Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

RAZONES PARA CONCLUIR QUE LAS CANTIDADES DE ALCOHOL ETILICO, ENCONTRADAS EN LA SANGRE, ORINA Y LIQUIDOS ORGANICOS DE UNA PERSONA NO DEBEN CONSIDERARSE COMO SIGNOS DEL GRADO DE INTOXICACION DE LA PERSONA.

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a :

MANUEL LEON TOVILLA

México, D. F. 1978

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA:

PRESIDENTE:	Q.F.B.	IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA
VOCAL:	Q.F.B.	ETELVINA MEDRANO DE JAIMES
SECRETARIO:	Q.F.B.	CESAR A. DOMINGUEZ CAMACHO
1er. SUPLENTE:	Q.F.B.	ENRIQUE CALDERON GARCIA
2do. SUPLENTE:	Q.F.B.	ANA MARIA MENDEZ CHAVEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

PROCURADURIA GENERAL DE LA REPUBLICA - LABORATORIOS.

SUSTENTANTE: MANUEL LEON TOVILLA. _____

ASESOR DEL TEMA: IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA. _____

C O N T E N I D O

I - INTRODUCCION

II - METABOLISMO DEL ALCOHOL ETILICO EN EL ORGANISMO

III - ACCION DEL ALCOHOL ETILICO SOBRE EL ORGANISMO

IV - ELIMINACION DEL ALCOHOL ETILICO

V - DOSIS TOXICA Y MORTAL. NIVELES DE CONCENTRACION PARA CONSIDERAR EBRIEDAD.

VI - EXACTITUD DE LOS PROCEDIMIENTOS PARA DETERMINAR ALCOHOL ETILICO EN LIQUIDOS ORGANICOS Y VISCERAS

VII - CONCLUSIONES

VIII - BIBLIOGRAFIA

CAPITULO I

I N T R O D U C C I O N

I.- INTRODUCCION

Es ampliamente conocido el problema social que representa, en la mayoría de los países, el alcoholismo y que se encuentra a cualquier nivel social; es por ésto que se han desarrollado profusamente trabajos de investigación, se han creado asociaciones y clínicas de rehabilitación, campañas contra el uso y abuso del alcohol, que dan una imágen de la magnitud del problema.

En esta tésis, se hace una contribución a los estudios para determinar los grados de intoxicaciones con alcohol etílico en las personas, partiendo de los datos encontrados y de los variados métodos de análisis de alcohol etílico, tanto químicos como medico-farmacológicos o toxicológicos.

Para efecto de estudios químico-legales, se han establecido una serie de métodos analíticos, que van desde la observación física de la persona, utilizando el aire expirado mediante aparatos diseñados para estos fines, hasta el uso de técnicas y aparatos modernos como es la cromatografía de gases, donde se obtienen resultados muy precisos, y al mismo tiempo revelan la presencia de otros compuestos que pueden estar presente como contaminantes o adulterantes.

Cabe hacer notar, que el alcohol etílico se encuentra en una variedad de bebidas alcohólicas, que contienen desde pequeñas hasta altas concentraciones, que provienen de diferentes materias primas y que, dependiendo

de su calidad y refinación, pueden adquirirse a muy diversos precios.

A continuación se enumeran las bebidas alcohólicas de uso más frecuente, y las materias primas que son utilizadas en su elaboración.

	BEBIDA ALCOHOLICA	MATERIA PRIMA
1.-	PULQUE	MAGUEY - AGUAMIEL
2.-	TEQUILA	MAGUEY - AGAVE
3.-	AGUARDIENTE	CAÑA DE AZUCAR
4.-	MEZCAL	MAGUEY
5.-	RON	CAÑA DE AZUCAR
6.-	WHISKY	CEREALES: CEBADA, AVENA, ETC.
7.-	CERVEZA	CEBADA - MALTA
8.-	BRANDY	UVA
9.-	VODKA	CENTENO, MAIZ, PAPA
10.-	GINEBRA	ENEBRO

Como se observa en la lista anterior, sólo están anotadas las bebidas alcohólicas, de uso más frecuente. Existen otras que por su precio, o por su lugar de orígen no son frecuentes en nuestro medio.

CAPITULO II

METABOLISMO DE ALCOHOL ETILICO EN EL ORGANISMO

II.- METABOLISMO DEL ALCOHOL ETILICO EN EL ORGANISMO

Se considera que del total de alcohol etílico que entra en el organismo, se metaboliza del 90 al 98 por ciento. La oxidación ocurre principalmente en el hígado, primero a acetaldehido, probablemente por la deshidrogenasa alcohólica en presencia de difosfopiridin nucleotido (NAD, coenzima I), que actua como receptor inmediato de hidrógeno; luego el acetaldehido se oxida a ácido acético, y finalmente el ácido acético se oxida a bióxido de carbono y agua. Según Jacobsen, la primera oxidación puede representarse de la siguiente manera:

$$CH_3 - CH_2 - OH \quad NAD \xrightarrow[\text{deshidrogenasa}]{\text{alcohol}} CH_3 - CHO + NADH + H$$

El acetaldehido es convertido en acetil coenzima, ACo, pero no se sabe exactamente si la conversión se efectúa de una manera directa o por medio del ácido acético. Esta acetil coenzima comparte el mismo final con la acetil coenzima producida en otras fuentes, principalmente la oxidación que ocurre en el ciclo del ácido cítrico, o de la utilización en las variadas reacciones anabólicas comprendidas en la síntesis del colesterol, ácidos grasos y otros constituyentes de los tejidos según Goodman & Gilman.

Muchos cambios metabólicas acompañan o siguen el metabolismo del alcohol. Estos cambios pueden ser el incremento en la producción de lac-

tato, ácido graso, hiperuricemia, y posiblemente la disminución de la actividad del ciclo del ácido cítrico del hígado. En la oxidación de ácidos grasos, parece ser consecuencia directa del incremento de la proporción $NADH_2$: NAD producida por la oxidación del alcohol.

Las causas de una variedad de cambios metabólicos, que incluyen la disminución en la excreción urinaria del ácido úrico así como la elevación de la perdida urinaria de magnesio son todavía obscuras. Con respecto a la oxidación, el tejido renal muestra alguna actividad; pero otros tejidos, tal como el nervioso no pueden oxidar el alcohol. La proporción con que el alcohol se transforma en acetaldehido es constante, siendo el principal factor determinante de la eliminación del mismo en el organismo.

- Se ha mostrado también, que el alcohol es metabolizado a acetaldehido - por otro sistema de enzimas. Este sistema, que se encuentra en el retículo endoplásmico suave del hígado, contiene otras enzimas desintoxicantes tales como las que metabolizan los barbituratos. El alcohol primero disminuye, y luego aumenta la actividad de las enzimas del retículo endoplásmico hepático. Los investigadores Rubin & Lieber (1968) han sugerido que este efecto doble pueda explicar el caso en los alcohólicos -- crónicos, cuando están ebrios son menos resistentes que los individuos normales a los barbituricos, pero cuando están sobrios son más resistentes.

Según Widmark, existe un factor para el porcentaje de eliminación de la

sangre al que denominó factor beta. Llegó a la conclusión que este factor es constante para un indivíduo, pero que existen variaciones considerables para diferentes personas. En la actualidad se sabe que aún para un solo indivíduo, la tasa metabólica es diferente de un día à otro. Esta tasa metabólica, expresada como descenso de alcohol sanguíneo en miligramos por 100 mililítros por hora, se ha establecido tan baja como 7 y alta como 24. Se supone que cualquier medida que pudiera cambiar el grado de eliminación de alcohol en el organismo sería de considerable valor clínico.

Algunos investigadores han sugerido que la administración de sustancias tales como el 2,4 dinitrofenol, piruvato, succinato insulina, insulina -- más glucosa, y algunas vitaminas causan una aceleración en el metabolismo del alcohol en el organismo. Cabe hacer notar también, que otros investigadores igualmente veraces negaron totalmente estas aseveraciones.

La mayoría de las pruebas indican que hay un límite superior para el -- factor beta, y que la fructosa, glucosa, piruvato o insulina pueden incrementar la tasa metabólica, solamente en el caso en que el valor de beta sea inferior al límite superior de 24. Aunque estudios recientes -- muestran que la fructosa, en dósis de 0.8 a 1.2 g. por kg. incrementan beta de un 15 a un 40 por ciento. Se han publicado datos indicando que el descenso sanguíneo del alcohol no se representa por una línea recta, sino por una curva hiperbólica, sin embargo, la desviación de la línea

recta no es pronunciada. Se ha demostrado efectivamente, que la tasa de desaparición del alcohol sanguíneo, en perros, sigue una curva exponencial; ésto es válido cuando la concentración es inferior a 10 miligramos por 100 mililítros. Actualmente se considera que la tasa de la etapa primaria del metabolismo puede tomarse como una recta, y que no puede ser suficientemente alterada para tener importancia clínica o legal.

Las etapas media y final del metabolismo ocurren en todo el organismo, pero en una forma más rápida en el hígado. Solamente una pequeña fracción de los productos del mismo parece ser utilizada para la formación de estructuras. Los investigadores Bartlet y Barney recuperaron el 90 por ciento del carbono procedente de alcohol radiactivo, en el bioxido de carbono de la respiración.

La energía resultante de esta oxidación, se utiliza economizando calorias de otras fuentes alimenticias. Es posible substituir hasta 1,200 calorias al día de la alimentación normal, por la ingestión de alcohol. En este sentido, el alcohol es un alimento pero solo provee de acetato, y está completamente desprovisto de vitaminas. Las etapas media y final del metabolismo, no han sido estudiadas tan bien como la primera. En gran parte de los estudios, el único criterio que se ha tomado para el metabolismo ha sido la desaparición del alcohol del organismo. El acetaldehido se ha encontrado durante los estudios metabólicos in vitro, en la sangre de los animales normales y en el hombre, a los que se les ha suministrado alcohol.

