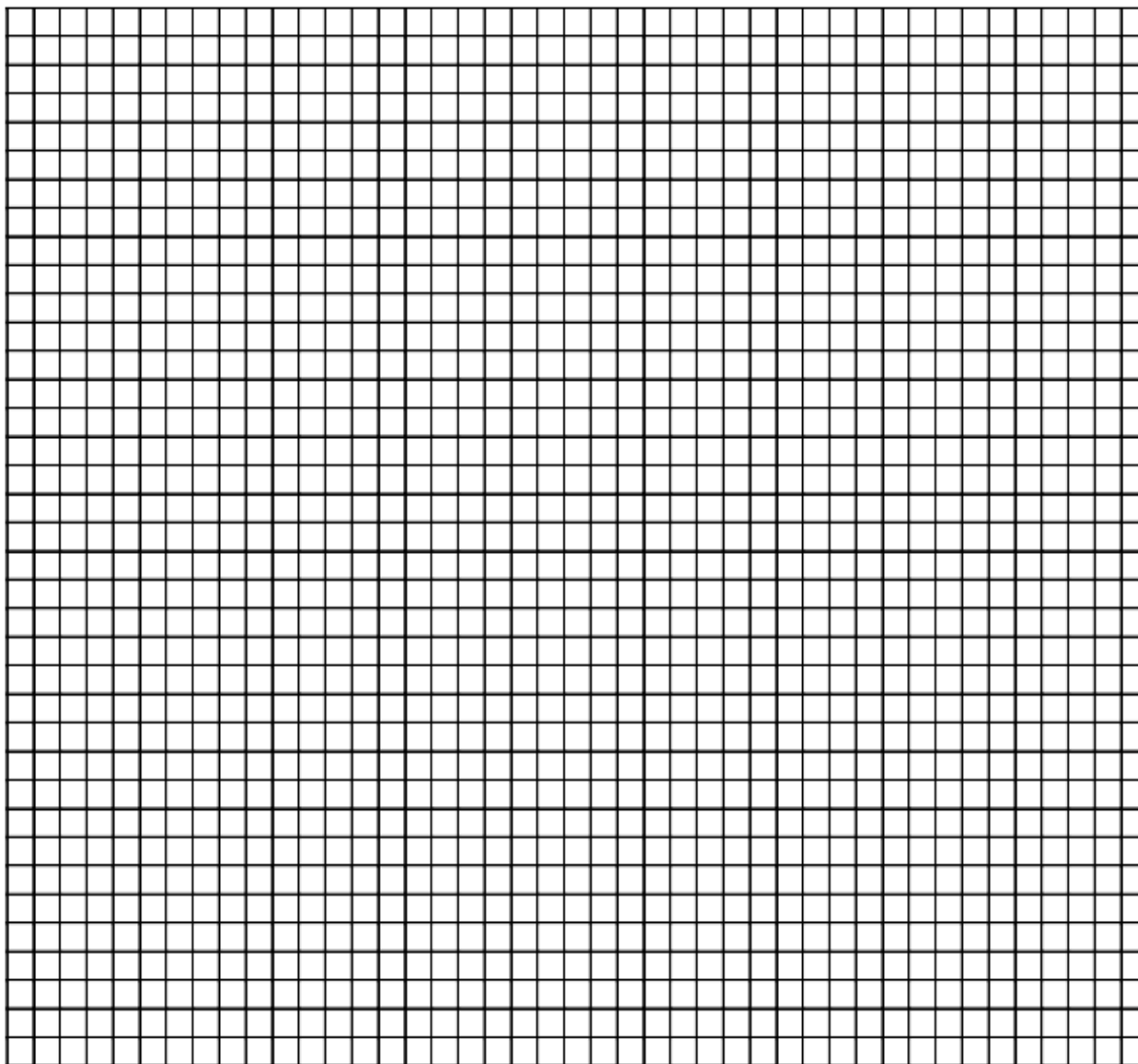
Sistema	Semillas			Crecimiento (cm)		Observaciones asociadas a la Toxicidad
	Germinadas	No germinadas	% No germinadas	Radícula M ± DS	Hipocótilo M ± DS	Necrosis, presencia de pelos absorbentes
C+						
C-						
1						
2						
3						
4						
5						
6						

Tabla 3. Resultados por equipo de la CI₅₀.

Eq.	CI ₅₀ Germinación	CI ₅₀ Hipocotilo	CI ₅₀ Radícula
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			



Grafica 1. Log concentración vs Unidades Probit de semillas no germinadas



Referencias

1. Cruz, J. M., Lopes, P. R. M., Montagnolli, R. N., Tamada, I. S., Silva, N. M. M. G., & Bidoia, E. D. (2013). Toxicity Assessment of Contaminated Soil Using Seeds as Bioindicators. *Journal of Applied Biotechnology*, 1(1).
2. Smith, M. J., Flowers, T. H., Duncan, H. J., & Alder, J. (2006). Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and soil with aged PAHs residues. *Environmental Pollution*, 141(3).
3. Tran, H. T., Lin, C., Lam, S. S., Le, T. H., Hoang, H. G., Bui, X. T., Rene, E. R., & Chen, P. H. (2023). Biodegradation of high di-(2-Ethylhexyl) phthalate (DEHP)



concentration by food waste composting and its toxicity assessment using seed germination test. *Environmental Pollution*, 316

4. González Hurtado, M., Siverio Martínez, L., Hernández Díaz, M. I., Castro González, L. M., Rieumont Briones, J., Martínez García, A., Iribarren Alfonso, A. A., & Hernández Rivera, Y. (2024). Avances en la obtención de biofertilizantes y herbicidas de liberación lenta a partir de la matriz urea-formaldehído. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*.
5. Bu, Y. Y., Dong, X., Zhang, R., Shen, X., Liu, Y., Wang, S., Takano, T., & Liu, S. (2024). Desentrañando el papel de la hidrólisis de la urea en la respuesta al estrés salino durante la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas en *Arabidopsis thaliana*
6. Ayerza, R., & Coates, W. (2005). *Chia: Rediscovering a Forgotten Crop of the Aztecs*. University of Arizona Press.
7. Hernández Aguilar, H. N. (2020). Evaluación del índice de germinación en semillas de rábano usando aguas tratadas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.



