

2017-2

# Manual de Prácticas de Toxicología

Universidad Autónoma de Baja California

Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería Químico Farmacobiólogo

Dr. Diego Romero Pérez Dra. Myriam Tatiana Montaño Soto



# Índice

Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería	0
Introducción	1
Competencias de la unidad de aprendizaje	2
Lineamientos de laboratorio de Toxicología	3
Requisitos para asistir a prácticas:	3
Reglas en laboratorio	4
Criterios de evaluación	6
Guía para la entrega del reporte de laboratorio	7
Práctica 1. Medidas de seguridad en el laboratorio	8
Práctica 2. Efecto de sustancias químicas sobre la germinación de semillas	25
Práctica 3. Detección de plomo en cerámica vidriada	29
Práctica 4. Combustión de polisacáridos en presencia de clorato de potasio	32
Práctica 5. Taninas de té como quelantes de hierro	35
Práctica 6. Detección de cocaína y metanfetaminas	38
Práctica 7. Detección de canabinoides	42
Práctica 8. Detección de alcaloides	45
Práctica 9. Identificación de micronúcleos en epitelio bucal	49
Práctica 10. Detección de ácido bórico en pescados y mariscos	53
Práctica 11. Extracción y detección de cianuro a partir de semillas	49
Práctica 12. Efectos corrosivos en tejidos por adherencia de pilas de botón	61

# Introducción

Este manual está dirigido a estudiantes de la Unidad de Aprendizaje de Toxicología, que se ofrece como optativa en el quinto semestre de la licenciatura en Químico Farmacobiólogo, de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California. En él se desarrollan prácticas destinadas al desarrollo de habilidades que permitan desde un punto de vista práctico explicar los aspectos generales de la toxicología, la estimación de riesgos por exposición a sustancias, los principios generales para el tratamiento de intoxicaciones, la identificación de tóxicos, así como los métodos de separación para la identificación de los mismos.

# Competencias de la unidad de aprendizaje

Evaluar riesgos toxicológicos mediante la identificación de fuentes, rutas y de agentes tóxicos utilizando como herramientas los métodos y las técnicas cualitativas-cuantitativas para proponer estrategias o medidas de control que ayuden a reducir los niveles de tóxicos, en un ámbito de trabajo colaborativo, abierto a la discusión y al derecho de réplica que aliente a la formación del pensamiento científico en la emisión de juicios críticos de los futuros profesionales dedicados a la toxicología.

# Lineamientos de laboratorio de Toxicología

El laboratorio de Toxicología puede ser un lugar seguro para hacer experimentos si lo haces con cuidado y responsabilidad, la cual debes de asumir sobre tu propia persona y la de tus compañeros. Los siguientes son algunos de los lineamientos que deberás seguir en el laboratorio de Toxicología, que te guiaran a protegerte contra accidentes que puedan dañar tu salud y la de cualquier otra persona que se encuentre en el laboratorio.

# Requisitos para asistir a prácticas:

- Crear correo electrónico para todo el grupo.
- Realizar su trabajo práctico, únicamente, en el día y la fecha que le corresponda a su grupo.
- Presentarse puntualmente a la práctica (sólo se permiten 10 min. de tolerancia).
- Seguir el formato del reporte (.doc o .pdf), por equipo.
- Leer práctica antes de cada sesión, cada alumno debe tener una copia fotostática (Impresa) de la práctica.
- Elaborar un diagrama de flujo para cada práctica.
- Traer laptop, tablet o celular con cámara para fotos y cronómetro.
- Plumones indelebles (2 o 3 colores) punta mediana.

#### Recomendaciones

- Activar seguro facultativo.
- Identificar alergias, fobias vs. roedores, problemas de visión.
- En caso de emergencia asistir a las instalaciones del CUMAI (Centro Universitario Médico Asistencial y de Investigación).

# Reglas en laboratorio

- 1. Ingresar al laboratorio siempre portando su bata, calzado cerrado, cabello recogido y no utilizar lentes de contacto.
- 2. Utilizar guantes protectores de nitrilo o látex (sin esporas de licopodio), gafas y mascarilla dependiendo de la práctica que así lo requiera.
- 3. Solicitar material con anterioridad (cristalería, reactivos, preparación de soluciones). Si el laboratorio inicia a las 8 A.M., solicitar y almacenar su material con un día de anticipación.
- 4. Colocar los libros y cosas personales en los estantes destinados para ello o debajo de las mesas.
- 5. No comer en el laboratorio.
- 6. No realizar experimentos que no se hayan autorizado.
- 7. Revisar la limpieza del laboratorio, limpiar las mesas de trabajo antes y después de cada sesión (Lysol® y papel secante).
- 8. Lavar el material con jabón y enjuagar con agua destilada antes de iniciar la práctica (nunca deberá suponer que este viene limpio).
- 9. Identificar y rotular todo el material antes de usar: nombre de la solución, inyectar, congelar, centrifugar, etc.
- 10. Siempre preparar soluciones con excedente, cantidad de más.
- 11. Colectar, preparar o guardar muestras siempre por duplicado o triplicado.
- 12. En el experimento siempre incluir un blanco, control o testigo de referencia.
- 13. Los reactivos utilizados deberán colocarse cerrados en su lugar al finalizar la práctica.

- 14. No deberá cambiar los tapones de los frascos de reactivos, cuando destape un frasco vuélvalo a tapar inmediatamente, después que tomó el reactivo.
- 15. Para cada reactivo utilizar una pipeta o espátula limpia, de lo contrario los reactivos se pueden contaminar.
- 16. No arrojar reactivos, ni sólidos (cerillos, papeles, etc.) a los lavaderos, para evitar contaminación y taponamientos de las cañerías.
- 17. Disponer al final de la práctica los productos biológicos en los recipientes de RPBI, así como los reactivos químicos en los contenedores correspondientes, que se encuentran en la parte lateral del laboratorio.
- 18. Reportar inmediatamente cualquier contingencia al docente.

# Criterios de evaluación

2. Calificaciones

Se califica solo una vez

# Guía para la entrega del reporte de laboratorio

# **POR EQUIPO**

# El reporte debe constar de las siguientes partes:

- Introducción: El propósito de la introducción es dar antecedentes sobre el tema principal de estudio. BREVE
- Objetivos: Los objetivos se refiere a lo que se pretende obtener en el estudio, ¿Qué?, ¿Cómo? y ¿Con que?
- Metodología: Incluir el material biológico y reactivos utilizados, así como describir detalladamente los pasos a seguir, de tal forma que si otra persona lee su trabajo lo pueda reproducir en el laboratorio.
- Resultados: Incluir tablas, graficas, fotos, las cuales deberán estar numeradas y hacer referencia de ellas dentro del texto.
- Discusión y conclusiones: Aquí deben obtener sus propias conclusiones a partir de la comparación de sus resultados con los de otros autores, explicar errores, aciertos, ¿qué tan confiables son sus resultados?. Si sus resultados no fueron los esperados explicar ¿cuál fue la razón?, ¿su trabajo, alcanzó el objetivo planteado?, evalúen sus hipótesis de trabajo
- Bibliografía: Las referencias deben citarse en estilo adecuadamente, se aconseja utilizar la herramienta de Word, para administrar fuentes, en estilo APA.
  - Sneeler, P. Y Bianchi, D. 1993. Biología celular. Limusa. México. Pp.473-487 (libro)
  - Zhang Y, Dong S, Wang H, Tao S, Kiyama R. Biological impact of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) as endocrine disruptors. Environ Pollut 2016; 213: 809-824. (revista)
  - COFEPRIS. (2014, 21 de febrero). Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos. Obtenido el 14 de agosto de 2017 en http://www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/TercerosAutorizados/cvfq032011.pdf (documento en linea)

# Práctica 1. Medidas de seguridad en el laboratorio

#### 1. Introducción

El riesgo que supone el manejo de sustancias químicas viene determinado por la exposición a las mismas y por el peligro que éstas representan. Para poder protegernos adecuadamente nosotros mismos y el medio ambiente, debemos poner en práctica medidas preventivas que tengan en cuenta ambos factores para asegurar su correcta y segura manipulación, el adecuado almacenamiento y su correcta eliminación (Anexo 1).

# 1.1 Exposición a sustancias peligrosas

Las sustancias peligrosas son elementos, compuestos o mezclas, las cuales al ser liberadas representan un peligro sustancial para la salud pública y al medio ambiente.

La peligrosidad de las sustancias químicas constituye una propiedad intrínseca. Sin embargo, aun cuando una sustancia química posea propiedades que la hacen peligrosa, no necesariamente puede ocasionar efectos adversos en la salud, si no se dan las condiciones de exposición necesarias para que esto ocurra.

Estas condiciones dependen fundamentalmente de la cantidad de sustancia que entra en contacto con la molécula blanco y la concentración que alcanza en el sitio de acción, junto con el tiempo que dure la exposición y la frecuencia con la que se repita.

Con relación a las vías potenciales de entrada de los compuestos al organismo, destacan:

- -Vía respiratoria: Es la más frecuente e importante en medios laborales, ambientales y particularmente durante la permanencia en un laboratorio. Los contaminantes (polvos, humos, aerosoles, gases, vapores) son inhalados y absorbidos rápidamente por los pulmones.
- -Vía digestiva: Suele producirse por aspiración al pipetear, por conservar un producto en un envase de alimentos, o por comer o fumar con las manos contaminadas.
- -Vía percutánea: Además de provocar efectos corrosivos e irritantes, diversos compuestos modifican las barreras facilitando la entrada de otros, o atraviesan las membranas siendo absorbidos directamente hacia la sangre.

# 1.2 Toxicidad aguda

La toxicidad aguda se refiere a los efectos adversos graves para la salud que ocurren inmediatamente después de una exposición oral, dérmica o por inhalación a una sustancia o mezcla.

#### 1.2.1 Criterios de clasificación de sustancias

De acuerdo con la Organización de la Naciones Unidas (ONU), a través del Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (GHS, por sus siglas en inglés), las sustancias se pueden asignar a una de las cinco categorías de peligro basadas en la toxicidad aguda por vía oral, dérmica o inhalatoria, de acuerdo con los criterios numéricos de corte que se muestran en la tabla. (UNECE, 2017) Los valores de toxicidad aguda se expresan como valores (aproximados) de DL<sub>50</sub> (oral, dérmica) o CL<sub>50</sub> (inhalación) o como estimación de toxicidad aguda (ETA).

Categorías de peligro de toxicidad aguda y estimaciones de la toxicidad aguda (ETA) que definen las categorías respectivas

Vía de exposición	Categoría 1	Categoría 2	Categoría 3	Categoría 4	Categoría 5
Oral (mg/kg de peso corporal) véanse notas a) y b)	5	50	300	2000	5000
Cutánea (mg/kg de peso corporal) véanse <i>notas a) y b)</i>	50	200	1000	2000	
Gases (ppmV) véanse notas a) b) y c)	100	500	2500	20000	Pueden suponer peligro en
Vapores (mg/l) véanse notas a),b), c), d) y e)	0,5	2,0	10,0	20,0	poblaciones vulnerables
Polvos y nieblas (mg/l) véanse notas a), b), c) y f)	0,05	0,5	1,0	5,0	

Disponible en: https://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs rev07/English/03e part3.pdf

# 1.3 Normatividad nacional e internacional, en el etiquetado de sustancias químicas

Las regulaciones actuales establecen que, previo a su comercialización, las sustancias químicas deben ser sujetas a pruebas de laboratorio, que permitan caracterizarlas en términos de sus propiedades físicas, químicas, toxicológicas y eco-toxicológicas, a fin de contar con datos para evaluar su peligrosidad. Con base en lo anterior se han desarrollado distintos sistemas a nivel nacional e internacional que permiten establecer las recomendaciones relativas a la clasificación, envasado y etiquetado de sustancias y preparados peligrosos.