El acetaldehido que se metaboliza, es proporcional a la concentración - sanguínea, y varía según las condiciones de experimentación. Al administrar pequeñas cantidades de alcohol, el acetaldehido formado se oxida tan rapidamente como el alcohol se convierte en acetaldehido. Si se administran grandes cantidades de alcohol, la oxidación del acetaldehido no es lo suficientemente rapida y se va acumulando en la sangre. Este hecho se ve más acentuado si el animal de experimentación ha recibido medicación con substancias como el "disulfiram" llamado también, antabuse usado contra el alcoholismo, la cianamida, y el carbón animal. En perros se puede producir avitaminosis tiamínica con dietas deficientes, - o con administración de neopiritiamina sin cambios aparentes en el metabolismo del alcohol. +Recientemente se ha reportado que los glóbulos rojos de la sangre, de personas con historia alcohólica, tienden a agruparse, y que pueden provocar obstrucciones serias en el torrente sanguíneo, y consecuentemente, interferir con el transporte eficiente de oxigeno a las células del organismo. +

En conclusión, se puede establecer que el metabolismo del alcohol etílico en el organismo presenta un alto grado de oxidación, que se efectúa principalmente en el hígado, y de la que se observan tres etapas, que son: 1.- La combustión del alcohol etílico en el hígado, produciendo acetaldehido, que aparece en la sangre solamente después de que se ha ingerido alcohol. 2.- El acetaldehido se oxida a ácido acético, no só-

lo en el hígado, sino en otros órganos, y 3.- La oxidación del ácido - acético a bióxido de carbono y agua, que se realiza en todo el organismo.

CAPITULO III

ACCION DEL ALCOHOL ETILICO SOBRE EL ORGANISMO

III.- ACCION DEL ALCOHOL ETILICO SOBRE EL ORGANISMO

Cuando el alcohol etílico se aplica localmente, puede tener acción refrigerante, astringente, o irritante, aunque estas acciones dependerán de la concentración que tenga, y al tipo de tejido que se aplique. Cuando se aplica a la piel produce una sensación de enfriamiento, puede disminuir la tensión superficial y disolver algunas substancias que se encuentran depositadas en ella, por esta razón se usa para aseo externo a una concentración apropiada, en algunos casos se usa para la disminución de la fiebre.

A altas concentraciones desnaturaliza las proteínas por deshidratación, siendo esta característica la base de los efectos germicidas. A concentraciones bajas de un 10 a un 15 por ciento causa mediana irritación en superficies erosionadas de la piel o mucosas. Cuando se absorben cantidades tóxicas, la piel se torna pálida debido a insuficiencia circulatoria periférica. Las soluciones de 40 al 50 por ciento de alcohol, son irritantes para las membranas mucosas, y si son inyectadas producen abscesos. Las soluciones que tienen concentraciones de 70 por ciento se usan como antisépticos, ya que puede penetrar y desnaturalizar las proteínas, aunque las soluciones del 50 al 95 por ciento también tienen estas propiedades. En cantidades pequeñas dilatan los vasos cutáneos, y enrojecen la cara y el cuello.

El alcohol ingerido en forma de bebidas alcohólicas, produce una serie -

de estados fisiopatológicos, dependiendo tanto de las cantidades que se tomen como la concentración de alcohol que se encuentren en las mismas. Por la frecuencia y las cantidades de alcohol que ingieran, las personas pueden ser: bebedores ocasionales, moderados, constantes y alcohólicos crónicos.

El alcoholismo está a menudo asociado con desórdenes nutricionales, especialmente por el efecto que tiene sobre ciertas vitaminas tales como niacina, tiamina, etc. Las deficiencias de estas vitaminas pueden ser responsables de enfermedades de los sistemas digestivo, neurológico, etc., del organismo. El uso del alcohol y el alcoholismo crónico pueden producir también, enfermedades del corazón, de los músculos, de la sangre y de otros tejidos así como desórdenes mentales. Los indivíduos alcohólicos son propensos a enfermedades y a una alta tasa de motalidad; las enfermedades pueden no estar directamente conectadas con el alcoholismo, pero su desnutrición los hace más susceptibles a ellas, y por lo general reducen su nivel de vida, por lo menos diez o doce años.

Entre las enfermedades más serias asociadas con el alcoholismo, y que son llamadas en conjunto, "encefalopatías", se encuentran las siguientes: Síndrome de Wernike, Psicosis de Korsakoff, Encefalopatía de Jolliffe (deficiencia de niacina), y enfermedad de Marchiafava.

El síndrome de Wernike, caracterizado por alteración de la conciencia, y parálisis de los nervios ópticos, está definitivamente asociado con una

severa deficiencia de vitamina B_1, y responde bien a un tratamiento inmediato con tiamina.

La psicosis de Korsakoff, está caracterizada por desorientación, fallas en la memoria, y "por la curiosa tendencia a disimular o encubrir los defectos, substituyéndolos con ocurrencias imaginarias" según los autores de Alcohol & Health*. Porque a menudo, aunque no siempre, está acompañada de neuropatía periférica y algunas veces, sigue las características del síndrome de Wernike; la deficiencia de tiamina puede estar también implicada en la provocación de la psicosis de Korsakoff.

La deficiencia de niacina, o encefalopatía de Jolliffe, está marcada por - alteración de la conciencia, rigidéz de los brazos y piernas, e incontrolables reflejos de chupar y de agarrar o empuñar. Esto se debe a una total deficiencia de niacina, y el paciente responde con dósis masivas de esta vitamina, junto con otros elementos del complejo B y es fatal si el tratamiento se retrasa. La enfermedad de Marchiafava es una degeneración poco común de una parte específica del cerebro -corpus callosum- causando severas disfunciones mentales. Debido a que los sintomas y el comportamiento no son específicos, el diagnóstico solo se efectúa en la autopsia, pero rara vez cuando el paciente vive.

A continuación, un diagrama de las enfermedades conocidas: -

Sistema Gastrointestinal	Esofaguitis Carcinoma esofágico Gastritis Mala absorción Diarrea crónica Pancreatitis Hígado graso Hepatitis alcohólica Cirrosis (cancerigena)
Corazón	Cardiomiopatía alcohólica Beriberi
Piel	Rosácea Telangiectasia Rinofima Ulceras cutáneas
Neurológicas y Psiquiátricas	Neuropatías periféricas Convulsiones Alucinaciones alcohólicas Delirium Tremens Síndrome de Wernicke Psicosis de Korsakoff Síndrome de Marchiafava
Musculares	Miopatía muscular

Hematológicas	Anemia megaloblástica
Deficiencias Vitamínicas	Beriberi Pelagra Escorbuto
Metabólicas	Hipoglicemia alcohólica Hiperglicemia alcohólica

Como se vé, la acción del alcohol sobre el organismo, es bastante amplia, y comprende sistemas tan importantes como el gastro-intestinal y el sistema nervioso central, que son, además, los primeros en ser atacados y los más perjudicados.

PANCREATITIS.- La incidencia de pancreatitis puede relacionarse como un efecto directo del alcoholismo o un espasmo del esfinter de Oddi, que producen alguna presión en el ducto pancreático. Una mayor elaboración de secretina se debe al hecho que el alcohol produce acidez gástrica, y producirá una secreción aún mayor contra un ducto obstruído; y esta situación provoca un estado real de pancreatitis, además que perturba el metabolismo de las células pancreáticas como lo refleja la disminución de la síntesis de proteínas en animales después de un prolongado tratamiento -- con alcohol, (Alcohol & Health, etc.).

Aunque el alcoholismo está ocasionalmente relacionado con la pancreatitis, los indivíduos con historia de alcoholismo muestra una respuesta baja a estimulación pancreática en volúmen, concentración de bicarbonato, y se-

creción de amilasa. Además, un test de provocación en pacientes alcohólicos incrementan la actividad de lipasa y amilasa en el suero indicando daño pancreático subclínico.

HIGADO GRASO.- La acumulación de grasa es la lesión inicial producida en el hígado por alto consumo de alcohol. Este desorden está acompañado de una ligera inflamación, con algunas consecuencias funcionales, tales como la colestasis. Tanto la acumulación grande como la moderada de grasa en el hígado son generalmente reversibles cuando cesa la ingestión contínua de alcohol.

Aunque el hígado graso de los alcohólicos, no es de condición inflamatoria, y distinguible de la hepatitis alcohólica por microscopia, la marcada similitud con las observaciones al microscopio electrónico, sugieren que la primera puede ser precursora de la segunda. La cadena de circunstancias que se suceden, a partir del hígado graso hasta la hepatitis alcohólica y la cirrosis, son todavía hipotéticas, y no han sido aún verificadas en animales de laboratorio. Si la cirrosis alcohólica generalmente requiere de 10 a 15 años de ingestión alcohólica, posiblemente este período - no se ha reproducido experimentalmente.

HEPATITIS ALCOHOLICA.- Es un desorden inflamatorio del hígado, que -- puede o no estar asociado con la grasa o la cirrosis, aunque generalmente ocurre en presencia de fiebre con una cantidad elevada de glóbulos -- blancos, dolor en el cuadrante superior derecho abdominal e ictericia. --

Frecuentemente el cuadro clínico es similar al producido por los cálculos biliares. El razgo más importante, y característico visto en el microscopio es la llamada hialina de Mallory que es una degeneración celular, y que con pocas excepciones, es peculiar de hígado alcoholizado. Aunque la hepatitis alcohólica, generalmente subsiste aunque la ingestión de alcohol cese, es una condición potencialmente letal, y algunos pacientes pueden morir por fallas hepáticas. Si el consumo de alcohol continúa, la hepatitis a menudo, progresa a cirrosis.