Práctica 7

Determinación de nitritos en embutidos

Los nitritos son aditivos utilizados en la industria alimentaria, especialmente en productos cárnicos como embutidos, para diversos propósitos (Govari & Pexara, 2015). Aun que desempeñan un papel importante en la calidad y seguridad de los alimentos, también presentan una importancia toxicológica que debe ser considerada debido a sus potenciales efectos adversos para la salud (Shakil et al., 2022).

Una de las preocupaciones en relación con los nitritos en embutidos radica en su capacidad para formar nitrosaminas y metahemoglobina. Las nitrosaminas son compuestos químicos que pueden ser potencialmente cancerígenos para los seres humanos (McMahon et al., 2022). Estas sustancias se forman cuando los nitritos reaccionan con aminas presentes en los alimentos, especialmente en ciertas condiciones. Algunas nitrosaminas se han asociado con diferentes tipos de cáncer, especialmente cáncer de estómago, esófago, colon y vejiga. Por lo tanto, el consumo excesivo de nitritos y la exposición prolongada a nitrosaminas pueden aumentar el riesgo de desarrollar cáncer. Por su parte; la metahemoglobina es incapaz de transportar oxígeno de manera eficiente, lo que puede provocar hipoxia o falta de oxígeno en los tejidos del organismo (De Mey et al., 2014; McMahon et al., 2022).

Es importante destacar que, aunque los nitritos pueden presentar riesgos para la salud en ciertas circunstancias, también juegan un papel importante en la prevención del botulismo, una enfermedad potencialmente mortal causada por la bacteria *Clostridium botulinum*. Los nitritos, al combinarse con ciertas proteínas, inhiben el crecimiento de esta bacteria y ayudan a mantener la seguridad microbiológica de los productos cárnicos (Govari & Pexara, 2015).

Por lo tanto, su uso debe estar regulado y controlado para garantizar que los niveles sean seguros para el consumo humano y se minimice el riesgo para la salud. Es esencial seguir las pautas y normativas establecidas por las autoridades sanitarias y la industria alimentaria para garantizar la seguridad de los productos que consumimos. Para minimizar el riesgo y garantizar la seguridad de los embutidos, se han implementado regulaciones y límites máximos de uso de nitritos en la industria alimentaria. Las normativas, como las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) NOM-213-SSA1-2018 e internacionales como la Norma General para los Aditivos Alimentarios del Codex Alimentarius de la FAO (Organización Mundial de la Salud, 1995) establecen los niveles permitidos de nitritos en los alimentos y especifica los métodos adecuados para su uso seguro.



Objetivos

Determinar la concentración de nitritos en diferentes muestras comerciales de embutidos, mediante un método espectrofotométrico.

Analizar si el contenido de nitritos en los embutidos se encuentra dentro de los límites establecidos en la normatividad mexicana.

Cuestionario previo

1. ¿Cuál es la diferencia química entre los nitratos y nitritos?
2. Mencionar los principales usos de los nitritos y nitratos.
3. ¿Qué compuesto se forma en la reacción de Griess?
4. Explicar el mecanismo de formación de nitritos en el humano.
5. Explicar la toxicocinética y toxicodinámica de los nitratos y nitritos.

Actividades previas a la práctica

Conseguir 1 g de embutido de marcas poco conocidas o sin marca.

Tabla 1 Muestras de embutidos por equipo

Eq.	Tipo de muestra	Marca
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		



Desarrollo experimental

Se realizará de acuerdo con los métodos de prueba descritos en la NOM-213-SSA1-2002 con algunas modificaciones. Este método se basa en la reacción del analito en medio ácido para formar una sal diazonio que acoplada a aminas aromáticas produce un colorante azo (diazotización de Griess). Esta reacción de color es monitoreada fácilmente por método espectrofotométrico.

Preparación de la muestra

- Para todos los equipos se calentará agua libre de nitritos a 80 °C en un vaso de precipitados de 1 litro.
- Por equipo pesar 0.5 g de la muestra elegida.

Desarrollo de la prueba con la muestra problema.

- La muestra finamente molida se coloca en un vaso de precipitados de 50 mL y se agrega aproximadamente 10 mL de agua libre de nitritos a 80°C.
- Mezclar perfectamente con un agitador, teniendo cuidado de romper todos los grumos, transferir todo el contenido a un matraz volumétrico de 50 mL.
- Lavar el vaso y el agitador con varias porciones de agua caliente (con 20 mL aproximadamente).
- Colocar el matraz en baño maría por espacio de 1.5 hrs, agitando ocasionalmente.
- Si hay color añadir menos de 2 g de carbón vegetal y agitar.
- Enfriar a temperatura ambiente y aforar a 50 mL con agua libre de nitritos y mezclar.
- Filtrar hasta obtener un filtrado claro, libre de turbidez. Tomar una alícuota de 5 mL y colocarlo en un tubo.
Nota: en caso de que esté turbio, realizar una dilución para obtener una solución traslúcida.
- Agregar 200 µL de reactivo de Griess, mezclar y dejar reposar 10 minutos para desarrollar color.
- Leer la absorción en un espectrofotómetro a una longitud de 520 nm, ajustando el aparato a cero de transmisión con el blanco de reactivos.
- Trazar la curva estándar e interpolar el valor y calcular la concentración de nitritos de la muestra elegida.

