



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**Propuesta de protocolos experimentales para la
enseñanza de Química Forense a Químicos**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Q U Í M I C A

P R E S E N T A:

JANETTE ARACELI FRAGOSO LUGO



Ciudad Universitaria, CD. MEX

ENERO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Profesor: BLAS FLORES PEREZ

VOCAL: Profesor: MARCOS FRANCISCO VILLANUEVA
HERNANDEZ

SECRETARIO: Profesor: NORMA RUTH LOPEZ SANTIAGO

1er. SUPLENTE: Profesor: SILVIA CITLALLI GAMA GONZALEZ

2° SUPLENTE: Profesor: JUAN MANUEL GERMAN ACACIO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Laboratorio Anexo 2-D, Edificio A, Facultad de Química, UNAM.

ASESOR DEL TEMA: Norma Ruth López Santiago

SUPERVISOR TÉCNICO: Irma C. Gavilán García

SUSTENTANTE: Janette Araceli Fragoso Lugo

Agradecimientos

A la UNAM por abrirme sus puertas desde hace más de 8 años, en tus aulas conocí a las personas más importantes de mi vida y aprendí los valores y conocimientos necesarios para convertirme en un ser humano útil para la sociedad, trabajaré lo que haga falta para compensar todo lo que me has dado, gracias para siempre.

A la Mtra. Norma Ruth López Santiago, por ser una excelente profesora y por brindarme su apoyo, su paciencia y ánimos con el fin de culminar este trabajo, se lo agradezco demasiado.

A la Dra. Irma C. Gavilán García por brindarme una gran oportunidad y por sus consejos útiles para la realización de este trabajo. Gracias.

Al Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) de la DGAPA, por la beca otorgada para la realización de este trabajo a través del proyecto con clave PE204718.

Índice

Listado de Tablas.....	vii
Listado de Figuras.....	viii
Resumen	ix
Introducción	x
Objetivo general.....	xii
Objetivos particulares.....	xii
I. Marco teórico.....	1
1. Criminalística.....	1
2. Evidencias y su análisis.....	2
3. Pruebas forenses presuntivas	3
4. Indicios físicos	4
4.1 Fibras textiles y su identificación cualitativa.....	4
4.2 Identificación cualitativa de polímeros	5
5. Indicios químico-biológicos.....	7
5.1 Técnicas de caracterización e identificación de sustancias controladas	7
5.2 Técnicas de caracterización e identificación de sangre	10
5.3 Técnicas de caracterización e identificación de pelo humano y no humano	11
6. Cadena de custodia.....	14
II. Parte experimental.....	16
7. Estrategia para la generación de los protocolos	16
8. Desarrollo y validación de métodos	16
9. Cadena de custodia.....	17
10. Protocolo de Identificación de manchas de sangre (IMS)	18
10.1 Prueba presuntiva: Prueba de Kastle-Mayer.....	18
10.2 Prueba confirmatoria: Prueba de Takayama.....	19
10.3 Validación del protocolo IMS.....	19
11. Caracterización e identificación de pelo humano y no humano (CIPHNH).....	21
11.1 Prueba Observación bajo microscopio.....	21
11.2 Prueba de Tinción de cromatina sexual	21

11.3	Observaciones al microscopio de MRI	22
12.	Identificación sustancias controladas (ISC)	22
12.1	Prueba a la gota de sustancias controladas	23
12.2	Plan de validación del protocolo ISC.....	23
13.	Identificación cualitativa de fibras textiles (ICFT)	24
13.1	Prueba de solubilidad de fibras textiles	25
13.2	Prueba de combustión de fibras textiles.....	25
13.3	Plan de validación para el protocolo ICFT	25
14.	Identificación cualitativa de polímeros (ICP)	26
14.1	Prueba de densidad de polímeros	26
14.2	Prueba de combustión de polímeros.....	27
14.2.1	Plan de validación para el protocolo ICP	27
III.	Resultados, análisis de resultados y discusión	29
15.	Revisión en la literatura y selección de las pruebas forenses	29
15.1	Unidades para englobar los protocolos	30
16.	Protocolos didácticos.....	32
16.1	Escenario.....	32
16.2	Declaratoria de resultados	32
16.3	Herramienta de apoyo al docente	33
17.	Desarrollo y validación experimental de las pruebas	33
17.1	Cadena de custodia	33
17.2	Identificación de indicios biológicos	36
17.2.1	Protocolo de IMS.....	36
17.2.1.1	Prueba de Kastle-Meyer	36
17.2.1.2	Prueba de Takayama.....	38
17.2.2	Protocolo de CIPHNH.....	41
17.3	Identificación de sustancias controladas	46
17.4	Identificación de indicios físicos	50
17.4.1	Protocolo de ICFT	50
17.4.2	Prueba de solubilidad	50
17.4.3	Prueba de combustión.....	53

17.5	Protocolo de ICP.....	55
17.5.1	Resultados de validación: Prueba de densidad.....	55
17.5.2	Prueba de combustión.....	58
18.	Aplicación frente a grupo.....	59
IV.	Conclusiones.....	62
V.	Bibliografía.....	63
Anexo I.....		67
Anexo II.....		68
Anexo III.....		76
Anexo IV.....		90
Anexo V.....		97
Anexo VI.....		108

Listado de Tablas

Tabla 1. Técnicas de caracterización de fibras textiles	5
Tabla 2. Técnicas de análisis de polímeros	7
Tabla 3. Clasificación de drogas según su efecto al consumidor	8
Tabla 4. Tipos de pruebas para la búsqueda sustancias controladas	9
Tabla 5. Metodología para el desarrollo de los protocolos	16
Tabla 6. Parámetros de validación de métodos cualitativos	17
Tabla 7. Características de los MRI de sangre	20
Tabla 8. Plan de validación para el protocolo IMS	20
Tabla 9. Plan de validación cuantitativa para el protocolo ISC	24
Tabla 10. Plan de validación cualitativa para el protocolo de ISC	24
Tabla 11. Resumen de plan de validación para el protocolo de ICFT	26
Tabla 12. Resumen del plan de validación del protocolo ICP	28
Tabla 13. Secciones comunes de los protocolos	31
Tabla 14. Objetivos de aprendizaje y desarrollo experimental	34
Tabla 15. Resultados de validación prueba presuntiva Kastle-Meyer	37
Tabla 16. Resumen de validación prueba de Takayama	40
Tabla 17. Resultados de la prueba Observación bajo el microscopio	43
Tabla 18. Resultados de la prueba de Tinción de cromatina sexual	45
Tabla 19. Resultados de la validación colorimétrica del grupo fenol	48
Tabla 20. Resultados de validación cualitativa de la prueba de identificación de sustancias controladas	49
Tabla 21. Resultados de validación para la prueba de solubilidad de fibras textiles	51
Tabla 22. Resultados de la validación de la prueba de combustión de fibras textiles	54
Tabla 23. Resultados de la validación de la prueba de densidad para polímeros	57
Tabla 24. Resultados de la validación de la prueba de combustión para polímeros	58

Listado de Figuras

<i>Figura 1. Representación de la estructura molecular de la cocaína</i>	8
<i>Figura 2. Representación de la estructura molecular de la mescalina</i>	9
<i>Figura 3. Esquema de la anatomía del pelo humano</i>	12
<i>Figura 4. Estructura de la ferroprotoporfirina de piridina</i>	19
<i>Figura 5. Ejemplo del formato de cadena de custodia de las secciones: entrega, embalaje, traslado de evidencia</i>	35
<i>Figura 6. Diagrama de desarrollo experimental prueba Kastle-Meyer</i>	36
<i>Figura 7. Diagrama de desarrollo experimental prueba Takayama</i>	39
<i>Figura 8. Prueba de Takayama para el MRI S3</i>	40
<i>Figura 9. Cristales obtenidos en la prueba positiva para MRI S1</i>	41
<i>Figura 10. Diagrama de desarrollo experimental final para la prueba de Tinción de cromatina sexual y Observación bajo el microscopio</i>	42
<i>Figura 11. Diagrama de desarrollo experimental final de la prueba de identificación de sustancias controladas</i>	47
<i>Figura 12. Prueba a la gota con vainillina: A) cloruro férrico y b) ácido nítrico</i>	48
<i>Figura 13. Diagrama experimental final para la prueba de solubilidad de fibras textiles</i>	50
<i>Figura 14. Fibras de lana y lino (de izq. a der.) en una disolución de NaClO al 10%</i>	52
<i>Figura 15. Nylon y algodón (izq. a der.) en disolución de HCl 35%</i>	52
<i>Figura 16. Diagrama experimental final para la prueba de combustión de fibras textiles</i>	53
<i>Figura 17. Prueba de combustión para algodón y Nylon (izq. a der.)</i>	55
<i>Figura 18. Diagrama experimental final de la prueba de densidad para polímeros</i>	56
<i>Figura 19. Prueba de densidad de los polímeros: poliestireno de alto impacto (HIPS) y poliestireno de alta densidad (HDPE)</i>	57
<i>Figura 20. MRI de poliestireno de alto impacto (HIPS) en contacto directo con la llama</i>	59
<i>Figura 21. Comparación de polímero de poliestireno de alto impacto (HIPS) antes de la combustión y el residuo de este después de la combustión.</i>	59
<i>Figura 22. Grupo piloto de Química Analítica Experimental III</i>	61

Resumen

Este trabajo se enfoca en el desarrollo y validación de cuatro protocolos experimentales de temática forense, un formato de cadena de custodia y una práctica ilustrativa. Los protocolos están conformados por pruebas presuntivas de bajo costo, para su aplicación en la enseñanza de la Química Forense buscando acercar a los estudiantes de Ciencias Químicas a las Ciencias Forenses, apoyando a los estudiantes en la adquisición del conocimiento y en el uso de los principios básicos de química enfocándolos en la resolución de un problema como lo es el análisis de evidencias de distinta naturaleza. Los temas que engloban el contenido de dichos protocolos son: cadena de custodia, identificación y caracterización de indicios biológicos, caracterización e identificación de indicios físicos e identificación de sustancias controladas por pruebas a la gota.

La elaboración de la propuesta de los protocolos requirió de un trabajo gradual dividido en etapas: Etapa I. Revisión bibliográfica, Etapa II. Desarrollo, adecuación y validación, Etapa III. Conformación de los protocolos y Etapa IV. Pruebas piloto frente a grupo. Cada protocolo consta de los siguientes apartados: marco teórico, material, equipo, reactivos, desarrollo experimental, incluyendo una “escena del crimen” pensada para que el alumno se involucre en el ambiente de la Ciencia Forense, manejo e interpretación de resultados acordes con el objetivo educativo de cada protocolo, conclusiones y preguntas de apoyo para reforzar el tema, así como una bibliografía recomendada para enriquecer el conocimiento.

Los protocolos se probaron frente a grupo, en la materia: Química Analítica Experimental III (clave 1802) durante los semestres 2018-1 y 2018-2, y se fueron adecuando y mejorando. Se obtuvieron resultados de acuerdo a los objetivos y una buena aceptación de parte de los estudiantes.

Introducción

En la página de la Facultad de Química, se describe el perfil de los egresados de la Licenciatura en Química, y entre las habilidades se encuentran: la capacidad de formar recursos humanos en el área de ciencias químico-biológicas, el dominio de las metodologías necesarias para desarrollar una investigación científica y la capacidad de desarrollar proyectos de investigación, de acuerdo a lo anterior, podemos englobar en tres grandes áreas las oportunidades en las que un profesional de la química puede desarrollarse: investigación, docencia e industria (Facultad de Química, UNAM, 2017).

En el caso de las Ciencias Forenses, la química ha sido una herramienta imprescindible, ambas han ido creciendo a la par. Aunque en la mayoría de las revistas y libros especializados en Ciencia Forense no mencionan una definición formal de Química Forense (QF), la doctora en Química Analítica Suzanne Bell ofrece en su libro “Forensic Chemistry” una definición: *“La química que se aplica a la solución de ciertos problemas que están relacionados con la aplicación de la justicia”* (Bell, 2012), en otro artículo del 2017 se le define como *“La química aplicada al servicio de la ley”* (Castro, 2017) ambas definiciones están relacionadas entre sí, y son vigentes hasta el día de hoy.

Un profesional de la química puede desarrollarse en este nicho como químico forense, encargándose de analizar la evidencia que se obtiene de una escena de crimen; ayudando a identificar y caracterizar la evidencia como parte primordial de la resolución de un crimen; mediante la recopilación de pruebas, siguiendo protocolos estándar de laboratorio para llegar a una conclusión objetiva basada en las pruebas e investigaciones que hace con las evidencias, elaborando además, un informe en lenguaje claro que refleje el uso del método científico, incluyendo documentación clara (Wells , 2012).

La evidencia de la que se encarga puede incluir indicios físicos y químicos como muestras de cabello, pedazos de pintura, pedazos de vidrio o manchas de sangre.

Entender la evidencia requiere en el químico el manejo y comprensión de varias disciplinas como lo son la química, biología, ciencia de materiales y genética (American Chemical Society, 2005). Debido a sus capacidades es posible que trabaje en laboratorios a nivel federal, estatal o en una entidad educativa, ya sea como empleado de laboratorios forenses o como consultor externo (Wells , 2012).

La química analítica forense es una de las herramientas básicas, ya que permite el análisis de las evidencias haciendo uso de todas las técnicas analíticas disponibles e innovando cuando sea necesario; extendiendo el número de evidencias útiles y la calidad de ellas para complementar dichos análisis (Castro, 2017).

Particularmente, en la Universidad Nacional Autónoma de México, atendiendo a la demanda de capital humano capacitado en materia forense, se abrió al público en agosto del 2013 la carrera de Ciencia Forense, la cual se imparte en las instalaciones de la Facultad de Medicina y que cuenta con la colaboración de las facultades de: Derecho, Psicología, Química, Ciencias, Filosofía y letras y Artes y diseño además de distintos institutos. Asignaturas como: química general, química orgánica, bioquímica, química forense, química forense avanzada, toxicología y toxicología forense avanzada se encuentran presentes a lo largo del plan de estudio de la carrera, asegurando que los egresados dominen el conocimiento teórico-práctico relacionado al área química para aplicarlo en conjunto a otras capacidades a la resolución de un hecho delictuoso (Licenciatura de Ciencia Forense, UNAM, 2018). Desde la creación de la carrera, profesores de las facultades colaboradoras como la Facultad de Química han impartido clases en la carrera creando conexiones entre la ciencia y la aplicación de la misma. Debido a la “reciente” creación de la carrera, el material de apoyo (según se observa en la bibliografía sugerida en el plan estudio) para las asignaturas teórico-prácticas aún es escaso lo que implica un gran nicho de oportunidad en cuanto a educación se trata.

Objetivo general

Proponer protocolos experimentales para la enseñanza de Química Forense a Químicos.

Objetivos particulares

1. Realizar una revisión en las fuentes de información disponibles sobre las pruebas forenses y seleccionar las pruebas más plausibles de emplear para el análisis de evidencias químicas/físicas/biológicas en un laboratorio educativo.
2. Optimizar y validar los protocolos propuestos mediante lo establecido en su plan de validación, seleccionando los parámetros adecuados para cada metodología forense.
3. Diseñar una propuesta de protocolos para la integración de un manual de enseñanza experimental de Química Forense para Químicos.

I. Marco teórico

1. Criminalística

Atendiendo al carácter multidisciplinario de las ciencias forenses, la Asociación de Criminalistas de California describe a la criminalística como: *“la profesión y disciplina científica dirigida hacia el reconocimiento, la identificación, la individualización y la evaluación de la evidencia física mediante la aplicación de las ciencias naturales a los asuntos de la ciencia jurídica”* (Gialamas, 2000), es la que se encarga pues de unificar y hacer trabajar a las ciencias forenses para que en conjunto puedan encontrar, preservar e identificar cualquier rastro o indicio dejado por un presunto criminal.

La criminalística tiene distintas facetas de estudio, las cuales se pueden englobar en tres grupos: a) identificación de personas vivas o muertas, b) la búsqueda, recolección y traslado de indicios hallados en el lugar del hecho y c) el trabajo en el laboratorio de peritaje. En la primera faceta se busca cualquier información que permita identificar a una persona viva o muerta. En cuanto a la búsqueda y recolección de indicios, los peritos encargados de dicho trabajo son los únicos con capacitación suficiente para manejar y recolectar los indicios para que estos no se modifiquen ni alteren y que no se comprometan las posibilidades de otros expertos para extraer la máxima cantidad de información de algún indicio, también se encargará de delimitar las zonas importantes en la escena del crimen, por último, en laboratorio de peritaje, que se encuentra alejado de la escena del crimen se llevan a cabo los análisis correspondientes por medio de distintas técnicas y metodologías para extraer la mayor información de los indicios recolectados (Zajaczkowski, 1998).

El método de estudio que sigue la criminalística se fundamenta en cuatro pilares: observación, experiencia, inducción e hipótesis los cuales son comunes al método científico y permiten guiar el trabajo de laboratorio para obtener conclusiones verídicas y demostrables (Zajaczkowski, 1998).

Al servicio de la criminalística se encuentran varias ramas auxiliares como lo son: la medicina forense, toxicología, entomología, odontología, bioquímica y claro una de las más importantes es la química forense (Verdú, et al., 2016), la cual hace uso de la química analítica, ésta desempeña un papel muy importante en la QF como una herramienta básica que le permite analizar las evidencias empleando las técnicas analíticas disponibles; aumentando el número y la calidad de evidencias útiles (Castro, 2017).

2. Evidencias y su análisis

La principal diferencia entre un indicio y una evidencia es que el indicio es “una circunstancia que permite inducir que un crimen ha sido cometido o establece la relación entre una víctima y un sospechoso...”, en cambio, la evidencia es “una certeza manifiesta y tan perceptible que nadie puede dudar de ella” (Rosas, 2001). El tratamiento legal del concepto de evidencias e indicios depende de la legislación del país.

Existen distintos tipos de evidencias, y distintas clasificaciones que toman en cuenta desde la naturaleza de su hallazgo, su implicación con el crimen, hasta las características físicas y químicas o legales de las evidencias, lo cual requiere que los expertos criminalistas dominen el conocimiento para reconocer y analizar evidencias específicas (Petherick & Rowan, 2015). Según (Fisher, 2000) la evidencia se puede dividir en dos tipos: la evidencia testimonial, y la evidencia real.

La evidencia real es aquella que es tangible, algunos autores sugieren que puede contestar las preguntas: quién, qué, cuándo, dónde y cómo (Petherick & Rowan, 2015), lo anterior aplica únicamente cuando la evidencia ha sido recolectada y entregada propiamente para ser analizada (Dupre, 2013).

Entre las evidencias reales más estudiadas encontramos el pelo, las fibras textiles, huellas dactilares, sustancias controladas, ADN, saliva, semen, sangre, armas de fuego, explosivos, huellas de mordidas, heridas, marcas de zapatos, suelo o follaje (Petherick & Rowan, 2015). La categoría de evidencias reales es poco específica ya que incluye a un grupo muy grande de tipos diferentes de evidencias, es por ello

que se divide a su vez en otros subgrupos como: evidencias físicas, evidencias biológicas y evidencias químicas.