CIRROSIS ALCOHOLICA.- Esta enfermedad es conocida desde hace mucho tiempo. Uno de los primeros en investigarla fué el Inglés William Haberden (Alcohol & Health.. alc. rel. III). Se considera que el 10% de las personas alcohólicas desarrollan cirrosis; esta enfermedad se caracteriza por una cicatrización difusa del hígado. Esta complicación fatal de alcoholismo, está íntimamente relacionada con las cantidades y duración de la ingestión alcohólica, y según los investigadores Lieber y colaboradores, parece no estar relacionada a los estados nutricionales del individuo.

El exceso de ausencia de fierro en el hígado, ha sido una de las características de cirrosis alcohólica, el cual puede incrementar la pérdida de fibras en el hígado. Si el indivíduo alcohólico continúa bebiendo fuertes cantidades de alcohol, muere por hemorragia, por hipertensión portal, o mal funcionamiento hepático. Ya que también está asociado con el cáncer

del hígado. Esto ocurre aún en personas que no han consumido alcohol por muchos años. En resumen las enfermedades alcohólicas hepáticas son las más series consecuencias del abuso del alcohol. Por otro lado, hay que agregar las deficiencias dietéticas, puesto que el alcohol puede -- aportar mas de mil calorías diarias y motivar una reducción en la ingestión de los alimentos ordinarios.

CAPITULO IV

ELIMINACION DEL ALCOHOL ETILICO

IV.- ELIMINACION DEL ALCOHOL ETILICO

Aproximadamente un 2% del alcohol etílico ingerido se elimina inalterado, el resto es oxidado en el hígado y metabolizado. Esto ya se explicó en el capítulo II relacionado con el metabolismo. [Pequeñas cantidades también pueden detectarse en el sudor, lágrimas, bilis, jugo gástrico, saliva, pero la mayor parte del alcohol que escapa de la oxidación y es excretado, se elimina por los riñones y pulmones.] Para el hombre se considera un promedio de 100 mg/kg/hora comprobándose con una disminución del alcohol sanguíneo del cuerpo. Por ejemplo, una persona de 70 kg de peso puede eliminar 7 gramos (aproximadamente 9 mililitros) de alcohol absoluto cada hora. Y por cada gramo de alcohol que es metabolizado en el organismo, la persona obtiene 7 calorías.

El alcohol etílico se distribuye en el agua del organismo. Los riñones excretan esta agua sin concentrar alcohol. Ya que existe más cantidad de agua en la orina que en la sangre, la orina contiene un 20 por ciento más de alcohol. El alcohol eliminado por esta vía puede compararse en una persona que ingiera suficiente alcohol para mantener una concentración sanguínea de 100 mg por 100 ml y que ha excretado un litro de orina en 4 horas. Esta cantidad de orina contendrá solamente 1.2 gramos de alcohol mientras que en el mismo tiempo habrá metabolizado 28 gramos de alcohol.

Algunos autores consideran que la diferencia de concentración de alcohol

de la orina sea tan marcada, o sea de un 20 por ciento y que dicha concentración varía de sangre a aire alveolar en un 0.05 por ciento. Un individuo severamente intoxicado con una concentración de alcohol de 500 miligramos por ciento puede, por lo tanto, eliminar alrededor de 5 gramos de alcohol por litro de orina y alrededor de 0.25 gramos por 100 litros de aire expirado.

CAPITULO V

DOSIS TOXICA Y MORTAL. NIVELES DE CONCENTRACION PARA CONSIDERAR EBRIEDAD

V.- DOSIS TOXICA Y MORTAL. NIVELES DE CONCENTRACION PARA CONSIDERAR EBRIEDAD.

Mientras que los mecanismos farmacológicos exactos del alcohol se desconocen, se observa que los efectos depresivos y de comportamiento del individuo alcohólico dependen principalmente de la dosis que se ingiera. - La rapidez con que el alcohol induce intoxicación alterando las funciones del sistema nervioso central, está relacionada con la velocidad de absorción del estómago y del intestino delgado, así como la historia alcohólica del indivíduo.

El alcohol se metaboliza, se quema o se descompone en el organismo a velocidad más o menos constante. Si una persona bebe con una frecuencia más acelerada de la que el organismo pueda metabolizar, la droga se acumula, resultando una pronunciada concentración en el torrente sanguíneo. A medida que la persona es de mayor complexión, será necesaria mayor cantidad de alcohol para que la concentración sea equivalente; en otras palabras, una misma cantidad de alcohol, tendrá efecto diferente en una persona que pesa 50 kilos que otra persona que pese 80 kilos. Este efecto, sin embargo, se debe a muchos otros factores, que puede ser actividad, constitución física, nutrición, etc., de la persona.

Los variados y complejos efectos intoxicantes del alcohol se deben, parcialmente, a los cambios en el funcionamiento del sistema nervioso central, como se mencionó anteriormente, y sobre todo en casos de alcoho-

lismo crónico, produciendo alteraciones en el cerebro, mencionadas en el Capítulo III. Como se sabe, el alcohol se absorbe en el tracto gastrointestinal y acarreado por la sangre al cerebro y otros órganos. La concentración de alcohol en la sangre, que afecta el funcionamiento del cerebro es más baja de la que afecta a otros tejidos.

Los efectos de intoxicación alcohólica que se observan cuando un indivíduo alcoholizado habla, o la inestabilidad para estar de pie o caminar, no se deben a una acción directa del alcohol sobre la lengua o sobre las piernas, sino que son causados por los efectos en las partes del cerebro que integran y controlan sus actividades.

Los primeros cambios considerables en el humor o comportamiento, que son atribuidos a los efectos del alcohol sobre el sistema nervioso central, aparecen en los niveles alcohólicos de sangre de 0.05 por ciento (50 mg/ 100 ml). El pensamiento, juicio y comportamiento se van perdiendo a este nivel de concentración que resulta en un indivíduo de unos 70 kilos de peso que ha consumido dos compas en el curso de una hora. El indivíduo se muestra descuidado, liberado de muchas de sus preocupaciones habituales e inhibiciones; puede tomarse pequeñas libertades personales y sociales; es por ésto que algunas personas toman, sienten un estado de ánimo subjetivamente agradable, pero sobre todo la liberación de inhibiciones es el hecho más característico de los signos primarios de intoxicación alcohólica.

A medida que van aumentando las concentraciones de alcohol en el organismo, y consecuentemente, mayores nieveles se encuentran en la sangre, la acción depresiva se va haciendo más notoria y, continúa su acción sobre otras funciones del cerebro. A una concentración de 0.10% en la sangre (100 mg/100 ml), las acciones motoras voluntarias se vuelven francamente toscas.

A una concentración de 0.20% de alcohol en la sangre (200 mg/100 ml), la función del área motora del cerebro es considerablemente deprimida, la parte del cerebro que media el comportamiento emocional también se ve -- afectada. El indivíduo titubea, tiende a asumir una postura horizontal, -- puede fácilmente encolerizarse, gritar o ponerse a llorar.

A un nivel de concentración de 0.30 por ciento (300 mg/100 ml) de alcohol en la sangre, las áreas perceptivas más primitivas del cerebro están fuertemente deterioradas. A este nivel, una persona está completamente confusa, siente estupor, aunque ponga atención, tiene poca comprensión, de lo que oye y de lo que vé.

Cuando el nivel de concentración de alcohol en la sangre se encuentra entre 0.40 y 0.50 % (400 - 500 mg/100 ml) el indivíduo está inconsciente de su medio ambiente; está en coma.

Mayores niveles de alcohol en la sangre, bloquean los centros en la médula de la parte baja del cerebro que controlan la respiración y sobreviene la muerte rápidamente. Esta sucesión de efectos no es exclusiva del --

alcohol. También pueden ser producidos por otras drogras hipnóticas sedativas, tales como barbituratos, éter e hidrato de cloral.

En cuanto a los niveles de concentración para considerar la ebriedad, en la mayoría de los países existen legislaciones, sobre todo cuando las personas se encuentran involucradas en accidentes de tránsito o de otro tipo. Estas legislaciones consideran ilegal que una persona conduzca vehículos motorizados mientras se encuentran bajo los efectos de bebidas intoxicantes. El término "bajo los efectos" comprende los grados menores de alteración que producen las bebidas alcohólicas y que se conocen como embriaguez. Así como perder la claridad del intelecto y control de sí mismo que normalmente posee, y si su habilidad para conducir un vehículo ha disminuído en grado ligero. Con estas definiciones, por ejemplo, en los Estados Unidos de Norteamérica, el Consejo Nacional de Seguridad y la Asociación Medica Americana han propuesto interpretaciones de los niveles relativos de alcohol en la sangre, ya sea que el conductor esté o nó bajo la influencia del alcohol. Ya que las personas reaccionan diferente al alcohol, sería injusto seleccionar un solo punto en la escala que separaría a los que están bajo la influencia del alcohol de los que no lo - están. Por ésto se seleccionaron dos puntos en la escala, un nivel menor, debajo del cual nadie estará bajo los efectos del alcohol, y un nivel tres veces mayor encima del cual, según los comités, todos estarían bajo los efectos del alcohol. También fué propuesta una zona media en la -- cual muchos, pero no todos, estarían bajo los efectos.

En el primer límite o punto el alcohol sanguíneo será de 0.00 a 0.05 % (0 a 50 mg/100 ml), es prueba suficiente de que el sujeto no está bajo los efectos del alcohol.

En el segundo punto, el alcohol sanguíneo de 0.05 a 0.15 % (50 a 150 mg/100 ml), no es prueba suficiente de que el sujeto está bajo los efectos, pero puede entablarse demanda judicial si se comprueban signos físicos.