Preparación de la curva de calibración

- En matraces volumétricos de 25 mL adicionar un poco de agua destilada y los siguientes volúmenes de solución patrón de nitrito de sodio (0.005 mg/mL), aforando con agua destilada.



Tabla 2. Curva estándar de nitritos.

Sistema	solución patrón (mL)	Concentración (mg/mL)
Blanco	0.0	-----
1	0.125	
2	0.25	
3	0.5	
4	1.0	
5	2.0	
6	4.0	
7	8.0	

- Tomar una alícuota de 5 mL de cada sistema y agregar 200 μ L del reactivo de Griess.
- Mezclar perfectamente y después de 10 minutos, leer en espectrofotómetro de ultravioleta visible a 520 nm. Ajustar el cero del instrumento con el blanco.
- Trazar una curva graficando concentraciones (en mg de NaNO_2) contra absorbancias y usar estos patrones para comparar visualmente.

Disposición de residuos

En base a las normas NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y NOM-052-SEMARNAT 2005:

- Todos los restos sólidos de embutidos se pueden depositar en el bote de basura, al igual que el papel filtro.
- El contenido de los tubos de reacción de las muestras y curvas serán depositados en un frasco debidamente etiquetado.

Resultados

Tabla 3. Curva de calibración de nitrito de sodio.

Sistema	Concentración (mg/mL de NaNO_2)	Absorbancia
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
Ecuación de la curva:		

**Tabla 4.** Concentración de nitrito de sodio en las muestras de embutidos.

Eq.	Muestra	Marca	Peso (g)	Absorbancia	mg/Kg de NaNO ₂
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Referencias

1. Diario Oficial de la Federación. (2019). Norma Oficial Mexicana. NOM-213-SSA1-2018.Productos y servicios. Productos cárnicos procesados y los establecimientos dedicados a su proceso. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
2. De Mey, E., De Klerck, K., De Maere, H., Dewulf, L., Derdelinckx, G., Peeters, M. C., Fraeye, I., Vander Heyden, Y., & Paelinck, H. (2014). The occurrence of N-nitrosamines, residual nitrite and biogenic amines in commercial dry fermented sausages and evaluation of their occasional relation. *Meat Science*, 96(2).
3. Govari, M., & Pexara, A. (2015). Nitrates and nitrites in meat products. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 66(3).
4. McMahon, N. F., Brooker, P. G., Pavey, T. G., & Leveritt, M. D. (2022). Nitrate, nitrite and nitrosamines in the global food supply. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2124949>
5. Organización Mundial de la Salud. (1995). Codex Alimentarius. Norma general para los aditivos alimentarios (Codex Stan 192-1995). Organización de Las Naciones Unidas Para La Alimentación y La Agricultura, 1.
6. Shakil, M. H., Trisha, A. T., Rahman, M., Talukdar, S., Kobun, R., Huda, N., & Zzaman, W. (2022). Nitrites in Cured Meats, Health Risk Issues, Alternatives to Nitrites: A Review. In *Foods* (Vol. 11, Issue 21).



Práctica 8

Determinación de alcaloides en orina

Los alcaloides forman parte de un grupo heterogéneo de metabolitos secundarios que producen las plantas. La mayoría son compuestos sólidos, cristalinos, incoloros, de reacción básica, que contienen uno o más átomos de nitrógeno que forman parte de un anillo; cuando se encuentran en forma de sal iónica son solubles en agua y si se encuentran en forma de base libre son solubles en disolventes orgánicos; con propiedades farmacológicas que dependen de los grupos químicos y configuración que presentan (Valencia, 1995; Olofinson et. al., 2023).

Los alcaloides poseen especial interés por las actividades farmacológicas que ejercen, ya sea como depresores a nivel de sistema nervioso central (morfina, escopolamina), estimulantes (estricnina, cafeína), simpaticomiméticos (efedrina), simpaticolíticos (yohimbina, ergotamina) parasimpaticomiméticos (fisostigmina, pilocarpina), anticolinérgicos (atropina, hiosciamina). Así mismo, otros presentan propiedades antitumorales (vinblastina), antipalúdicas (quinina), analgésicas (morfina), amebicidas (emetina), entre otras (Bruneton, 2001; Valencia, 1995; Heinrich et. al., 2021). Con estas propiedades, se les ha utilizado en la terapéutica de varias enfermedades, pero un uso prolongado puede generar dependencia y/o toxicomanías.

Las intoxicaciones por drogas de abuso, ha conllevado a desarrollar e implementar técnicas analíticas para conocer las sustancias a las que se expuso el paciente. Por lo que es importante la adecuada obtención y almacenamiento de la muestra biológica para obtener resultados útiles. La orina es el espécimen más utilizado para monitorear el consumo de drogas de abuso o la exposición a tóxicos industriales o ambientales (o sus metabolitos), ya que es un proceso no invasivo y que proporciona cantidades apreciables de muestra (Queraltó, 2011).