En la categoría de evidencias químicas se encuentran: sustancias controladas, explosivos, venenos, restos de sustancias como ácidos, bases o adhesivos y residuos de disparos de armas por mencionar algunos. En cuanto a las evidencias biológicas se pueden encontrar fluidos biológicos, ya sea: sangre -y por lo tanto ADN- semen, secreciones vaginales, saliva, leche materna, moco bronquial o nasal, líquido amniótico, heces, e incluso uñas (James, et al., 2003). Existen también indicios no humanos como lo son elementos de la flora y la fauna que se han visto involucrados en la escena (Verdú, et al., 2006). En cuanto a las evidencias físicas encontramos trazas físicas y huellas algunos ejemplos son: polvo, piezas, manchas, gotas, huellas de dedos, palmas, pies o calzado, oídos, labios, guantes, herramientas. En cuanto a las trazas estos pueden ser restos de vidrios, metales y materiales como polímeros y fibras (Houck, et al., 2012).

3. Pruebas forenses presuntivas

Las pruebas se pueden clasificar como presuntivas o confirmatorias dependiendo de la información que proporcionen del analito que estudien, según su capacidad de detección del analito en cuestión, en cuanto a las pruebas presuntivas, éstas, emplean métodos químicos sencillos y tienen alta sensibilidad pero son poco específicas, mientras que las pruebas confirmatorias son de alta sensibilidad y especificidad (Verdú, et al., 2006), además las pruebas confirmatorias tienen un fundamento analítico más complejo que las pruebas presuntivas (Villanueva & Matamoros, 2017). Las pruebas presuntivas son de vital importancia en los análisis forenses cotidianos, permiten a los peritos conocer de manera rápida como tratar la muestra después de su recolección para preservar mejor alguna evidencia; en un ejemplo concreto, un análisis presuntivo de un indicio da como resultado que dicho indicio se trata de sangre, esto le permite al forense elegir las condiciones óptimas de almacenamiento y transporte para dirigir la evidencia lo más pronto posible a un análisis de ADN (Donachie, et al., 2015) conservando así la calidad de la muestra. Además, por lo general las muestras presuntivas son más baratas en comparación

con las confirmatorias (Philip & Fu, 2017) ya que se basan generalmente en reacciones químicas sencillas y no requieren algún instrumento o tratamiento de muestra complejo. Por último, cabe señalar que toda prueba presuntiva debe estar apoyada de una prueba confirmatoria sobre todo para efectos legales (Reyes, 2016).

4. Indicios físicos

4.1 Fibras textiles y su identificación cualitativa

Se puede definir una fibra como una sustancia sintética o natural que conforma como parte mínima un material textil y que es más larga que ancha (Deedrick, 2000). Existen distintos tipos de fibras: naturales y sintéticas, esta clasificación atiende al origen de cada fibra: las naturales provienen de un organismo biológico como plantas o pelo de animal y las fibras sintéticas son diseñadas por el ser humano (Álvarez & Mateos, 2010).

Las fibras textiles son parte importante de la vida cotidiana, empleándose principalmente como abrigo, adorno, material deportivo y de construcción; ya que su uso es generalizado. En un crimen son una evidencia bastante útil porque usualmente permiten ubicar a un individuo en un lugar temporal en particular basándose en el principio de Locard que dice que: *“cuando dos objetos entran en contacto, un poco del material que constituye a cada uno se trasfiere al otro”* (Locard, 1930).

Debido a su origen y naturaleza, cada tipo de fibra textil tiene características particulares que lo hacen más adecuado para cierta función; en la industria textil y de construcción es necesario evaluar dichas características para asegurarse que la fibra textil cumplirá con la función para la que fue creada, por lo que cada industria desarrolló distintos métodos para caracterizar las fibras textiles.

Al igual que en la industria, conocer y evaluar los parámetros característicos de cada fibra textil como la aplicación, las propiedades fisicoquímicas y la apariencia es de vital importancia para los criminalistas a cargo de este tipo de evidencias, por lo tanto, emplean algunas técnicas desarrolladas por la industria y a lo largo del

tiempo también han creado técnicas diversas para la evaluar las características de las fibras y aproximar una identidad y posible vinculación con una víctima, victimario o escena del crimen. A continuación, se muestra en la Tabla 1 las principales técnicas de análisis de fibras textiles.

Tabla 1. Técnicas de caracterización de fibras textiles

Técnica de análisis de fibras	Equipo/Material necesario	Tamaño de muestra	Análisis destructivo	Información obtenida
Comportamiento a la llama	Mechero, crisol, pinzas	Tres fibras de 1 cm	Sí	Fibra natural o sintética
Solubilidad (existen distintos de esquemas dependiendo de los disolventes empleados)	Tubos de ensaye, pinzas	Tres fibras de 1 cm	Sí	Fibra natural o sintética y probable identidad
Observación en microscopio	Microscopio óptico	Una fibra de 1 cm o menos	No	Fibra natural o sintética y probable identidad
Espectrofotometría de infrarrojo por transformada de Fourier	Un equipo de infrarrojo por transformada de Fourier y aditamentos necesarios	5 fibras de 1 cm	No	Identificación estructural de la fibra e identidad
Cromatografía de capa fina	Fase estacionaria y móvil, eluyente y cámara de elución	5 fibras de 1 cm	Sí	Tipo de colorantes y color de la fibra
Cromatografía de gases	Cromatógrafo de gases	5 fibras de 1 cm	No	Identificación estructural y probable identidad
Microespectrómetro	Espectrómetro adaptado con una mira microscópica	3 fibras de 1 cm	No	Color de la fibra

Información obtenida de (Houck & Siegel, 2015) y (Álvarez & Mateos, 2010)

4.2 Identificación cualitativa de polímeros

Los polímeros son materiales conformados por unidades moleculares simples llamadas monómeros que se unen por enlaces covalentes y se repiten hasta crear cadenas de cierta longitud; la cantidad y naturaleza de los monómeros presentes en la cadena y la longitud de las mismas determinan las propiedades fisicoquímicas del polímero. Debido a la variabilidad en cuanto a la composición de las cadenas y

su longitud, estos materiales son un poco más complicados de analizar y caracterizar (Brady, et al., 2009).

Para algunos polímeros la repetición de estas unidades moleculares simples se da de forma lineal, pero, también puede darse de forma ramificada o reticular (3 dimensiones) dependiendo de la estructura de monómero; la longitud de la cadena está directamente relacionada con el número de monómeros que la conforman esto se conoce como el grado de polimerización (Billneyer, 1978).

Existen distintos tipos de polímeros, según el origen de sus monómeros pueden identificarse como naturales, artificiales o sintéticos, al igual que las fibras textiles, otras clasificaciones empleadas atienden a las propiedades de los polímeros, grupos moleculares y de acuerdo con el tipo de cadena. Como ejemplos de polímeros naturales encontramos a la celulosa, caucho natural y resinas, por otro lado, la nitrocelulosa, el Nylon y el estireno son ejemplos de polímeros sintéticos (Martínez de las Marías, 1972).

La aplicación de los polímeros está ampliamente distribuida en todos los aspectos de la vida cotidiana, desde materiales para cocina como el teflón o silicón, pasando por los artículos de higiene personal como preservativos, envases diversos, cables, ropa, piezas de maquinaria, joyería, decoración, industria automotriz, industria alimenticia y en la industria farmacéutica como excipientes (Debotton & Dahan, 2000). Ya que los materiales poliméricos se han vuelto imprescindibles en la actualidad, la necesidad de estudiarlos y analizar sus propiedades fisicoquímicas también se ha convertido en una necesidad imperante por lo que desde su aparición se han desarrollado distintos métodos de análisis.

Al igual que pasa con las fibras textiles debido al principio de Locard, es frecuente encontrar restos de polímeros de distintos tamaños en la escena de un crimen, las técnicas de análisis que emplea la industria de polímeros no son diferentes a las que se emplean en un laboratorio de criminalística cuando algún resto del polímero está involucrado en la escena de un crimen. A continuación se muestra las principales técnicas de análisis de polímeros, Tabla 2.

Tabla 2. Técnicas de análisis de polímeros

Técnica de análisis	Equipo/material necesario	Muestra	Análisis destructivo	Información obtenida
Calorimetría de barrido diferencial	Equipo para DSC y referencias	5 g	Sí	Transiciones vítreas, confirmatorio
Análisis térmico diferencial	Equipo para DTA y referencias	5 g	Sí	Cambios de fase, confirmatorio
Columna de gradiente de densidad	Columna de gradiente de densidad	5 g	No	Intervalo de densidad del polímero, no confirmatorio
Dispersión de rayos X	Equipo para dispersión de rayos X	100 mg	Sí	Parámetros cristalográficos. Confirmatorio
Espectroscopía de Infrarrojo y Raman	Equipo de espectroscopia apto	100 mg	Sí	Información química y estructural, confirmatorio
Resonancia magnética nuclear	Equipo de NMR	100 mg	Sí	Confirmatorio
Microscopía óptica	Microscopio óptico	100 mg	No	Estructural, no confirmatorio
Microscopía de electrones	Microscopio electrónico	100 mg	No	Estructural, no confirmatorio
Comportamiento a la llama	Mechero y pinzas	100 mg	Sí	Información química, no confirmatorio

Información tomada de (Bower, 2002).

5. Indicios químico-biológicos

5.1 Técnicas de caracterización e identificación de sustancias controladas

Se define como una droga a una sustancia natural o sintética que produce una serie de efectos psicológicos y fisiológicos en el cuerpo humano o en algunos casos, en otros animales (Houck & Siegel, 2015). Algunas de estas drogas se han fabricado con el fin de recetarlas legalmente para propósitos terapéuticos o médicos (Houck, et al., 2012), sin embargo, existen otro tipo de drogas que son fabricadas con el fin de causar estos efectos psicológicos o fisiológicos en las personas que las toman con fines distintos a los médicos, en la mayoría de los países se les conoce como “drogas ilícitas o ilegales”.

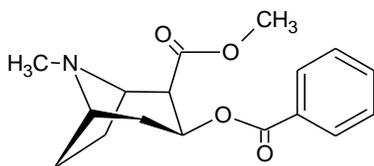
En cuanto a la normatividad mexicana vigente, la COFEPRIS es la encargada del “control sanitario de este tipo de sustancias en actividades como la producción, preparación, enajenación, adquisición, importación, exportación, almacenaje y distribución” (COFREPIS, 2016), este organismo se basa en el marco jurídico vigente, una de las principales leyes es la *Ley General de Salud*, que en sus artículos 234 y 245 menciona las sustancias controladas a nivel nacional que incluyen estupefacientes, psicotrópicos, productos químicos esenciales y precursores químicos así como en el artículo 4 de la *Ley Federal para el Control de Precursores Químicos, Productos Químicos Esenciales y Máquinas para Elaborar Cápsulas, Tabletas y/o comprimidos*. Según sus características se pueden clasificar de acuerdo a su capacidad de generar adicción, su estructura química y al efecto psicológico y/o fisiológico que generan en su consumidor (Houck, et al., 2012), en la Tabla 3 se muestra la clasificación de drogas de acuerdo a su efecto en el consumidor.

Tabla 3. Clasificación de drogas según su efecto al consumidor

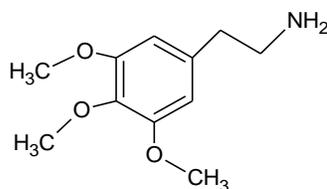
Efecto	Tipo de droga
Depresivo	Barbitúricos, benzodiazepinas, opiáceos, misceláneos
Estimulante	Cocaína, anfetaminas, drogas de diseño, otras
Alucinógeno	Feniletilaminas, triptaminas, alcaloides, cannabinoides

Información obtenida de (Houck, Crispino, & McAdam, 2012)

Debido a su implicación legal las sustancias controladas son un tipo de evidencia importante, la gravedad de encontrar este tipo de evidencia dependerá de la legislación de cada país. A continuación, se muestra en la Figura 1 un ejemplo de una droga estimulante y la Figura 2 un ejemplo de droga alucinógena.



**Figura 1. Representación de la estructura molecular de la cocaína
Generada con ChemSketch**



**Figura 2. Representación de la estructura molecular de la mescalina
Generada con ChemSketch**

Hay dos tipos principales de matrices donde se puede buscar la presencia de sustancias controladas: en el cuerpo humano y en forma de rastros de líquidos, polvos o gases almacenados en cualquier lugar (Houck & Siegel, 2015).

La toxicología es la ciencia forense encargada de estudiar la presencia de droga en el cuerpo humano mediante el estudio de algún apéndice o fluido, algunas matrices comunes de la toxicología son: saliva, orina, sangre, heces, cabello, contenido gástrico (*post mortem*), hígado (*post mortem*) y humor vítreo principalmente, para cada matriz se tienen técnicas de análisis específicas así como métodos para la preparación de las muestras (Anandón & Robledo, 2010). En la Tabla 4 se presentan tipos de pruebas que se efectúan en la búsqueda de sustancias controladas.

Tabla 4. Tipos de pruebas para la búsqueda sustancias controladas

Prueba	Equipo/material necesario	Tamaño de muestra	Análisis destructivo	Información obtenida
Pruebas a la gota (cambio de color)	Reactivo específico	10 mg	Sí	Tipo de droga, no concluyente
Microcristales	Reactivo específico	variable	Sí	Tipo de droga, no concluyente
Cromografía en capa fina	Equipo de cromatografía	10 mg	No	Tipo de droga, no concluyente
Análisis por espectrofotometría de UV-Vis	Equipo de UV	300 mg	No	Estructura molecular
Cromatografía de gases	Equipo de cromatografía	variable	Sí	Identidad, concluyente
Espectroscopia de masas	Equipo de EM	100 mg	Sí	Identidad confirmada
Infrarrojo por transformada de Fourier	Equipo IRTF	100 mg	No	Estructura molecular
Examinación bajo el microscopio	Disolventes, microscopio	1 mg	No	Concentración de cristales en una muestra

Información extraída de (Houck, et al., 2012).

5.2 Técnicas de caracterización e identificación de sangre

La sangre es un tejido compuesto por varios tipos de células en una matriz llamada plasma, constituida por 90% agua y 10% otras sustancias. Los tres principales tipos de células presentes en el plasma son : leucocitos o glóbulos blancos, los cuales participan en el sistema inmunológico del organismo y son el único tipo de células (presentes en la sangre) de las que se puede extraer ADN, las plaquetas o trombocitos los cuales ayudan en la coagulación sanguínea y los eritrocitos, estos son el tipo de células que más abunda en el plasma, su principal función es transportar el oxígeno y dióxido de carbono en el organismo por medio del sistema circulatorio (Conley & Schwartz, 2018); la molécula que le permite a los eritrocitos transportar las moléculas relacionadas a la respiración celular es la hemoglobina, la cual es un pigmento respiratorio común en varios animales, está compuesto por cuatro polipéptidos y cada uno contiene un grupo hemo en cuyo centro metálico se encuentra el hierro lo que le permite unirse a átomos de oxígeno, debido a que esta asociación es reversible es que se puede llevar a cabo el proceso de respiración (Houck & Siegel, 2015).

Este tipo de evidencia biológica es común en las escenas del crimen y además de ofrecer la posibilidad de extraer ADN que permita la identificación de un individuo permite inferir cómo transcurrió un crimen al interpretar los patrones creados por las manchas de sangre (Ballantyne, 2000). Para analizar esta evidencia se cuenta con test presuntivos que se basan en encontrar la presencia del grupo hemo presente en la sangre mediante la reacción de este grupo con algún reactivo, estos test dan como resultado un cambio de color o emisión de luz. En el caso de que se espere un cambio de color los reactivos que más se emplean son: fenoftaleína, bencidina, leucomalaquita verde y tetrametilbencidina (James, et al., 2003). Los test que tienen como resultado emisión de luz se utilizan para observar los patrones de salpicadura y se emplea luminol o flouresceína que en contacto con la hemoglobina generan una luz con una longitud de onda específica. En cuanto a las técnicas confirmatorias, se usa la microscopia de cristales, ejemplos de esta técnica bastante conocidos son la prueba de Takayama y Teichmann (Zajaczkowski, 1998),

aunque existen aún más que emplean otros reactivos. Otros ejemplos de técnicas confirmatorias incluyen el uso de enzimas y anticuerpos específicos (Indigent Defense Services, 2017), persiguiendo el mismo fin. Ambas pruebas tanto confirmatorias como presuntivas están disponibles en kits comerciales para facilitar el manejo de la evidencia *in situ*. Como el tiempo es vital tanto para la integridad de las muestras, en la mayoría de los laboratorios forenses las pruebas confirmatorias para sangre no son efectuadas, si una prueba presuntiva es positiva la evidencia se manda a la unidad de análisis de ADN (Houck, et al., 2012).

5.3 Técnicas de caracterización e identificación de pelo humano y no humano

El pelo es una característica exclusiva de los mamíferos, este anexo cutáneo crece de la epidermis, que es una de las tres capas de la piel, en esta capa, se encuentran los folículos; el cabello crece en la base del folículo y se va desarrollando hacia la superficie, pasando por tres etapas de crecimiento llamadas: anágena, catágena y telógena (Alonso & Funch, 2006). En la fase anágena es cuando el cabello crece y lo hace dentro del folículo sin salir a la superficie de la piel, este proceso puede durar hasta seis años, en este momento el pelo en el folículo es delgado y suave, después pasa a la fase catágena donde su crecimiento va disminuyendo de forma gradual y comienza a salir a la superficie, este proceso dura alrededor de dos semanas, en esta fase comienza también el proceso de queratinización lo que le confiere las propiedades mecánicas de dureza y resistencia al pelo, por último, en la fase telógena la actividad de crecimiento cesa por completo y el pelo se mantiene adherido al folículo por alrededor de seis meses hasta que finalmente se desprende (Kûcera, et al., 2018). Longitudinalmente el pelo se divide en cuatro partes: bulbo piloso, raíz, tallo y punta; transversalmente se puede dividir en cutícula, corteza y médula. La cutícula protege y envuelve a las otras dos capas; la corteza está constituida por queratina y contiene los pigmentos del color; la médula contiene aire, está presente en los pelos más gruesos y puede ser continua o ininterrumpida (Álvarez & Mateos, 2010). En la Figura 3 se muestra un esquema de la anatomía del pelo.

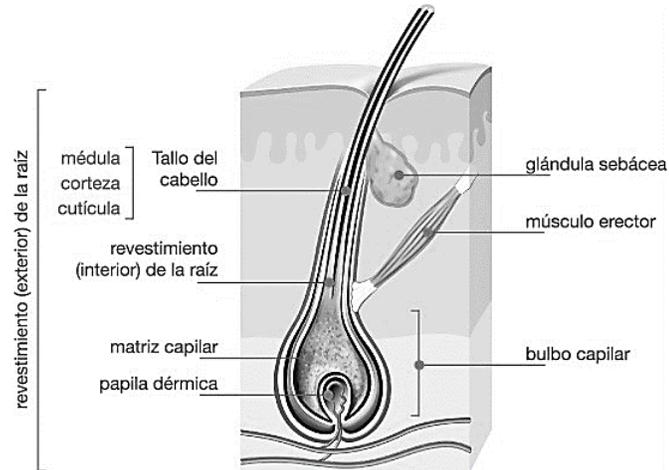


Figura 3. Esquema de la anatomía del pelo humano
Imagen tomada de www.pantogar.com, 2018

El pelo en el cuerpo de los animales cumple con distintas funciones biológicas como lo son: la regulación de la temperatura ya que protege la piel de temperaturas externas, además de proteger ciertas zonas de la piel de daño físico y la radiación solar y para algunos animales se vuelve un medio de sobrevivencia al permitirles mimetizarse con su medio ambiente para protegerse de depredadores (Paus & Cotsarelis, 1999). Para el caso particular de los humanos a parte de sus funciones biológicas, cumple funciones culturales (Pergament, 1999).