En el tercer punto, alcohol sanguíneo de 0.15 % (150 mg/100 ml), en adelante, es prueba suficiente de que el sujeto está bajo los efectos del alcohol. Cuando es utilizada la Orina o el aire de la respiración para la determinación, los resultados analíticos son calculados en relación a un porcentaje de alcohol en la sangre. Algunos autores recomiendan que los niveles sanguíneos de alcohol, por encima del que todas las personas están bajo su influencia debería ser bajado de 0.15 (150 mg/100 ml) a un 0.10 % (100 mg/100 ml). En Estados Unidos, el comité del Consejo Nacional de Seguridad, aprobó exhortar a las legislaturas de los estados, - que cuando promulguen o enmienden leyes que involucren pruebas químicas para la determinación de alcohol, en que se establezcan tres niveles de alcohol con los siguientes valores: de 0.00 a 0.05 % (0 a 50 mg/100 ml); de 0.05 a 0.10 % (50 a 100 mg/100 ml); y de 0.10 % (100 mg/100 ml) en adelante.

El comité de asuntos médico-legales de la Asociación Médica Americana

en 1960 recomendó lo siguiente: el alcohol sanguíneo por encima de -- 0.10 % (100 mg/100 ml) es prueba suficiente de intoxicación alcohólica, pero aceptando que muchos indivíduos lo estarán de 0.05 a 0.10 % (50 a 100 mg/100 ml). En 1962, el Código Uniforme de Vehículos, también recomendó las tres zonas de concentración sanguínea de alcohol aprobadas por C.N.S. y la A.M.A. en la siguiente forma: por debajo de 0.05% (50 mg/100 ml), libre de efectos alcohólicos; entre 0.05 y 0.10 % (50 y 100 mg/100 ml), posiblemente bajo los efectos del alcohol; y por encima del 0.10 % (100 mg/100 ml) existe prueba suficiente de que están ebrios.

Para tener una idea de la variación de concentraciones alcohólicas para considerar ebriedad, en los diferentes países se vé que en Noruega, son castigados los conductores que presenten nivel sanguíneo de alcohol sobre 0.05 % (50 mg/100 ml). En Suecia, se castiga a los que tengan - concentraciones superiores a 0.08% (80 mg/100 ml), y una pena mayor para los que estén por encima de 0.15 % (150 mg/100 ml). En Dinamarca, casi todos los conductores son castigados si presentan niveles superiores a un 0.10 % (100 mg/100 ml), de concentración alcohólica.

La concentración de alcohol en la sangre es de interés porque permite - calcular el almacenamiento total de alcohol en otros tejidos de acuerdo con el peso corporal y el porcentaje de alcohol en la sangre. De manera inversa, se puede calcular en nivel sanguíneo que resultará de la administración de una cantidad de alcohol a un indivíduo de un peso determinado.

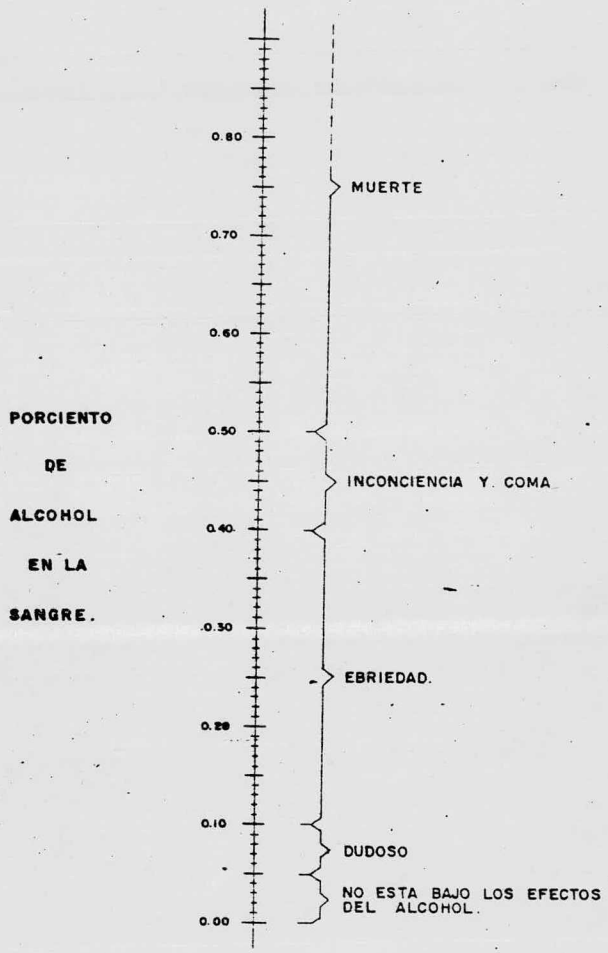
El investigador sueco, Widmark, fué el primero en utilizar esta relación, la designó con el símbolo r. Para un indivíduo determinado r es constante, pero varía de persona a persona. Widmark encontró que r era igual a 0.68 ± 0.085 para hombres y 0.55 ± 0.055 para mujeres. Las mujeres generalmente tienen más tejido adiposo que el hombre y por tanto, menos agua en qué depositar el alcohol. Por ejemplo, si hombre pesa 70 kilos y tiene un valor de r de 0.67, si su cuerpo contiene 30 mililítros de alcohol, el nivel calculado de alcohol sería de 50 miligramos por 100 mililítros, es decir, 0.05 por ciento. De manera inversa, si un hombre pesa 70 kilos con r de 0.67 y con alcohol sanguíneo de 0.10 por ciento, tendrá un total de 60 mililítros de alcohol puro en el organismo, esta cantidad equivale a la cantidad de alcohol que contiene 120 mililítros de whisky, o al alcohol de 1,440 mililítros de cerveza de un contenido alcohólico de 4 por ciento.

Independientemente de estos niveles de concentración alcohólica en el organismo, algunos autores han señalado la presencia de algunas fracciones de alcohol cuando algunos tejidos y líquidos del cuerpo se destilan al vapor. Estas fracciones o huellas encontradas en la destilación tienen la propiedad de reducir al dicromato cuando se calientan juntos en presencia de ácido sulfúrico al 50 por ciento. Esta es una característica del alcohol que en estas condiciones de reacción forma ácido. Algunos investigadores llaman a estas sustancias reductoras "alcohol etílico" y encuentran como normales los valores de 1 a 9 miligramos por 100 gramos de te

jido. Después de muchas concentraciones y purificaciones del destilado de varios kilogramos de cerebro, hígado y sangre, Gettler y colaboradores lograron aislar escasas gotas de un líquido con las características físicas y propiedades químicas del alcohol etílico, aunque no excluyeron la posibilidad de fermentación post mortem de la glucosa o de algún otro material durante la destilación de los materiales orgánicos. Otros métodos más modernos han sido empleados para la determinación de este alcohol - normal, tales como el método enzimático de la deshidrogenasa alcohólica y la cromatografía de gases. Ambos procedimientos son casi específicos para el alcohol etílico, y necesitan solamente unos cuantos microgramos de muestra, los resultados obtenidos, y revisados por Harger, fueron las concentraciones "normales" de alcohol de 0 a 0.24 miligramos por 100 mililítros. Otro investigador, Lester, dice estar de acuerdo en que en los seres humanos puede estar presente concentraciones superiores a 1.5 miligramos por litro de sangre, es decir, 0.15 miligramos por ciento, pero el que sea de orígen endógeno, no está aclarado.

Se sugiere también, que para las determinaciones de alcohol ya sea en sangre u orina, se debe restar una pequeña cantidad de este material reductor normalmente presente, que es de 5 o 10 miligramos por 100 mililítros, aunque no todo sea alcohol etílico.

A continuación se tiene una escala, en la que se establecen los niveles de concentración anotados en este capítulo, y para la que se considera - una persona de peso corporal de 68 kilogramos.



NIVELES DE CONCENTRACION DE ALCOHOL EN LA SANGRE Y CARACTERISTICAS DE INTOXICACION DE UNA PERSONA DE 68 Kgs. DE PESO APROXIMADAMENTE.

M. León T.

CAPITULO VI

EXACTITUD DE LOS PROCEDIMIENTOS PARA DETERMINAR ALCOHOL ETILICO EN LIQUIDOS ORGANICOS Y VISCERAS

VI.- EXACTITUD DE LOS PROCEDIMIENTOS PARA DETERMINAR ALCOHOL ETILICO EN LIQUIDOS ORGANICOS Y VISCERAS.

Es conocida la magnitud de los accidentes que afectan a las industrias, al tránsito, las bebidas alcohólicas en exceso, así como también provocan - crímenes violentos. Desde el punto de vista legal, es necesario saber si una persona envuelta en estos sucesos estaba intoxicada por alcohol. En los juicios, los acusados generalmente dicen que su comportamiento fué debido a alguna enfermedad o a un estado de choque. Algunas Asociaciones Médicas internaciones han mencionado la inseguridad de un exámen físico por un médico, para diagnosticar intoxicación alcohólica. Ya desde 1914, el investigador Sueco, Widmark había propuesto que se investigara en la orina de los sujetos la presencia de alcohol. Poco después, el -- mismo investigador publicó un micrométodo sanguíneo, ampliamente usado en Europa.

Posteriormente, se desarrollaron otros métodos químicos en los que se emplean sangre, orina, aire espirado y otros materiales orgánicos. Cabe - hacer notar que los análisis de sangre y orina toman un poco más de tiempo para obtener resultados que los efectuados en el aire alveolar espirado por un indivíduo, y puede ser analizado directamente mediante equipos que han sido llamados: 1.- Drunkometer, 2.- Intoximeter, 3.- Alcometer y el 4.- Breathalyzer; inventados por Harger, Forrester, Greenberg y Borkenstein respectivamente, y el Consejo Nacional de Seguridad de Esta-

dos Unidos informó que cuando se realizan análisis de acuerdo con su autor, son dígnos de confianza en la predicción de los niveles de alcohol en la sangre. Para el análisis de sangre, orina y material orgánico tales como visceras se explicará con mayor amplitud, para conocer todas las secuencias así como los reactivos necesarios. Para realizar el análisis en sangre y orina, las muestras son diluídas con agua, son destiladas o desecadas en cámaras cerradas de dos compartimentos, en que se encuentra sangre y ácido sulfúrico concentrado. El alcohol así destilado, luego se oxida a ácido acético por calentamiento con dicromato en presencia de ácido sulfúrico a una concentración de 30 a 50 por ciento. La solución que resulta es analizada según el ácido acético formado o el exceso de dicromato. Luego se sigue el método elegido, entre los que se encuentran el fotométrico, yodimétrico y titulación con sulfato ferroso, que contenga un indicador de óxido-reducción.