Los métodos utilizados para la detección de alcaloides van precedidos de una extracción y posterior reacción de precipitación. La extracción se basa principalmente en la diferente solubilidad que presentan las bases y sus sales (que forman con ácidos minerales u orgánicos) en agua y en disolventes orgánicos. Las reacciones de precipitación consideran la capacidad que poseen de combinarse con metales y metaloides como bismuto, mercurio, tungsteno, yodo (ensayos presuntivos) (Bruneton, 2001; Valencia, 1995). Los métodos presuntivos indican ausencia o presencia de determinadas sustancias en una muestra, por lo que para una identificación positiva se pueden utilizar otros métodos analíticos como cromatografía de capa fina, GC, HPLC o inmunoensayos, entre otros (SNMLyCF, 2017).



Objetivos

Aislar un alcaloide de una muestra biológica (orina) basándose en la diferencia de solubilidad de las bases y de sus sales, en medio acuoso y con solventes orgánicos.

Cuestionario previo

1. Definir qué es un alcaloide y describir sus características químicas para su aislamiento.
2. Mencionar los alcaloides más importantes desde el punto de vista de drogas de abuso y describir los signos y síntomas que ocasionan.
3. Mencionar el fundamento de cada una de las técnicas usadas en la práctica, así como ventajas y desventajas de éstas.
4. Mencionar cuáles son las principales técnicas analíticas confirmativas para un mejor análisis químico toxicológico de drogas incluyendo de forma breve su fundamento.

Actividades previas a la práctica

Conseguir una muestra de orina (50 mL) de una persona que consuma alcaloides de manera continua, conservar en refrigeración previo a la práctica.

Desarrollo experimental

Separar 25 mL de la orina para el inmunoensayo y 25 mL para la extracción del alcaloide.

1. Extracción del alcaloide.

Extracto Etéreo 1

- a. A 25 mL de orina, agregar HCl 1N hasta un pH = 4.0.
- b. Realizar 3 extracciones con 10 mL de éter etílico c/u.
- c. Colectar la fase etérea de las 3 extracciones en un vaso de precipitado (volumen total de 30 ml aprox.) y guardar la fase acuosa (orina) para la obtención del extracto 2 (ver paso f).
- d. A la fase etérea añadir sulfato de sodio anhidro y filtrarla.
- e. Evaporar en baño maría en un vaso de precipitado hasta tener aproximadamente 5mL de la muestra y realizar las pruebas presuntivas.



Extracto Etéreo 2

- f. Alcalinizar la fase acuosa (orina) adicionando unas gotas de hidróxido de amonio hasta un pH = 9 – 10.
- g. Extraer con éter etílico en 3 ocasiones (10 mL cada una)
- h. Colectar la fase etérea de las 3 extracciones en un vaso de precipitado (volumen total de 30 ml aprox.). Guardar la fase acuosa (orina) para la obtención del extracto clorofórmico (ver paso k).
- i. A la fase etérea añadir sulfato de sodio anhidro y filtrarla.
- j. Evaporar en baño maría hasta tener aproximadamente 5mL de la muestra y realizar las pruebas presuntivas.

Extracto Clorofórmico

- k. Extraer la fase acuosa (orina) con 10 mL de cloroformo en 3 ocasiones c/u.
- l. Colectar la fase clorofórmica de las 3 extracciones en un vaso de precipitado (volumen total de 30 ml aprox.)
- m. Añadir sulfato de sodio anhidro y filtrarla.
- n. Evaporar en baño maría hasta tener aproximadamente 5mL de la muestra y realizar las pruebas presuntivas.

2. Pruebas presuntivas

Se realizan por separado a cada uno de los extractos, al extracto etéreo #1, al extracto etéreo #2 y al extracto clorofórmico, en una placa de porcelana.

- a. Reacción de Dragendorff. Colocar 2 gotas del extracto más dos gotas del reactivo y observar si existe la aparición de un precipitado naranja característico de una prueba positiva.
- b. Reacción de Mayer. Colocar 2 gotas del extracto más dos gotas del reactivo y observar si existe la aparición de un precipitado color crema característico de una prueba positiva
- c. Reacción de Bouchardart. Colocar 2 gotas del extracto más dos gotas del reactivo y observar si existe la aparición de un precipitado café marrón característico de una prueba positiva.
- d. Reacción de Mandelin. Agregar unas gotas de vanadato de amonio (3 o 4) sobre el alcaloide y a su lado una gota de H_2SO_4 , mezclar ligeramente y en la unión de los reactivos verificar el color formado al primer contacto entre el vanadato y el alcaloide con el H_2SO_4 , continuar mezclando y ver como vira el color inicial.



3. Determinación de alcaloides por inmunoensayo

- Verificar que el empaque del cartucho esté perfectamente cerrado.
- No tocar ni mojar la zona reactiva.
- En un vaso de 150 mL colocar 25 mL de orina y colocar la prueba.
- Esperar hasta que aparezca la banda de color.