Debido a la muda constante de cabello, es común que en una escena del crimen se encuentre como un tipo de evidencia biológica, la cual es bastante apreciada ya que se mantiene sin alteraciones a lo largo de mucho tiempo, incluso expuesta a factores externos, debido a su estructura es posible para los científicos forenses determinar patrones de consumo de sustancias controladas, exposición a sustancias tóxicas como metales pesados o los hábitos de alimentación de una persona. Además, en su superficie pueden adherirse sustancias de interés forense, todo esto proporciona valiosas pistas sobre la identidad de un agresor o una víctima (Houck & Siegel, 2015).

La búsqueda de información en una muestra de cabello se basa en la premisa de que cada especie e individuo posee pelo característico en longitud, color, forma, apariencia de la raíz y características internas microscópicas que distinguen a un

animal de otro, incluso en un mismo individuo se observa una gran variabilidad en cuanto a los tipos de pelo que se encuentran en las diferentes partes del cuerpo (Álvarez & Mateos, 2010).

Según la apariencia, estructura y algunos análisis la información que se puede extraer del pelo es la que se enuncia a continuación:

- Determinación racial (muy limitado, ya que no aplica para personas de origen racial mixto)
- Determinación de la zona del cuerpo a la que pertenece el pelo
- Discriminar si el pelo pertenece a un humano o a otra especie animal
- Si el cabello sufrió algún tipo de alteración física o química
- Identificar la presencia de agentes biológicos como parásitos
- La edad del individuo al que pertenece el cabello (se han visto los mejores resultados en la identificación de ancianos e infantes)
- El sexo de la persona e identidad por ADN (limitado a muestras de pelo con células viables)

La técnica por excelencia empleada para analizar muestras de pelo es la microscopía, donde se observan todas las características morfológicas del pelo ayudándose de parámetros como el índice medular, observando también la distribución de los cúmulos de pigmentos, la forma de la cutícula, la presencia de médula y su forma. Cuando se tienen muestras de pelo de un sospechoso se puede comparar de manera directa con alguna muestra obtenida en la escena del crimen, la principal desventaja de este método es que se necesita un amplio catálogo de muestras de pelo humano y no humano con la cual comparar las evidencias (Houck & Siegel, 2015).

Cuando se requiere analizar las sustancias presentes en las muestras de pelo se emplea una gran cantidad de métodos instrumentales y lo único que varía es la preparación de muestra, algunos métodos instrumentales empleados son: análisis por activación neutrónica, espectroscopía del infrarrojo por transformada de Fourier, cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada a espectroscopia de masas (Kronstrand, et al., 2018).

6. Cadena de custodia

Llevar a cabo un buen manejo de la escena del crimen, de la toma de muestras y de su transporte hasta el laboratorio forense, es incluso más importante que el análisis de dichas evidencias (Petherick & Rowan, 2015), ya que de este proceso dependen tanto la integridad de las evidencias como la situación legal de una persona (Evans & Stagner, 2003), es por esto que, conforme se han desarrollado nuevas técnicas de análisis también se han mejorado los lineamientos que deben seguir los profesionales forenses que se encuentren involucrados en una escena del crimen. Ya que las ciencias forenses se apoyan en un marco legal los lineamientos del manejo de evidencias y escenas del crimen dependerá de la legislación de cada país. En nuestro país la Procuraduría de Justicia y la Secretaría de Seguridad Pública son los encargados de proporcionar una guía conocida como “Guía Nacional de Cadena de Custodia” donde se establece antes que todo el alcance de dicha guía y se definen los conceptos mencionados en ella para asegurar que cualquier profesional forense entienda claramente cada uno de los conceptos sin dejar espacio a interpretaciones personales, posteriormente se describe el marco legal de dicha guía donde se mencionan documentos como la Declaración Nacional de Derechos Humanos y la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos entre muchos más (Secretaría de Gobernación, 2017). En esta guía se menciona que el objetivo principal de generar una cadena de custodia es: *“Garantizar la mismidad y autenticidad de los indicios o elementos materiales probatorios, mediante actividades de control y elaboración de registros, que demuestren la continuidad y trazabilidad... con el fin de incorporarlos como medio de prueba en el proceso penal”* (Secretaría de Gobernación, 2017), y se aclara que cualquier persona que se vea involucrada de forma laboral con algún indicio o evidencia debe seguir los lineamientos de dicha guía, además de que incluye los formatos que emplearán aquellos que participen en la cadena de custodia en alguna de su etapas. Aunque esta guía es un documento base para entender la importancia y las implicaciones de la cadena de custodia, es muy general, por lo que existen otros documentos de apoyo para los profesionales forenses, el Instituto Nacional de Ciencias Penales creó junto con la Procuraduría

General de la República (PGR) y el Gobierno Federal un protocolo de cadena de custodia que abarca desde la preservación hasta el procesamiento de los indicios. En dicho protocolo se indica la forma de preservación de escenas del crimen de forma detallada, al igual que el procesamiento de indicios, la recolección, embalaje y traslado de indicios, y una clasificación amplia de evidencias mencionando un gran número de ellas e indicando la forma idónea de recolección y preservación recalcando el uso de formatos de registro.

II. Parte experimental

7. Estrategia para la generación de los protocolos

Para la elección y generación de los protocolos experimentales, se seleccionaron las pruebas forenses más plausibles de adaptar a un laboratorio de enseñanza y se tomaron en cuenta las siguientes directrices: a) tiempos de realización e infraestructura disponible en el laboratorio y b) habilidades y conocimientos previos requeridos. Las etapas que se siguieron se describen en la Tabla 5.

Tabla 5. Metodología para el desarrollo de los protocolos

Etapas	Descripción
1	<ul style="list-style-type: none">a. Revisión en la literatura de las pruebas más comunesb. Selección de pruebas para el análisis de evidencias químicas/físicas/biológicas
2	Diseño de los protocolos didácticos: <ul style="list-style-type: none">a. Definición de la estructura de los protocolosb. Descripción de la escena del crimenc. Metodología analítica (ver 3)
3	Desarrollo y validación analítica de las pruebas que constituyen cada protocolo: <ul style="list-style-type: none">a. Registros de la cadena de custodiab. Identificación de manchas de sangrec. Caracterización e identificación de pelo humano y no humanod. Identificación sustancias controladase. Identificación cualitativa de fibras textilesf. Identificación cualitativa de polímeros

8. Desarrollo y validación de métodos

El proceso de desarrollo y validación fue retroactivo, ya que la validación permitió descubrir e implementar modificaciones a las propuestas de protocolos iniciales. En la Tabla 6 se muestran los parámetros de validación para las metodologías cualitativas que se evaluaron, las ecuaciones de cálculo y los criterios de aceptación. La selección de estos se hizo de acuerdo a “La adecuación al uso de los métodos analíticos. Una guía de laboratorio para validación de métodos y temas

relacionados”, publicada por la Eurachem (Morrillas, 2016). En cada prueba cualitativa se buscó cierta cualidad para asociarla con una respuesta “positiva” de la prueba, así mismo, la ausencia de esta cualidad se asoció con una respuesta “negativa”; la relación entre estas respuestas permitió calcular los parámetros de validación para estas pruebas.

Tabla 6. Parámetros de validación de métodos cualitativos

Parámetro	Cálculos realizados	Criterios de aceptación	Protocolos
Precisión	Índice de falsos positivos (IFP) $IFP = \frac{\text{Falsos positivos}(100)}{\text{Total positivos conocidos}}$	Se prefiere que la probabilidad de caer en estos errores sean las mínimas posibles (<30%)	1, 2, 3 y 4
	Índice de falsos negativos (IFN) $IFN = \frac{\text{Falsos negativos}(100)}{\text{Total negativos conocidos}}$		
Sensibilidad diagnóstica (SD)	$SD = \frac{\text{Num. muestras verdaderas positivas}}{\text{Num. muestras total con la condición}}$	Se busca una probabilidad alta >70% de encontrar la cualidad real cuando existe	1,2,3 y 4
Especificidad Diagnóstica (ED)	$ED = \frac{\text{Num. muestras verdaderas negativas}}{\text{Num. muestras total sin la condición}}$	Se busca una probabilidad alta >70% de no encontrar la cualidad real cuando no cuando existe	1,2,3 y 4

1. Identificación cualitativa de fibras textiles, 2. Identificación cualitativa de polímeros, 3. Identificación sustancias controladas, 4. Identificación de manchas de sangre.

Para la prueba cualitativa de identificación sustancias controladas, se llevó a cabo, una validación cuantitativa usando espectrofotometría de UV-VIS, los parámetros a determinar en dicha validación se muestran en la Tabla 9.

9. Cadena de custodia

Para generar los formatos para efectuar los registros de cadena de custodia, se hizo una revisión en la literatura de los campos que debe tener una cadena de

custodia forense (Instituto Nacional de Ciencias Penales, 2013; Secretaría de Gobernación, 2017). Este formato de Cadena de custodia se presupone como el primer acercamiento de quien lo utiliza a la Cadena de custodia por lo que engloba algunas etapas importantes de la misma: 1) Procesamiento, 2) Traslado y 3) Análisis.

Tomando en cuenta que se deberían aplicar a la experimentación en un laboratorio de enseñanza universitaria, para la validación de los mismos se evaluaron aspectos como: la facilidad de seguir el formato y la comprensión del mismo. El formato final se muestra en el Anexo II.

10. Protocolo de Identificación de manchas de sangre (IMS)

El protocolo está constituido por dos pruebas, una de carácter presuntivo (Prueba de Kastle-Mayer) y otra de carácter confirmatorio (Prueba de Takayama), a continuación, se describe brevemente en qué consiste cada una.

10.1 Prueba presuntiva: Prueba de Kastle-Mayer

La prueba de carácter presuntivo conocida como la prueba de “Kastle-Meyer” (Zajaczkowski, 1998), emplea la forma reducida de la fenoftaleína como indicador de la presencia de sangre por medio de una reacción catalizada por H_2O_2 . La reacción de oxidación de la fenoftaleína se encuentra en el protocolo final de identificación de sangre (Anexo III). Para efectuar la prueba se coloca la muestra de sangre en un pozo de porcelana y se disuelve con agua destilada, posteriormente se adicionan gotas de una disolución de fenoftalina¹ e inmediatamente después se agregan gotas de H_2O_2 , la fenoftalina se oxida en presencia de la peroxidasa del grupo hemo presente en la sangre y se observa una coloración fucsia característica de la fenoftaleína en medio básico.

¹ Fenoftalina es el nombre de la forma reducida de la fenoftaleína.

10.2 Prueba confirmatoria: Prueba de Takayama

Como prueba confirmatoria se emplea la prueba de “Takayama” (Zajaczkowski, 1998) donde se hace reaccionar la muestra de sangre con el reactivo de Takayama (piridina, glucosa e hidróxido de sodio), en caso de que la muestra contenga sangre, la hemoglobina presente formará un compuesto de coordinación llamado “ferroprotoporfirina de piridina”, el cual cristaliza en forma de agujas color rosa-anaranjado visibles con un microscopio óptico. Para llevar a cabo esta prueba se coloca una porción de sangre seca o sangre fresca sobre un portaobjetos, posteriormente, se agrega una gota del reactivo de Takayama, se calienta brevemente y se observa la muestra bajo el microscopio óptico. En la Figura 4 se observa la estructura de la ferroprotoporfirina de piridina (Houck, et al., 2012).

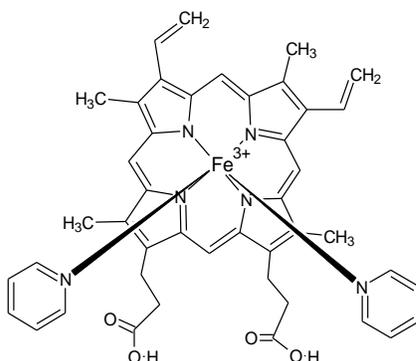


Figura 4. Estructura de la ferroprotoporfirina de piridina

Los detalles para llevar a cabo cada una de las pruebas anteriores se describen en el protocolo final mostrado en el Anexo III.

10.3 Validación del protocolo IMS

Los procedimientos experimentales correspondientes a las pruebas de Kastle y Takayama descritos en la fuente (Zajaczkowski, 1998), se tomaron como base para llevar a cabo su adaptación y validación.

Para llevar a cabo la validación de las pruebas se utilizaron seis materiales de referencia internos (MRI), con y sin sangre, sus características se describen en la Tabla 7. Como blancos se utilizaron papel higiénico y tela de algodón. La

preservación de los MRI consistió en envolver cada una con película Parafilm® perfectamente etiquetada y con fecha, todas fueron almacenadas en un recipiente hermético en un lugar oscuro y fresco (Instituto Nacional de Ciencias Penales, 2013).

Tabla 7. Características de los MRI de sangre

MRI	Zona de extracción	Antigüedad	Matriz
Blanco 1	Sin sangre	--	Papel higiénico
Blanco 2	Sin sangre	--	Tela de algodón
S1	Capilar	2 semanas	Sangre impregnada en papel higiénico
S2	Venosa	1 año	Sangre seca en matriz de tela de algodón blanca
S3	Venosa	1 año	Sangre seca depositada en portaobjetos
SS1	Tubo acuarela Rodin®	--	Pigmento de acuarela rojo opaco en porta objetos
SS2	Plumón base agua marca: Pelikan®	--	Plumón base agua color café en porta objetos
SS3	Chocolate en barra Carlos V®	--	Chocolate derretido impregnado en porta objetos

Los parámetros de validación a evaluar en cada prueba (presuntiva y confirmatoria) fueron: precisión, especificidad diagnóstica, y sensibilidad diagnóstica, de acuerdo con lo indicado en la Tabla 8 donde se muestra el resumen del Plan de validación para ambas pruebas.

Tabla 8. Plan de validación para el protocolo IMS

Parámetro	¿Qué hacer?	Cualidad buscada
Precisión, SD y ED	Para cada MRI efectuar las pruebas de Kastle-Meyer y Takayama 10 veces. Registrar los positivos y negativos.	<p><u>Prueba de Kastle-Meyer</u> La aparición inmediata de una coloración fucsia característica de la fenoftaleína en medio básico.</p> <p><u>Prueba de Takayama</u> Formación de cristales en forma de aguja de color rosa-salmón visibles bajo el microscopio óptico.</p>

11. Caracterización e identificación de pelo humano y no humano (CIPHNH)

Este protocolo se constituye de dos pruebas: la primera es la observación bajo el microscopio de pelo humano y no humano para notar las características morfológicas particulares de cada tipo de pelo, así como características comunes entre ellos (Katz, 2017) y la segunda prueba consiste en la tinción de la cromatina sexual, en particular, el corpúsculo de Barr en células viables de cabello con el propósito de identificar el sexo de la persona (Avila, et al., 2009). El corpúsculo de Barr es un cromosoma X que la célula decidió inhibir al azar; las mujeres presentan al menos 30% de núcleos celulares con corpúsculos de Barr y los hombres, sin alteración genética, no presentan este tipo de corpúsculos. La prueba de tinción de cromatina sexual se empleó como una de las primeras pruebas para detectar o confirmar enfermedades por mutación cromosómica, y se utilizaban células epiteliales de la mucosa bucal para buscar estos corpúsculos (Briard & Morichon, 2006). El procedimiento detallado de cada prueba se describe en el protocolo final de identificación y caracterización de pelo humano y no humano en el Anexo III.

11.1 Prueba Observación bajo microscopio

La primera prueba del protocolo, consiste en observar cada muestra colectada bajo el microscopio óptico con las distintas miras disponibles (empezando por la de menor aumento e ir ascendiendo) ya que esto permitirá al analista encontrar la mira adecuada para observar todas las características de la muestra, posteriormente, se deben anotar las características morfológicas de cada muestra, es posible también colocar una muestra de pelo humano y no humano en el mismo portaobjetos para una comparación directa entre ellos. El procedimiento base que se empleó para crear la prueba de observación bajo el microscopio se describe en (Katz, 2017).

11.2 Prueba de Tinción de cromatina sexual

Para la segunda prueba, es necesario que, para encontrar células viables en el pelo, este sea recién arrancado y se encuentre, de preferencia, en la fase catágena de crecimiento ya que en esta fase aún hay células en el folículo y el pelo ya ha

salido a la epidermis. Una vez obtenidas las muestras se debe realizar un *frotis* del folículo de cada muestra sobre un portaobjetos, posteriormente agregar unas gotas de aceto-orceína y dejar reposar al menos 20 minutos para posteriormente aclarar con agua destilada, permitir que la muestra se seque, colocar un cubreobjetos y observar bajo el microscopio óptico. La prueba anterior fue una adaptación de las pruebas presentadas en el Manual de Criminalística y Ciencias Forenses (Anandón & Robledo, 2010) y el Manual de Prácticas del Laboratorio de Investigación Formativa II (Avila, et al., 2009). La adaptación realizada al protocolo inicial fue el tiempo de tinción que se estableció en 20 minutos.

11.3 Observaciones al microscopio de MRI

Para obtener una tabla de observaciones al microscopio y de la prueba de tinción de cromatina sexual, se recolectaron los MRI de tres hombres y tres mujeres voluntarios con un intervalo de edad de 24 a 26 años, se arrancaron de cada individuo empleando pinzas de disección limpias. Ya que la prueba de tinción de cromatina sexual requiere que el folículo tenga células viables, ésta se realizó justo después de tomar los MRI de los voluntarios, con los folículos de cada MRI recién recolectados se llevó a cabo la prueba de cromatina sexual posteriormente cada MRI se colocó, entre dos cubreobjetos sellados con Parafilm® y etiquetados con el sexo del sujeto y la fecha, y se almacenarán en una bolsa de plástico oscura y en lugar fresco y seco. Lo mismo se hizo con las muestras de pelo de animal.

12. Identificación sustancias controladas (ISC)

Aprovechando las similitudes entre los grupos funcionales de sustancias comunes como: el acetaminofén o la vainillina y las sustancias controladas como la morfina o la heroína (todas estas moléculas comparten la característica de tener al menos un grupo fenol en su estructura) y debido a la situación legal de las sustancias controladas, se decidió que, en un laboratorio de enseñanza bastaba con usar análogos estructurales (Houck & Siegel, 2015) para pruebas de identificación de sustancias controladas.

A este protocolo lo constituyen dos pruebas que se realizan de manera simultánea, una emplea una disolución de ácido nítrico y la otra una disolución de cloruro de hierro (III), para la detección colorimétrica del grupo fenol en distintas muestras. El protocolo final se muestra en el Anexo IV.