En general, los métodos pueden dividirse en los que son simples pero no específicos, y los que son específicos, pero complicados. El método que puede considerarse ideal, por su especificidad y rapidéz es el de cromatografía en fase gaseosa. Otro método es el enzimático en el que se utiliza deshidrogenasa de alcohol, aunque no es rápido y necesita un espectrofotómetro ultravioleta.

DETERMINACION DE ETANOL POR MACRODIFUSION

PRINCIPIO: El alcohol etílico liberado de la muestra es absorbido en una

solución de dicromato de potasio. Luego es oxidado por esta solución a ácido acético. Durante este proceso, el dicromato de potasio de color amarillo es reducido al ión crómico de color verde, este cambio de color constituye una indicación cualitativa aproximada del progreso de la reacción.

$$3\ C_2H_5OH + 2\ K_2Cr_2O_7 + 8H_2SO_4 \longrightarrow 3\ CH_3COOH + 2Cr_2(SO_4)_3 + 11H_2O + 2K_2SO_4 .$$

Se mide la cantidad de dicromato que quedó sin reaccionar por reacción con yoduro de potasio, para formar yodo, el cual se estima por valoración con tiosulfato:

$$2K_2Cr_2O_7 + 6\ KI + 7H_2SO_4 \longrightarrow 4K_2SO_4 + Cr_2\ (SO_4)_3 + 3I_2 + 7H_2O$$

$$I_2 + 2\ Na_2S_2O_3 \longrightarrow 2\ NaI + Na_2S_4O_6 .$$

EQUIPO: Se usan bocales para muestras, cuadradas y de boca ancha con capacidad para 500 gramos que puedan cerrarse herméticamente para evitar contacto con la atmósfera. Existe un aparato que puede obtenerse comercialmente de Aimer Products, Ltd. London, pero este bocal de Mason con tapa de vidrio amordazada y con empaquetadura de hule es adecuado, y se usa para este análisis. Se usan también, vasos de precipitados, y una bureta con divisiones de 0.02 ml.

REACTIVOS: Solución de dicromáto de potásio, 0.100 N., pesando exacta

mente 4.9035 gramos del dicromáto y se disuelven en 1 litro de ácido sulfúrico al 50% enfriado; es una solución estable.

2.- Yoduro de potásio, reactivo analítico.

3.- Solución de tiosulfato de sodio, 0.100 N. Disolver 24.818 gramos de tiosulfato de sodio con 5 moléculas de agua, grado reactivo, en 1 litro de agua recién hervida. Agregar 2 o 3 gramos de bórax como preservativo. Es una solución estable.

4.- Solución de almidón. Se prepara una solución al 1 por ciento de almidón soluble, grado reactivo, en solución saturada de ácido sórbico.

5.- Estándares de alcohol. En este procedimiento se puede hacer la solución de dicromáto de potásio con mayor grado de exactitud.

Estándares de alcohol etílico
(mg/100 ml o mg/100 g)

Estándares de alcohol etílico
(mg/100 ml o mg/100 g)

40
80
160
240
320
400

Se completan las soluciones hasta 100 gramos (p/p) o hasta 100 ml. (p/v) con sangre exenta de alcohol. Los estándares se guardan en frascos de

vidrio herméticamente tapados, en un refrigerador donde son estables hasta por dos meses.

Se escogen dos porciones de 55 mililítros de sangre de banco, pasada de fecha, a las que agregando 4.7 gramos de NaF a cada porción para inhibir la producción de alcohol por acción bacteriana, dan resultados negativos, luego se juntan las dos porciones.

Se prepara una solución de alcohol que contenga 2.00 g/100 ml, por adición de 2.53 ml de etanol anhidro a aproximadamente 90 mililítros de sangre, agitando la solución. Se continua agitando la solución de sangre durante 15 minutos. Se completa el volúmen a 100 ml con sangre. El etanol absoluto absorbe agua del aire una vez que se abre el frasco que lo contiene. Los estándares siguientes se preparan por adición de los volúmenes indicados de la solución estandar de sangre con etanol, de 2.00 g/100 ml a frascos tarados (para soluciones estándares expresadas en p/p) o se introducen en matraces volumétricos de 100 ml (para soluciones estándares expresadas en p/v).

Mililítros de solución estandar de etanol/sangre (2.00 g/100 mililítros)
2.0
4.0
8.0
12.0
16.0
20.0

PROCEDIMIENTO: Con una pipeta, se introducen exactamente 10 ml. de dicromáto de potásio 0.100 N en un bocal. Pesar 2.00 gramos, o introducir con una pipeta 2.00 ml. respectivamente, de sangre en un vaso de precipitados de 100 ml. Introducir el vaso de precipitado que contiene la solución de dicromáto de potásio, se coloca la empaquetadura de hule y se amordaza la tapa en su sitio. De igual manera se prepara un testigo, en el cual sólo se omite la muestra. Se introducen los bocales con el testigo y la muestra en una incubadora a 70 grados centígrados durante - una hora.

Después de la incubación, se sacan los bocales y se enfrían, se abre, se levanta el vaso de precipitado y se enjuaga la superficie externa del vaso con agua destilada, recogiendo las aguas de lavado en el bocal. Se diluye el contenido del bocal con 250 a 300 ml de agua destilada. Agregar 2.0 gramos de KI sólido y se agita. Se valora con tiosulfato de sodio 0.100 N hasta que queda de color amarillo débil. Se agregan de 1 a 2 ml. de solución de almidón y se termina la valoración hasta la desaparición del color negro-azulado del complejo de yodo y almidón. Se anota el volumen del valorante usado. Para el testigo se repite el mismo procedimiento.

CALCULO: La diferencia entre el volumen de solución de tiosulfato de - sodio usado para valorar la muestra, multiplicada por la normalidad de la solución de $Na_2S_2O_3$, dá los miliequivalentes de $K_2Cr_2O_7$ consumidos

en la oxidación del mismo número de miliequivalentes de alcohol, como en las ecuaciones estequiométricas en el principio. A continuación se tienen las relaciones para el cálculo:

(ml de $Na_2S_2O_3$ para testigo - ml $Na_2S_2O_3$ muestra) x $Na_2S_2O_3$ 0.1 N

$$\times\ 11.5 \text{ mg } C_2H_5OH/\text{meq } C_2H_5OH \times \frac{100}{2.0 \text{ g o ml muest.}} = \text{mg } C_2H_5OH/100 \text{ g ó ml.}$$

ó como sigue:

(ml $Na_2S_2O_3$ para testigo - ml $Na_2S_2O_3$ para muestra) x 57,5

= mg C_2H_5OH/ 100 g ó ml.

Debe tenerse en cuenta que las substancias reductoras volátiles producen interferencia con este método, estas substancias pueden ser isopropanol, metanol, y aldehido, dicha interferencia que de eliminarse por medio de un análisis por separado de estas substancias. Si la incubación se efectúa a 37 grados centígrados o menos durante ocho horas, la acetona no interfiere en este análisis.

DETERMINACION DE ETANOL CON DESHIDROGENASA DE ALCOHOL (ADH)

PRINCIPIO: El alcohol etílico se oxida en presencia de deshidrogenasa - alcohólica a acetaldehido. En el curso de la reacción se reduce una -- coenzima NAD. La reacción es la siguiente:

$$C_2H_5OH \quad NAD \xleftrightarrow{ADH} CH_3\ CHO + NADH + H^+$$

El aumento de NADH puede medirse por el aumento en la absorbancia en su máximo de absorción de 340 mm. El equilibrio para esta reacción se encuentra con fuerte tendencia a la izquierda. A pH neutro y a concentraciones normales de NAD, menos de 1% del etanol presente es oxidado a acetaldehido. La reacción puede llevarse a la derecha manteniendo un pH alto y separando el acetaldehido a medida que se vá formando, para ésto, se hace reaccionar con semicarbacida. Para esta reacción puede usarse la deshidrogenasa alcohólica que se obtiene de levadura y del hígado de mamíferos. A un pH de 8, la constante de Michaelis es 30 tantos mayor en el caso de ADH de hígado. Sin embargo, el número de -- cambio es mayor para la ADH de levadura que para la de hígado, aunque estas diferencias son de muy poca importancia en trabajo analítico.

DETERMINACION DE ALCOHOL ETILICO. METODO KAYE-HOAG.

Un método comunmente usado es el de Kaye-Hoag, el cual utiliza un aparato de destilación simple, que se ilustra en la figura 2. La reacción que se efectúa es la anotada en el primer método, es decir, la que comprende alcohol, dicromáto de potásio y ácido sulfúrico.

REACTIVOS:

1.- Reactivo de Anstie:

a) Disolver 3.70 g de dicromáto de potásio en 150 ml de agua.

b) Agregar a la solución a, con precaución, 280 ml de H_2SO_4

c) Enfriar y diluir a 500 ml con agua.