RESULTADOS

I. Pruebas presuntivas.

	Dragendo	Bouchardat	Mayer	Mandelin
Fase etérea ácida				
Fase etérea básica				
Fase clorofórmica				

COLOR INICIAL	COLOR FINAL	ALCALOIDE IDENTIFICADO
Lila pálido	Fugaz	Heroína
Anaranjado	Gris	Quinina
Azul - Verde	Azul	Codeína
Verde aceituna	Incoloro	Amfetamina

II. Inmunoensayo cromatográfico.

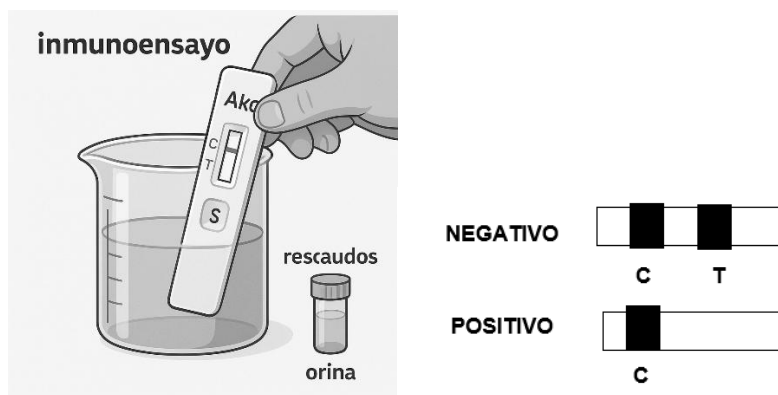


Fig. 2 Ejemplo de resultado positivo



Disposición de residuos

Con base a las normas NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y NOM-052-SEMARNAT 2005:

- La muestra de orina sobrante deberá vaciarse en el inodoro y el envase puede lavarse con agua y jabón.
- Las fases de la extracción de los alcaloides serán depositados por separado en los frascos debidamente etiquetados junto a la tarja.
- La placa de porcelana puede ser lavada normalmente, si se emplea algodón o papel para limpiarla entre una reacción y otra este será depositado dentro de una bolsa en la basura.
- Los inmunoensayos pueden ser guardados por los alumnos para su reporte si lo desean o bien depositarse en la basura dentro de su empaque o una bolsa de plástico.

Resultados

Tabla 1. Resultados de las pruebas presuntivas de alcaloides.

Eq.	DRAGENDORFF +/-			MAYER +/-			BOUCHARDAT +/-			MANDELIN +/-		
	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												



Tabla 2. Resultados del inmunoensayo cromatográfico.

Eq.	Resultado (+/-)	Alcaloides Identificados
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		

Referencias

1. Bruneton, J. (2001). Farmacognosia (2ª ed.). Acribia.
2. Valencia, C. (1995). Fundamentos de fitoquímica. Trillas.
3. Olofinson, K., Abrahamse, H., Blassan, G. (2023). Therapeutic Role of Alkaloids and Alkaloid Derivatives in Cancer Management. Molecules, 28, 5578. <https://doi.org/10.3390/molecules28145578>
4. Heinrich, M., Mah, J., Amirkia, V. (2021). Alkaloids Used as Medicines: Structural Phytochemistry Meets Biodiversity—An Update and Forward Look. Molecules, 26, 1986. <https://doi.org/10.3390/molecules26071836>
5. Queraltó, J. (2011). El laboratorio de toxicología clínica. En: I. Morán, J. Baldirá, L. Marruecos & S. Nogué (Eds.), Toxicología clínica (pp. 49-56). Grupo Difusión.
6. Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses (2017). Instructivo para la determinación de alcaloides o drogas alcalinas en muestras biológicas. https://www.cienciasforenses.gob.ec/wp-content/uploads/2019/07/8_Alcaloides_drogas_alcalinas.pdf



Práctica 9

Producción de metahemoglobina por nitritos y efecto protector del azul de metileno

La metahemoglobina es una ferritoprotoporfirina idéntica a la hemoglobina. En estas condiciones no es capaz de intercambiar O_2 y se anula su función (Larios, 2008). Las fuentes inductoras de metahemoglobina son los nitritos, las anilinas, los nitratos, los anestésicos locales y algunos antibióticos (Bura et al., 2025). La sintomatología causada por la metahemoglobinemia está relacionada con la disminución de la oxigenación de los tejidos. Enfermedades previas como insuficiencia cardíaca, enfermedades pulmonares y anemia incrementan la toxicidad

En condiciones fisiológicas, una pequeña cantidad de hemoglobina se oxida a metahemoglobina, no superando el 1% del total. Este estado de equilibrio entre la hemoglobina y la metahemoglobina se mantiene por la presencia de dosis sistemas enzimáticos reductores de la metahemoglobina dentro del eritrocito. El sistema reductor primario es una metahemoglobina reductasa NADH dependiente que cataliza la reducción del 95 % de la metahemoglobina a hemoglobina.

Los pacientes con niveles de metahemoglobina del 10 al 15 % con frecuencia presentan una coloración cianótica en la piel y las mucosas. Niveles entre 20 y 40 % producen además de cianosis, cefalea, fatiga, debilidad, vértigo, intolerancia al ejercicio y taquicardia. Con niveles mayores del 40 %, se agrega disnea, bradicardia, letargia, convulsiones y acidosis metabólica, y niveles mayores al 70 % pueden causar la muerte (PharmGKB, 2023).

El tratamiento de la metahemoglobinemia consiste en la administración de azul de metileno al 1%. La dosis es de un 1-2 mg/Kg de peso corporal, por vía intravenosa diluido en suero glucosado 5% administrado en 5 minutos. Pudiéndose repetir la dosis al cabo de 30-60 min, pero sin superar la dosis de 7 mg/kg (Risso,s.f).

En personas con déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, el antídoto de elección es el ácido ascórbico: 1-4 g por vía intravenosa. Si no hay respuesta se puede duplicar esta dosis, o en su defecto se necesitará una transfusión la cual está indicada en ausencia de respuesta al azul de metileno (cuando se alcanzan los 7 mg/kg) (Risso,s.f).



Objetivo

Cuantificar la cantidad de metahemoglobina por la administración de nitrito de sodio en roedores.

Demostrar la capacidad reductora del azul de metileno en el tratamiento para la metahemoglobinemia.