12.1 Prueba a la gota de sustancias controladas

El procedimiento experimental para llevar a cabo la prueba fue adaptado del que se presenta en textos como (Houck & Siegel, 2015; Katz, 2017). La prueba simultánea se desarrolla colocando dos porciones distintas de cada una de las muestras en distintos pozos de porcelana, dejando dos pozos más vacíos. A una de las dos series de muestras se le agregan gotas de la disolución de ácido nítrico, mientras que a la otra serie se le agregan gotas de la disolución de cloruro de hierro (III) y en los dos pozos restantes se agrega: en uno gotas de disolución de ácido nítrico y en el otro gotas de disolución de cloruro de hierro (III), estos dos últimos pozos servirán como blancos para comparar los demás pozos con las diferentes muestras después de dos minutos de haber agregado las disoluciones de ácido nítrico y cloruro de hierro (III) en busca de algún cambio de color. Respecto al protocolo documentado (Katz, 2017) se realizaron adaptaciones como modificar las concentraciones de los reactivos, delimitar el volumen de los reactivos y establecer el tiempo de reacción en que la prueba daba positivo o negativo.

12.2 Plan de validación del protocolo ISC

Dado que la prueba a la gota se basa en el desarrollo de color respecto a una concentración determinada, esto permitió que la prueba pudiera validarse tanto de forma cualitativa como cuantitativa. Los MRI empleados en la validación cualitativa fueron: acetaminofén, vainillina, bicarbonato de sodio y 2-fenilfenol. De los MRI empleadas, el 2-fenilfenol, vainillina y bicarbonato de sodio fueron reactivos químicos. El acetaminofén fue un producto comercial, del cual se molieron siete tabletas las cuales se conservaron en un recipiente de plástico cerrado en un lugar fresco y seco (Instituto Nacional de Ciencias Penales, 2013). La validación cuantitativa se realizó solo para la identificación con ácido nítrico usando como MRI: acetaminofén, ya que, en pruebas exploratorias fue la que presentó mejor

relación concentración-color respecto a los demás reactivos. En las Tablas 9 y 10 respectivamente se muestran los planes de validación para las pruebas cualitativa y cuantitativa.

Tabla 9. Plan de validación cuantitativa para el protocolo ISC

Parámetro		Experimentación realizada	Ecuaciones de cálculo	Criterio de aceptación
Intervalo de trabajo y lineal		Se preparan 3 curvas de calibración de 8-120 µg/mL, de acetaminofén. Incluyendo las mediciones del blanco.	Obtener la pendiente por MC y el coeficiente de regresión	$r^2 \geq 0.98$ $m > 0$
Límite de cuantificación (LOQ) y de detección (LOD)		Se utilizará como blanco agua destilada en volúmenes similares a las disoluciones de la curva de calibración. Se medirá la respuesta del blanco 5 veces.	$LOD = \frac{3s}{m}$ $LOQ = \frac{10s}{m}$	LOQ < 8 µg/mL LOD < LOQ
Precisión	Repetibilidad	Se prepararon 6 disoluciones independientes de 66 µg/mL de acetaminofén. Y se midieron bajo las mismas condiciones.	Calcular el coeficiente de variación (CV %)	CV ≤ 3%
	Precisión intermedia	Se repitió el procedimiento anterior 3 días diferentes	Calcular el coeficiente de variación (CV %)	CV ≤ 3%
Sesgo relativo		Se prepararon 6 disoluciones independientes de 66 µg/mL de acetaminofén. Y se midieron bajo las mismas condiciones.	$Sesgo = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} * 100$	≤3%

Tabla 10. Plan de validación cualitativa para el protocolo de ISC

Parámetro	¿Qué hacer?	Cualidad buscada
Precisión, SD y ED	Para cada MRI seguir el procedimiento experimental descrito en la prueba a la gota empleando HNO ₃ y FeCl ₃ respectivamente realizando 10 ensayos para determinar cada parámetro. Anotar el resultado positivo/negativo	<u>Empleando el ácido nítrico</u> Aparición de un color naranja 2 minutos después de agregar la disolución de cloruro de hierro (III) / <u>Empleando el cloruro de hierro (III)</u> Aparición de un color azul-verdoso 2 minutos después de agregar la disolución de ácido nítrico

13. Identificación cualitativa de fibras textiles (ICFT)

Este protocolo consiste en la identificación de una serie de fibras textiles por medio de dos pruebas: solubilidad y combustión. El protocolo final se muestra en el Anexo V.

13.1 Prueba de solubilidad de fibras textiles

En esta prueba se observan algunas características químicas de las muestras textiles al poner en contacto cada muestra con disoluciones de ácidos y oxidantes, el comportamiento de cada muestra textil en cada disolución permite inferir algunas de sus propiedades.

La prueba consiste en colocar una serie de tubos de ensayo (uno por cada muestra textil) y a cada serie de tubos agregar cierta cantidad de una de las tres disoluciones: hipoclorito de sodio, ácido clorhídrico y ácido sulfúrico, para tener en total una serie de tubos por cada disolución y para cada muestra textil. En cada serie de tubos se agrega una muestra textil dentro del tubo de ensayo y se agita, al cabo de cierto tiempo se observa la integridad de cada muestra textil en cada serie de tubos. Esta prueba fue creada con información de varias fuentes como (Anandón & Robledo, 2010; Deedrick, 2000).

13.2 Prueba de combustión de fibras textiles

La prueba por combustión es destructiva, y se debe realizar posterior a la prueba de solubilidad. Esta consiste en exponer el material textil a una llama azul (oxidante) retirándolo cuando este se encienda, para observar sus características de combustión como: color de flama, color de humo, olor de humo, si es auto extingible, si se quema o carboniza y si gotea. La comparación de los datos de características de combustión obtenidos experimentalmente con una tabla de características teóricas de combustión (Anexo I) permite una asociación con la identidad de la fibra. Esta prueba se creó utilizando la información sobre las características químicas de algunas fibras textiles proporcionadas en (Anandón & Robledo, 2010).

13.3 Plan de validación para el protocolo ICFT

Los MRI que se emplearon en la validación, se colectaron de distintas fibras de uso común (siete en total) empleando la etiqueta del fabricante para asignarles una identidad; una porción de cada MRI seleccionada se lavó con abundante agua y se dejó secar al ambiente, posteriormente, se cortó cada una en cuadrados de 1cm² y

se guardó en bolsas de papel identificadas con nombre y fecha en un lugar fresco y seco (Instituto Nacional de Ciencias Penales, 2013).

Los parámetros que evaluar en la validación para la prueba de solubilidad fueron: precisión, sensibilidad diagnóstica y especificidad diagnóstica. Debido a la naturaleza de la prueba de combustión únicamente se determinó la sensibilidad diagnóstica y especificidad diagnóstica.

En la Tabla 11 se muestra el resumen de plan de validación el cual incluye ambas pruebas.

Tabla 11. Resumen de plan de validación para el protocolo de ICFT

Parámetro	¿Qué hacer?	Cualidad buscada
Precisión, S.D y, E. D	Para cada MRI, desarrollar el procedimiento experimental para la prueba de solubilidad y combustión respectivamente y realizar 10 ensayos, registrar en cada caso el resultado positivo/negativo.	<u>Prueba de solubilidad</u> Que la muestra de fibra se mantenga sin alteraciones físicas después de estar 10 minutos en contacto con cada disolución <u>Prueba de combustión</u> Que la muestra presente cuatro de seis características teóricas de combustión

14. Identificación cualitativa de polímeros (ICP)

Este protocolo está relacionado en cuanto a conceptos con el de fibras textiles recordemos que ambos materiales tienen estructuras moleculares semejantes y otras características fisicoquímicas en común. En este caso el protocolo consiste en una prueba de densidad y una de combustión. El protocolo final se muestra en el Anexo VI.

14.1 Prueba de densidad de polímeros

En esta prueba se ponen en contacto una serie de materiales poliméricos con disoluciones de hidróxido de sodio e isopropanol a distintas concentraciones y con distinta densidad, para observar si el polímero flota o se hunde en la disolución dada. En una serie de tubos de ensayo (uno por cada muestra de polímero) se coloca cierta cantidad de cada una de las disoluciones hasta tener una serie de tubos de ensayo por polímero y por disolución, a cada serie de tubos se le agrega

una muestra del polímero correspondiente, se agita para vencer las fuerzas superficiales y se observa.

Para determinar la densidad de las disoluciones de hidróxido de sodio e isopropanol se emplea la ecuación 1 que define la densidad como:

$$\delta = \frac{m}{V} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde m= masa (g); V=volumen (mL) y δ =densidad (g/mL)

Se miden 5.0 mL de cada disolución y se pesa dicho volumen en una balanza analítica, registrando los datos, al efectuar el cociente entre el peso de cada muestra de disolución y el volumen de la muestra (que para todos los casos fue el mismo) así se obtiene la densidad de cada disolución.

Es necesario garantizar que cada disolución empleada tenga un valor de densidad conocido y constante a lo largo de los experimentos ya que los valores de densidad considerados para cada disolución afectan directamente los valores de la validación de la prueba de solubilidad de cada polímero en cada disolución. La prueba anterior fue diseñada con la información sobre las propiedades fisicoquímicas de los polímeros presentadas en las fuentes (Katz, 2017; Seymour & Kauffman, 1993)

14.2 Prueba de combustión de polímeros

La prueba de combustión es equivalente a la realizada en el protocolo de fibras textiles sólo que en este caso las muestras son polímeros. La creación de esta prueba se basó en el documento (Katz, 2017).

14.2.1 Plan de validación para el protocolo ICP

El plan de validación diseñado para esta prueba incluyó la validación del método para determinar la densidad de las disoluciones, para este método, se estimó la repetibilidad y precisión intermedia, ambos por medio del coeficiente de variación (CV%), en cuanto a la validación de la prueba de densidad de polímeros se determinaron los parámetros: precisión, sensibilidad diagnóstica y especificidad diagnóstica. En la prueba de combustión se evaluaron los mismos parámetros

evaluados en el protocolo de fibras textiles. En la Tabla 12 se muestra el resumen del plan de validación para este protocolo.

Tabla 12. Resumen del plan de validación del protocolo ICP

Parámetro	¿Qué hacer?	¿Cuántas veces?
Precisión, S.D y E.D.	Para cada MRI, desarrollar el procedimiento experimental para la prueba de densidad y combustión respectivamente y realizar 10 ensayos, registrar en cada caso el resultado positivo/negativo.	<u>Prueba de densidad</u> Que la muestra de polímero flote en una disolución dada <u>Prueba de combustión</u> Que la muestra presente cuatro de seis características teóricas de combustión

III. Resultados, análisis de resultados y discusión

15. Revisión en la literatura y selección de las pruebas forenses

La búsqueda bibliográfica permitió ampliar el campo de conocimiento sobre algunas de las pruebas a las que se someten los diferentes tipos de evidencias encontradas en escenas del crimen comunes, se revisaron los siguientes manuales : *Manual de Criminalística Moderna* (Buquet & Goldstein, 2006); *Manual de Química Forense* (Castelló, 2009); *Manual de Criminalística* (Zajaczkowski, 1998) y las enciclopedias *Forensic Science* (Gialamas, 2000) y *Fundamentals of Forensic Sciences* (Houck & Siegel, 2015), para, seleccionar las pruebas más plausibles de adaptar en un laboratorio de enseñanza, en dicha selección se tomó en cuenta: el tiempo de desarrollo de cada prueba y los conocimientos involucrados en cada prueba y que se requerían que dominaran los alumnos. Fue así como surgió la clasificación de los protocolos de los distintos tipos de indicios: físicos, químico-biológicos y de sustancias controladas.

Posteriormente se realizó la investigación enfocada a cada prueba, para elegir cuál de ellas era la más viable a realizarse en un laboratorio de enseñanza universitaria. Al contar con el suficiente respaldo teórico se generó una propuesta de cada uno de los cinco protocolos y el formato de cadena de custodia, creando a la par los planes de validación para cada uno de ellos (excepto para el de CIPHNNH). En cuanto al formato de cadena de custodia, este se diseñó con base al tema de preservación y resguardo de muestras el cual es de vital importancia para mantener la calidad de cada evidencia dándole un gran peso en el éxito de los análisis ulteriores, este formato fue creado únicamente con la consulta de información legalmente vigente en nuestro país como La Guía Nacional de Cadena de Custodia (Secretaría de Gobernación, 2017) y ajustándolo al tipo de laboratorio donde se realizaría.

Un aspecto importante en la construcción de cada protocolo fueron los procesos interactivos de desarrollo-validación de cada uno, los cuales permitieron demostrar de manera objetiva y comprobable que cada prueba cumplía con su propósito:- identificación de una serie de muestras particulares- en todo momento bajo las

condiciones especificadas, lo cual es sumamente relevante ya que se trata de pruebas experimentales que estudiantes desarrollarán de manera periódica en un laboratorio, por lo que es necesario que estén validadas para cumplir con su propósito ilustrativo y de enseñanza. Los protocolos seleccionados fueron:

- a. Identificación de manchas de sangre
- b. Caracterización e identificación de pelo
- c. Identificación sustancias controladas
- d. Identificación cualitativa de fibras textiles
- e. Identificación cualitativa de polímeros

Además del formato de cadena de custodia, el cual es aplicable en todos los protocolos seleccionados.

15.1 Unidades para englobar los protocolos

Respecto al orden que se sugiere para el trabajo experimental, el formato y los protocolos se agruparon en cuatro unidades:

Unidad I: Formato de Cadena de Custodia

Unidad II. Muestras biológicas

“Identificación de manchas de sangre”

“Caracterización e identificación de pelo humano y no humano”

Unidad III. Sustancias controladas

“Identificación de sustancias controladas por pruebas a la gota”

Unidad IV. Identificación de indicios físicos

“Caracterización e identificación de polímeros”

“Caracterización e identificación de fibras textiles”

Se decidió acomodar de esta forma a los protocolos ya que los que componen una misma unidad corresponden a pruebas específicas para un tipo determinado de analito esto facilita la asociación de conceptos y el aprendizaje de las técnicas relacionadas a cada grupo de evidencias, permitiéndole al alumno un aprendizaje más ordenado y uniforme.

Una prioridad de este trabajo fue que los materiales y reactivos empleados en cada protocolo fueran de fácil acceso para los laboratorios de enseñanza universitaria ya que esto representa una ventaja en cuanto a facilidad y el costo de la realización de cada uno de ellos. Además de la ventaja anterior, la mayoría de los reactivos y los equipos empleados generan residuos de fácil tratamiento o disposición, por ejemplo, el empleo de agua como disolvente; esto le confiere a los protocolos un atributo de sustentabilidad, atendiendo a las directrices de la Química verde (Anastas & Warner, 1988), respecto a la problemática global en cuanto a la generación de residuos y afectaciones al medio ambiente. Cada uno de los protocolos individuales contiene las secciones que se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Secciones comunes de los protocolos

Sección	Descripción	Propósito
Introducción	Información que presenta al estudiante un contexto informativo	Introducir conceptos necesarios para la realización del protocolo y su aprovechamiento
Objetivos	Serie de propósitos puntuales a cumplir durante la realización del protocolo	Plantea el problema a resolver y los conceptos teórico-prácticos que se abordaran a lo largo del protocolo
Escenario	Descripción detallada de una escena del crimen	Vinculación del estudiante entre el desarrollo del protocolo y la práctica Forense
Equipos, materiales y reactivos	Listado de los bienes necesarios para la realización de cada protocolo	Informa al docente los bienes necesarios para el correcto desarrollo de cada protocolo y permite al estudiante visualizar el desarrollo de cada prueba.
Actividad Experimental	Descripción detallada del desarrollo de las pruebas que componen cada protocolo	Guiar paso a paso la actividad experimental para que sea realizada con éxito
Integración y discusión de resultados	Guía para ordenar, reportar y procesar los resultados experimentales	Apoyar en la asimilación del conocimiento generado
Declaratoria de resultados	Con base a los resultados experimentales se debe concluir la relación entre las muestras y la escena del crimen	Habituarse al estudiante en la emisión de declaratorias, las cuales son el fin de los análisis forenses y una tarea común para los científicos forenses.
Disposición de residuos	Indicaciones para el manejo y disposición de los residuos generados	Instruir y fomentar la correcta disposición de residuos
Bibliografía	Recomendaciones de fuentes de consulta	Proporcionar medios para reforzar y profundizar el aprendizaje

16. Protocolos didácticos

16.1 Escenario

La sección central de cada protocolo es sin duda el escenario, se buscó motivar al alumno con un ejemplo particular que le permitiera emplear los conceptos relacionados de química forense, asociado al trabajo cotidiano en el ambiente forense. Artículos como el de (Kanu, et al., 2015), indican que como apoyo en la docencia de las ciencias forenses es de gran utilidad incluir escenarios ya sea recreándolos en las aulas o describiéndolos con imágenes o palabras. Analicemos uno de los escenarios, incluido en el protocolo de fibras textiles:

“En la residencia del afamado escritor Gabriel García Márquez, ubicada al sur de la ciudad, se reportó el robo la medalla de oro otorgada al Premio Nobel, la cual se sospecha fue extraída por los asaltantes el fin de semana que la casa se encontraba sola. Se presume que brincaron la cerca perimetral de la vivienda. Los investigadores de la escena encontraron entre el alambre de púas que rodeaba la casa un trozo de ropa desgarrada. A unas cuerdas de la escena del crimen se detuvo a un sospechoso que merodeaba por la zona y el cual había sido reportado por los vecinos, se señaló que la ropa que vestía estaba desgarrada”

De este se deduce información importante: el estudio de las fibras textiles proporcionadas como muestras podría ayudar a ubicar a una persona en una escena del crimen, además, esto fomenta en el estudiante un compromiso mayor por efectuar la prueba y obtener resultados, también proporciona datos importantes para el llenado del formato de cadena de custodia de las muestras. Al leer el escenario el estudiante visualiza su experiencia de laboratorio como si esta fuera en el campo, preparándolos para enfrentarse a situaciones reales, propias de un Químico Forense.

16.2 Declaratoria de resultados

Esta sección permite que el estudiante ejercite una tarea común para los científicos forenses, la cual consiste en la elaboración de un informe con sustento científico sobre los resultados de las pruebas realizadas a las muestras, la presentación del mismo se realiza de forma clara y concisa, sustentando la validez de sus resultados (Reyes, 2016) permitiendo que sea utilizado como evidencia válida en un juicio en beneficio de la aplicación de la justicia. Es importante decir que desde hace tiempo

se solicita el testimonio experto de los científicos forenses en la corte (American Chemical Society, 2005), lo que requiere que éste demuestre dominio del tema que explicará y la capacidad de exponer la validez y relación de las evidencias con un caso concreto en lenguaje entendible por todos y con el profesionalismo adecuado que no dé pie a la desacreditación de las muestras y del mismo forense.

16.3 Herramienta de apoyo al docente

Como un material adicional se creó una tabla que reúne para cada protocolo las competencias de aprendizaje y desarrollo experimental, en ella se engloban las expectativas de aprendizaje conceptual y los temas de química forense involucrados, así como el tiempo de realización aproximado para cada protocolo. Su elaboración se llevó a cabo al finalizar la validación de cada protocolo y la aplicación frente a los grupos de prueba, para garantizar que su contenido fuera apegado a lo observado en el desarrollo experimental (Tabla 14).