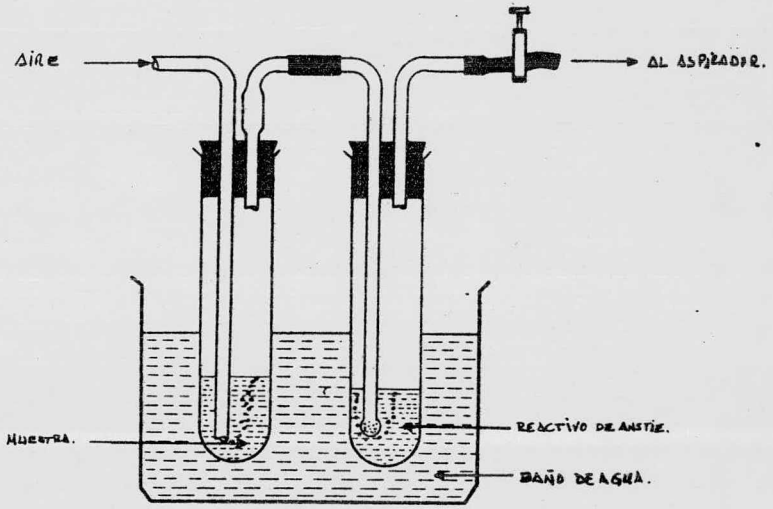


FIGURA 2.-APARATO PARA LA DETERMINACION DE ALCOHOL EN LA SANGRE.
(MODIFICADO DE KAYE Y HOAG.
J. FORENSIC MED. 1, 373, 1954.)

2.- Antiespumante:

a) Mezclar una parte de antiespumante de Silicón A con 25 partes de de aceite de petrolato.

3.- Reactivo Scott-Wilson:

a) Disolver 5 g de cianuro mercúrico en 300 ml. de agua.

b) Disolver 90 g de NaOH en 300 ml de agua.

c) Disolver 1.5 g de nitrato de plata en 200 ml de agua.

d) Cuando la solución de hidróxido de sodio se enfría, agregarla a la solución de cianuro mercúrico y mezclarlas.

e) Luego agregar la solución de nitrato de plata y seguir agitando para mezclarlas bien, si la solución se precipita se filtra.

4.- Solución alcohólica Standard, 2 %.

a) A 50 ml de agua, en un vaso graduado de 100 ml, se le agregan 2.53 ml de alcohol etílico absoluto.

b) Diluir la solución a 100 ml con agua.

5.- Sangre libre de alcohol, 40 mililítros para estandard.

PROCEDIMIENTO: Modificación Kaye-Stolman.

1.- Preparar dos tubos de ensaye (de aproximadamente 25 x 200 mm) con tubos de entrada y salida, como se muestra en la figura 2.

2.- En el primer tubo colocar 4.0 ml de sangre, 4.0 ml de reactivo de Scott-Wilson, 2 ml de agua y una gota de solución antiespumante. Al segundo tubo de ensaye, agregar 9.0 ml de la solución de dicro-

máto de potásio. Suspender ambos tubos en un baño de agua hirviente. (Baño María).

3.- Conectar el sistema a un aspirador, y ajustarlo de tal manera que pase una corriente lenta de aire por los tubos. Dejar que la reacción se efectúe durante 15 a 20 minutos.

4.- Enfriar la solución de dicromáto de potásio y hacer a 10 ml el volumen final con agua.

5.- Colocar una pequeña alicuota en una celda y leer en un espectrofotómetro a 605 mU.

6.- Preparar un blanco de referencia de sangre normal (libre de alcohol. Esta solución puede usarse indefinidamente, si se mantiene incontaminada.

CALIBRACION: Una curva estandard se puede preparar mezclando 4.0 mililítros de sangre libre de alcohol con cantidades proporcionales de alcohol al 2% que se anotan en la tabla siguiente:

Prueba	Solución de alcohol 2 % en ml.	Corresponde a g % de alcohol (g %)
1	0.0	0.00
2	0.1	0.05
3	0.2	0.10
4	0.3	0.15
5	0.4	0.20
6	0.5	0.25
7	0.6	0.30
8	0.7	0.35

Las aproximaciones pueden hacerse por inspección visual con los estándares, tomando en cuenta que todos los tubos de ensaye son del mismo tamaño, calibre y calidad y que también el examinador tiene buena vista y distinción de colores, sin embargo, las lecturas espectrofotométricas son preferibles.

Los colores resultantes de las reacciones se observarán que varían del amarillo a amarillo-verde y verde cuando resulte un 0.30 %. Arriba de este nivel la solución será de un color azúl-verdoso y el procedimiento debe repetirse con cantidades más pequeñas de muestra.

DETERMINACION DE ALCOHOL ETILICO POR MICRODIFUSION

Williams-Linn-Zak.

En este método se utiliza una celda de difusión de Conway y se necesitan cantidades muy pequeñas de muestra para su análisis. Este método ofrece una gran sensibilidad, comparado con métodos modificados de dicromáto.

REACTIVOS:

a) - Solución saturada de Carbonato de Sodio

b) - Solución de Dicromáto de Potásio

c) - Acido sulfúrico concentrado

PROCEDIMIENTO:

Disolver 3.370 gramos de dicromáto de potásio en 150 mililítros de agua destilada. Agregar 280 ml de ácido sulfúrico concentrado, enfriar y afo-

rar a 650 ml. Se emplean las celdas de Conway, figura 3.

En la nave central se depositan 2 ml de la solución de dicromáto de potásio; en la nave exterior se depositan 1 ml de solución de carbonato de - sodio y aquí mismo, 0.8 ml de la muestra por analizar.

Se gira suavemente la celda para mezclar los líquidos del compartimento exterior y se pone en una estufa que tiene una temperatura entre 40 y 60 -- grados centígrados durante media hora. Después se saca la celda y el líquido del centro se saca con una pipeta capilar y se lleva a un tubo aforado a 10 ml.

La nave central se lava con 2 o 3 ml de agua destilada y se pone también en el tubo, y luego se afora a 10 ml con agua destilada. Se lee en un espectrofotómetro a 450 nm. Leer al mismo tiempo un blanco, con 2 ml de - solución de dicromáto de potásio diluído con 10 ml de agua destilada.

CALCULOS: (Densidad del blanco - Densidad desconocida) x Factor =

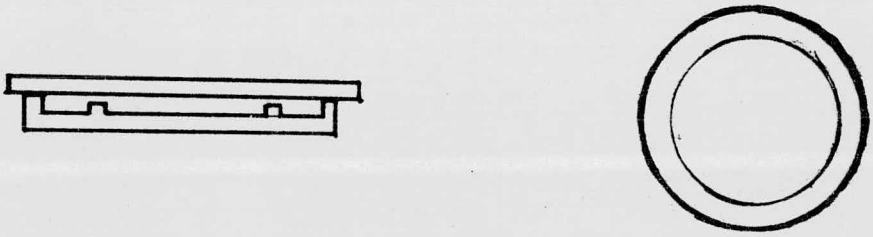
= miligramos % de alcohol .

El factor f, se determina por análisis de las cantidades conocidas de alcohol etílico agregado a la muestra biológica y analizada según en procedimiento anterior. Un estandard o muestra tipo de 500 mg % de alcohol en la sangre se prepara agregando 5 ml de una solución de 100 mg x ml de - alcohol en solución salina a 5 ml de sangre. Esta muestra tipo se diluye, todavía más, para preparar muestras tipo de 100, 200 y 300 mg. %.

Se analizan 0.8 ml de cada una de las muestras y se registran las densidades ópticas de cada una también.

El factor se calcula para cada muestra tipo como en la siguiente fórmula:

$$f = \frac{\text{miligramos porciento de Alcohol}}{\text{densidad del blanco - densidad del desconocido}}$$



vista horizontal vista vertical

Fig. 3 Celda de Conway

DETERMINACION DE ALCOHOL ETILICO EN LIQUIDOS ORGANICOS Y VISCERAS POR CROMATOGRAFIA DE GASES.

La cromatografía es un método físico para la separación de componentes de una mezcla. La columna de separación es la parte más importante en este proceso, que consiste en una tubería de diámetro pequeño empacada con una cama estacionaria de área grande. Tiene también, una fase mó-

vil que se filtra a través de esta cama estacionaria. El término de "cromatografía de gases" indica que la fase móvil es un gas. Los procesos básicos responsables de las separaciones cromatográficas: gas-sólido y gas-líquido son respectivamente, adsorción y separación o partición. La última es la más empleada; aunque las separaciones pueden efectuarse por medio de análisis por elución, frontal y de desplazamiento, en la práctica, la técnica de elución es la más común.

En este método de elución de cromatografía de gases, una corriente de gas transportador fluye a través de la columna. La muestra a analizar, se inyecta dentro del gas transportador como un tapón de vapor que es arrastrado dentro de la cabeza de la columna cromatográfica empacada. La separación de los elementos componentes de la muestra, resulta de una diferencia en las múltiples fuerzas por las cuales los materiales de la columna tienden a retener cada uno de los componentes. Ya sea que la naturaleza de la retención sea adsorción, solubilidad, ligaduras químicas, polaridad o filtración molecular, la columna retiene algunos componentes más tiempo que a otros. Cuando en la fase de gas los componentes se mueven hacia la salida de la columna, son selectivamente retenidos por la fase estacionaria. Como consecuencia, todos los componentes pasan a través de la columna a velocidades variables y emergen en orden inverso a su retención en los materiales de la columna. Al salir de esta columna, la fase gaseosa entra inmediatamente a un detector contíguo a la columna

Aquí los componentes individualmente registran una serie de señales que aparecen como una sucesión de picos arriba de la línea base en la curva registrada o cromatograma. El área abajo del pico es una indicación cuantitativa del componente; el tiempo comprendido entre la inyección de la - muestra y la aparición de los picos sirve para identificarlo.