Cuestionario previo

1. Explicar el mecanismo de acción del azul de metileno.
2. ¿Por qué se realizan en el espectrofotómetro 3 lecturas diferentes y a diferentes longitudes de onda?
3. ¿Cuál es la importancia de usar ferricianuro de potasio?
4. Mencionar tres ejemplos de xenobióticos que pueden inducir metahemoglobinemia.
5. ¿Cuáles son las sustancias que se emplean en el tratamiento para la metahemoglobinemia?

Actividades

Pesar cada uno de los roedores, marcarlos y distribuirlos en lotes I, II y III y administrarlos de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla 1. Tratamiento de los roedores el día de la práctica.

Lote	Tratamiento
I	Administrar al roedor por vía i.p. 0.1-0.2 mL de SSF, esperar 20 minutos y colocarlo dentro de la cámara de anestesia.
II	Administrar al roedor por vía i.p. 50 mg/Kg de nitrito de sodio disuelto en SSF (30 mg/mL), esperar 20 minutos y colocarlo dentro de la cámara de anestesia.
III	Administrar al roedor por vía i.p. 50 mg/Kg de nitrito de sodio disuelto en SSF (30 mg/mL), después de 15 min administrar vía ip. 4 mg/kg de una solución de azul de metileno disueltos en SSF (8 mg/mL), esperar 20 min y colocarlo dentro de la cámara de anestesia.



Desarrollo Experimental

1. Preparar la jeringa con 0.2 mL de EDTA 10% para realizar la punción cardiaca
2. Saturar la cámara de anestesia con éter para anestesiarse al roedor.
3. Una vez anestesiado el roedor realizar la punción cardiaca para obtener 0.5 mL de sangre y colocarla en un tubo de ensaye y mezclar.

Obtención de lectura A1

4. Colocar 4.9 mL de buffer de fosfatos en un tubo de ensaye.
5. Agregar 0.1 mL de sangre con EDTA.
6. Mezclar y dejar reposar durante 5 minutos.
7. Centrifugar a 2500 rpm por 10 minutos.
8. Decantar recuperando el sobrenadante.
9. Leer en el espectrofotómetro a 630 nm (Lectura A1).
10. Cada equipo colocará en un tubo de ensaye de 5 mL de Buffer de fosfatos, el cual será usado como blanco.
11. Regresar la solución de la celda al tubo problema.

Obtención de lectura A2

12. Regresar la solución Buffer al tubo de ensaye.
13. Agregar al sobrenadante y al blanco 1 gota de solución neutralizada de cianuro de potasio.
14. Mezclar y dejar reposar 2 minutos.
15. Determinar nuevamente la absorbancia a 630 nm (Lectura A2). (Blanco de Buffer de fosfatos con 1 gota de solución neutralizada de cianuro).
16. Regresar el contenido de cada celda al tubo correspondiente

Obtención de lectura A3

17. Agregar una gota de hidróxido de amonio concentrado al tubo problema y al tubo blanco y mezclar.
18. Transferir 1 mL de la solución del tubo problema, a otro tubo y agregar 4 mL de la solución amortiguadora y 50 µL de la solución de ferricianuro de potasio al 20% en solución acuosa.
19. Preparar un blanco empleando 1 mL de la solución del tubo blanco, a otro tubo y agregar 4 mL de la solución amortiguadora y 50 µL de la solución de ferricianuro de potasio al 20% en solución acuosa.
20. Después de 2 minutos agregar una gota de la solución neutralizada de cianuro de potasio a cada tubo (blanco y problema).
21. Mezclar, esperar 10 minutos y determinar la absorbancia a 540 nm (Lectura A3).



Cálculos.

$$Hbt \left(\frac{g}{100 mL} \right) = A3 \times 36.7$$

$$MHbt \left(\frac{g}{100 mL} \right) = (A1 - A2) \times 23.4$$

$$MHbt \text{ en sangre}\% = \left(\frac{MHbt}{Hbt} \right) \times 100$$

Disposición de residuos

Con base a las normas NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y NOM-052-SEMARNAT 2005:

- ✓ Los cadáveres de los roedores al no haberseles inoculado ningún microorganismo patógeno serán depositados en una bolsa de plástico transparente, misma que se entregará al laboratorista quien la llevará al congelador para ser trasladada posteriormente al incinerador de la facultad.
- ✓ Las agujas de las jeringas se depositarán en el contenedor rojo.
- ✓ Las jeringas no se consideran RPBI por lo que se pueden desechar envueltas en la basura.
- ✓ La torunda con éter debe envolverse en papel y posteriormente desechada en la basura.
- ✓ Las soluciones provenientes de las reacciones en base a sus características químicas son consideradas residuos peligrosos, por lo que se depositarán en frascos etiquetados adecuadamente.



Resultados

Tabla 2. Absorbancias obtenidas durante la experimentación.