17. Desarrollo y validación experimental de las pruebas

Para establecer la propuesta final de cada protocolo, el desarrollo y validación de estos se hicieron a la par. La validación es preponderante ya que los protocolos se presentan como alternativa de enseñanza experimental y se espera que proporcionen resultados exitosos para que cumplan con su propósito formativo. Los resultados de las validaciones que se presentan a continuación corresponden a la validación de los protocolos finales que ya incluyen todas las mejoras y modificaciones.

17.1 Cadena de custodia

El formato de cadena de custodia es con el que se inicia debido a que sirve de guía para el manejo de los materiales que serán tratados como las “evidencias” en cada una de las pruebas presuntivas permitiendo que el alumno indique y aprenda como preservar la escena del crimen y los cuidados que se debe de tener en cuanto a la toma y preservación y transporte de los distintos tipos de evidencias, además, de ilustrar el tipo de formatos que se deben llenar a lo largo de la cadena de custodia con el fin de garantizar la trazabilidad de las evidencias.

Tabla 14. Objetivos de aprendizaje y desarrollo experimental

Protocolo	Duración	Investigación previa	Temas relacionados con química forense	Muestras viables de emplear	Perspectiva de conocimientos adquiridos
FCC	3 h	Normatividad relacionada a cadena de custodia en México y conceptos generales relacionados	Manejo de muestras, embalaje, conservación, y transporte como control de calidad	Variadas según la escena del crimen propuesta	Conceptos básicos de cadena de custodia, y su importancia. Preservación de muestras y trazabilidad
IMS	4 h	Evidencias biológicas; pruebas de detección, en especial Kastle-Meyer y Takayama	Bioinorgánica, biología, manejo de muestras biológicas. Información viable de extraer	Sangre de distinta antigüedad y muestras parecidas a sangre: tinta o pigmentos	Técnicas de detección de sangre presuntivas y confirmatorias y existencia de falsos positivos y conceptos generales de muestras biológicas
CIPHNH	3 h	El pelo como evidencia, información viable presente en la muestra	Biología, citología básica. Evidencia biológica, manejo de muestras biológicas.	Pelo humano de hombres y mujeres y pelo de mascota en general.	La importancia del pelo como evidencia y las limitantes y fortalezas de esta evidencia
ISC	3 h	Pruebas de identificación de sustancias controladas y legislación al respecto	Química orgánica y química analítica. Manejo y preservación de sustancias controladas.	Acetaminofén, vainillina, 2-fenilfenol, bicarbonato de sodio, azúcar refinada.	Interferencias de las pruebas realizadas, su almacenamiento y transporte como evidencia
ICFT	4 h	Composición química de algunos polímeros, clasificación y características fisicoquímicas.	Química orgánica, manejo y preservación de evidencias físicas, información viable de obtener	Nylon, algodón, poliéster, polipropileno, lana, rayón, lino y fibras desconocidas	Interferencias de las pruebas realizadas, tipos de fibras textiles, almacenamiento y transporte de las mismas como evidencia
ICP	4 h	Composición química de algunos polímeros, así como su clasificación y las características fisicoquímicas de estos. Preservación y transporte de este tipo de indicio.		PET, PS, HIPS, PP, HDPP y muestras de polímeros desconocidas	Interferencias de las pruebas realizadas, tipos de polímeros, almacenamiento y transporte de estas como evidencia

Formato de cadena de custodia (FCC); Identificación de manchas de sangre (IMS), Caracterización e identificación de pelo humano y no humano (CIPHNH); identificación de sustancias controladas (ISC); Identificación cualitativa de fibras textiles (ICFT) e Identificación cualitativa de polímeros (ICP).

Se demostró que el formato del protocolo de cadena de custodia es suficientemente claro para ser llenados con facilidad por el especialista asignado a la tarea. El formato final incluye seis secciones que considera: información general, entrega de evidencia, embalaje, traslado, recepción en el laboratorio y el formato de etiqueta de evidencias. A continuación, se presenta un ejemplo del llenado del formato (Figura 5).

PROTOCOLO DE CADENA DE CUSTODIA

b) Recolección o levantamiento de indicios o evidencias.

Describir la forma en que se realizó:

En un contenedor de desechos cáncano se colectaron muestras de una material de apariencia polimérica. con unas pinzas de disección se colocaron en una bolsa de plástico y se etiquetaron

c) Medidas tomadas para preservar la integridad del indicio o evidencia.

La bolsa con las muestras se llevo al laboratorio de análisis y se lavaron con agua destilada, se dejaron secar sobre papel absorbente y se guardaron en bolsas nuevas de plástico en un lugar oscuro, fresco y seco.

3. EMBALAJE DE LOS INDICIOS O EVIDENCIAS*.

a) Tipo de embalaje	Plástico simple	
b) Tiene etiqueta	Si <input checked="" type="checkbox"/>	No ()
c) Documentos que acompañan la evidencia	No aplica	
d) Observaciones al estado en las que se entrega la evidencia	La evidencia se entrega en forma adecuada y no parece estar dañada o sucia	
e) Observaciones al estado en las que se recibe la evidencia	La evidencia se ve íntegra y sellada en una bolsa de plástico con etiqueta	

* Este rubro se llena para cada uno de los indicios.

4. TRANSPORTE O TRASLADO DE LOS INDICIOS O EVIDENCIAS.

a) Tipo	Vehículo motorizado
b) Condiciones en las que se realizó el traslado	Adentro de una caja de cartón

Figura 5. Ejemplo del formato de cadena de custodia de las secciones: entrega, embalaje, traslado de evidencia

17.2 Identificación de indicios biológicos

17.2.1 Protocolo de IMS

Los MRI empleados en la validación fueron seis, los cuales se describen en la Tabla 7, donde se observa que sus características son distintas entre sí, lo que permitió observar resultados interesantes, los cuales se presentan a continuación.

17.2.1.1 Prueba de Kastle-Meyer

En la Figura 6 se muestra el diagrama de la experimentación final de la prueba de Kastle-Meyer, en este diagrama se indican las mejoras o adaptaciones realizadas, en este caso respecto a la preparación de la muestra y el tiempo de reacción.

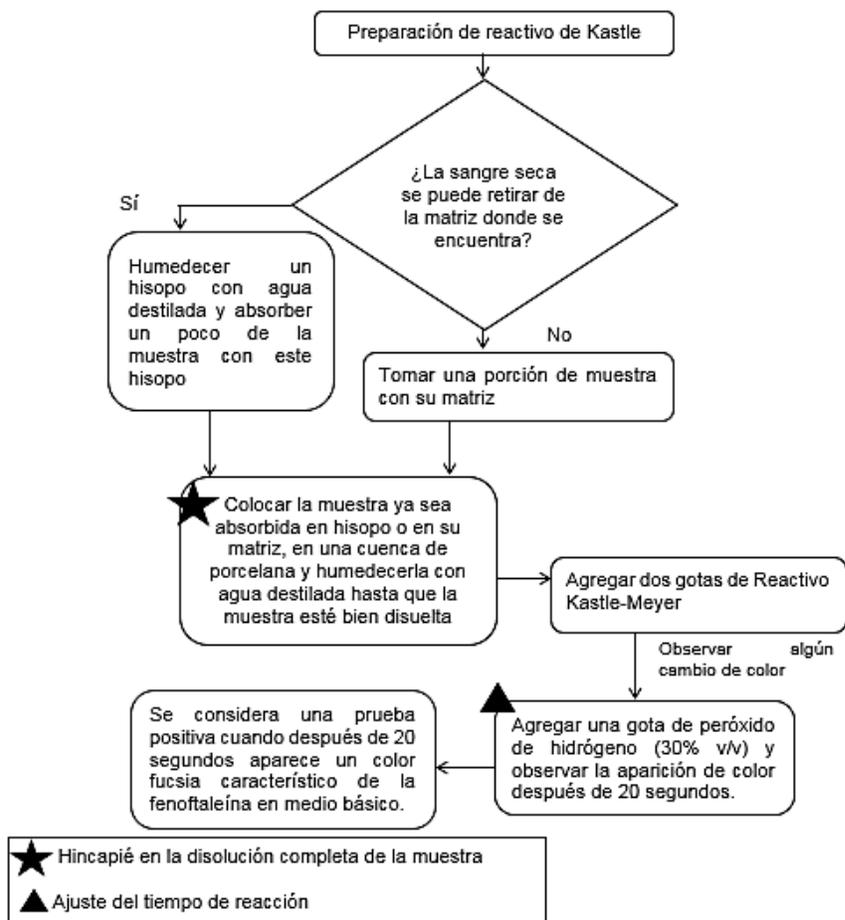


Figura 6. Diagrama de desarrollo experimental prueba Kastle-Meyer

Las figuras de estrella y triángulo, en la Figura 6, resaltan los aspectos de la metodología que se mejoraron y se conservaron en el protocolo final. Durante las pruebas preliminares y el montaje de la prueba quedó evidenciado que permitir que la sangre presente en los MRI se solubilice por completo en agua destilada, antes de agregar los reactivos (fenoftalina y peróxido de hidrógeno), mejora la aparición del color fucsia particular de la fenoftaleína en medio básico. Resaltar este punto es importante sobre todo cuando la sangre se encuentra absorbida en matrices como las empleadas (papel higiénico y tela de algodón), y disminuye la posibilidad obtener un falso negativo. El tiempo de reacción era un dato vago en las fuentes consultadas (Zajaczkowski, 1998) y (Bremmer, et al., 2012). Previo a la validación se hicieron pruebas simples para establecer un tiempo óptimo, y se encontró que después de 20 segundos, una muestra que si contenga sangre desarrolla su color final. Al conocer el dato del tiempo de reacción el analista sabe en qué momento buscar la cualidad, y evitar falsos positivos o falsos negativos. La Tabla 15 se muestra el resumen de los resultados de validación para la prueba de Kastle-Meyer.

Tabla 15. Resultados de validación prueba presuntiva Kastle-Meyer

Cualidad tomada como positiva	Aparición de coloración fucsia característica de la fenoftaleína en medio básico 20 segundos después de agregar el reactivo Kastle y la disolución de H ₂ O ₂		
Núm. de ensayos	n=10		
Parámetro	Valor obtenido en la validación	Criterio de aceptación	Decisión
Precisión	Índice de falsos positivos ≤ 30% IFP para todos los MRI con sangre 0% IFP para todas los MRI sin sangre	IFP ≤ 30%	Todos cumplen
	Índice de falsos negativos 0% I.F.N para los MRI con sangre y los MRI sin sangre	IFN ≤ 30%	Todos cumplen
Sensibilidad diagnóstica (SD)	100% para todos los MRI con sangre	SD ≥ 70%	Todos cumplen
Especificidad diagnóstica (ED)	100% para todos los MRI sin sangre	ED ≥ 70%	Todos cumplen

En la tabla anterior podemos observar que los IFP e IFN para todos los MRI con sangre y sin sangre, se aprueban ya que cumplieron con el criterio de aceptación establecido para ellos, por lo que la metodología propuesta es precisa. Los resultados de la validación para SD y ED mostraron que el criterio de aceptación se cumplió con todas las muestras, así que queda que establecido que esta prueba presuntiva es sensible y específica para muestras que contienen sangre.

En literatura no se menciona si la antigüedad de la muestra afecta el éxito de la prueba de Kastle; se conoce que una vez que la sangre se encuentra expuesta a la atmósfera, la hemoglobina pasa por distintos arreglos estructurales: meta-hemoglobina, desoxihemoglobina, oxihemoglobina y hemicromo (Bremmer, et al., 2012) y el ion hierro por distintos estados de oxidación, por lo que, sí existe una relación entre la antigüedad de la muestra de sangre y el éxito en su determinación en la prueba Kastle ya que esta se basa en la estructura de la hemoglobina, también, se conoce que la actividad peroxidasa de la hemoglobina es inversamente proporcional a su antigüedad (Schwarz, 1937). Respecto al sitio de extracción de las muestras (capilar y venosa) algunos estudios dedicados a identificar anemia en sangre venosa y capilar indican que existe una mayor proporción de hemoglobina en la sangre capilar que en la venosa (Organización Mundial de la Salud, 2011).

17.2.1.2 Prueba de Takayama

En la Figura 7 se muestra el diagrama de la experimentación final para la prueba, en ella se señala con una estrella que se modificó el volumen a emplear del reactivo de Takayama ya que en la literatura (Zajaczkowski, 1998) no se mencionaba noción alguna del volumen adecuado, esta variable es de vital importancia en el éxito de la prueba porque cuando se emplearon cantidades mayores a 10 μ L de reactivo de Takayama, se dificultó la etapa del calentamiento aumentando el riesgo de que la MRI ebuliera sin control, desplazándose fuera del portaobjetos, inhabilitándose, lo que resultó en falsos negativos para MRI con presencia de sangre.

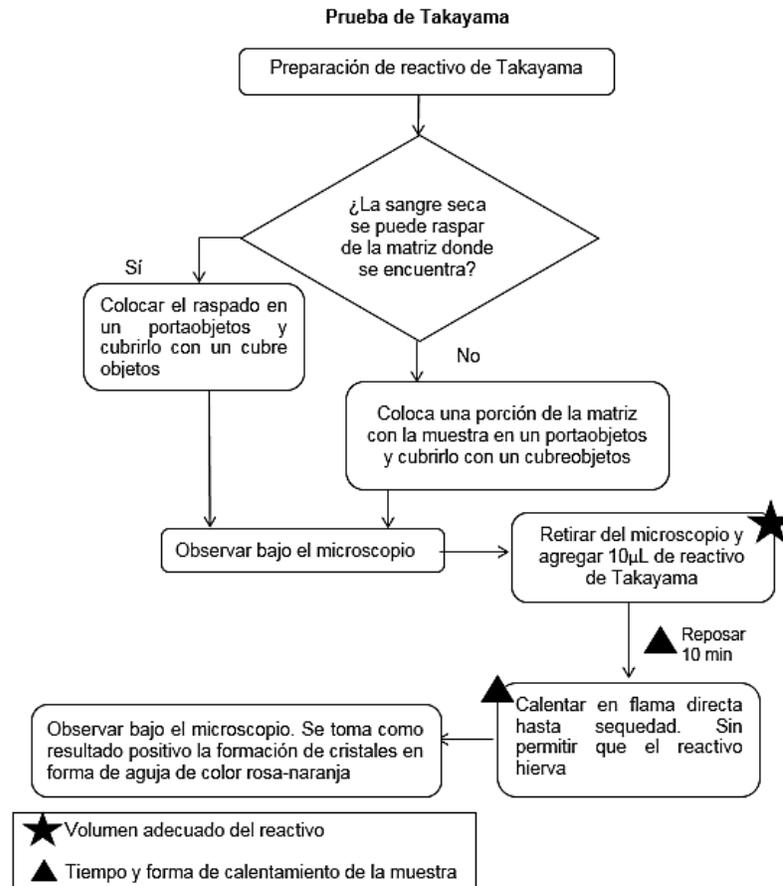


Figura 7. Diagrama de desarrollo experimental prueba Takayama

Respecto al tiempo y forma de calentamiento (triángulos), también se describían vagamente en la fuente original de la prueba (Zajaczkowski, 1998), después de probar con tiempos y formas de calentamiento distintos así como varios tiempos de reposo, se determinó que el tiempo idóneo de reposo para la MRI en contacto con el reactivo antes del calentamiento era de 10 minutos, sin dejar ebullición de la MRI y hasta llevarla a sequedad, ya que se observó que cuando quedaban restos líquidos de reactivo de Takayama, éstos, favorecían la degradación de los cristales formados en el transcurso del tiempo. En la Figura 8 se observa la apariencia del MRI S3 (muestra de sangre seca, con un año de antigüedad), después de estar en contacto 10 minutos con el reactivo de Takayama, se observa un resultado positivo a la prueba: un halo amarillo pardo.



Figura 8. Prueba de Takayama para el MRI S3

En la Tabla 16 se presentan los resultados de la validación para la prueba confirmatoria Takayama.

Tabla 16. Resumen de validación prueba de Takayama

Cualidad tomada como positiva	Observar bajo el microscopio la presencia de cristales en forma de agujas de color rosa-anaranjado		
Número de ensayos	n=10		
Parámetro	Valor obtenido en la validación	Criterio de aceptación	Decisión
Precisión	Índice de falsos positivos 0% IFP para todos los MRI con sangre y 0% para todos los MRI sin sangre	I.F.P ≤ 30%	Todos cumplen
	Índice de falsos negativos 0% IFN para los MRI S1, S3 y 50% IFN para el MRI S2 y 0% para todos los MRI sin sangre	I.F.N ≤ 30%	Los MRI S1 y S3 cumplen y el MRI S2 no cumple y todos los MRI sin sangre (SS1, SS2 Y SS3) cumplen.
Sensibilidad diagnóstica	100% para los MRI S1 y S3 y 0% para el MRI S2	S.D ≥ 80%	Todos cumplen excepto el MRI S2
Especificidad diagnóstica	100% para todos los MRI sin sangre	E.D ≥ 80%	Todos cumplen

Tanto en el parámetro de SD como los de precisión se observa que uno de los MRI con sangre no cumplió con los criterios de aceptación, dicho MRI de sangre fue la que se componía de sangre con un año de antigüedad sobre tela de algodón (S2), esto podría deberse a que la matriz de tela de algodón interfiere con el reactivo de Takayama, por otra parte, está documentado la prueba de Takayama se puede ver afectada cuando la muestra ha sido expuesta a temperaturas altas (Villegas, et al.,

2005). Por lo que se tomó la decisión de no incluir este tipo de MRI en el protocolo final como una muestra a analizar.

Para los otros MRI con sangre (S1 y S3) y para los MRI sin sangre (SS1, SS2 y SS3) los resultados corresponden a una validación exitosa y confirman que la prueba cumplirá con su propósito de identificar sangre en todo momento bajo las condiciones especificadas. En la Figura 9 se observa la forma y el color de los cristales obtenidos en la prueba positiva para el MRI S1, se observan cristales color rosa-anaranjado, que crecen en forma de agujas.

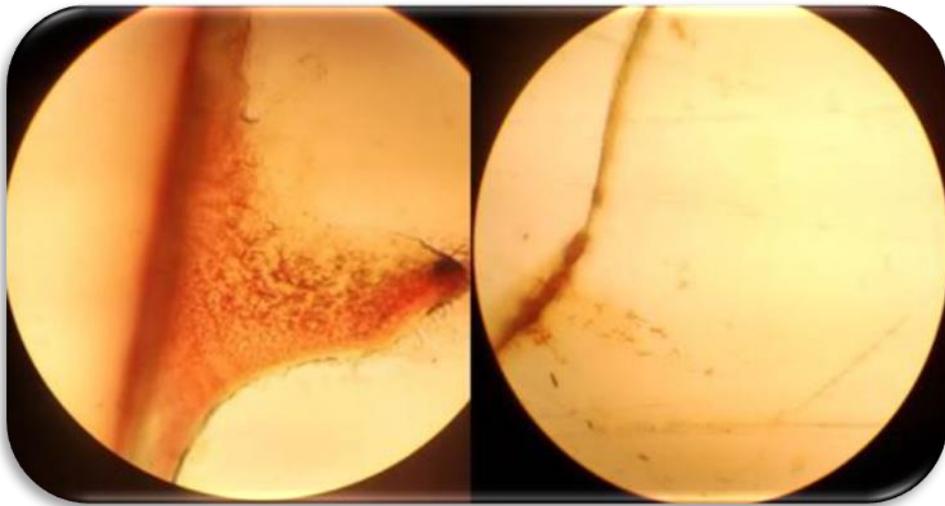


Figura 9. Cristales obtenidos en la prueba positiva para MRI S1

Los resultados de la validación de la prueba de Takayama indican que las características: antigüedad de la muestra y la zona de extracción (relacionada al contenido de hemoglobina en la sangre) no afectaron los resultados en la prueba de Takayama.