A nivel nacional la NOM-018-STPS-2015, relativa al sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo, establece de forma concreta las indicaciones de peligrosidad que deben aplicarse a cada sustancia, incluyendo los elementos de comunicación de peligros físicos y para la salud, pictogramas o símbolos que apliquen de acuerdo con la categoría de sus peligros, así como las indicaciones de peligro y los consejos de prudencia (Anexo 2). (DOF, 2015)

Con respecto al procedimiento de identificación, clasificación y listado de los residuos peligrosos, la NOM-052-SEMARNAT-2005, provee los elementos necesarios para que estos sean clasificados con base en sus características CRETIB (corrosivo, reactivo, explosivo, tóxico ambiental, inflamable y biológico-infeccioso), a fin de realizar un manejo más adecuado de los mismo, que garanticen un menor impacto a la salud y el medio ambiente. (DOF, 2006)

Por su parte, a nivel internacional, el Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (GHS, por sus siglas en inglés) es un sistema de comunicación de riesgos desarrollado por las Naciones Unidas para normalizar y armonizar a nivel internacional la clasificación y el etiquetado de productos de los productos químicos. (UNECE, 2017)

El GHS describe la naturaleza y la gravedad de un peligro químico según la clase y la categoría del peligro, también asigna pictogramas estándar que representan los diferentes tipos de peligros.

# 1.4 Incompatibilidad en el almacenamiento

Tan importante como manejar correctamente los productos químicos es almacenarlos adecuadamente. Desde el punto de vista de la toxicidad, aquellas sustancias que sean muy tóxicas deben ser almacenadas de forma que se limite su extensión tras un daño accidental del recipiente.

Es importante prestar especial atención en el caso de sólidos y líquidos volátiles ya que una de las vías de intoxicación más común en los laboratorios es la inhalatoria. Debe tenerse en cuenta además la posibilidad de que dos productos inocuos, mezclados dejen de serlo, o de que en ocasiones un producto aumente la toxicidad de otro.

Hay sustancias cuyo efecto es acumulativo, por lo que exposiciones prolongadas a bajas dosis pueden ser muy peligrosas. Hay que asegurarse de que los recipientes que contienen este tipo de productos estén bien cerrados.

En el momento de almacenar o de gestionar los envases de los productos o sustancias peligrosas, será necesario tener en cuenta las incompatibilidades entre los diferentes símbolos de peligrosidad que se indican en la etiqueta.

En consonancia con lo anterior, tal y como se especifica en el cuadro adjunto, no deberemos almacenar juntos los productos inflamables con los productos tóxicos (ya que correremos el riesgo de inhalar sustancias tóxicas en caso de incendio), ni tampoco usar el mismo contenedor para guardar, hasta el momento de su gestión final, los envases de productos etiquetados con estos dos símbolos.

En definitiva, la separación de los distintos productos y envases responde a la eliminación de riesgos basada en un criterio lógico y teniendo en cuenta la reactividad de las distintas sustancias.

					<b>(</b>
	+	-	-	ı	+
	-	+	-	-	-
	-	-	+	-	+
<b>③</b>	-	-	-	+	0
	+	-	+	0	+

Se pueden almacenar conjuntamente.

No deben de almacenarse juntos.

medidas preventivas.

O Solamente podrán almacenarse juntos, si se adoptan ciertas

#### 1.5 Eliminación de residuos

Debido al peligro que suponen los residuos químicos para la salud y preservación del medio ambiente, se hace necesaria una adecuada eliminación de los mismos. Como norma general, los residuos se acumularán en recipientes convenientemente etiquetados para ser dispuestos como ordena la ley, atendiendo a sus características químicas y toxicidad.

Es importante recordar que los recipientes que los contienen también están clasificados como residuos. La información específica sobre un compuesto puede encontrarse en catálogos o solicitarse a las firmas que lo producen. Desde el punto de vista práctico, los residuos pueden clasificarse en residuos tóxicos y peligrosos (7 grupos) y como otros tipos de residuos, entre los que se encuentran residuos radioactivos, biológicos peligrosos, biológicos asimilables a urbanos, otros residuos asimilables a urbanos, objetos cortantes y punzantes.

# 1.6 Otros sistemas de etiquetado

Otro de los sistemas que generalmente se incluyen en el etiquetado de las sustancias químicas es el rombo NFPA, comúnmente conocido como el "diamante de peligro". Es un diagrama que contiene información sobre los **riesgos asociados a una determinada sustancia** según la **norma 704** del *National Fire Protection Association* (NFPA-704) de Estados Unidos. El diagrama consiste en un código de colores y números que tiene como objetivo que se puedan identificar rápidamente los peligros de un material y la gravedad de estos peligros, para la respuesta de una emergencia.

El sistema consta de un rombo dividido en cuatro secciones, cada sección tiene un color distinto y un número. El color se asocia con diferentes tipos de peligros: azul para salud, rojo para inflamabilidad, amarillo para reactividad e inestabilidad y blanco para peligrosos específicos de algunos materiales. El número de cada sección puede ir desde cero si no hay peligro hasta 4 para riesgo máximo, tal como se muestra a continuación.



# **Objetivos**

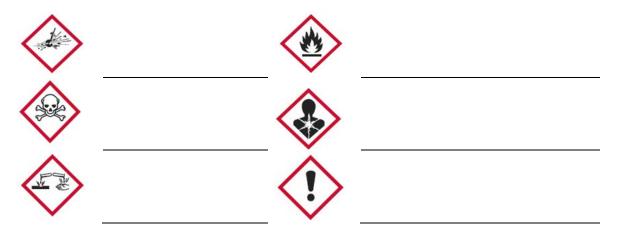
- Conocer los aspectos legislativos sobre la clasificación, envasado y etiquetado de productos químicos.
- Conocer los elementos básicos de reconocimiento de sustancias químicas de uso en el laboratorio, que permitan identificar el riesgo en su manejo y tomar las medidas de protección necesarias para asegurar su correcta y segura manipulación, su adecuado almacenamiento y correcta eliminación.

#### Material

Hojas de datos de seguridad

- Cuestionario 1. ¿En un laboratorio, un producto químico sin etiqueta debe considerarse inocuo? 2. ¿Cuáles son los dos factores fundamentales que condicionan la exposición? 3. ¿Qué significa la frase de peligro H221, de acuerdo a la NOM-018-STPS-2015? 4. ¿Qué significa la frase de prudencia P403, de acuerdo a la NOM-018-STPS-2015?
  - 5. ¿Qué significa la frase de frase de prudencia P410 + P403?

- 6. ¿Cuál es la clave de peligro que identifica a los compuestos capaces de causar graves quemaduras?
- 7. ¿Cómo se clasifica un compuesto con una DL<sub>50</sub> oral de 300 mg/Kg y de acuerdo con el GHS?
- 8. Definir el significado de los siguientes pictogramas



9. A continuación aparece el símbolo de diamante para el hidróxido de potasio. interpretar la información referente a inflamabilidad, reactividad, toxicidad y riesgos especiales.



10. Completar la siguiente tabla, en la que se especifiquen los 7 grupos de residuos tóxicos y peligrosos.

Grupo		Ejemplos
Grupo I Disolventes halogenados		Fenol, cloroformo, el clorobenceno.

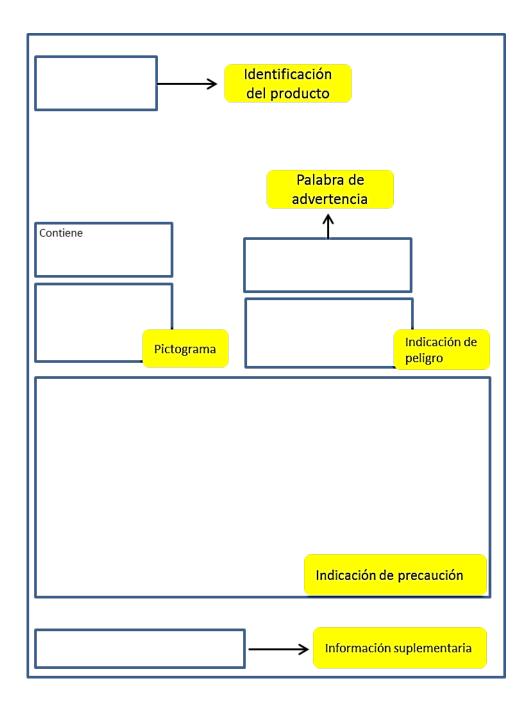
11. ¿Por qué no se debe fumar en presencia de compue
--

- 12. ¿Qué características debe tener el contenedor a donde se depositen residuos de ácidos?
- 13. ¿Cuál es la principal vía de entrada al organismo de contaminantes en el laboratorio?

14. Dibujar el pictograma correspondiente a comburente.

- 15. Seleccionar alguna de las siguientes sustancias e identificar la información solicitada:
- Ácido clorhídrico
- Benceno
- Tolueno

- Metanol
- Acetonitrilo



Discusión						

#### **Conclusiones**

# **Bibliografía**

- DOF, Diario Oficial de la Federación. (2006). NOM-052-SEMARNAT-2005, Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.
  - http://dof.gob.mx/nota\_detalle.php?codigo=4912592&fecha=23/06/2006
- DOF, Diario Oficial de la Federación. (2015). NOM-018-STPS-2015. Sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo.
  - http://dof.gob.mx/nota\_detalle.php?codigo=5411121&fecha=09/10/2015
- UNECE, United Nations Economic Commission for Europe. (2017). Globally Harmonized System (GHS, Rev. 7, 2017).
  - https://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/ghs\_welcome\_e.html

#### **Anexos**

# Anexo 1. Normas generales de seguridad en el laboratorio

#### Generales

- Las instalaciones deben ser adecuadas para prevenir accidentes y exposiciones
- El acceso debe ser restringido. Nunca quedarse solo en el laboratorio
- Disponer de información clara sobre operaciones de riesgo
- Recordar siempre los riesgos físicos, químicos y biológicos, las vías de entrada de los mismos, y tratar de prevenir la exposición y accidentes.

# **Hábitos personales**

- Avisar si se padece alguna alergia.
- Llevar recogidos los cabellos.
- Es imprescindible el uso de la bata, manteniéndola abrochada.
- No fumar, comer, beber ni aplicarse cosméticos, ni guardar alimentos ni bebidas en el laboratorio.
- Es conveniente el uso de gafas protectoras.
- Emplear guantes, mascarillas y bata desechable cuando se manipulen productos muy peligrosos, o cuando se prevea la posibilidad de exposición (polvos finos, aerosoles).
- No colocar objetos personales en mesas de trabajo.

# Realización de los experimentos

- Trabaja siempre sobre la mesa de trabajo o en campana según se requiera.
- Nunca adiciones agua sobre ácido, lo correcto es adicionar ácido sobre agua.
- No toques con las manos ni degustes los productos químicos.
- Al experimentar el olor de productos químicos, nunca coloques el producto o el frasco directamente en la nariz y evitar inhalar los productos químicos, sus polvos, vapores o aerosoles. Utilizar la vitrina de gases cuando sea necesario.
- No pipetear con la boca.
- Cuando estés manipulando frascos o tubos de ensayo, nunca dirijas la abertura en tu dirección o en la dirección de otras personas.
- Presta atención cuando tengas que realizar procesos de calentamiento.
- Ten cuidado para no quemarte al utilizar nitrógeno o CO2 líquidos, las válvulas del gas deben ser abiertas lentamente con las manos y nunca ser forzadas con martillos u otras herramientas, ni las dejes con presión cuando el cilindro de gas o la línea en tu mesa de trabajo no estén siendo usados.