Eq.	Lote	A1	A2	A3	Hbt	MHbt	% MHbt
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

Referencias

1. Larios, L. (2008). Metahemoglobinemia en lactantes por ingestión de agua subterránea. Recuperado de: <http://www.amc.sld.cu/amc/2008/v12n4/amc08408.pdf>
2. Risso, M., Damin, C., (s.f.). Metahemoglobinemia. Recuperado de: <http://documents.mx/documents/metahemoglobinemia.html>
3. Bura, R. S., Gorle, S., Setti, G. D., & Degala, R. P. (2025). A review of pathophysiology, clinical manifestations, and therapeutic management of methemoglobinemia. *Journal of Pharma Insights and Research*. <https://doi.org/10.69613/410fsd85>
4. PharmGKB. (2023). *Concise review: Methemoglobinemia*. ClinPGx. <https://www.clinpgx.org/literature/15022691>



Examen 1. Metanol									
GRUPO		BQD		F		FECHA		EQUIPO	
NOMBRE							FIRMA		

**Examen 2. Plomo**

GRUPO		BQD		F		FECHA		EQUIPO	
NOMBRE							FIRMA		



Examen 3. Etanol									
GRUPO		BQD		F		FECHA		EQUIPO	
NOMBRE							FIRMA		



Examen 4. Identificación y cuantificación de CN en muestras vegetales									
GRUPO		BQD		F		FECHA		EQUIPO	
NOMBRE							FIRMA		



Examen 5. Determinación de CL_{50} en artemias salinas									
GRUPO		BQD		F		FECHA		EQUIPO	
NOMBRE							FIRMA		



Examen 6. Toxicidad de semillas									
GRUPO		BQD		F		FECHA		EQUIPO	
NOMBRE							FIRMA		



Examen 7. Determinación de nitritos en embutido									
GRUPO		BQD		F		FECHA		EQUIPO	
NOMBRE							FIRMA		



Examen 8. Determinación de alcaloides en orina									
GRUPO		BQD		F		FECHA		EQUIPO	
NOMBRE							FIRMA		



Examen 9. Producción de metahemoglobina y efecto protector del azul de metileno

GRUPO		BQD		F		FECHA		EQUIPO	
NOMBRE							FIRMA		

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS SECCIÓN BIOQUÍMICA Y FARMACOLOGÍA HUMANA	
	VALE DE MATERIAL	CÓDIGO: FPE-CB-DEX-01-09 Nº Revisión: 00

ASIGNATURA Toxicología **SEMESTRE** 2026-II
NOMBRE DEL SOLICITANTE _____
No. DE CUENTA _____ **GRUPO** _____ **No. DE EQUIPO** _____
NÚMERO Y NOMBRE DE LA PRÁCTICA O EXPERIMENTO 1 Determinación de metanol en bebidas alcohólicas
FECHA DE SOLICITUD _____ **FECHA DE DEVOLUCIÓN** _____

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	OBSERVACIONES
Arillo metálico	1	
Codo con boca esmerilada	1	
Gradilla	1	
Piseta con agua destilada	1	
Llave Y de vidrio	1	
Manguera latex	2	
Matraz bola 500 ml	1	
Mechero	1	
Nuez para pinzas	2	
Pinza para tubo de ensaye	1	
Pinzas de 3 dedos	2	
Pipeta graduada 5ml	1	
Pipeta volumétrica 2ml	2	
Tapones de latex para tubo de ensaye	3	
Tapón latex monohoradado	1	
Pipeta volumétrica 1ml	1	
Plancha hidráulico	1	
Probeta graduada 50 ml	1	
Propipeta	1	
Refrigerante	1	
Soporte universal	2	
Tela de asbesto	1	
Termómetro	1	
Tubo de ensaye 25x150	1	
Tubos de ensaye 16x150	3	
Vaso de precipitado 250 ml	1	

FIRMA DEL SOLICITANTE _____

LABORATORISTA O PROFESOR QUE ENTREGA EL MATERIAL Nombre y firma	LABORATORISTA O PROFESOR QUE RECIBE EL MATERIAL Nombre y firma
--	---

ADEUDO
NOMBRE Y FIRMA DEL DEUDOR

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS SECCIÓN BIOQUÍMICA Y FARMACOLOGÍA HUMANA	
	VALE DE MATERIAL	CÓDIGO: FPE-CB-DEX-01-09 N° Revisión: 00

ASIGNATURA Toxicología **SEMESTRE** 2026-II

NOMBRE DEL SOLICITANTE _____

No. DE CUENTA _____ **GRUPO** _____ **No. DE EQUIPO** _____

NÚMERO Y NOMBRE DE LA PRÁCTICA O EXPERIMENTO Práctica 2 Determinación de plomo en vasijas de barro/
Práctica 3 Determinación de etanol en una muestra biológica

FECHA DE SOLICITUD _____ **FECHA DE DEVOLUCIÓN** _____

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	OBSERVACIONES
Caja Petri grande	1	
Caja Petri completa chica	1	
Gradilla	1	
Matraz volumétrico 10 ml	1	
Mechero	3	
Pinzas para tubo de ensaye	1	
Pipeta graduada 1ml	3	
Pipeta graduada 2ml	2	
Pipeta volumétrica 1 ml	1	
Piseta	1	
Probeta graduada 100 ml	1	
Propipeta	3	
Tela de asbesto	3	
Tripié	3	
Tubos de ensaye 15x100	3	
Vaso de precipitado 250 mL	3	

FIRMA DEL SOLICITANTE _____

LABORATORISTA O PROFESOR QUE ENTREGA EL MATERIAL
Nombre y firma

LABORATORISTA O PROFESOR QUE RECIBE EL MATERIAL
Nombre y firma

ADEUDO
NOMBRE Y FIRMA DEL DEUDOR

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS SECCIÓN BIOQUÍMICA Y FARMACOLOGÍA HUMANA	
	VALE DE MATERIAL	CÓDIGO: FPE-CB-DEX-01-09 N° Revisión: 00

ASIGNATURA Toxicología **SEMESTRE** 2026-II

NOMBRE DEL SOLICITANTE _____

No. DE CUENTA _____ **GRUPO** _____ **No. DE EQUIPO** _____

NÚMERO Y NOMBRE DE LA PRÁCTICA O EXPERIMENTO Práctica 4 Identificación y cuantificación de cianuro en muestras vegetales y titulación