17.2.2 Protocolo de CIPHNH

En la Figura 10 el diagrama experimental final para cada prueba, además se indica la modificación que sufrió respecto al protocolo inicial (triángulo).

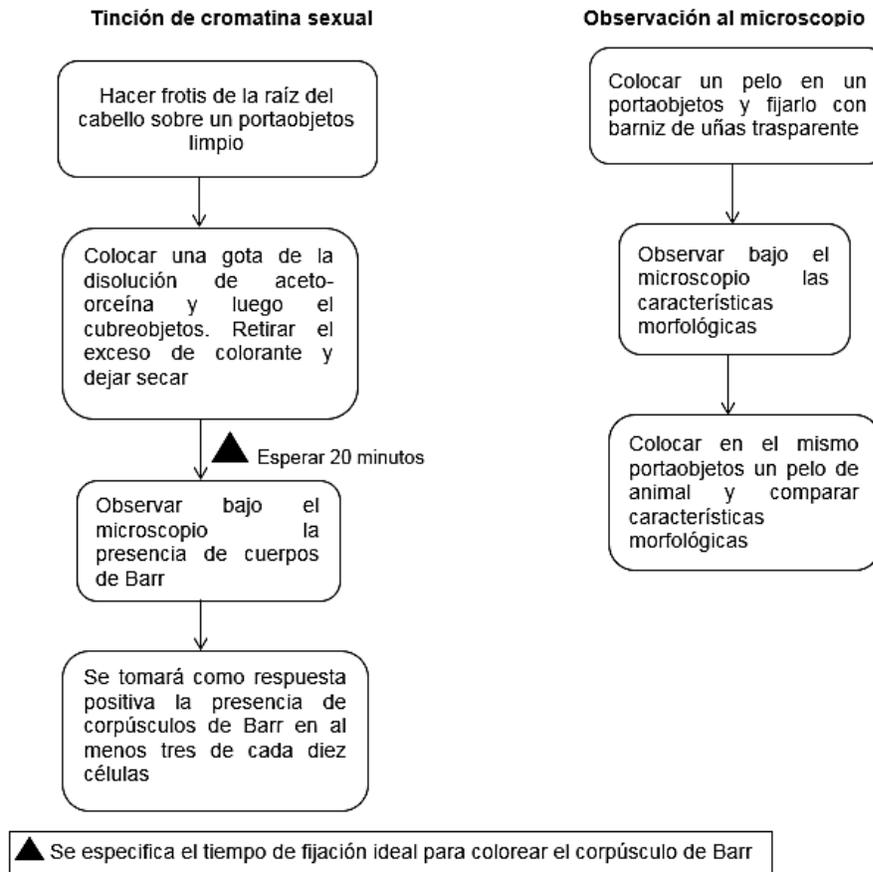


Figura 10. Diagrama de desarrollo experimental final para la prueba de Tinción de cromatina sexual y Observación bajo el microscopio

La única modificación que se realizó al protocolo inicial de tinción de cromatina sexual descrito en la fuente (Avila, et al., 2009) fue el tiempo de fijación del colorante aceto-orceína ya que se realizaron pruebas exploratorias con tiempos menores y mayores y se determinó que el tiempo donde la cromatina sexual alcanzaba su tinción máxima eran 20 minutos. En cuanto al protocolo de Observación bajo microscopio éste no sufrió adaptaciones.

Solo se hizo la validación para la prueba de Tinción de cromatina sexual, sin embargo, no cumplió con los criterios de aceptación por lo que no fue exitosa.

Los resultados de la realización de ambas pruebas se muestran a continuación en las Tablas 17 y 18 además de una discusión sobre los resultados de cada prueba y su validez para incluirse en la propuesta final del manual.

Tabla 17. Resultados de la prueba Observación bajo el microscopio

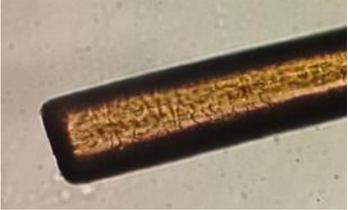
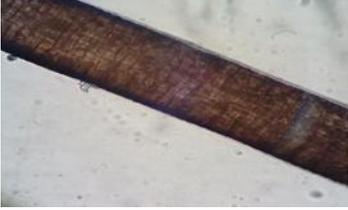
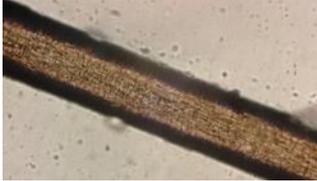
Prueba	Observación bajo microscopio	
Muestra	Observaciones	Referencia visual
Mujer 1	El pelo es de color marrón medio, color que es homogéneo en todo el pelo. No se observa algún material adherido a su superficie. Presenta folículo y en el extremo final está interrumpido por un corte recto. El patrón de cutícula es intercalado-cerrado irregular y no existe presencia de médula.	
Mujer 2	El pelo es de color marrón medio, color que es homogéneo en todo el pelo. No se observa algún material adherido a su superficie. Presenta folículo y en el extremo final está interrumpido por un corte limpio. El patrón de cutícula es intercalado-cerrado regular y no existe presencia de médula.	
Mujer 3	El pelo es de color marrón medio, color que es homogéneo en todo el pelo. Se observa material adherido a su superficie una especie de células muertas. Presenta folículo y en el extremo final está interrumpido por un corte cóncavo. El patrón de cutícula es intercalado-cerrado irregular y no existe presencia de médula.	
Hombre 1	El pelo es de color blanco, color que es homogéneo en todo el pelo. No se observa material adherido a su superficie. Presenta folículo y en el extremo final está interrumpido por un corte recto. El patrón de cutícula es intercalado-cerrado irregular y se observa la presencia de médula interrumpida y no regular.	
Hombre 2	El pelo es de color marrón oscuro, color que es homogéneo en todo el pelo. Se observa material adherido a su superficie de origen desconocido. Presenta folículo y en el extremo final está interrumpido por un corte recto. El patrón de cutícula es intercalado-cerrado regular y se observa la presencia de médula ininterrumpida.	

Tabla 17 (continuación). Resultados de la prueba Observación bajo el microscopio

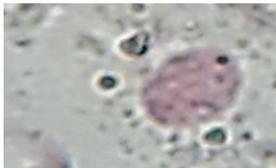
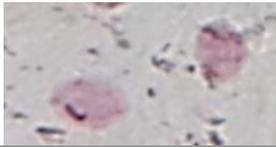
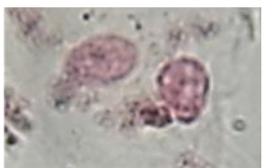
<p>Hombre 3</p>	<p>El pelo es de color marrón medio, color que es homogéneo en todo el pelo. No se observa material adherido a su superficie. Presenta folículo y en el extremo final está interrumpido por un corte recto. El patrón de cutícula es intercalado-cerrado regular y no se observa la presencia de médula.</p>	
<p>Perro 1</p>	<p>El pelo es de color rubio medio, color que es homogéneo en todo el pelo. No se observa material adherido a su superficie. Presenta folículo y en el extremo final termina en punta. El patrón de cutícula es intercalado-cerrado regular y se observa la presencia de médula interrumpida.</p>	

La información que se puede obtener de la “Observación bajo microscopio”, presentada en la tabla anterior, es: la morfológica los MRI comparten rasgos en común y requieren la interpretación del analista, es por esto que, para esta prueba no se generó un plan de validación ya que en ella no se busca alguna cualidad específica ya que existe una gran variabilidad respecto a las características morfológicas del pelo humano y no humano y únicamente un experto forense especializado en pelo y con una base de datos robusta podría identificar morfológicas específicas y asociarlas a cualidades (Houck & Siegel, 2015). Aunque esta prueba no cumple con los requisitos para la validación es útil desde el punto de vista formativo ya que permite al analista observar las principales características morfológicas del pelo humano y no humano haciendo tangible la amplia variedad de oportunidades que ofrece una muestra de pelo.

En la Tabla 18 se presenta el registro visual de la prueba de Tinción de cromatina sexual, en ella es apreciable la presencia de corpúsculos de Barr (detalle en morado) en algunos de los núcleos celulares, en el caso de los hombres sin alteraciones genéticas no se espera la presencia de corpúsculos de Barr y en el caso de las mujeres sin alteraciones genéticas se espera la presencia de estos

corpúsculos, cabe destacar que el número de células presentes en el frotis era reducido o inexistente lo que dificultó desarrollar la prueba.

Tabla 18. Resultados de la prueba de Tinción de cromatina sexual

Prueba	Tinción de cromatina sexual		
Muestra	Cualidad buscada	Observaciones	Referencia visual
Mujer 1	Observar bajo el microscopio que 3 de 10 células presenten el corpúsculo de Barr	Se observa un núcleo celular con corpúsculo de Barr dentro de su circunferencia interna	
Mujer 2		Se observan dos núcleos celulares sin corpúsculo de Barr	
Mujer 3		Se observan dos núcleos celulares sin corpúsculo de Barr	
Hombre 1		Se observa un núcleo celular con corpúsculo de Barr dentro de su circunferencia interna	
Hombre 2		Se observan dos núcleos celulares sin corpúsculo de Barr	
Hombre 3		Se observa un núcleo celular con corpúsculo de Barr dentro de su circunferencia interna	

Esta prueba se validó cualitativamente tomando en cuenta las modificaciones al procedimiento experimental (Figura 10), como resultado de la validación se obtuvieron valores fuera de los criterios de aceptación para cada parámetro, lo cual indicó que, empleando el procedimiento experimental planteado en el protocolo y utilizando los MRI analizadas no es posible garantizar que la prueba cumpla con su

propósito de determinar el sexo de individuo en todo momento bajo las condiciones establecidas, una de las causas probables de que la prueba no cumpliera con la validación fue debido a que los MRI de pelo humano que se coleccionaron no contaban con un número viable de células por no encontrarse en la fase de crecimiento.

A pesar de que al analizar una muestra siguiendo el procedimiento experimental descrito en la Figura 10 se obtendrán resultados no confiables de la muestra esto no demerita que la prueba cumple aún con su función educativa e ilustrativa ya que es posible visualizar los corpúsculos de Barr. No se descarta la posibilidad de validar exitosamente la prueba, al emplear MRI que se encuentren en fase de crecimiento únicamente y aumentando el número de MRI.

17.3 Identificación de sustancias controladas

En la Figura 11 se muestra el diagrama de la experimentación final, se indican en él las modificaciones realizadas, se observa en el diagrama anterior que se realizaron varias modificaciones respecto al protocolo inicial generado con las fuentes (Katz, 2017; Houck & Siegel, 2015). Para el caso de la prueba que emplea cloruro de hierro (III) se sabe que este forma compuestos de coordinación con el oxígeno fenólico, se realizaron algunas pruebas exploratorias y se llegó a la cantidad de 1 gota de FeCl_3 0.1 M, en el caso del ácido nítrico este efectúa una nitración en el anillo aromático del fenol, principalmente en posiciones orto y para, la estequiometría en este caso es 1:1, con las pruebas preliminares se estableció que la cantidad adecuada era de 1-3 gotas dependiendo de la concentración de la disolución de ácido nítrico con la que se trabaje, ya que para esta prueba se sugirió trabajar con tres distintas concentraciones de ácido nítrico con el propósito de que el alumno sea consistente de la importancia de la estequiometría en esta prueba. Respecto al tiempo de reacción (estrella) este no se especificaba en las fuentes, antes mencionadas, por lo que se monitoreó durante la validación para tener un valor promedio aproximado, conocer el tiempo de reacción de la prueba le permite al analista saber en qué momento buscar la cualidad para evitar falsos negativos,

sobre todo en esta prueba donde ambos reactivos reaccionan hasta 2 minutos después de poner en contacto los MRI con los reactivos.

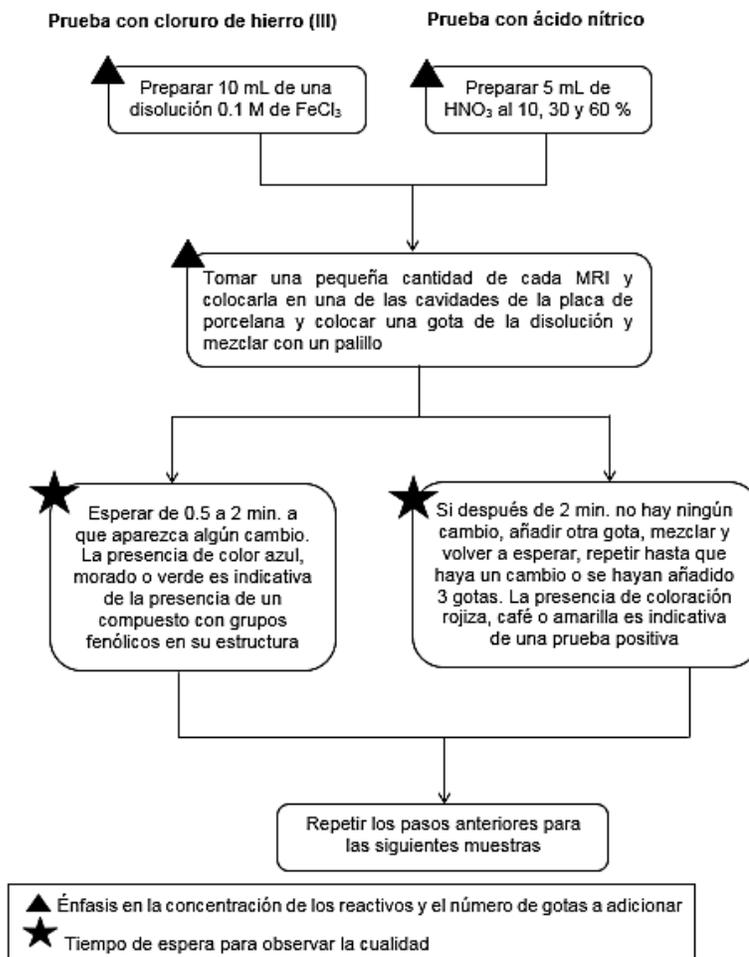


Figura 11. Diagrama de desarrollo experimental final de la prueba de identificación de sustancias controladas

Para la validación cuantitativa se empleó la técnica de espectroscopia de ultravioleta-visible para monitorear el cambio de color dependiente de la concentración de el MRI de acetaminofén al reaccionar con ácido nítrico (60% v/v) midiendo a una longitud de onda de 397.6 nm que es el valor donde el compuesto formado (entre el ácido nítrico y el MRI acetaminofén) presentó la mayor absorbancia. Los resultados de la validación se presentan a continuación en la Tabla 19, donde se observa el resumen de la validación cuantitativa para la prueba de detección de grupo fenol.

Tabla 19. Resultados de la validación colorimétrica del grupo fenol

Número de ensayos	n=5		
Parámetro de validación	Valores obtenidos	Criterios de aceptación	Decisión
Intervalo lineal y de trabajo	$r^2 \geq 0.99$ Intervalo lineal y de trabajo: 8.3 a 116.7 $\mu\text{g/mL}$	$r^2 \geq 0.98$ $m > 0$	Cumple
Límite de detección y de cuantificación	Límite de detección (0.87 $\mu\text{g/mL}$) Límite de cuantificación (1.73 $\mu\text{g/mL}$)	1.73 $\mu\text{g/mL} < 1$ $\mu\text{g/mL}$ 0.87 $\mu\text{g/mL}$ < 1.73 $\mu\text{g/mL}$	Cumple
Repetibilidad (CV%)	2%	$\leq 3\%$	Cumple
Precisión intermedia (CV%)	1%	$\leq 3\%$	Cumple
Sesgo (S%)	2%	$S\% \leq 20\%$	Cumple

Respecto a los parámetros presentados en la Tabla 19, se observa que todos cumplieron con los criterios de aceptación indicando que la prueba cumplirá en todo momento su propósito de identificar el grupo fenol de sustancias controladas bajo las condiciones descritas. En la validación cualitativa se emplearon cuatro MRI: acetaminofén (A), vainillina (B), 2-fenilfenol (C) y bicarbonato de sodio (D) y las disoluciones de ácido nítrico (10, 30 y 60 % v/v) y cloruro de hierro (III) (0.1 M). A continuación, se muestran en la Figura 12 el cambio de color del MRI vainillina en FeCl_3 (A) y HNO_3 (B) en una prueba positiva.

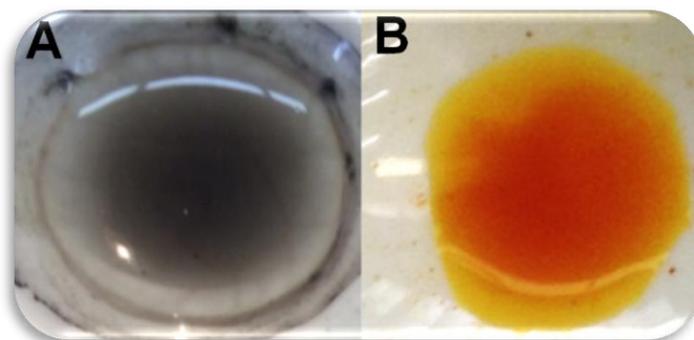


Figura 12. Prueba a la gota con vainillina: A) cloruro férrico y b) ácido nítrico

En la Tabla 20, se muestran los resultados de la validación cualitativa.

Tabla 20. Resultados de validación cualitativa de la prueba de identificación de sustancias controladas

Cualidad tomada como positiva	Cambio de coloración después de dos minutos de llevar cabo la prueba. Para el HNO ₃ : Color amarillo o rojo quemado y para el FeCl ₃ : coloración azul o verde.		
Número de ensayos	n=10		
Parámetro	Valor obtenido en la validación	Criterio de aceptación	Decisión
Precisión índice de falsos positivos (I.F.P) índice de falsos negativos (I.F.N)	0% I.F.P para los MRI: A, B, C y D en las disoluciones de FeCl ₃ 0.1 M y HNO ₃ al 60% v/v; 100% I.F.P para los MRI: A, B, C y D en las disoluciones de HNO ₃ al 10% y HNO ₃ al 30% v/v	I.F.P ≤ 30%	Los MRI: A, B, C y D cumplen únicamente para las disoluciones de FeCl ₃ 0.1 M y HNO ₃ al 60% v/v
	0% I.F.N para los MRI: A, B, C y D en las disoluciones de FeCl ₃ 0.1 M y HNO ₃ al 60% v/v; 100% I.F.N para los MRI: A, B, C y D en las disoluciones de HNO ₃ al 10% y HNO ₃ al 30% v/v	I.F.N ≤ 30%	Los MRI: A, B, C y D cumplen únicamente para las disoluciones de FeCl ₃ 0.1 M y HNO ₃ al 60% v/v
Sensibilidad diagnóstica (S.D)	100% para los MRI: A, B, C y D en las disoluciones de FeCl ₃ 0.1 M y HNO ₃ al 60% v/v; 0% para los MRI: A, B, C y D en las disoluciones de HNO ₃ al 10% y HNO ₃ al 30% v/v	S.D ≥ 70%	Los MRI: A, B, C y D cumplen únicamente para las disoluciones de FeCl ₃ 0.1 M y HNO ₃ al 60% v/v
Especificidad diagnóstica (E.D)	100% para los MRI: A, B, C y D en las disoluciones de FeCl ₃ 0.1 M y HNO ₃ al 60% v/v; 0% para los MRI: A, B, C y D en las disoluciones de HNO ₃ al 10% y HNO ₃ al 30% v/v	E.D ≥ 80%	Los MRI: A, B, C y D cumplen únicamente para las disoluciones de FeCl ₃ 0.1 M y HNO ₃ al 60% v/v

Como se observa en la tabla anterior, la validación para los MRI: A, B, C y D con las disoluciones de FeCl₃ 0.1 M y HNO₃ al 60% v/v fue exitosa, ya que los parámetros determinados cumplen con los criterios de aceptación por lo que la prueba cumplirá con su función de identificar el grupo fenol de sustancias controladas a las condiciones especificadas y con los MRI empleados.