- Pon mucha atención en cuanto a la presencia de llamas abiertas u otras posibles fuentes de ignición.
- Utiliza encendedores piezoeléctricos largos; no emplees cerillos ni encendedores de bolsillo. No dejes los mecheros encendidos si no se están utilizando.
- La destilación de solventes, manipulación de ácidos y compuestos tóxicos y las reacciones que generen gases tóxicos son operaciones que deben ser realizadas en campanas con buen arrastre.
- •Siempre que sea posible, antes de realizar reacciones donde no conozcas totalmente los resultados, has una reacción en pequeña escala en la campana.
- Al trabajar con reacciones peligrosas (peligro de explosión, generación de material tóxico, etc.) o cuya peligrosidad desconozcas procede de la siguiente forma:
- 1. Avisa a tus compañeros del laboratorio
- 2. Trabaja en una campana con buen arrastre, retirando todo tipo de material inflamable. Trabaja en un área limpia.
- 3. Usa protector acrílico.
- 4. Ten un extintor cerca y listo para ser usado.
- No mezcles reactivos a menos que tengas la seguridad de que puede hacerse.
- No llenes los tubos de ensayo más de dos centímetros por debajo del borde. En las valoraciones no llenes los recipientes por encima de la mitad de su capacidad.
- Cierra las botellas inmediatamente con su tapón correspondiente.
- Calienta los tubos de ensayo inclinados y utilizando pinzas. No dirijas hacia tí ni hacia los demás, tubos de ensayo, matraces, etc. que estén calentándose o emitiendo vapores.
- Utilizar gradillas y soportes. No llevar tubos de ensayo ni productos en los bolsillos de la bata.
- Toma los tubos de ensayo con los dedos nunca con la mano.
- No reintegres nunca reactivos a su recipiente de origen para no contaminarlo. No tomes reactivos en exceso.
- Cuando se quiera hervir líquidos (p. ej. destilación), se deben calentar con plato poroso en su interior.
- Si se debe calentar algún disolvente orgánico, se empleará manta o placa calefactora, nunca mechero.
- Trata con delicadeza el material de vidrio, y con cuidado los equipos eléctricos y los gases a presión o vacío.
- El empleo de material radioactivo exige autorización del manipulador y las instalaciones.
- Si vas a utilizar animales, deberás hacerlo previa capacitación.

# Preparación de soluciones

- Limpia antes la balanza si estuviera sucia, y después de usarla. Usar una brocha o un papel, nunca soplar.
- Pesar el reactivo sólido sobre papel no absorbente, de aluminio o directamente en un vaso de precipitados. Disolverlo en vaso de precipitados. Verter la disolución en un matraz aforado y enrasar con el disolvente.
- Lavar inmediatamente la espátula
- Los ácidos se añaden diluidos y muy lentamente, sobre las bases o el agua. Los agentes oxidantes se añaden diluidos y muy lentamente, sobre los agentes reductores, y viceversa.

#### Para terminar

- Al finalizar una reacción u operación, recoge los materiales, reactivos, equipos etc., evitando acumulaciones innecesarias.
- Asegúrate de la desconexión de aparatos, agua, gases, etc.
- Limpia el lugar de trabajo. Lava con mucha precaución todo el material de vidrio usado, que tendrá que ser enjuagado con agua destilada.
- Elimina correctamente los residuos producidos. Se recomienda lo siguiente:
- Los residuos de solventes de reacciones y de rotavapores deben ser colocados en frascos apropiados para ser tratados para descarte. Evita mezclar los solventes, para esto te sugerimos la siguiente separación: Solventes clorados, hidrocarburos, alcoholes y cetonas, éteres y ésteres, acetatos y aldehídos. Siempre que sea posible indica también los porcentajes aproximados de los componentes, ya que este tipo de residuo re quiere ser incinerado por empresas especializadas que exigen una descripción minuciosa del material que reciben. Verifica primero si es posible recuperar estos residuos en el laboratorio.
- Los residuos acuosos ácidos o básicos deben ser neutralizados en el caño antes de descartados, y solo después de esto podrán ser descartados. Para el descarte de metales pesados, metales alcalinos y de otros residuos, consulta anticipadamente la bibliografía adecuada.
- El uso de solución sulfocrómica o mezcla crómica para limpieza está siendo prohibido en la mayoría de laboratorios. En el caso de necesitar usarla nunca la deseches directamente en la tarja.
- Por último, lavar las manos antes de abandonar el laboratorio y quitar la bata

# Anexo 2. Riesgos específicos atribuidos a sustancias y preparados peligrosos

# Frases de peligro

2) peligros físicos Primer Segundo Propiedades intrínsecas **Letra H** (Hazard statement) (explosividad, inflamabilidad) digito 3) peligros a la salud digito

# Códigos de identificación H y sus indicaciones de peligro físico

Código	Indicación de peligro físico	Código	Indicación de peligro físico
H200	Explosivo inestable	H231	Puede explotar incluso en ausencia de aire, a presión y/o temperaturas elevadas
H201	Explosivo; peligro de explosión en masa	H240	Puede explotar al calentarse
H202	Explosivo; grave peligro de proyección	H241	Puede incendiarse o explotar al calentarse
H203	Explosivo; peligro de incendio, de onda expansiva o de proyección	H242	Puede incendiarse al calentarse
H204	Peligro de incendio o de proyección	H250	Se inflama espontáneamente en contacto con el aire
H205	Peligro de explosión en masa en caso de incendio	H251	Se calienta espontáneamente; puede inflamarse
H220	Gas extremadamente inflamable	H252	Se calienta espontáneamente en grandes cantidades; puede inflamarse
H221	Gas inflamable	H260	En contacto con el agua desprende gases inflamables que pueden inflamarse espontáneamente
H222	Aerosol extremadamente inflamable	H261	En contacto con el agua desprende gases inflamables
H223	Aerosol inflamable	H270	Puede provocar o agravar un incendio; comburente
H224	Líquido y vapores extremadamente inflamables	H271 Puede provocar un incendio o una explosió comburente	
H225	Líquido y vapores muy inflamables	H272	Puede agravar un incendio; comburente
H226	Líquido y vapores inflamables	H280	Contiene gas a presión; puede explotar si se calienta
H227	Líquido combustible	H281	Contiene gas refrigerado; puede provocar quemaduras o lesiones criogénicas
H228	Sólido inflamable	H290	Puede ser corrosiva para los metales
H229	Contiene gas a presión, puede reventar si se calienta	** Ver má	is en: NOM-018-STPS-2015.
H230	Puede explotar incluso en ausencia de aire		

# Códigos de identificación H y sus indicaciones de peligro para la salud

Código	Indicación de peligro físico	Código	Indicación de peligro físico
H300	Mortal en caso de ingestión	H350	Puede provocar cáncer
H301	Tóxico en caso de ingestión	H351	Susceptible de provocar cáncer
H302	Nocivo en caso de ingestión	H360	Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto (indíquese el efecto específico si se conoce)
H303	Puede ser nocivo en caso de ingestión	H361	Susceptible de perjudicar la fertilidad o dañar al feto
H304	Puede ser mortal en caso de ingestión y de penetración en las vías respiratorias	H362	Puede ser nocivo para los lactantes
H305	Puede ser nocivo en caso de ingestión y de penetración en las vías respiratorias	H370	Provoca daños en los órganos (o indíquense todos los órganos afectados, si se conocen)
H310	Mortal en contacto con la piel	H371	Puede provocar daños en los órganos (o indíquense todos los órganos afectados, si se conocen)
H311	Tóxico en contacto con la piel	H372	Provoca daños en los órganos (indíquense todos los órganos afectados, si se conocen) tras exposiciones prolongadas o repetidas
H312	Nocivo en contacto con la piel	Н373	Puede provocar daños en los órganos
H313	Puede ser nocivo en contacto con la piel	H300 + H310	Mortal en caso de ingestión o en contacto con la piel
H314	Provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares	H300 + H330	Mortal en caso de ingestión o si se inhala
H315	Provoca irritación cutánea	H310 + H330	Mortal en contacto con la piel o si se inhala
H316	Provoca una leve irritación cutánea	H300 + H310 + H330	Mortal en caso de ingestión, en contacto con la piel o si se inhala
H317	Puede provocar una reacción cutánea alérgica	H301 + H311	Tóxico en caso de ingestión o en contacto con la piel
H318	Provoca lesiones oculares graves	H301 + H331	Tóxico en caso de ingestión o si se inhala
H319	Provoca irritación ocular grave	H311 + H331	Tóxico en contacto con la piel o si se inhala
H320	Provoca irritación ocular	H301 + H311 + H331	Tóxico en caso de ingestión, en contacto con la piel o si se inhala
H330	Mortal si se inhala	H302 + H312	Nocivo en caso de ingestión o en contacto con la piel
H331	Tóxico si se inhala	** Ver må	is en: NOM-018-STPS-2015.
H332	Nocivo si se inhala		
H333	Puede ser nocivo si se inhala		

# Frases de prudencia

**Letra P** (Precautionary statement)

1) De carácter general;

2) Relativos a la prevención;

3) Relativos a la intervención/respuesta

4) Relativos al almace namiento

**Primer** 

digito

5) Relativos a la eliminación

Segundo digito

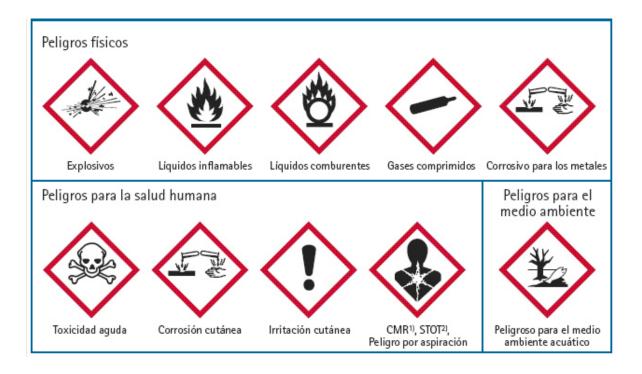
Numeración consecutiva de

los consejos

Códigos de identificación P y sus consejos de prudencia

Código	Consejos de prudencia	Código	Consejos de prudencia
P101	Si se necesita consultar a un médico: tener a la mano el recipiente o la etiqueta del producto	P361	Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada
P102	Mantener fuera del alcance de los niños	P362	Quitar la ropa contaminada
P103	Leer la etiqueta antes del uso	P363	Lavar la ropa contaminada antes de volverla a usar
P201	Procurarse las instrucciones antes del uso	P364	Y lavarla antes de volver a usar
P202	No manipular antes de haber leído y comprendido todas las precauciones de seguridad	P370	En caso de incendio
P210	Mantener alejado del calor, chispas, llamas al descubierto, superficies calientes y otras fuentes de ignición. No fumar	P371	En caso de un incendio de grandes proporciones
P211	No vaporizar sobre una llama al descubierto o cualquier otra fuente de ignición	P372	Riesgo de explosión
P220	Mantener alejado de la ropa y otros materiales combustibles	P373	No apagar el fuego cuando éste afecta a la carga
P222	No dejar en contacto con el aire	P375	Combatir el incendio a distancia debido al riesgo de explosión
P223	Evitar el contacto con el agua	P376	Detener la fuga si puede hacerse sin riesgo
P230	Mantener humidificado con	P377	Fuga de gas inflamado. No apagar las llamas del gas inflamado si no puede hacerse sin riesgo
P231	Manipular y almacenar el contenido en un medio de gas inerte	P378	Utilizar para la extinción
P232	Proteger de la humedad	P380	Evacuar la zona
P233	Mantener el recipiente herméticamente cerrado	P381	En caso de fuga, eliminar todas las fuentes de ignición
P234	Conservar únicamente en el recipiente original	P390	Absorber el vertido para prevenir daños materiales
P235	Mantener fresco	P391	Recoger los vertidos
P240	Toma de tierra y enlace equipotencial del recipiente y del equipo receptor	**Ver má	s en: NOM-018-STPS-2015.
P241	Utilizar material [eléctrico / de ventilación / iluminación/]		

Anexo 3. Pictogramas o símbolos de peligrosidad



# Práctica 2. Efecto de sustancias químicas sobre la germinación de semillas

#### Introducción

El creciente desarrollo industrial ha traído consigo la aparición de una importante cantidad de sustancias químicas, las cuales representan un riesgo para la salud humana y de los ecosistemas. (Navarro, 2006) El manejo y consumo de estas sustancias supone un riesgo en función de las características fisicoquímicas de las sustancias, su potencial tóxico o toxicidad intrínseca y la probabilidad de que sea absorbida.