Por lo general, los cromatógrafos de gas consisten de seis partes:

a) - Regulador de presión y medidor de flujo para abastecimiento de gas transportador o de arrastre,

b) - Sistema de inyección de la muestra,

c) - Columna de separación,

d) - Compartimento térmico,

e) - Sistema de detección y

f) - Registrador de cinta gráfica, u otro dispositivo indicador del rendimiento del detector. En algunos casos, se incluyen un purificador del gas de arrastre y un sistema de recolección para el gas efluente. Fig. 4

Una de las características más importantes en el funcionamiento de un -- cromatógrafo es, la velocidad constante que debe tener el gas de arrastre. Este gas, procedente de un tanque junto al sistema, pasa por una válvula de entrada, sigue por un medidor de flujo, y por restrictores capilares de metal, continúa hasta un barómetro de presión de 0 a 4 atmósferas. El medidor de flujo tiene una escala de 0 a 200 mililítros por minu

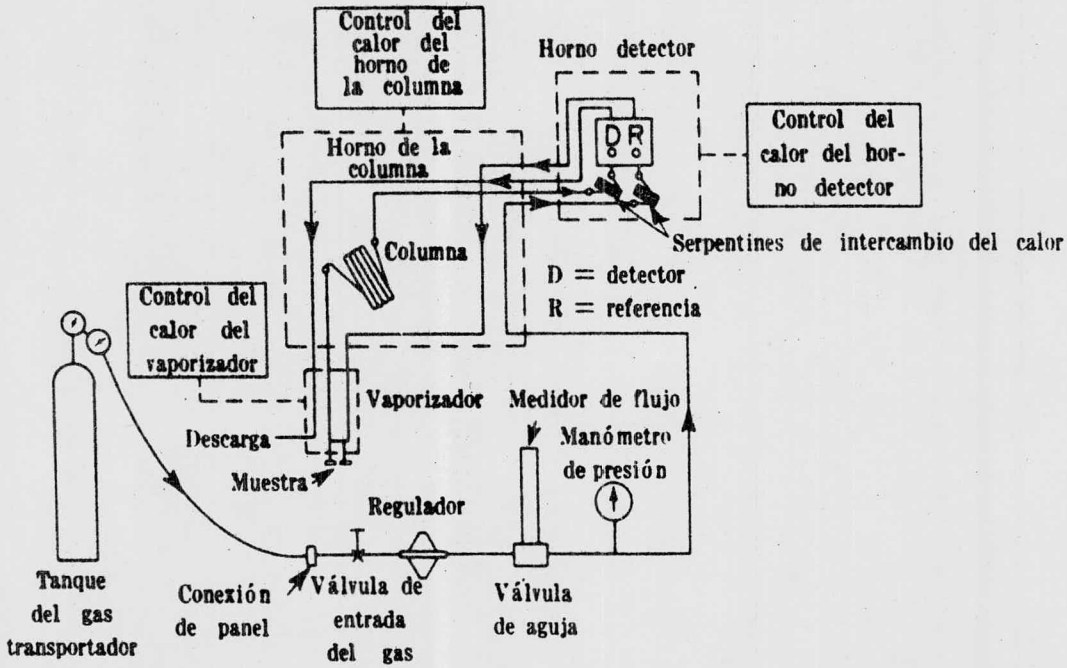


FIG. 4. ESQUEMA DE UN CROMATOGRAFO DE GAS.

to, indica la velocidad del flujo en el lado de referencia de la celda de conductividad térmica. La velocidad del flujo se ajusta por medio de una válvula de aguja, que está en la base del medidor de flujo, está controlada por la capilaridad de los restrictores. En el lado de la corriente, - hacia abajo del regulador de presión, se puede dividir el flujo por medio de una T y dirigirlo hacia la muestra y hacia los lados de referencia del detector.

Otra de las características especiales de la cromatografía es la inyección de la muestra, ya que se requiere de experiencia para su colocación; las muestras líquidas se inyectan con jeringas hipodérmicas a través de un diafragma de hule de silicón autosellado dentro de un bloque de metal calentado -evaporador relámpago- fig. 5. Se requieren grandes cantidades de calor, pero a pesar de ésto, la muestra no debe de descomponerse ni crearse un aumento brusco de presión. Debe medirse una cantidad precisa de la muestra y transferirse a la columna sin que se fraccione, - condense o adsorba. La inserción, inyección y remoción de la aguja, deben de efectuarse rápidamente.

Parte esencial del cromatógrafo es también, la columna, -empacada o capilar- en la que se efectúa la separación. La columna empacada comunmente es un tubo de 4 mm -diámetro interno- de acero inoxidable, cobre, cuproniquel, o vidrio, ya sea en forma de U, o de serpentín.

Esta es, a grandes razgos, la base de la cromatografía de gas y depen-

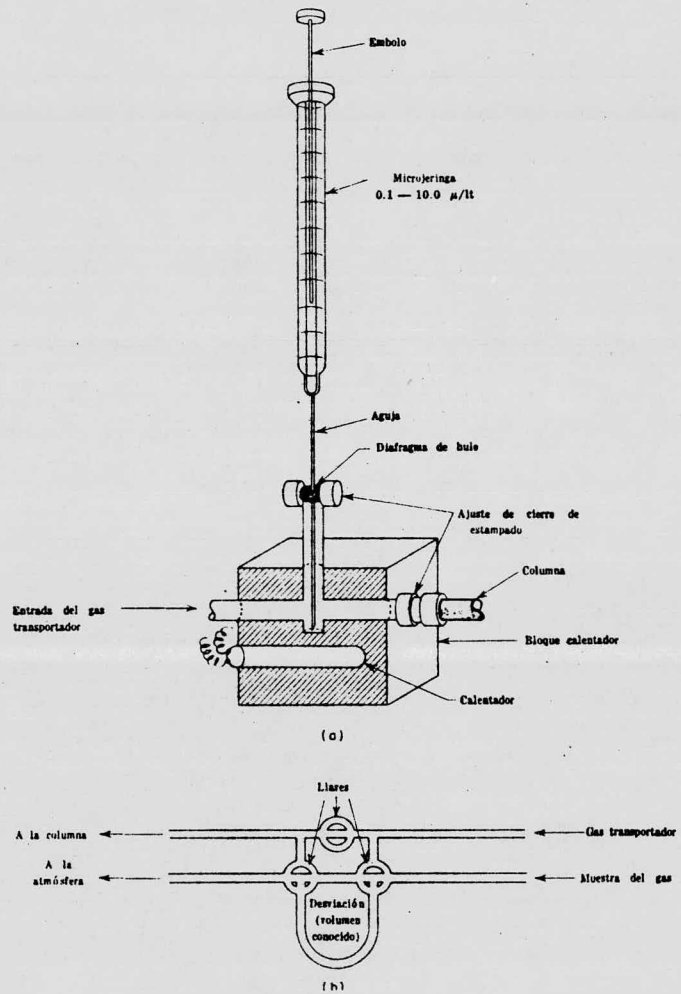


FIG. 5.

a).- Jeringa de aguja hipodérmica y bloque calentador.

b).- Introducción de la muestra del gas.

diendo del tipo de análisis que se necesite, variarán las condiciones, -- reactivos, solventes, temperaturas, etc., de igual manera si las muestras son líquidas, sólidas o gaseosas.

Existen diferentes marcas de cromatógrafos, entre los que se encuentran: El Barber-Coleman serie 5000, con columnas en forma de U de vidrio de borosilicato. El Perkin-Elmer con detector de ionización de flama. El -- HyFi, -De Wilkens Instruments and Research Co.- con detector de ionización de flama, Aerograph Mod. 600. y el Varian Aerograph modelo 2100, con detector de ionización de flama.

CARACTERISTICAS DE LAS MUESTRAS: Algunos autores indican la necesidad de la separación del alcohol de la muestra por destilación o por difusión, actualmente esta operación puede no efectuarse en cromatografía. - Las muestras de sangre en caso de cadáveres, son tomadas generalmente del corazón; si ésto no es posible, la sangre se colecta de la cavidad - pleural. Cuando es necesario separar el alcohol de la muestra, éste se separa cuantitativamente de la sangre por destilación a vapor, después de la precipitación de las proteínas de la sangre con ácido silicotúngstico. Una alicuota del destilado se oxida cuantitativamente a ácido acético por un exceso conocido de dicromáto en solución de ácido sulfúrico, de acuerdo con el método de Widmark.

El procedimiento para otros líquidos orgánicos tales como orina, jugo gástrico, fluído cerebroespinal, bilis y fluído seminal, es el mismo que pa-

ra sangre. Para la determinación de alcohol en tejidos de visceras tales como: corazón, cerebro, bazo, hígado, páncreas, riñones, testículos, -- próstata, pulmones, tiroides, músculos y grasas fué el mismo que para sangre, excepto que se usan 5.0 gramos de tejido húmedo, el cual se ha homogeneizado o picado.

Ya que el método de Widmark no diferencia precisamente etanol y otros - materiales oxidables, es esencial destinar una alicuota de la muestra para confirmación por medio de análisis en cromatografía. De esta manera, se elimina la posibilidad de error con substancias reductoras volátiles que no sean etanol. El mencionado método de Widmark, es confiable para la determinación de etanol, solo en presencia de compuestos volátiles destilables, tales como: metanol, acetaldehido, alcohol isopropílico, 1-propanol y 1-butanol. Algunas veces el método de cromatografía de gases es usado para correlacionar los resultados, sobre todo en análisis de tipo forense, y probar la presencia o ausencia de substancias reductoras volátiles que no sean alcohol etílico.

Cuando se tienen muestras de sangre en putrefacción, el método de Widmark dará un resultado positivo, en cambio por el método de cromatografía de gases, el resultado puede ser negativo. Por lo tanto, se recomienda que para este tipo de muestras, se use el método de cromatografía, - ya que el primer método tiende a alterar la concentración real del etanol en la muestra. Según Christopoulus y colaboradores para muestras de -- sangre conservadas en oxalato almacenadas a temperatura ambiente duran

te más de cincuenta días, y que fueron analizadas a intervalos por los dos métodos mencionados, se encontró que algunas muestras que estaban en - vías de descomposición, al prinicipio no mostraron la presencia de etanol, fueron presentando huellas de material oxidable, alcanzando un máximo a los quince días de almacenamiento, luego disminuyendo las cifras hasta - cero.