17.4 Identificación de indicios físicos

17.4.1 Protocolo de ICFT

A continuación, se presentan los resultados de la validación y el registro fotográfico de cada prueba. Se emplearon siete MRI de fibras textiles: Nylon, algodón, poliéster, polipropileno, lana, rayón y lino, de cada fibra se conocía la identidad gracias a la etiqueta que acompañaba a la prenda de la cual se tomó la muestra de cada una de las fibras. Las disoluciones empleadas fueron: HCl 30% (v/v), H₂SO₄ 60% (v/v), NaClO 10 % (v/v).

17.4.2 Prueba de solubilidad

En la Figura 13 se muestra el diagrama de la experimental final con las adaptaciones que se le realizaron.

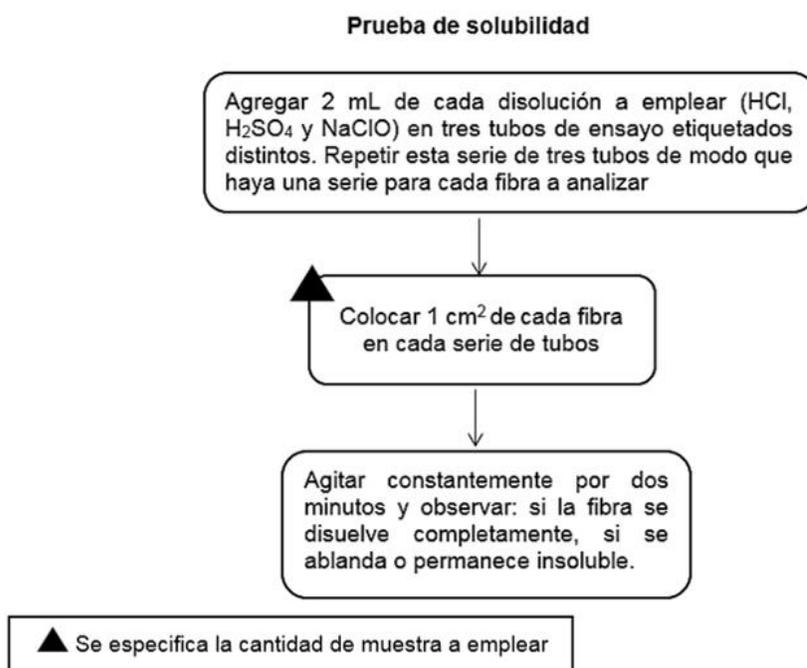


Figura 13. Diagrama experimental final para la prueba de solubilidad de fibras textiles

Como se observa en la figura anterior, el procedimiento experimental para la prueba de solubilidad no sufrió más que una modificación, la cual fue: puntualizar la cantidad mínima de MRI a emplear ya que en la experimentación exploratoria se descubrió que con cantidades de MRI menores a 1 cm² se empezaban a presentar

comportamientos anómalos como falsos negativos, esto debido a la relación entre la concentración de las disoluciones empleadas; la composición y cantidad de cada MRI. Los resultados de la validación para la prueba de solubilidad se resumen en la Tabla 21.

Tabla 21. Resultados de validación para la prueba de solubilidad de fibras textiles

Cualidad tomada como positiva	Que la MRI se disuelva después de estar en contacto 10 minutos con la disolución dada.		
Número de ensayos	n=10		
Parámetro	Valor obtenido en la validación	Criterio de aceptación	Decisión
Precisión	índice de falsos positivos 0% IFP para todos los MRI en todas las disoluciones excepto para rayón en HCl	IFP \leq 30%	Todos cumplen, excepto rayón en HCl
	índice de falsos negativos 0% IFN para todos los MRI en todas las disoluciones excepto para algodón y lino en HCl	IFN \leq 30%	Todos cumplen, excepto algodón y lino en HCl
Sensibilidad diagnóstica (S.D)	100% todos los MRI en todas las disoluciones excepto para algodón, lino y rayón en HCl	SD \geq 70%	Todos cumplen, excepto algodón, lino y rayón en HCl
Especificidad diagnóstica (E.D)	100% todos los MRI en todas las disoluciones excepto para algodón, lino y rayón en HCl	ED \geq 80%	Todos cumplen, excepto algodón, lino y rayón en HCl

En la validación de esta prueba se obtuvo un valor general de 0% para el índice de falsos positivos y falsos negativos con las excepciones del rayón, algodón y lino esto indica que esta prueba tiene en general una precisión para la identificación cualitativa adecuada, en cuanto a las excepciones fueron debidas a la concentración de la disolución de HCl ya que según la literatura (COAT, 2018) estas tres fibras son solubles en ácidos concentrados fríos, la disolución utilizada en la validación contenía HCl al 30% (v/v). Los resultados de la validación demuestran que para las fibras de rayón, lino y algodón se requiere una disolución de HCl más concentrada para disolverlos, al aumentar la concentración del HCl es posible que en una validación posterior estas tres MRI: lino, rayón y algodón cumplan con el criterio de aceptación.

En cuanto a los parámetros de sensibilidad y especificidad diagnóstica todos los MRI en las disoluciones de H_2SO_4 y $NaClO$ obtuvieron valores de 100% en cambio para la disolución de HCl los MRI de lino, algodón y rayón tuvieron un valor de 0% por lo que únicamente estas MRI en la disolución de HCl no cumplieron con el parámetro de aceptación. Esto también debido a la concentración del HCl .

La prueba cumplió para la mayoría de los MRI y disoluciones con la validación, en cuanto los MRI y disoluciones que no cumplieron con la validación, se recomienda aumentar la concentración de la disolución de HCl y volver validar la prueba siguiendo el mismo plan de validación, hasta entonces, no se deberá emplear los MRI de lino, algodón y rayón en la prueba de solubilidad con el HCl al 30% (v/v).

En las Figuras 14, de izquierda a derecha fibras de lana y lino en una disolución de $NaClO$ al 10%



Figura 14. Fibras de lana y lino (de izq. a der.) en una disolución de $NaClO$ al 10%

En las Figuras 15, de izquierda a derecha fibras de Nylon y algodón en una disolución de HCl al 35%, el Nylon se disolvió por completo en esta disolución mientras el algodón se mantuvo igual



Figura 15. Nylon y algodón (izq. a der.) en disolución de HCl 35%

17.4.3 Prueba de combustión

La segunda prueba que compone el protocolo de identificación de fibras textiles es la prueba de combustión. En esta prueba se emplearon los mismos siete MRI utilizadas en la prueba de solubilidad. A continuación, se muestra el diagrama experimental final que se validó.

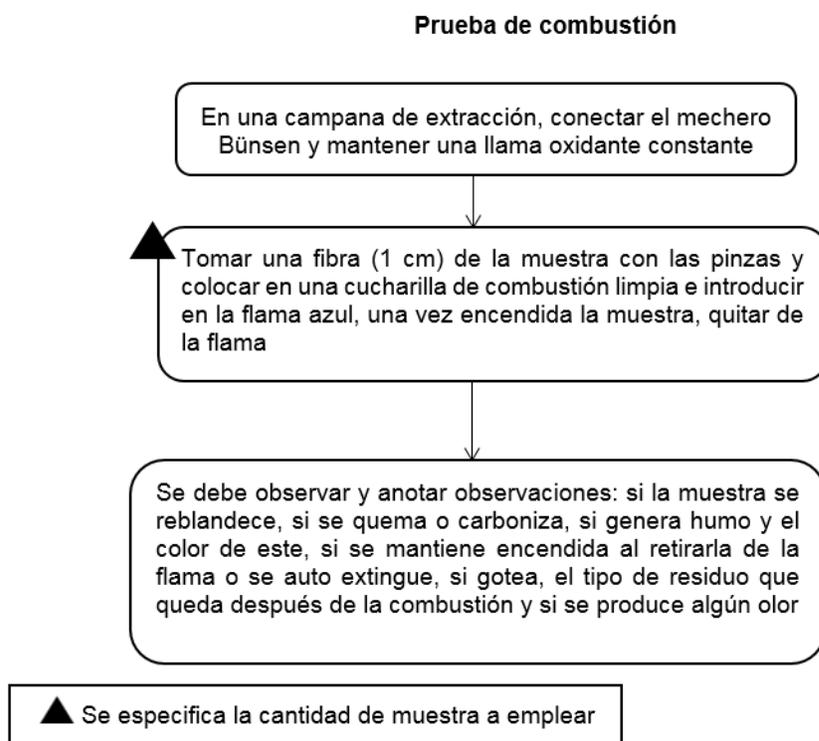


Figura 16. Diagrama experimental final para la prueba de combustión de fibras textiles

La única modificación que se adoptó en la prueba fue especificar el tamaño mínimo del MRI, se probó con porciones de MRI grandes y pequeñas y se observó que cuando se empleaban porciones mayores a 1 cm² se obtenían los mismos resultados que cuando se empleaban porciones de 1 cm², en cambio, cuando se empleaban porciones menores a 1 cm² la combustión y sus características ocurrían más rápido de lo que se podía observar, dando pie a falsos positivos y negativos. Los resultados de la validación se muestran en la Tabla 22.

Tabla 22. Resultados de la validación de la prueba de combustión de fibras textiles

Cualidad tomada como positiva	Que la MRI presente cuatro de seis características teóricas de combustión (color de flama, color de humo, olor de humo, si es auto extingible, si se quema o carboniza y si gotea)		
Número de ensayos	n=10		
Parámetro	Valor obtenido en la validación	Criterio de aceptación	Decisión
Sensibilidad diagnóstica (S.D)	100% para cada fibra excepto para el rayón y polipropileno	S.D \leq 80%	Todos cumplen excepto el rayón* y el polipropileno**
Especificidad diagnóstica (E.D)	100% para cada fibra excepto para el rayón y polipropileno	E.D \leq 80%	Todos cumplen excepto el rayón* y el polipropileno**
Rayón*	Esta fibra cumplió con una de las seis características teóricas: es auto extingible		
Polipropileno**	Esta fibra cumplió con dos de las seis características teóricas: es auto extingible y se quema en lugar de carbonizarse.		

Se observa en la tabla que la especificidad y sensibilidad diagnóstica de cada MRI se obtuvo un valor de 100% que cumple con el criterio de aceptación de cada parámetro (valor \geq 70%), las únicas MRI que tuvieron un valor inferior al criterio de aceptación fueron el rayón y polipropileno, como, la mayoría de los MRI estuvieron dentro del criterio de aceptación, esta prueba cumple con su propósito de identificar características de combustión en fibras textiles, en el caso de los MRI que no cumplieron la validación se puede volver a validar asegurándose de la identidad de los MRI ya que de ahí dependen las cualidades de combustión, evitar emplear en la validación futura MRI compuestas por mezclas ya presentan cualidades de combustión mixtas y pueden presentar resultados confusos por lo que no se deben emplear.

En la Figura 17 observamos la diferencia entre el residuo de dos fibras después de la combustión y su comparación con su correspondiente fibra intacta. La apariencia del residuo también es una característica de combustión y se evaluó en la validación.



Figura 17. Prueba de combustión para algodón y Nylon (izq. a der.)

17.5 Protocolo de ICP

Los resultados de la validación se presentan para las dos pruebas que constituyen el protocolo, así como el análisis correspondiente a la validación de cada una de ellas y el registro fotográfico de cada una. Los MRI empleados fueron seis: PET, PS, HIPS, PP, HDPE, PFA cada una se identificó según su número de código de clasificación para reciclado y las disoluciones utilizadas fueron: isopropanol 20 %. Isopropanol 60%, NaOH 10%, NaOH 20%, NaOH 50% (volumen/volumen respectivamente).

17.5.1 Resultados de validación: Prueba de densidad

Se muestra en la Figura 18 el diagrama del protocolo final. Las modificaciones que se realizaron a este protocolo fueron dos: el tamaño del MRI empleado, en la experimentación realizada se determinó que 1 cm^2 es la porción de MRI mínima con la que se puede trabajar sin alterar los resultados (debidos a la tensión superficial de las disoluciones empleadas), determinar la porción mínima de MRI a emplear es importante ya que en la práctica forense los indicios de este tipo generalmente se encuentran en cantidades pequeñas, al conocer la porción mínima de muestra que se puede analizar con esta prueba es posible decidir si es aplicable a la práctica forense. La segunda modificación se hizo respecto a la indicación de

que después de poner en contacto la MRI con la disolución dada se debían vencer las fuerzas de tensión superficial, ya que en las disoluciones empleadas estas fuerzas eran lo suficientemente grandes para sostener a la MRI lo que daba pie a falsos positivos.

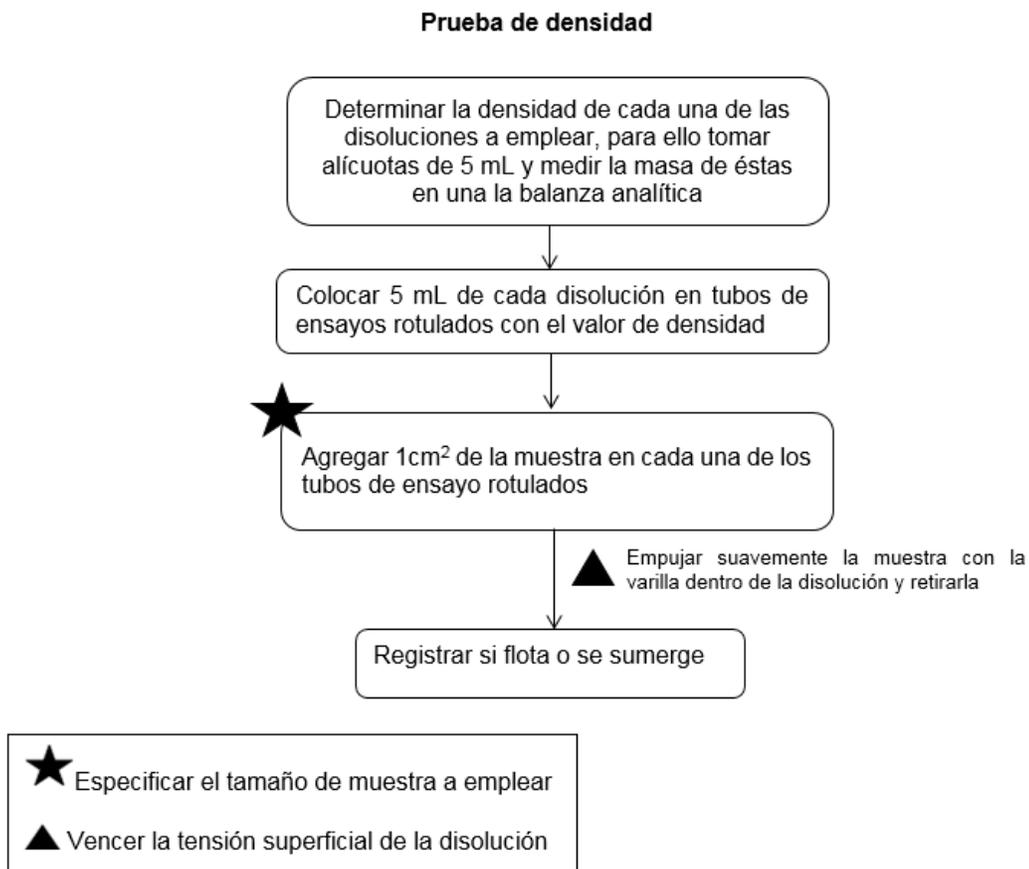


Figura 18. Diagrama experimental final de la prueba de densidad para polímeros

En la Tabla 23 se muestran los resultados de validación de la prueba de solubilidad. La prueba de densidad cumplió completamente con la validación demostrando que cumplirán con su propósito de determinar la densidad de polímeros bajo las condiciones especificadas, el intervalo de densidad experimental de todos los MRI estuvo en concordancia con la densidad teórica para cada polímero.

Tabla 23. Resultados de la validación de la prueba de densidad para polímeros

Cualidad tomada como positiva	Que la MRI flote en la disolución dada		
Número de ensayos	n=10		
Parámetro	Valor obtenido en la validación	Criterio de aceptación	Decisión
Precisión índice de falsos positivos (I.F.P)	0% I.F.P para todos los polímeros en todas las disoluciones	I.F.P ≤ 30%	Todos cumplen
	0% I.F.P para todos los polímeros en todas las disoluciones	I.F.N ≤ 30%	Todos cumplen
índice de falsos negativos (I.F.N)			
Sensibilidad diagnóstica (S.D)	100% para todos los polímeros en todas las disoluciones	S.D ≥ 70%	Todos cumplen
Especificidad diagnóstica (E.D)	100% para todos los polímeros en todas las disoluciones	E.D ≥ 80%	Todos cumplen

En la Figura 19 se muestra la prueba de densidad de los polímeros: poliestireno de alto impacto (HIPS) y poliestireno de alta densidad (HDPE), se observa como flotan o se hunden dependiendo de la densidad de cada disolución.