Los efectos benéficos o adversos que una sustancia ejerce sobre un organismo dependen en parte a la cantidad de dicha sustancia que se absorbe por el organismo. La cantidad total de sustancias que se administra o absorbe por un organismo se denomina *dosis*, el *efecto* que estas sustancias tienen sobre el organismo se denomina *respuesta*, la cual manifiesta un cambio bioquímico o función fisiológica en el organismo, debido a una interacción a nivel molecular entre el xenobiótico y los constituyentes biológicos. (Repetto, 2009)

En este experimento se realizarán pruebas de toxicidad en semilla de rábano (*Raphanus sativus*), prestando especial atención en la dosis y concentración de las sustancias. A partir de este experimento, se comprenderá la importancia del uso de los modelos biológicos en la ciencia cuando los sujetos humanos no se pueden utilizar debido al riesgo potencial que representa su exposición.

Las semillas de rábano son ideales para este experimento ya que se pueden conseguir fácilmente y germinan rápido.

# **Objetivos**

- Identificar el efecto dosis dependiente de diversas sustancias químicas sobre la geminación de semillas.
- Comprender la importancia de la biología traduccional y bioensayos como herramienta para identificar la toxicidad de las sustancias.

## **Hipótesis**

La exposición a soluciones con concentraciones crecientes de diferentes sustancias ejercerá un efecto sobre la germinación de las semillas, siendo algunas sustancias más tóxicas que otras.

#### Material

60	Bolsas Ziploc <sup>®</sup> 14.5x14.5 cm	1	Probeta de 50 mL
60	Servilletas 11.5x11.5 cm	1	Espátula
6	Vasos de pp. 50 mL	3	Marcadores permanentes
3	Pipetas de 10 mL	1	Paquete de semillas de rábano
3	Pipetas de 5 mL	1	Paquete de vasos de pástico transp.

# Sustancias ← Dividirlas por equipos

- Splenda®
- Detergente líquido sin cloro
- Coca-Cola®
- Fertilizante comercial 1x
- Windex® c/amoniaco 10%
- Glifosato 1x

- Sal de mesa (NaCl)
- Etanol
- Azúcar (Sacarosa)
- Microdyn® 1x
- Lysol ® líquido
- Te del col morada (pHmetro) Hervir col y filtrar con tela blanca

#### **Procedimiento**

Ensayo de toxicidad con semillas de rábano. (Sobrero y Ronco, 2004; Navarro, 2006)

1. Preparar 20 mL de cada una de las diferentes soluciones a los siguientes porcentajes (0%, 7.5%, 12.5%, 25%, 50 %, 100%). MEDIR pH a solución stock con col morada.

Vaso pp.	Agua	Sustancia	Volumen total	Concentración
1	20.00 mL	0.00 mL	20 mL	0 %
2	18.50 mL	1.50 mL	20 mL	7.5 %
3	17.50 mL	2.50 mL	20 mL	12.5 %
4	15.00 mL	5.00 mL	20 mL	25 %
5	10.00 mL	10.0 mL	20 mL	50 %
6	0.00 mL	20.0 mL	20 mL	100 %

- 2. Etiquetar las seis bolsas con la información del equipo, sustancias y concentración.
- 3. Colocar en el interior de cada una de las bolsas una servilleta y saturar con 20 mL de cada una de las soluciones preparadas. Hacer lo mismo con la bolsa de control positivo a la cual sólo se añadirá solo agua. Ninguna deberá llevar te de col morada.
- 4. Colocar 10 semillas de rábano distribuidas SOBRE la servilleta.
- 5. Extraer el aire de la bolsa y sellarla.
- 6. Colocar las bolsas apiladas, con las semillas hacia arriba y en obscuridad. Si se secan, agregar agua destilada a la servilleta.

- 7. Observar las semillas durante los siguientes siete días y anotar las observaciones.
- 8. Trascurrida una semana, medir la plántula y radículas, y VOLVER A MEDIR pH.
- 9. Observar y comparar sus resultados con los de sus compañeros que utilizaron otras sustancias y la bibliografía disponible.

#### Análisis de resultados

- 1. Predecir qué sucederá con las semillas en cada sustancia
- 2. De acuerdo con la sustancia, describir lo que sabe acerca de ella, ¿resulta benéfica o tóxica?, ¿para qué se emplea?, ¿Cómo puede el humano exponerse a ella?
- 3. ¿En qué bolsa la dosis de las sustancias fue la más alta?
- 4. ¿Se observó un efecto diferente en semillas expuestas a dosis pequeñas en comparación a dosis altas?
- 5. ¿Qué se observa?
  - Ausencia o presencia de cotiledones
  - Ausencia o longitud de hipocótilo
  - Ausencia o longitud de la radícula
  - Ausencia o presencia de pelos radiculares

# Resultados

- Definir imbibición, aleurona, giberelina, endosperma
- Describir los diversos efectos de las sustancias sobre la germinación de las semillas
- Comparar los niveles de toxicidad de estas sustancias con base en sus resultados
- Determinar LD<sub>50</sub> para cada sustancia (*Respuesta cuantal: Germinó o No germinó*)

Sustancia:			

	Día	a 3	Día 5		Día 7		
Bolsa (dosis)	# semillas germinada	# semilla no germinada	# semillas germinada	# semilla no germinada	# semillas germinada	# semilla no germinada	
1 (0%)							
2 (7.5 %)							
3 (12.5 %)							
4 (25 %)							
5 (50 %)							
6 ( 100 %)							

Discusión			
Conclusiones			

# Bibliografía

- Navarro, A., Arrueta, R., & Maldonado, M. 2006. Determinacion del efecto de diferentes compuestos a través de ensayos de fitotoxicidad usando semillas de lechuga, escarola y achicoria. Rev. Toxicol., 23, 125-129.
- Repetto Jiménez, M., & Repetto Kuhn, G. 2009. Toxicología fundamental (4ta. ed.). España: Diaz de Santos.
- Sobrero, M. C., & Ronco, A. 2004. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (Lactuca sativa L). In G. Castillo Morales (Ed.), Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas (p. 188). México: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo.

# Práctica 3. Detección de plomo en barro vidriado (Efecto del pH en la liberación de metales pesados)

#### Introducción

México es uno de los principales países productores de alfarería vidriada. Durante la época prehispánica se producían piezas de barro con uso religioso, de ornato y utilitario, mismas que eran bruñidas y no tenían esmaltes. A partir de la llegada de los españoles se empezó a utilizar el óxido de plomo como constituyente de los vidriados para esmaltar las piezas, someterlas al fuego y obtener una alfarería con cubierta vítrea. (FONART, 2011)

Si la formulación de óxidos de plomo y en algunos de cadmio es deficiente o el proceso de cocción insuficiente, el vidriado se torna potencialmente tóxico. El uso indebido de estas formulaciones en piezas de alfarería, cerámica o porcelana que sirven para procesar o contener alimentos y/o bebidas representan un riesgo para la salud ya que ocasionan la solubilización del plomo y cadmio los cuales contaminan los alimentos y bebidas. Esto sucede especialmente con alimentos y condimentos ácidos como los jugos de naranja y limón, el vinagre, el tomate y otros más. (FONART, 2010)

Al ingerir cotidianamente alimentos y bebidas contaminados con plomo y cadmio, se puede producir una intoxicación gradual que afecta al organismo. El plomo puede afectar a casi todos los órganos y sistemas en el organismo. El más sensible es el sistema nervioso, especialmente en los niños. También daña a los riñones y al sistema reproductivo. El plomo puede producir anemia, un trastorno de la sangre. (FONART, 2010)

Por lo anterior la NOM-231-SSA1-2002, establece los límites máximos permisibles de plomo y cadmio solubles en artículos de alfarería vidriada, cerámica vidriada y porcelana, así como el Método de ensayo. (DOF, 2007)

#### **Objetivos**

Determinar cualitativamente la presencia de plomo en recipientes de barro vidriado

#### Material

4	Vasijas de barro vidriado IGUALES	3	Mecheros <b>Meker-Fisher</b>
3	Rejilla metálica	1	Gradilla
3	Anillo metálico	1	Vasija para baño María
3	Soporte universal	3	Pipeta de 1 mL
10	Tubos de ensayo o Falcon de 15 mL	5	Vaso pp. 500 mL
1	Termómetro >100°C	1	Probeta de 100 mL
	Té de col morada (pHmetro)	1	Diábolo

#### Reactivos

- Agua destilada
- Hidróxido de sodio *pellets*
- Yoduro de potasio 1M
- Limones

- Ácido clorhídrico conc.
- Ácido nítrico conc.
- Cloruro de plomo 0.005M
- Cloruro de cadmio 0.005M

#### **Procedimiento**

# Determinación cualitativa de plomo a diferentes valores de pH. (Jiménez et al., 2001)

- 1. Etiquetar los 4 recipientes de barro vidriado (A, B, C y D), y dos vasos de precipitado (E y F)
- 2. Colocar agua destilada en el recipiente A
- 3. Colocar agua destilada ajustada a pH < 2 con HCl en los recipientes B y D
- 4. Colocar agua destilada ajustada a pH > 10 con NaOH en el recipiente C
- 5. Calentar y hervir por 10 min A, B y C, en caso de evaporación, agregar más agua ajustada al mismo pH
- 6. Enfriar solo las soluciones en baño María (No el contenedor de barro porque se rompe)
- 7. Tomar de cada recipiente una alícuota de 0.5 mL y colocar en cada uno de los tubos de ensayo debidamente etiquetados. Los tubos se analizarán UNO A LA VEZ
- 8. Agregar **PRIMERO** 3 gotas de HNO₃ concentrado en cada tubo, **E INMEDIATAMENTE DESPUES** 1 mL de la solución de KI 1M **fresco**. Observar y **tomar foto** con fondo blanco
- 9. La formación inmediata de un precipitado amarillo indica presencia de Pb en la solución
- 10. Dejar en reposo durante la noche y comparar al día siguiente
- 11. Controles Negativos. Utilizar agua destilada, agua de limón, agua ácida y agua alcalina en tubos por separado, y proceder igual que los pasos 7 10.
- 12. Controles Positivos. Utilizar soluciones de PbCl<sub>2</sub> 0.005M, CdCl<sub>2</sub> 0.05M y otra conteniendo agua con un diábolo en tubos por separado, y proceder igual que los pasos 7 10. NOTA: El agua de los recipientes de barro no deberá llevar col morada.