FECHA DE SOLICITUD _____ **FECHA DE DEVOLUCIÓN** _____

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	OBSERVACIONES
Aro metálico	1	
Codo de boca esmerilada	1	
Frascos con tapón de rosca 100 ml	1	
Embudo de vidrio	1	
Gradilla	1	
Mangueras	2	
Matraz aforado 100 ml	1	
Matraz de bola 500 ml	1	
Matraz Erlenmeyer 250 ml	2	
Mechero	1	
Mortero con pistilo	1	
Nuez	2	
Pinzas de tres dedos	2	
Pipeta graduada 10 ml	1	
Pipeta graduada 2 ml	1	
Pipeta volumétrica 25 ml	1	
Pipeta volumétrica 10 ml	1	
Piseta	1	
Plancha hidráulica	1	
Probeta graduada 100 ml	1	
Propipeta	1	
Refrigerante	1	
Soporte universal	2	
Tapón de hule (2 beige y uno verde o negro)	3	
Tela de asbesto	1	
Tubo de ensaye 25x150	2	
Vaso de precipitado 250 ml	2	
Vaso de precipitado 50 ml	2	
Vidrio de reloj	1	
Y de vidrio	1	

FIRMA DEL SOLICITANTE _____

LABORATORISTA O PROFESOR QUE ENTREGA EL MATERIAL
Nombre y firma

LABORATORISTA O PROFESOR QUE RECIBE EL MATERIAL
Nombre y firma

ADEUDO
NOMBRE Y FIRMA DEL DEUDOR

ASIGNATURA <u>Toxicología</u>		SEMESTRE <u>2026-II</u>
NOMBRE DEL SOLICITANTE _____		
No. DE CUENTA _____	GRUPO _____	No. DE EQUIPO _____
NÚMERO Y NOMBRE DE LA PRÁCTICA O EXPERIMENTO		<u>Práctica 5 CL5 artemias salinas</u> <u>Practica 6 Toxicidad aguda en semillas</u>
FECHA DE SOLICITUD _____	FECHA DE DEVOLUCIÓN _____	

[illegible]**FIRMA DEL SOLICITANTE**

LABORATORISTA O PROFESOR QUE ENTREGA EL MATERIAL	LABORATORISTA O PROFESOR QUE RECIBE EL MATERIAL
Nombre y firma	Nombre y firma

ADEUDO
NOMBRE Y FIRMA DEL DEUDOR

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS SECCIÓN BIOQUÍMICA Y FARMACOLOGÍA HUMANA	
	VALE DE MATERIAL	CÓDIGO: FPE-CB-DEX-01-09
		Nº Revisión: 00

ASIGNATURA Toxicología **SEMESTRE** 2026-II
NOMBRE DEL SOLICITANTE _____
No. DE CUENTA _____ **GRUPO** _____ **No. DE EQUIPO** _____
NÚMERO Y NOMBRE DE LA PRÁCTICA O EXPERIMENTO Práctica 7 Determinación de nitritos en embutidos
FECHA DE SOLICITUD _____ **FECHA DE DEVOLUCIÓN** _____

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	OBSERVACIONES
Embudo de vidrio	1	
Gradilla	1	
Matraz volumétrico 50 mL	1	
Pipeta volumétrica 5 mL	1	
Piseta	1	
Propipeta	1	
Tapón de hule	2	
Tubo de ensaye 25x150	2	
Varilla de vidrio	1	
Vaso de precipitado 100 mL	1	
Vaso de precipitado 50 mL	1	
Pipeta graduada de 5 ml	1	

FIRMA DEL SOLICITANTE _____

LABORATORISTA O PROFESOR QUE ENTREGA EL MATERIAL
Nombre y firma

LABORATORISTA O PROFESOR QUE RECIBE EL MATERIAL
Nombre y firma

ADEUDO
NOMBRE Y FIRMA DEL DEUDOR

	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS SECCIÓN BIOQUÍMICA Y FARMACOLOGÍA HUMANA	
	VALE DE MATERIAL	CÓDIGO: FPE-CB-DEX-01-09 Nº Revisión: 00

ASIGNATURA Toxicología **SEMESTRE** 2026-II
NOMBRE DEL SOLICITANTE _____
No. DE CUENTA _____ **GRUPO** _____ **No. DE EQUIPO** _____
NÚMERO Y NOMBRE DE LA PRÁCTICA O EXPERIMENTO Práctica 8 Determinación de alcaloides en orina
FECHA DE SOLICITUD _____ **FECHA DE DEVOLUCIÓN** _____

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	OBSERVACIONES
Aro metálico con varilla	1	
Embudo de filtración	1	
Embudo de separación 125 mL	1	
Nuez para pinzas de tres dedos	1	
Pinzas de tres dedos	1	
Pipeta Pasteur	3	
Piseta con agua destilada	1	
Placa de porcelana	1	
Probeta 50 mL	1	
Propipeta	1	
Soporte universal	1	
Triángulo de porcelana	1	
Varilla de vidrio	1	
Vaso de precipitado 100 mL	6	
Vaso de precipitado 150 mL	1	
Vidrio de reloj	3	

FIRMA DEL SOLICITANTE _____

LABORATORISTA O PROFESOR QUE ENTREGA EL MATERIAL Nombre y firma	LABORATORISTA O PROFESOR QUE RECIBE EL MATERIAL Nombre y firma
--	---

ADEUDO NOMBRE Y FIRMA DEL DEUDOR

ADEUDO
NOMBRE Y FIRMA DEL DEUDOR