Las muestras que contenían etanol, que concordaron con los dos métodos - cuando estaban frescas mostraron luego, en análisis subsecuentes, variaciones en la concentración de etanol, lo que parece demostrar que las cantidades de alcohol contenidas en muestras frescas no corresponden a las encontradas en las que se almacenaron a temperatura ambiente. Los resultados obtenidos por cromatografía de estas muestras, indican que durante el almacenamiento fueron aumentando su concentración de etanol y luego una disminución del mismo. Por lo tanto, se considera la formación de etanol durante la putrefacción, y que las muestras parcialmente descompuestas, - no pueden ser analizadas para saber su contenido incial de etanol. Algunos autores consideran que intervienen bacterias en la formación de alcohol durante la putrefacción.

Los mismos autores indican que para muestras de sangre refrigerada, una - tercera parte mostró resultados de etanol negativos y que después de 20 días presentaba una producción de material oxidable calculado como etanol, con ambos métodos de análisis. Se concluye por ésto, que aún las mues-

tras de sangre refrigeradas y que contienen oxalato, presentan el efecto de la putrefacción. Para propósitos médico-legales, análisis subsecuentes de tales muestras no pueden presentar el mismo contenido de etanol del que tenían originalmente presente.

Para muestras refrigeradas, con etanol positivo a las que se les adicionó floruro de sodio, mostraron una variación insignificante, por lo que se recomienda este procedimiento para muestras con fines médico-forenses, hasta que se sospeche de alguna contaminación por parte del floruro de sodio.

CARACTERISTICAS Y CONDICIONES PARA ALCOHOL ETILICO EN SANGRE:

Para determinar alcohol etílico en sangre por cromatografía de gases, se puede utilizar un detector de ionización de flama o uno de conductividad térmica; se pueden utilizar también, carbowax 600, carbowax 1540, carbowax 20 M, o Hallcomid M-18. Un empaque reciente para columna es el Porapak Q, que ofrece muy buenos resultados, es un polímero poroso con uniones ramificadas con Divinil-benceno. A continuación se dan dos ejemplos de técnicas y condiciones de análisis.

Alcohol en sangre, Técnica "espacio principal (head space)	Sin estandar interno. Concentración inyectada: 156 mg %.

Condiciones: Columna de Polímero Poroso
Temperatura de inyección: 180 °C
Temperatura del detector: 180 °C
Temperatura de la columna: 132 °C

Gas de Arrastre: Helio, (TCD)
Registro: 1 Pulgada/minuto

II. - Condiciones: Estandard interno: n-propanol

Concentración iny. 0,127 %
Columna: Acero inoxidable 6' x 1/8"
Hallcomid-18; Malla teflón 40, No. 6
Temperatura de inyección: 100 °C
Temperatura del detector: 100 °C
Temperatura de la columna: 90 °C
Gas de arrastre: Nitrógeno, (FID)
Registro: 0,5 de pulgada/minuto.

En conclusión, la cromatografía de gases, representa uno de los métodos más modernos y efectivos para la determinación de alcohol etílico en -- muestras, ya sea de líquidos orgánicos, o tejidos; permite análisis rápidos y precisos, además que pueden obtenerse resultados en pocos minutos.

CAPITULO VII

C O N C L U S I O N E S

VII.- CONCLUSIONES

Las consecuencias que tiene el uso y abuso del alcohol sobre el organismo y sus funciones son tan grandes que, prácticamente, no hay célula o tejido que no se vea afectado. Los sistemas como el nervioso central y el gastrointestinal, que desempeñan funciones vitales son los más afectados, ya que de ellos se derivan una serie de padecimientos específicos que acaban por provocar la muerte.

Por las cantidades y frecuencia de su uso, los alcohólicos se presentan en diferentes categorías, que son desde ocasionales hasta los alcohólicos crónicos. Los primeros pueden no presentar enfermedades propiamente dichas, sino solamente los signos de intoxicación hasta que el alcohol es eliminado del organismo; aunque hay que tener presente que produce adicción, principalmente por sus efectos deshinibitorios, porque permite al indivíduo hablar con fluidéz y tomar actitudes que sobrio, difícilmente hace.

Por las cifras encontradas mediante análisis de sangre, orina y demás líquidos orgánicos, se observan diferentes criterios. En la tabla que se elaboró, se presentan los niveles de concentración de alcohol en sangre y características de intoxicación. Se considera que de 0.00 a 0.05 por ciento (10 a 50 miligramos por 100 mililítros) la persona no está bajo los efectos del alcohol. De 0.05 a 0.10 por ciento (50 a 100 miligramos por 100 mililítros) no es prueba suficiente de que la persona esté bajo los efectos del alcohol. Aunque depende de los signos físicos que presente, ó si está

involucrado en accidentes o delitos en que impliquen acción penal, sí puede considerarse en estado de ebriedad. A partir de 0.10 por ciento o sea 100 miligramos por 100 mililítros, en adelante es cantidad suficiente para que se considere a la persona en estado de ebriedad. A niveles de concentración de alcohol superiores a 0.40 por ciento (400 mg/100 ml) la persona se encuentra en estado de inconciencia y coma; niveles superiores a éste tienen como consecuencia la muerte.

Los métodos para la determinación de alcohol en líquidos orgánicos y vísceras son variados. Unos son sencillos pero no son específicos, otros son más específicos aunque un poco más complicados. El método que destaca por su especificidad, eficacia y rapidéz es el de cromatografía de gases.

CAPITULO VIII

B I B L I O G R A F I A

VIII.- BIBLIOGRAFIA

1.- Drill, V.A. Farmacología Médica, Primera Edición. La Prensa Médica Mexicana, México, D.F. 1969.

2.- Goodman, L.S.; Gilman, A.; The Pharmacological Basis of Therapeutics, Fourth Edition, The MacMillan Company, U.S.A. 1970.

3.- Favela Alvarez E., Reyes, A.C.., Canales, O.R.; Determinación de Alcohol Etílico en muestras de Sangre y Orina provenientes de Cadáveres, Cuadernos Científicos CEMEF - 3. Centro Mexicano de Estudios en Farmacodependencia, Vol. 3, México, D.F. 1975.

4.- Drug Abuse: Psychology-Sociology-Pharmacology; Edited by Hafen, - B.Q. and Faux, E.J. Brigham Young University Press, Preve, Utah, 1973.

"Alcohol and the Central Nervous System" From Alcohol and Health, First Special Report to the U.S. Congress, National Institute on - Alcohol Abuse and Alcoholism.

5.- Drug Abuse: Psychology-Sociology-Pharmacology; Edited by Hafen, B.Q. and F ux, E.J. Brighan Young University Press, Preve, Utah, 1973.

"Brain Demagex Starts with the first Drink" By Glenn D. Everett.

6.- Drug Abuse: Psychology-Sociology-Pharmacology; Edited by Hafen, B.Q. and Faux, E.J. Brigham Young University Press, Preve Utah, 1973.

"Alcohol-Related Illnesses"; From Alcohol and Health, First Special

Report to the U.S. Congress, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism.

7.- Bonnichsen, R. & Linturi M. "Gas Chromatographic Determination of Some Volatile Compounds in Urine" Acta Chem. Scandinava, 16 No. 5. p. 1289-1290, 1962. (The Government Laboratory for Forensic Chemistry, Stockholm. 60. Sweden).

8.- Christopoulos, G.; Kirch, E.R.; Gearien J.E.; "Determination of Ehanol in Fresh and Putrefied Post Mortem Tissues". Journal of Chromatography. 87, p. 455-472, Elsevier Pub. Co. Amsterdam, Holl.

9.- Parker, K.D.; Fontan, C.R.; Yee, J.L.; Kirk, P.L. "Gas Chromatographic Determination of Ethyl Alcohol in Blood for Medico legal Purposes" Analytical Chemistry 34, No. 10, 1962. (School of Criminology, U.C.B."

10.- Gradwohl's Clinical Laboratory Methods & Diagnosis 7 th. Edition. The C.V. Mosby Company, U.S.A. 1970.

11.- Asociación Americana de Análisis Clínicos. Métodos Seleccionados de Análisis Clínicos, Vol. V. Editorial Aguilar, S.A. México, 19

12.- Tietz, Norbert W. - Química Clínica Moderna. Primera Edición, Nueva Editorial Interamericana, S.A. México, D.F. 1972. Davidsohn, I. Henry, J.B.

13.- Todd-Sandford, Clinical Diagnosis by Laboratory Methods 15th. Edition, Saunders. W.B. Co. Philadelphia, 1974.

24.- Fort, J.: Alcohol, Nuestro Máximo Problema de Drogas. 1era. Edición. Editorial Extemporáneos. México. 1974.

25.- Pittman, A.J.: Alcoholismo, un Enfoque Interdisciplinario. Ediciones Hormē, S.A.E. Buenos Aires. 1966.

26.- Proceedings of the Joint Conference on Alcohol Abuse and Alcoholism. U.S. Dept. of Health, Educ. and Welfare. U.S. Dept. of Justice. U.S. Dept. of Transportation. Nal. Inst. of Ment. Health. Nal. Inst. of Alc. Ab. and Alcoholism. University of Maryland. 1972.

27.- Albuquerque Fortes, J.R.: Alcoholismo. SARVIER, S.A. Editora. São Paulo, Brasil 1975.

28.- Willard, H.H.; Merrit, L.L.; Dean, J.A. Metodos Instrumentales de Análisis. Cuarta Edición. C.E.C.S.A. México, 1974.

29.- Howard, P.Y. Forensic Analyses By Gas Chromatography. Varian Applications Laboratory.

30.- Scott, C.; Hadden, N.; Bonelly, E.J. Análisis de Bebidas Alcohólicas. Aplicaciones de Laboratorio. Varian Aerograph. Walnut Creek, California. 1966.