# Cuestionario

- 1. Mencionar otras fuentes de exposición al plomo y cadmio.
- 2. Indicar cinco alimentos cuyo pH sea ácido y cinco cuyo pH sea alcalino.
- 3. ¿Cómo influye la edad del individuo en la absorción gastrointestinal del plomo?

4.	¿Cuáles son	los tejidos	principales	de de	pósito del	plomo en el	l organismo?
----	-------------	-------------	-------------	-------	------------	-------------	--------------

5. ¿Qué efectos puede tener en el organismo la intoxicación por plomo y cadmio?

# Resultados

Elaborar una tabla en la que se relacione el valor de pH con la presencia de plomo y describir los resultados.

# Discusión

#### **Conclusiones**

# **Bibliografía**

- DOF, Diario Oficial de la Federación. (2007). NOM-231-SSA1-2002, Artículos de alfarería vidriada, cerámica vidriada y porcelana. Límites de plomo y cadmio solubles. Método de ensayo. http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/231ssa102.pdf
- FONART. 2010. Uso de Plomo en la Alfarería en México. México D.F. http://alfareria.org/sites/default/files/images/InformePbAlfareria2010.pdf
- FONART. 2011. Programa nacional para la adopción del esmalte libre de plomo informe 2009-2011. México D.F. https://www.fonart.gob.mx/web/pdf/DO/Alfareria sin plomo 2012.pdf
- Jiménez, A., Lourdes, A., Cruz, M., Jannet, L., Reyes, M., Muñoz, C. P., Navarrete Vázquez, G. 2001. Manual de laboratorio de toxicología. Mexico D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.

# Práctica 4. Combustión de polisacáridos en presencia de un comburente

#### Introducción

En cualquier reacción redox, se libera una cierta cantidad de energía si la reacción se produce de forma espontánea. La cantidad de esta energía liberada o absorbida depende de la diferencia de los potenciales de reducción de los compuestos que están reaccionando. (Cardellá, 2007)

La combustión es una rápida reacción de oxidación entre agente reductor que cede electrones al oxidante y un agente oxidante que capta electrones, y se caracteriza por la emisión de energía en forma de luz y calor. Para que la combustión proceda se necesita la presencia de cuatro elementos.

- 1. Combustible (usualmente, un compuesto orgánico)
- 2. Comburente, el oxígeno del aire y comburente
- 3. Temperatura, o energía de activación
- 4. Reacción en cadena, la cual la combustión se mantiene sin necesidad de mantener la fuente principal de ignición.

El clorato y nitrato de potasio son agentes comburentes que al calentarse a elevadas temperaturas se descomponen desprendiendo una gran cantidad de oxígeno:

$$KCIO_{3(s)}$$
 ----  $\Delta$  ---->  $KCIO_{3(l)}$   
 $2KCIO_{3(l)}$  ----  $\Delta$  ---->  $2KCIO_{3(s)}$  +  $3O_{2(g)}$ 

Cuando el oxígeno reacciona con los polisacáridos genera calor y gases:

$$C_{12}H_{22}O_{11(s)} + 12O_{2(g)} ---- \Delta ---- > 12CO_{2(g)} + 11H_2O_{(g)} + \Delta$$

# Objetivo

Iniciar una reacción química con un comburente que por descomposición térmica genere oxígeno y observar la velocidad de su efecto oxidante sobre los polisacáridos

#### Material

1	Soporte universal	1	Gafas de seguridad
1	Pinzas de soporte para tubo de ensaye	1	Guantes
3	Tubos de ensaye GRANDE	1	Pinzas para crisol
1	Pinzas para tubo	1	Vidrio de reloj
1	Mechero Meker-Fisher	1	Paquete de gomitas dulces

	Espátula	1 Trozo de madera seca		•
1	Varilla de vidrio	1 Artrópodo cucaracha	1	Trozo de hongo fresco

#### Reactivos

- Clorato de potasio KClO<sub>3</sub> o NItrato de potasio KNO<sub>3</sub>

#### **Procedimiento**

Proteger la mesa con una cubierta

- 1. Colocar el comburente en un tubo de ensaye (Solo cubrir el menisco al fondo)
- 2. Calentar el comburente hasta se fundición (~ 360°C), para liberar el oxígeno, retirar el mechero
- 3. Introducir en el tubo la muestra con extrema precaución utilizando las pinzas
- 4. Realizar los pasos anteriores con los diferentes materiales

# Cuestionario

- 1. Explicar la reacción químicas que se presenta en cada uno de los casos.
- 2. Considerando la energía liberada por la oxidación de nutrientes durante los procesos metabólicos que experimentan los polisacáridos, explicar por qué en el organismo no se producen reacciones de combustión durante la degradación de los mismos.

# Resultados

<b>-</b> :	
Discu	เรเดท

# **Conclusiones**

# Bibliografía

- Cardellá, L. 2007. Bioquímica humana. La Habana: Ciencias Médicas.
- USNA. (2016). The decomposition of potassium chlorate. Experiment 4C. United States Naval Academy. Lab Resources.

https://www.youtube.com/watch?v=LQmTKxI4Wn4

# Práctica 5. Taninas de té como quelantes de hierro

### Introducción

El té es una de las bebidas de mayor consumo en el mundo, desde tiempos ancestrales se ha consumido con el propósito de mejorar la salud. Entre sus componentes principales están los polifenoles, los cuales se han relacionado con propiedades preventivas y terapéuticas para diversas enfermedades. Los polifenoles del té interactúan fácilmente con los iones metálicos de transición y forman complejos insolubles, como con el hierro. (González, 2006) En el organismo, el hierro se requiere para generar hemoglobina, sustancia que permite a los eritrocitos transportar oxígeno a los tejidos y células del organismo.

Muchos alimentos contienen hierro, sobre todo las verduras de hojas verdes, las carnes rojas y algunas frutas. El hierro presente en los alimentos se puede determinar mediante un experimento que provoca un cambio químico al poner en contacto los alimentos con las taninas presentes en el té. Añadir té a las muestras de colado de los alimentos ricos en hierro provoca un proceso denominado quelación. (Cornell Univesity, 2015)

El ácido tánico que contiene el té al combinarse con el hierro produce partículas oscuras, éstas se forman rápidamente en alimentos con alto contenido de hierro. Las taninas del té no forman quelatos con el hierro en grupo hemo como se encuentra en las carnes, solo forman quelatos con el hierro no-hemo como se encuentra en los vegetales.

# **Objetivos**

- Determinar la presencia y contenido de hierro en algunos alimentos mediante el proceso de quelación.
- Observar como ciertas sustancias mediante la formación de precipitados pueden interferir con el proceso de absorción de otras en el organismo.

### Material

1	Mechero Meker-Fisher	1	Vaso pp. 500 mL	1	Mortero
1	Rejilla de asbestos	1	Paquete vasos de plástico	1	Embudo
1	Anillo metálico		transparentes	1	Paliacate blanco (Colador)
1	Soporte universal	1	Agitador		Agua destilada

# **Productos**

10 Bolsas de té VERDE Alimentos recomendados (100 g) \*

10 Filtros de café 1 Licuadora

### **Procedimiento**

# Extracción de hierro. (RSC, 2015)

- 1. Preparar una solución de té, colocando 3-5 bolsitas del té en un recipiente de cristal de 250 mL lleno de agua caliente y dejándolas en reposo 10 min. Filtrar el té.
- 2. Obtener extracto de los alimentos. Añadir un poco de agua a la licuadora y moler cada producto por separado.
- 3. Colar cada sustancia con un filtro para café o de tela para eliminar partículas.
- 4. Verter los zumos de los alimentos en 2 vasos de plástico c/u (Para cada sustancia uno será el experimental y el otro será el blanco). Tomas foto.
- 5. Añadir 5 mL de té a cada vaso de la serie experimental. A la serie de blancos solo se añadirán 5 mL de agua. Para cada sustancia colocar lado a lado. Tomar foto.
- 6. Dejar reposar los vasos una hora.
- 7. Observar si se ha formado un precipitado o sedimento en el fondo. Tomar foto.
- 8. Control positivo: Preparar 100 mL de una solución 0.5 mM de sulfato ferroso. Control negativo: Agua destilada. Añadir 5 mL de té a c/u. Tomar foto.

### Cuestionario

- Mencionar el posible mecanismo de los compuestos con acción anticancerígena del té verde
- 2. ¿Para qué intoxicación se emplean como antídotos los siguientes quelantes: Quitosan, penicilamina, deferoxamina, succimer, dimercaprol, EDTA, Azul de Prusia?

<sup>\*</sup> Alimentos recomendados: Espinaca, acelga, Cornflakes\*. JUGO COMERCIAL de manzana, piña y uva verde.

3.	¿El carbón activado funciona como antidoto contra intoxicación por metales?
4.	¿Para qué se emplean taninas en la industria de la curtiduría de pieles.
Result	ados
Discus	iión
Concli	usiones
Piblio	avašia.

# Bibliografia

- Cornell Univesity. (2015). Department of Animal Science Plants Poisonous to Livestock. Obtenido de Tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules: http://poisonousplants.ansci.cornell.edu/toxicagents/tannin.html
- González, E. 2006. El efecto quimioprotector del té y sus compuestos. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 53(2).
- RSC. (2015). Extracting iron from breakfast cereal. Learn Chemistry. Royal Society of Chemistry & Nuffield Foundation.

# Práctica 6. Detección de cocaína y metanfetaminas

### Introducción

La cocaína y las anfetaminas son drogas estimulantes del SNC altamente adictivas, que provocan una alteración de la estructura y función cerebral, induciendo cambios relacionados con neurotransmisores, como la serotonina, la dopamina, implicada en los efectos gratificantes y psicoestimulantes de las drogas de abuso, ácido gamma aminobutírico (GABA), norepinefrina y glutamato, este último relacionado particularmente con la recaída en el consumo de drogas de abuso. (NIDA, 2016; Hong-Ju, y otros, 2017; Kenji et al., 2017)

El producto químico purificado, clorhidrato de cocaína, fue aislado de la planta hace más de 100 años, se utilizaba como principio activo de tónicos y elíxires para tratar una gran variedad de enfermedades, actualmente se vende en las calles de manera ilegal como un polvo blanco, fino y cristalino. Las anfetaminas son aminas simpaticomiméticas de fórmula química estructural semejante a la adrenalina. Las más utilizadas, son el sulfato de danfetamina (dexedrina) y el sulfato de anfetamina racémica (benzedrina). Hoy en día, se encuentran en la lista amarilla de estupefacientes sometidos a fiscalización internacional. (INCB, 2017; Robledo, 2008)

El ensayo de color para la determinación de sustancias de abuso es un ensayo presuntivo diseñado para facilitar la presencia o ausencia de determinadas drogas, lo que nos permite eliminar rápidamente las muestras negativas. Hay que subrayar que en los ensayos de color los resultados positivos no son más que indicios de la posible presencia de cocaína, lo que hace necesario que los resultados sean confirmados mediante el empleo de otras técnicas. (UNODC, 2012)

# Objetivo

Realizar la detección de cocaína y metanfetaminas mediante ensayo colorimétrico.

### Material

4	Tubos de ensaye	1	Pipeta de 5 mL
1	Gradilla	1	Bulbo
3	Pipeta Pasteur	3	Dólares de diferente denominación

1 Aspirina

1 Difenhidramina en tableta

# Manual de Prácticas de Toxicología

# Reactivos

- Tiocianato de cobalto - Ácido sulfúrico

 Ácido acético - Formaldehido - Glicerol - Metanol

- Ácido clorhídrico - Cloroformo

### **Procedimiento**

# Ensayo de Scott para determinación de cocaína. (UNODC, 2012)

 Reactivo 1: Disolver 1 g de tiocianato de cobalto en 50 mL de ácido acético al 10% (v/v), y añadir 50 mL de glicerol.

Reactivo 2: Acido clorhídrico concentrado

Reactive 3: Cloreforme

# Método

- 1. Con el uso de un algodón humedecido en metanol, tallar uno de los billetes, colocar el material sospechoso en un tubo (4-5 gotas ó 1mg). Añadir 200 uL del reactivo 1 y agitar en vórtex por 10 segundos. La cocaína y sustancias conexas producen precipitado azul y una solución azul homogenea.
- 2. Añadir 50 uL del reactivo 2 y agitar en vortex por 1 min, la solución azul debería virar a rosa. Si el color azul no varía, repetir este paso. Si el color sique sin alterarse, repetir el ensayo con una muestra más pequeña de material sospechoso.
- 3. Añadir 100 uL del reactivo 3 y agitar en vórtex. Si hay cocaína presente, la capa inferior de cloroformo se volverá de un intenso color azul traslúcido, mientras que la capa superior adquirirá una tonalidad rosa traslúcida.

Nota: Para considerar que un ensayo para la determinación de cocaína ha dado un resultado positivo es necesario que se haya obtenido un resultado positivo en cada una de las tres etapas.







Sustancias como la difenhidramina que es un antihistamínicos de uso común y la lidocaína utilizada como anestésico local, también pueden dar coloraciones azules, por lo que son compuestos que pueden dar falsos positivos para la cocaína.

# Ensayo de Marquis para determinación de anfetaminas (UNODC, 2013)

Preparar una solución de 1 mL de ácido sulfúrico concentrado (95-98%) y 1 gota de formaldehído al 40%.

# Método

- 1. Con el uso de un algodón humedecido de metanol, tallar por ambos lados uno de los billetes, EXPRIMIR el algodón en un tubo de ensayo (4-5 gotas ó 1 mg).
- 2. Añadir 2-4 gotas del reactivo de Marquis. Un color naranja-marrón es indicio de presencia ó contacto con anfetamina o metanfetamina.
- 3. Como blanco utilizar 1 mL de metanol y añadir 4 gotas del reactivo de Marquis

Nota: También puede utilizarse como prueba presuntiva de opiáceos (codeína y heroína) dando una coloración purpura. Sustancias como la aspirina pueden dar coloraciones rosadas. OJO: El ácido sulfúrico quema el algodon produciendo un color obscuro.

# Cuestionario

- 1. ¿Qué son los ensayos presuntivos?
- 2. Cuáles son las ventajas del uso de ensayos presuntivos.
- 3. Mencionar las ventajas y desventajas cada una de las pruebas realizadas
- 4. Mencionar cuáles pruebas se utilizan para confirmar la presencia de cocaína
- 5. Mencionar cuáles pruebas se utilizan para confirmar la presencia de anfetaminas

# Resultados

Discusión

**Conclusiones** 

# **Bibliografía**



- Hong-Ju, Y., Hai-Ying, Z., Guo-Hua, B., Yi He, Jun-Tao, G., & Zheng-Xiong, X. 2017.
   Deletion of Type 2 Metabotropic Glutamate Receptor Decreases Sensitivity to
   Cocaine Reward in Rats. *Cell Reports*, 20(2), 319-322.
- INCB. (2017). International Narcotics Control Board. Obtenido de Yellow List of Narcotic Drugs under International Control: https://www.incb.org/incb/en/narcotic-drugs/index.html
- NIDA. (2016). *National Institute on Drug Abuse*. Obtenido de Advancing Addiction Science. Cocaine: https://www.drugabuse.gov/publications/research-reports/cocaine/what-treatments-are-effective-cocaine-abusers
- Robledo, P. (2008). Las anfetaminas. *Trastornos Adictivos, 10*(3).
- UNODC. (2012). Oficina de las Naciones Unidas Contra la Droga y el Delito.
   Obtenido de Métodos recomendados y el análisis de cocaína en materiales incautados https://www.unodc.org/documents/scientific/Cocaine\_S.pdf
- UNODC. (2013). Oficina de las Naciones Unidas Contra la Droga y el Delito.
   Obtenido de Métodos recomendados para la identificación y el análisis de las piperazinas. https://www.unodc.org/documents/scientific/Piperazines-S.pdf.pdf

# Práctica 7. Detección de canabinoides

### Introducción

La marihuana (Cannabis sativa) es una hierba anual, dioica, utilizada hace siglos con fines terapéuticos y psicotrópicos. Contiene más de 400 componentes químicos, que se transforman en más de 2.000 al fumarla. (ISPCH 2015)

Durante los últimos años se ha esclarecido fuertemente la farmacología de sus componentes, se han identificado los receptores con los cuales los canabinoides interactúan, su biosíntesis, degradación y sus ligandos endógenos. (Rice, 2007) Los cannabinoides que se encuentran en mayor proporción en la planta son el Δ9-THC, principal causante de los efectos psicoactivos de esta droga, el Canabidiol (CBD) que corresponde a un constituyente no psicoactivo pero abundante en distintos tipos de fibra y el Canabinol (CBN) que es el que se encuentra en menor cantidad cuando se trata de plantas frescas. (ISPCH, 2015)

El tráfico ilícito de productos de Cannabis es el más importante del mundo, y sigue siendo la droga más consumida en todo el mundo, se estima que alrededor de 166 millones de personas, aproximadamente, al 4% de la población mundial de edad comprendida entre 15 y 64 años, la ha consumido. Actualmente la Cannabis, así como algunos de sus derivados (resina, extractos y tinturas de cannabis) se encuentran en la lista amarilla de estupefacientes sometidos a fiscalización internacional. (INCB, 2017)

Su determinación por el ensayo de color con resultado positivo sólo es indicio de la posible presencia de material con contenido de Cannabis, pero no lo identifica de forma definitiva. Por lo tanto, el analista deberá confirmar obligatoriamente estos resultados mediante el uso de otras técnicas, por lo general más discriminatorias. (UNODC, 2010)

# Objetivo

Realizar la detección de canabinoides mediante ensayo colorimétrico

# Material

1	Gotero	2	Pipetas de 5 mL
6	Tubos de ensaye grandes	1	Perilla o propipeta
1	Gradilla	1	Agitador

### Reactivos

- Etanol (96% sin desnaturalizar)
- Vainillina
- Acetaldehído
- Ácido clorhídrico
- Cloroformo

- Chocolate oscuro (70% cacao)
   Hershey´s®, Nestlé®, Turín® ó Carlos V®
- Caramelo SIN mariguana
- Gomitas o cremas CON mariguana
- Mariguana y pasto
- Leche entera fresca

# **Procedimiento**

Ensayo de Duquenois-Levine para determinación de canabinoides. (ISPCH, 2015; UNODC, 2010

- Reactivo 1: Disolver 5 gotas de acetaldehído y 0.5 g de vainillina en 20 mL de etanol 96%
- Reactivo 2: Ácido clorhídrico concentrado
- Reactivo 3: Cloroformo

### Método

- Colocar una CANTIDAD PEQUEÑA de muestra en un tubo de ensayo, agregar 2 mL del reactivo 1 y agitar en vortex durante 1 min
- Agregar 2 mL del reactivo 2, agitar en vortex para diluir muestra y dejar reposar 5-10 min
- Agregar 2 mL del reactivo 3, agitar en vortex y dejar reposar 5-10 min, tomar foto.

# Si se percibe un color violeta en una o ambas fases indica presencia de canabinoides

 Ralizar el procedimiento con mariguana y pasto en cortes muy finos con navaja, chocolate, gomitas y caramelo raspados con navaja y leche entera

# Cuestionario

- 1. Explicar cuál es el mecanismo de acción de los canabinoides
- 2. Menciona dos canabinoides endógenos y dos exógenos
- 3. Cual es la relación de los canabinoides con el apetito
- 4. Indica algunos alimentos ricos en canabinoides
- 5. Papel que juegan endocanabinoides de fuentes exógenas para hacernos sentir bien https://brevardhemp.com/blog/2019/12/2/chocolate-amp-cannabis-what-is-anandamide

tesultados	
Discusión	
Conclusiones	
conclusiones	

# Bibliografía

- INCB. 2017. List of Narcotic Drugs under International Control. https://www.incb.org/incb/en/narcotic-drugs/index.html
- ISPCH. 2015. Guía técnica toxicología y análisis de cannabis y sus derivados http://www.ispch.cl/sites/default/files/GuiaCannabisParte02-28122015.pdf
- Rice ASC. 2007. Canabinoides. In: Wall y Melzack Tratado del Dolor. Elsevier; p. 533-551.
- UNODC. 2010. ficina de las Naciones Unidas Contra la Droga y el Delito. Obtenido de Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis.
  - https://www.unodc.org/documents/scientific/Cannabis\_manual-Sp.pdf

# Práctica 8. Detección de alcaloides

## Introducción

Los alcaloides son compuestos orgánicos nitrogenados de origen natural, sintetizados a partir de aminoácidos, y en su mayoría son metabolitos secundarios de plantas. Los alcaloides fueron los primeros principios activos que se lograron aislar de las plantas. Se trata de sustancias biológicamente muy activas a pequeñas dosis, por lo que, fácilmente pueden producir toxicidad manifestada como alucinaciones y alteraciones de la percepción orgánica. (Montañez et al., 2010)

Las plantas solanáceas del grupo de la belladona constituyen la principal fuente natural de alcaloides, con actividad antagonista de receptores muscarínicos. Los antagonistas muscarínicos se dividen en: Alcaloides naturales, derivados semisintéticos y compuestos sintéticos (Lorenzo, 2008). Muchas flores, plantas decorativas y cactus contienen varios alcaloides, que pueden estar presentes en toda la planta o solo en algunas partes, como hojas o raíces. En general los alcaloides son poco solubles en agua, cuando están presentes en medicamentos y productos alimenticios, normalmente están en forma de clorhidratos, que son extremadamente solubles.

Como prueba presuntiva para alcaloides se utiliza el reactivo de Dragendorff, que reacciona con casi todos los alcaloides para producir una coloración anaranjada como prueba positiva. Al determinar la presencia de alcaloides en plantas se debe ser extremadamente cuidadoso ya que algunas pueden ser tóxicas a dosis muy pequeñas. (Thompson & Fritchman, 2012)

# Objetivo

Realizar la extracción y detección de alcaloides de tres plantas comunes de la región, y otros productos de consumo común mediante ensayo colorimétrico.

# Material

3	3 Vasos de precipitado de 400 mL		Muestras biológicas *
1	Mortero con pistilo		Fármacos *
3	Pipetas 5 mL		Tabletas de Pepto-Bismol®
1 Perilla o propipeta			Tubos Falcon 15mL
1	Gradilla	4	Navajas de rasurar
1	Embudo al vacio + papel filtro	4	Portaobjetos

# Manual de Prácticas de Toxicología

\* Las plantas con alcaloides tropánicos son de los géneros Datura (Toloache), Brugmansia (Floripondio), Cestrum (Huele de noche). Alcaloides en te verde (Teofilina), tabaco (Nicotina), agua quina (Quinina). Alcaloides en fármacos Cafiaspirina® (Cafeína), Buscapina® (Hioscina).



# Reactivos

- 2 tabletas Pepto-Bismol® (Original, masticable o efervescente, sin sabor)
- Acido clorhídrico
- Yoduro de potasio
- Agua destilada

### **Procedimiento**

Ensayo de Dragendorff para determinación de alcaloides. (Thompson & Fritchman, 2012)

- Reactivo 1: Transferir 0.4 g de subnitrato de bismuto en un vaso de precipitado, agregar a 10 mL de ácido clorhídrico concentrado, hasta que la sal se disuelva.\*
- **Reactivo 2:** En un segundo vaso transferir 5 g de yoduro de potasio y disolver con 50 mL de agua.
- Verter cuidadosamente el contenido del reactivo 1 al vaso del reactivo 2, y aforar a 100 mL con agua.
- \* En caso de no contar con subnitrato de bismuto, el reactivo se puede preparar con 2 tabletas de **Pepto-Bismol**®
  - **Reactivo 1:** Macerar dos tabletas de Pepto-Bismol® en mortero y disolver con 20 mL de agua en vaso de precipitado.
    - o Agregar 10 mL de ácido clorhídrico concentrado.
    - o Agitar y esperar a que el contenido del vaso se asiente.
    - o Filtrar muy bien (Doble filtro) el líquido para eliminar la mayor cantidad posible de sólidos no disueltos.
  - Reactivo 2: Disolver 7 g de yoduro de potasio en 10 mL de agua.

• Verter cuidadosamente el contenido del reactivo 1 al vaso del reactivo 2, aforar a 100 mL con agua, y volver a filtrar muy bien (Doble filtro).

### Método

- Cortar con navaja sobre portaobjetos cada planta en fragmentos muy pequeños
- Agregar 4 mL de agua y aproximadamente 0.25 mL de HCl 6M
- Agitar ocasionalmente durante 20 min
- Transferir 2.5 mL del sobrenadante a un tubo limpio y agregar 0.5 mL del reactivo Dragendorff
- \* Al instante se forma una suspensión naranja claro, posteriormente se forma un precipitado oscuro que indica presencia de alcaloides. Dejar reposar durante la noche y tomar foto.

Control negativo = Pasto, Blanco = 4 mL agua destilada + 0.25 mL HCl 6M Cuestionario

- 1. ¿Cuáles son los efectos más comúnmente descritos para las muestras biológicas utilizadas?
- 2. Explicar porqué de la diferencia en los efectos entre la hioscina y la escopolamina

# Resultados

# Discusión

# **Conclusiones**

# Bibliografía

- Thompson RB, Fritchman Thompson B. 2012. Illustrated Guide to Home Forensic Science Experiments. First Edition. Brian Jepson, editor. Sebastopol, CA: O'Reilly.
- Lorenzo P. 2008. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18th ed. México: Ed. Médica Panamericana.
- Montañez Z, Durán C. 2010. Identificación y obtención de alcaloides en variedades de mezquite (Prosopis juliflora y Prosopis pallida). Memorias del Programa Verano la Cienc 2010, Univ Autónoma Queretaro. http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2010/12 Verano Ciencia Region Centro/UAQ Zamacona Montannez.pdf

# Práctica 9. Identificación de micronúcleos en epitelio bucal

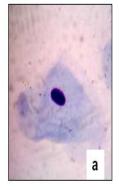
## Introducción

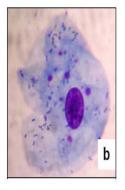
Durante la división celular el material genético, se replica y divide equitativamente dando lugar a dos células hijas idénticas. Sin embargo, factores como el tabaquismo, agentes químicos, la exposición a radiaciones, o cualquier otro agente genotóxico, puede afectar este proceso, provocando errores en la replicación, rupturas cromosómicas, que resultan en una división del material genético no equitativo y pérdida cromosómica parcial o total. El material genético que se desprende queda excluido del núcleo de la célula hija, formando un nuevo núcleo de menor tamaño, llamado micronúcleo, visible al microscopio óptico (Díaz Caballero et al., 2013). Por lo anterior, la prueba de micronúcleos se puede considerar una medida de inestabilidad genética inducida por compuestos genotóxicos.

En el caso concreto de los compuestos tóxicos del tabaco, su capacidad genotóxica depende fundamentalmente de la activación de los componentes neutros de la fase particulada por enzimas halladas en múltiples tejidos, siendo los compuestos más importantes los benzopirenos y dibenzoantracenos. Una vez activadas, estas moléculas tóxicas por sí mismas o alguno de sus metabolitos reactivos forman uniones covalentes de alta afinidad con el material genético, dando lugar a la formación de aductos (Zalacain et al., 2005).

El uso de la prueba de micronúcleos en celular epiteliales de la cavidad oral se ha incrementado exponencialmente en años recientes, debido a que es una prueba

relativamente sencilla, la obtención de la muestra es mínimamente invasiva y es de bajo costo. Los MN observados en células de tejido epitelial se forman en las células de la capa basal que es donde se lleva a cabo la división celular; éstas migran a la superficie en el transcurso de cinco a 14 días, de modo que el monitoreo mediante la observación de este tejido puede reflejar el daño ocurrido durante este tiempo (Torres-Bugarín et al. 2013).





# Objetivo

Identificar la presencia de micronúcleos en células exfoliadas del epitelio bucal, de población universitaria fumadora y no fumadora.

# Manual de Prácticas de Toxicología

### Material

2	Portaobjetos	2	Vasos de precipitado de 250 mL
2	Abatelenguas	1	Probeta
2	Tubos de centrifuga	1	Centrifuga
1	Pipeta Pasteur	1	Contador manual
1	Caja de Petri	1	Microscopio

# **Reactivos**

- Solución salina 0.9% - Etanol al 96%

- Metanol - Aceite de inmersión

 Ácido acético - Reactivo de Giemsa al 5%

# **Procedimiento**

Determinación de alteraciones en epitelio bucal. (Carnesoltas-Lázaro et al. 2007).

# Toma de muestra

- 1. Previo a la toma de muestra, enjuagar la boca con agua potable, a fin de remover cualquier resto de comida
- 2. Tomar una muestra del revestimiento interno de la mucosa oral de ambas mejillas, mediante un raspado con un abatelenguas de madera.

# Preparación de la muestra (a)

- 1. Depositar la muestra en tubos de ensayo con 3 mL de solución salina (0.9%).
- 2. Centrifugar por 10 min a 1200 rpm.
- 3. Añadir 3 mL de solución fijadora de metanol ácido acético (3:1) por 20 min.
- 4. Transcurrido el tiempo, colocar por goteo el material en suspensión en láminas secas, previamente embebidas en etanol al 96%.
- 5. Dejar secar al aire y teñir con Giemsa al 5%.
- 6. Enjuagar a chorro de agua.
- 7. Observar al microscopio a 10x, 40x y 100x.

# Preparación de la muestra (b)

1. Extender la muestra colectada en un portaobjetos y dejar secar al aire.

# 2. Colocar el portaobjetos en una solución de alcohol al 96% durante 50 min, para su fijación.

- 3. Sacar la muestra de la solución y dejar secar.
- 4. Teñir con Giemsa al 5% por 15-20 min
- 5. Lavar la preparación a chorro de agua y dejar secar
- 6. Observar al microscopio.

# Frecuencia de MN

**Conclusiones** 

- 1. Identificar la presencia de micronúcleos (MN) en un conteo de mínimo 2,000 células consecutivas por individuo.
- 2. Cuando la frecuencia de micronúcleos sea menor de 3/1,000 evaluar un máximo de 3,000 células.

# Resultados Discusión

# Bibliografía

- Carnesoltas-Lázaro, D., Domínguez-Odio, A., Iris Frías-Vázquez, A., Manuel Dutok-Sánchez, C., & García-Heredia, G. 2007. Alteraciones citogenéticas bucoepiteliales en pacientes portadores de leucoplasia. Rev Mex Patol Clin, 54(3), 104-111.
- Díaz Caballero A, Mora Solano E, Herrera Herrera A. 2013. Presencia de micronúcleos en células epiteliales de encías, como marcador de inestabilidad cromosomal. Revisión sistemática. Av Odontoestomatol. 29:95–102.
- Torres-Bugarín O, Guadalupe Zavala-Cerna M, Macriz-Romero N, Flores-García A, Luisa Ramos-Ibarra M, en Olivia Torres-Bugarín DC. 2013. Procedimientos básicos de la prueba de micronúcleos y anormalidades nucleares en células exfoliadas de mucosa oral. El Resid. 8:4–11.
- Zalacain M, Sierrasesúmaga L, Patiño A. 2005. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. An Sist Sanit Navar. 28:227–236.

# Práctica 10. Detección de ácido bórico en pescados y mariscos

## Introducción

El boro es un elemento químico perteneciente al grupo de los metaloides ampliamente distribuido en la corteza terrestre, en su forma natural es un sólido de aspecto negro. En el ambiente se encuentra combinado principalmente con oxígeno en compuestos llamados boratos, entre los que se incluyen al ácido bórico, tetraborato de sodio (bórax) y óxido de boro. (ATSDR, 2016)

El ácido bórico es un aditivo alimentario utilizado en el pasado como conservante de pescados y mariscos principalmente. Tras no establecerse una ingesta diaria admisible (IDA) por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JEFCA) actualmente se encuentra prohibido su uso como aditivo alimentario. (FAO, 2009)

El ácido bórico se absorbe a través de la piel, tras una exposición bastante prolongada, sin embargo, escoriaciones en la piel pueden facilitar su ingreso. En general se excreta por vía renal muy lentamente y su acumulación puede darse a nivel de sistema nervioso central, considerándose en parte, una de las causas principales del efecto tóxico de esta sustancia. (Swi See et al., 2010; OMS, 1962)

# Objetivo

Determinar la presencia de ácido bórico en pescados y mariscos adulterados

## Material

1	Matraz 250 mL	1	Mechero Fisher-Meker
1	Termómetro	1	Soporte universal
4	Capsulas de porcelana	1	Anillo
1	Pipeta de 5 mL	1	Tela de asbesto
1	Perilla	1	Embudo de vidrio
1	Vaso de pp. de 100 mL	1	Papel filtro
1	Probeta 100 mL	1	Cabezas de <b>pescado y camarón</b>

# **Reactivos**

- Ácido bórico
- Ácido sulfúrico
- Metanol

**Procedimiento:** Comprar dos cabezas de pescado chicas y/o dos camarones de igual apariencia, tomar foto a ambos lado a lado (Control interno). Espolvorear acido bórico soloa uno de cada par. Guardar en refrigerador durante una semana. Volver a tomar foto a ambos lado a lado.

Prueba de flama ácido bórico. (Johnson & Schreiner, 2001)

# Análisis de la muestra

- 1. Calentar agua a 80°C
- 2. Tomar 3-5 mL con pipeta transfer
- 3. Enjuagar varias veces la cabeza de pescado o camarón con la misma agua
- 4. Filtrar
- 5. Depositar 2 mL de la muestra en la cápsula de porcelana
- 6. Adicionar 1 mL de ácido sulfúrico y 5 mL de metanol
- 7. Infamar y observar la coloración de la flama\*

# Control (+)

- 1. Colocar en la capsula de porcelana 0.2 g de ácido bórico disuelto en 2 mL de agua
- 2. Adicionar 1 mL de ácido sulfúrico y 5 mL de metanol
- 3. Inflamar y observar la coloración de la flama

# Control (-)

Mezclar solo 2 mL agua + 1 mL ácido sulfúrico + 5 mL metanol, e inflamar y comparar

### Cuestionario

- 1. Mencionar cuales son los efectos tóxicos documentados de la exposición al ácido bórico.
- 2. Indicar cuál es mecanismo de acción relacionado con los efectos de la exposición al ácido bórico.
- 3. Mencionar cuál es la dosis establecida de exposición al ácido bórico en agua potable y alimentos.
- 4. Indicar cuales son las fuentes más comunes de exposición al ácido bórico.

<sup>\*</sup>Una flama verde es indicio de la presencia de ácido bórico en la muestra

Resultados			
Discusión			
Conclusiones			

ATSDR. 2016. Boro. Resum Salud Pública. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\_phs26.html

Bibliografía

- FAO. 2009. Informe de la 33<sup>a</sup> reunión del comité del Codex sobre pescado y productos pesqueros. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas Aliment. http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/shproxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252 Fcodex%252FMeetings%252FCX-702-63%252Fal33\_03s.pdf
- Johnson, K. A., & Schreiner, R. (2001). A dramatic flame test demonstration. Journal of Chemical Education, 78(5), 640. http://doi.org/10.1021/ed078p640
- OMS. 1962. Evaluación de la toxicidad de diversos antimicrobianos y antioxidantes. Ginebra.
- Swi See, A., Bakar Salleh, A., Abu Bakar, F., Azah Yusof, N., Sahib Abdulamir, A., & Yook Heng, L. (2010). Risk and Health Effect of Boric Acid. American Journal of *Applied Sciences, 7*(5), 620–627.

# Práctica 11. Extracción y detección de cianuro a partir de semillas

## Introducción

El cianuro (HCN) es un veneno bien conocido a través de la historia y se encuentra de forma abundante a nuestro alrededor: Las cianobacterias, coníferas del género Taxus, el laurel de cerezas del género Prunus, el bambú, la yuca, almendras amargas, semillas de durazno y manzana, así como los milpiés que para su defensa producen este gas en glándulas especializadas. Además, junto con el monóxido de carbono, el cianuro se forma en grandes cantidades durante los incendios forestales, de plásticos, textiles, etc.

Las semillas amargas a partir de las cuales se genera cianuro también se emplean para preparar y aromatizar postres y bebidas (como el Licor italiano "Amaretto"), preparado con semillas de durazno o chabacano, así como con almendras amargas.

El cianuro se puede visualizar y cuantificar usando ninhidrina y complejos de cobre. Cerca de 2,500 especies de plantas de 80 familias importantes para la agricultura contienen compuestos cianogénicos. En la Figura 1 se muestran glucósidos cianogénicos y su origen.

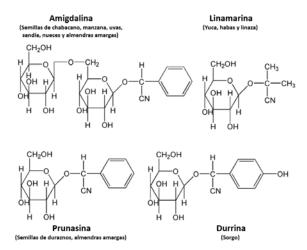


Figura 1. Estructura química de glusósidos cianogénicos.

La amigdalina, también conocida como Laetrilo o vitamina B17, se ha utilizado como un tratamiento alternativo contra el cáncer.

# Objetivo

Detectar la presencia de gas cianuro liberado a partir de glucósidos cianogénicos contenidos en semillas de manzana, durazno, cereza, linaza, almendras y yuca.

### Material

1	Matraz kitasato 500 mL
2	Pipetas de 10 mL
1	Perilla o propipeta
4	Vaso pp. de 250 mL
6	Tubos de ensayo o Falcon de 15 mL
1	Mortero grande con pistilo
1	Rayador de verduras para la yuca
1	Manguera de plástico (metro)

# **Reactivos**

- Ninhidrina
- Carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)
- Sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O)
- Acido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
- Hidróxido de sodio (NaOH)

- Hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH)
- Cianuro de potasio o sodio (KCN ó NaCN)
- Semillas de manzana, cereza y/o durazno
- Cápsulas Vitamina B17 (Laetrilo)
- Yuca/mandioca/casava fresca
- Almendras amargas o semillas de linaza

# **Procedimiento**

Extracción y detección de cianuro. (Volpi, 2016)

## I. Solución de ninhidrina

- 1. Preparar 20 mL de solucion al 2% de Na<sub>2</sub>CO<sub>3.</sub>
- 2. Agregar 50 mg de ninhidrina a 10 mL de 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.
- 3. Mezclar bien, debe quedar de color amarillo traslúcido. Proteger del aire y luz.

# II. Solución de complejo de cobre-amoniaco

- 1. Agregar 50 mg de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O a 2 mL de agua → Azul celeste turbio
- 2. Gotear NH₄OH (1-2 gotas) solo hasta que la solución permanezca azul marino traslúcido, no añadir en exceso.\*

<sup>\*</sup> Con cada gota se formará una solución azul marino, que solo si retorna a azul celeste turbio, deberá continuar goteando hasta que vire a azul marino traslúcido y se mantenga así.

### III. Macerado de semillas

1. Macerar en mortero ~150 g de semillas de durazno, manzana, cereza, almendras, o rayar yuca, u 3-6 cápsulas de B17. *Remover la teca de las semillas*.

# IV. Extracción y detección de cianuro

- 1. Agregar al matraz kitasato 250 mL de agua + 3 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + 0.5 g NaOH + una mezcla de todas las semillas pulverizadas o yuca rayada.
- 2. Agitar bien la mezcla durante 15 min.
- 3. Colocar 1-2 mL de cada solución por separado (Ninhidrina y complejo cobre-amoniaco) en tubos de ensayo sobre una gradilla (Fig. 2).
- 4. Ensamblar el sistema de reflujo (Fig. 2).



Figura 2. Sistema de reflujo para extracción de cianuro de macerados. Soluciones de Ninhidrina (*Amarillo*) y complejo de cobre-amoniaco (*Azul*)

- 5. La salida lateral debe ir conectada a una línea que llegue directamente a las soluciones de ninhidrina y complejo de cobre-amoniaco contenidas en tubos de ensaye por separado.
- 6. Añadir 70 mL de 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en porciones de 5 mL y agitar.
- 7. Cerrar herméticamente y agitar el matraz de inmediato (*Mantener cerrado con fuerza el tapón horadado ya que se generará presión al interior del matraz*).
- 8. Bombear aire con la perilla directamente al fondo del matraz por aprox. 1-5 min.
- 9. Observar cambios de coloración en la ninhidrina después de bombear 1 min Fig. 3 ( $Amarillo \rightarrow Rojo$ ), y despues de bombear el complejo de cobre-amoniaco 10 min Fig. 4 ( $Azul \rightarrow Verde \rightarrow pp\ oscuro$ ), indicando presencia de gas cianuro.
- 10. Añadir algunas gotas de NaOH 1M a la solución roja de ninhidrina + cianuro, y esta deberá virar a azul oscuro.
- 11. **Control (+):** Añadir unos cuantos granos de KCN o NaCN a una solución fresca de ninhidrina y a otra de cobre-amoniaco, y observar que sucede.

# Manual de Prácticas de Toxicología





Figura 3. Solución de ninhidrina antes y después de ser expuesta por

Figura 4. Solución compleio de cobre-amoniaco min (centro) y 10 min (derecha)

Control (+): Realizar el mismo procedimiento anterior reemplazando el macerado vegetal por pequeños grumos de KCN ó NaCN.

# Cuestionario

- 1. ¿En las plantas cuales son (1) el mecanismo biológico y (2) factor fisicoquímico más importantes que producen liberación del cianuro de sus moléculas precursoras?
- 2. ¿Cuál es el sitio de acción del cianuro en la célula?
- 3. ¿Cuáles son los mecanismos naturales de desintoxicación o neutralización del cianuro en el organismo?
- 4. Mencionar tres antídotos contra la intoxicación por cianuro

Resultados	
Discusión	
Conclusiones	
Bibliografía	

- Volpi, G. Demonstrating the presence of cyanide in bitter seeds while helping students visualize metal-cyanide reduction and formation in a copper complex reaction. J. Chem. Educ. 93, 891-897 (2016).
- Goldfrank's Emergencias Toxicológicas. 2014. Hoffman, et. al. 10a. ed. McGrawHill

# Práctica 12. Efectos corrosivos en tejidos por adherencia de pilas de botón

### Introducción

La ingesta o atrapamiento de cuerpos extraños es un accidente común en pediatría, una detección temprana y su extracción oportuna pueden evitar complicaciones graves y letales. En estos casos la ingesta o inserción del objeto es presenciada, o solo sospechada por la madre, y en menor frecuencia informada por el infante. En la mayoría de los casos los objetos que son ingeridos pasan por el tracto digestivo sin manifestaciones.

Las baterías o pilas de botón tras ser ingeridas y adherirse en el esófago o alojarse en orificios estrechos como oídos o nariz, son capaces de causar gran daño a los tejidos con los que entran en contacto.

Durante su ingestión, el tracto digestivo al retardar el tránsito de estas pilas a nivel de esófago o píloro, pueden adherirse por más de dos horas produciendo perforaciones o fístulas esófago-traqueales, esófago-aórticas y píloro-intestinales. A nivel nasofaríngeo pueden producir úlceras y necrosis en la mucosa de los cornetes y perforación del tabique. A nivel ótico, perforación timpánica y necrosis del conducto auditivo.

El mecanismo de daño puede ser resultado de dos circunstancias distintas:

- I. Perforación y vertido de su contenido sobre el tejido (Hg, Zn, Cd, Li).
- II. Establecimiento de una corriente eléctrica por contacto de tejido en ambos polos

# Objetivo

Observar el daño generado a partir de una pila de botón adherida en ambos polos a tejido orgánico

## Material

2	Pilas de botón (Con litio de preferencia)
1	Salchicha fresca
1	Rebanada de jamón fresca
1	Navaja

### Reactivos

- Agua

# **Procedimiento**

1.	Realizar	una	incisión	en la	a sa	Ichicha	e	insertar	la	pila

- 2. Colocar una pila sobre la rebanada de jamón y cubrirla con la misma rebanada.
- 3. En ambos casos agregar dos gotas de agua y observar por 1-2 horas.
- 4. Retirar las pilas y documentar las alteraciones que se producen en ambos casos.

# Cuestionario

1.	¿Mencionar porqué las pilas de botón que contienen litio resultan ser las mas letales
	al adherirse con mucosas?

- 2. ¿Señalar cuál es la principal fuente de los componentes que intervienen en la formación de compuestos corrosivos resultantes de la corriente eléctrica generada?
- 3. ¿Indicar el tiempo a no excederse para extraer una pila de botón y porqué?

4. ¿Cómo evita el bitrex la ingestion de pilas de botón?

Resultados	
Discusión	
Conclusiones	
conclusiones	
Bibliografía	

- Goldfrank's Emergencias Toxicológicas. 2014. Hoffman, et. al. 10a. ed. McGrawHill
- Toxicología Clínica. 2004. Bataller, et. al. Universitat de Valencia
- Toxicology in a Box. 2014. Kloss, B. & Bruce, T. McGrawHill