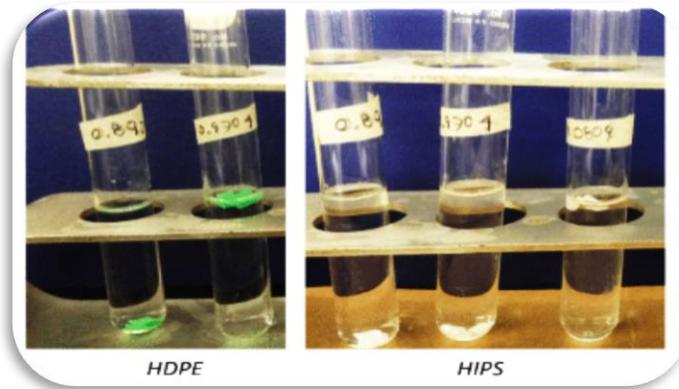


Figura 19. Prueba de densidad de los polímeros: poliestireno de alto impacto (HIPS) y poliestireno de alta densidad (HDPE)

17.5.2 Prueba de combustión

Es la segunda prueba del protocolo de identificación de polímeros, y se emplearon las mismas seis MRI muestras de polímero que en la prueba de densidad. En cuanto al diagrama experimental final que se siguió para la validación es completamente igual al presentado en la Figura 16 sólo que en este caso la muestra es un polímero en lugar de una fibra textil, la cantidad ideal de MRI para efectuar esta prueba es 1cm² de MRI atendiendo a las mismas razones explicadas en los resultados de la validación de combustión de fibras textiles, por lo que resulta innecesario volver a mencionarlas. En la Tabla 24 se muestra el resumen de la validación de esta prueba. De acuerdo con los resultados de la validación, se puede considerar que la prueba cumple con su propósito de identificar características de combustión en muestras de polímeros para todos los MRI. En las Figuras 20 y 21 se muestra el desarrollo de la prueba y los resultados para un polímero en particular

Tabla 24. Resultados de la validación de la prueba de combustión para polímeros

Cualidad tomada como positiva	Que la MRI presente cuatro de seis características teóricas de combustión (color de flama, color de humo, olor de humo, si es auto extinguable, si se quema o carboniza y si gotea)		
Número de ensayos	n=10		
Parámetro	Valor obtenido en la validación	Criterio de aceptación	Decisión
Sensibilidad diagnóstica (S.D)	100% para cada fibra	S.D ≥ 80%	Todos cumplen
Especificidad diagnóstica (E.D)	100% para cada fibra	E.D ≥ 80%	Todos cumplen

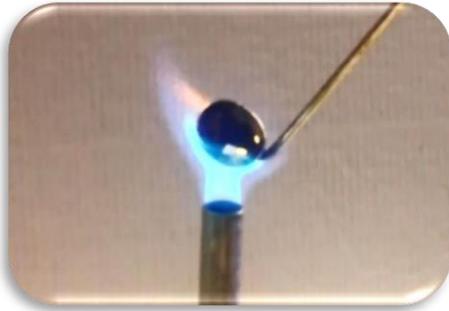


Figura 20. MRI de poliestireno de alto impacto (HIPS) en contacto directo con la llama



Figura 21. Comparación de polímero de poliestireno de alto impacto (HIPS) antes de la combustión y el residuo de este después de la combustión.

18. Aplicación frente a grupo

Durante los semestres: 2018-I y 2018-II en la materia terminal Química Analítica Experimental III, se probaron frente a un grupo (por semestre) de quince alumnos los cinco protocolos y el formato de cadena de custodia. Se formaron grupos de trabajo de tres personas y a cada grupo se le asignaron dos protocolos: el de cadena de custodia para que los formatos correspondientes se llenaran según cada tipo de muestra y uno de los cinco protocolos restantes donde sí se analizan muestras.

A lo largo del curso se revisaron periódicamente las bitácoras de cada grupo de alumnos para dar seguimiento al desarrollo experimental de cada protocolo, y del llenado de los formatos correspondientes de cadena de custodia para cada muestra.

Los resultados al final de cada semestre fueron aceptables, se evaluaron los dos principales objetivos de los protocolos los cuales son: el éxito en la identificación o caracterización de las muestras proporcionadas y el aprendizaje de los conceptos y temas relacionados a cada protocolo.

En cuanto al primer objetivo, los diez grupos presentaron un informe final de cada protocolo con sus conclusiones sobre cada uno de ellos, en ocho de los diez

grupos se logró la identificación de las muestras proporcionadas. Los dos grupos que presentaron problemas para determinar la identidad o características de las muestras fueron los que tenían asignados los protocolos: identificación de manchas de sangre (prueba de tinción de corpúsculos de Barr) y el protocolo de identificación de sustancias controladas. Al revisar las posibles causas del fracaso en la identificación o caracterización de las muestras, que estas fueron:

- No seguir instrucciones escritas en el protocolo experimental
- Errores en los cálculos de la concentración de las disoluciones empleadas

Las dificultades anteriores son inherentes de algunos grupos de estudiantes y afortunadamente son fáciles de solucionar.

Para evaluar si los protocolos cumplían con el propósito educativo se les solicitó una evaluación (preguntas abiertas) de su aprendizaje a cargo de las preguntas finales contenidas en cada protocolo, así como la presentación de seminarios para explicar frente al grupo de clase los temas tratados en sus respectivos protocolos, los diez grupos obtuvieron notas aprobatorias en los cuestionarios de sus protocolos y en la presentación y defensa de sus seminarios.

Por último, se les solicitó expresar por escrito su experiencia con el desarrollo de los protocolos, así como modificaciones o sugerencias al respecto, esta última información es de gran utilidad para el mejoramiento de los protocolos y los proyectos futuros relacionados con la propuesta de los protocolos experimentales ya que indica qué tan aplicables y funcionales son en la práctica y, sobre todo, cómo se pueden mejorar y mejorar así la experiencia del estudiante y el docente.

En palabras de los estudiantes de la materia de Química Analítica Experimental III “Crear este tipo de protocolos permite a los estudiantes acercarse a esta faceta de la química, la cual ofrece un campo de trabajo amplio e interesante futuros químicos... permitiéndoles ayudar a implementar la justicia en el país”.

Se observó un incremento del interés por parte de los alumnos en las Ciencias Forenses y la relación de éstas con la Química.

En la Figura 22 se presenta la bitácora generada por los estudiantes del grupo piloto de Química Analítica Experimental III (semestre 2018-II).

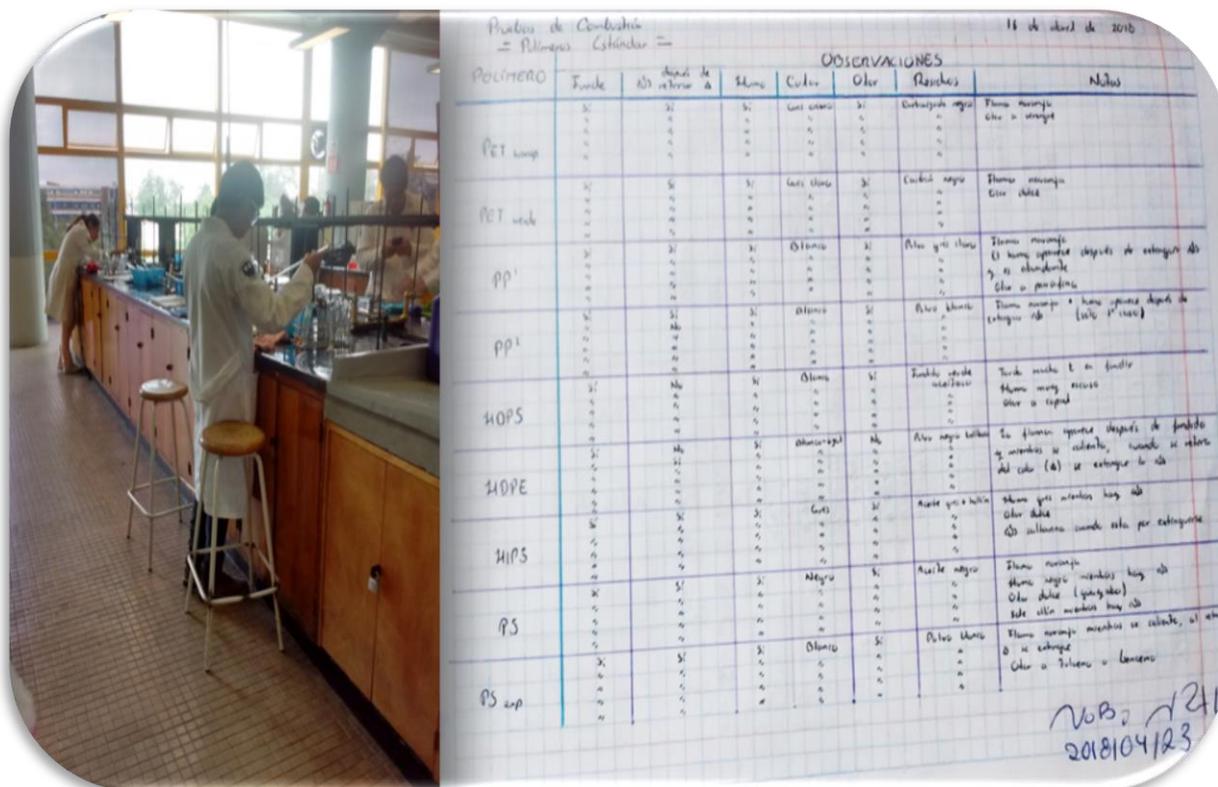


Figura 22. Grupo piloto de Química Analítica Experimental III

Este proyecto fue presentado en la modalidad de Cartel en el 37° Congreso Nacional de Educación Química donde fue expuesto a docentes de varias universidades del país obteniendo opiniones favorables respecto a la utilidad educativa de la propuesta de manual, estos consultaron los protocolos indicando que contenían información suficiente y bien documentada y que las pruebas contenidas en ellos eran interesantes. Algunos alumnos de otras instituciones educativas mostraron un gran interés por la propuesta del manual indicando que en algunas de sus universidades existía la enseñanza de una asignatura de Química Forense a nivel teórico y que era necesario un complemento experimental como este manual, también indicaron que les agradecería tomar una materia experimental sobre Química Forense.

IV. Conclusiones

De acuerdo con el objetivo general planteado, se logró desarrollar la propuesta de seis protocolos experimentales de enseñanza en Química Forense enfocados a la carrera de Química.

La revisión bibliográfica permitió elegir las pruebas más factibles de llevar a cabo en un laboratorio de enseñanza, las cuales incluyeron muestras de distinta naturaleza: biológicas, químicas y físicas. Las cuales fueron adaptadas para llevarse a cabo en laboratorios de enseñanza.

Para asegurar que los protocolos cumplieran con el propósito académico se elaboró e implementó el plan de validación para cada una de las pruebas, evaluando los parámetros de validación cualitativa y cuantitativa

Se logró integrar seis protocolos experimentales como una propuesta de manual, el cual pueden ser reproducidos con la infraestructura de los laboratorios de la Facultad de Química, con una duración de 3-4 horas y donde se aplican los conocimientos adquiridos a lo largo de la carrera como son Química Orgánica, Química Analítica, Química Inorgánica, entre otros. Esta propuesta de manual puede fortalecerse con la adición de protocolos que analicen evidencias tales como: presencia de sustancias controladas en sangre u orina, organismos presentes en cuerpos en descomposición, pruebas de balística, etcétera. En las cuales el profesionista de la química tiene mucho que aportar y representa una amplia oportunidad laboral.

V. Bibliografía

- Alonso, L., & Funch, E. (2006). The hair cycle. *Journal of cell science*, 119(3), 391-393.
- Álvarez, M. D., & Mateos, M. (2010). *Manual de criminalística y ciencias forenses*. Madrid: TÉBAR.
- American Chemical Society. (2005). *What chemist do*. Recuperado el 26 de Marzo de 2018, de <https://www.acs.org/content/dam/acsorg/careers/whatchemistsdo/careers/qu%C3%ADmico-forense.pdf>
- Anandón, M. J., & Robledo, M. (2010). *Manual de criminalística y ciencias forenses*. Madrid: TÉBAR.
- Anastas, P. T., & Warner, J. C. (1988). *Green chemistry. Theory and practice*. London: Oxford University Press.
- Avila, A. G., Bautista, C., Breceda, M., & Escalante, I. (2009). *Manual de prácticas de laboratorio de investigación formativa II*. México: Facultad de Estudios Superiores Iztacala.
- Ballantyne, J. (2000). *Encyclopedia of forensic sciences in three volumes*. Waltham: Academic Press.
- Bell, S. (2012). *Forensic chemistry*. Edinburgh: Prentice Hall.
- Billneyer, F. W. (1978). *Ciencia de los polímeros*. Madrid: Reverté.
- Bower, D. I. (2002). *An introduction to polymer physics*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Brady, J., Li, J., Lee, P. I., & Düring, T. (2009). *Developing solid oral dosage forms. Pharmaceutical theory and practice*. London: Academic Press.
- Bremmer, R. H., De Bruin, K. G., & Van Gemert, M. J. (2012). Forensic quest for age determination of blood stains. *Forensic Science International*, 216(2), 1-11.
- Briard, L. M., & Morichon, D. N. (2006). Anomalías cromosómicas. *EMC-Pediatría*, 41(3), 1-13.
- Buquet, A., & Goldstein, V. (2006). *Manual de criminalística moderna: la ciencia y la investigación de la prueba*. México: Siglo XXI.
- Castelló, A. (2009). *Manual de Química Forense*. Granada: COMARES.
- Castro, C. P. (2017). An overview on forensic analysis devoted to analytical chemist. *Talanta*, 167(15), 181-192.
- COAT. (2018). *Todo sobre fibras textiles*. Recuperado el 6 de Abril de 2018, de <http://languages.coatsindustrial.com/es/information-hub/apparel-expertise/know-about-textile-fibres>
- COFREPIS. (2016). *Estupefacientes, Psicotrópicos y Sustancias Químicas*. Recuperado el 9 de Abril de 2018, de <http://www.cofepris.gob.mx/AS/Paginas/EstupefacientesPsicotropicosYSustancias-Quimicas.aspx>

- Conley, C. L., & Schwartz, R. S. (2018). *Blood Chemistry*. Recuperado el 17 de Mayo de 2018, de <https://www.britannica.com/science/blood-biochemistry>
- Debotton, N., & Dahan, A. (2000). Applications of polymers as pharmaceutical excipients in solid oral dosage forms. *Medicinal Research Reviews*, 37(1), 52-97.
- Deedrick, D. W. (2000). Hairs, fibers, crimen and evidence. *Forensic science communications*, 2(3), 1-8.
- Donachie, G. E., Dawnay, N., Ahmed, R., Naif, S., Duxbury, N. J., & Tribble, N. D. (2015). Assesing the impact of common forensic presuntive tests on the ability to obtain results using a novel rapid DNA plataform. *Forensic Science International: Genetics*, 17(1), 87-90.
- Dupre, D. M. (2013). *Homicide Investigation Field Guide*. Waltham: Academic Press.
- Dutelle, A. W. (2016). *An Introduction to Crime Scene Investigation* (2° Edición ed.). Burlington: Jones & Bartlet Learning.
- Evans, M. M., & Stagner, P. A. (2003). Maintaining the chain of custody. Evidence handling in forensic cases. *AORN Journal*, 78(4), 563-569.
- Facultad de Química, UNAM. (2017). *Facultad de Química*. Recuperado el 24 de Octubre de 2018, de <https://quimica.unam.mx/ensenanza/licenciaturas-de-la-facultad-de-quimica/quimica/>
- Fisher, B. J. (2000). *Techniques of crime scene investigation*. Boca Raton: CRC PRESS.
- Franco de Ambriz, M. (2009). *Hematología Forense y otras técnicas serológicas*. México: Porrúa.
- Gialamas, D. (2000). *Encyclopedia of forensic sciences*. San Diego: Academic Press.
- Houck, M. M., & Siegel, J. A. (2015). *Fundamentals of forensic sciences*. San Diego: Academic Press.
- Houck, M., Crispino, F., & McAdam, T. (2012). *The science of crime scenes*. San Diego: Academic Press.
- Indigent Defense Services. (2017). *Forensic Resources*. Recuperado el 8 de Junio de 2018, de <http://www.ncids.com/forensic/serology/serology.shtml>
- Instituto Nacional de Ciencias Penales. (2013). *Protocolos de Cadena de Custodia. Dos grandes etapas: preservación y procesamiento*. Recuperado el 7 de Mayo de 2018, de http://www.inacipe.gob.mx/stories/publicaciones/descargas_gratuitas/ProtocolosdeCadenadeCustodia.pdf
- James, S. h., Nordby, J. J., & Bell, S. (2003). *Forensic Science: an introductionto scientific an investigative techniques*. CRC PRESS.
- Johll, M. E. (2008). *Química e investigación criminal: una perspectiva de la ciencia forense*. Barcelona: Reverté.
- Kanu, B., Pajski, M., Hartman, M., & Kimaru, I. (2015). Exploring Perspectives and Identifying Potential Challenges Encountered with Crime Scene Investigations when Develolping Chemistry Curricula. *Journal of Chemical Education*, 92(18), 1353-1358.

- Katz, D. A. (2017). *Drug testing*. Recuperado el 2017 de Diciembre de 7, de <http://www.chymist.com/DRUG%20TESTING.pdf>
- Katz, D. A. (2017). *Hair Analysis*. Recuperado el 4 de Diciembre de 2017, de <http://www.chymist.com/HAIR%20ANALYSIS.pdf>
- Katz, D. A. (2017). *Polymer identification*. Recuperado el 5 de Diciembre de 2017, de <http://www.chymist.com/Polymer%20Identification.pdf>
- Kintz, P. (1996). *Drug testing in hair*. Boca Ratón: CRC Press.
- Kronstrand, R., Forsmnban, M., & Seldén, T. (2018). *Hair analysis in Clinical and Forensic Toxicology*. Waltham: Academic Press.
- Kůcera, J., Kameník, J., & Havránek, V. (2018). Hair analysis for forensic science using nuclear and related analytical methods. *Forensic Chemistry*, 7(1), 65-74.
- Locard, E. (1930). *Traité de criminalistique*. Lyon: J. Desvigne et ses fils.
- Martínez de las Marías, P. (1972). *Química y física de los altos polímeros y materias plásticas*. Madrid: Alhambra.
- Morrillas, P. P. (2016). *La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados*. Recuperado el 8 de Junio de 2018, de https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf
- Morrison, R. T., & Boyd, R. N. (1987). *Química Orgánica*. México: Adison Wesley Iberoamericana.
- National Institute of Justice, U.S. (2015). *Kits for Preliminary Identification of Drugs Abuse*. United States of America: Dept. of Justice, Oficce of Justice Program U.S.
- Nieto, J. (2007). *Apuntes de criminalística*. Madrid: Práctica Jurídica.
- Organización Mundial de la Salud. (2011). *Concetraciones de hemoglobina para diagnosticar la anemia y evaluar su gravedad*. Recuperado el 13 de Marzo de 2018, de <http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglob>
- Paus, R., & Cotsarelis, G. (1999). The biology of hair follicles. *The New England Journal of Medicine*, 341(7), 491-497.
- Pergament, D. (1999). It's no just hair: Historical and Cultural Considerations for Emerging Technology. *The Chicago-Kent Law Review*, 75(1), 41-60.
- Petherick, W., & Rowan, A. (2015). *Applied Crime Analysis. A social Science Approach to understanding Crime, Criminals and Victims*. Waltham: Academic Press.
- Philip, M., & Fu, S. (2017). A review of chemical 'spot' tests: A presumptive illicit drug identification techniques. *Drug testing and Analysis*, 10(1), 95-108.
- Reyes, H. (2016). El impacto jurídico de las pruebas presuntivas. *Revista Ciencias Forenses de Honduras*, 2(2), 2.
- Rosas, R. S. (2001). *Glosario criminológico*. México: Grupo Editorial Universitario.
- Schwarz, F. (1937). Quantitative untersuchngen der katalase und peroxydase im blufleck. *Int.J.Legal Med.*, 1-34.
- Secretaría de Gobernación (SEGOB). (2017). *Guía Nacional de Cadena de Custodia*. Recuperado el 2 de Mayo de 2018, de

<http://www.secretariadoejecutivo.gob.mx/docs/pdfs/normateca/protocolos/VF10GuaNacionalCadenadeustodia28-10-2015.pdf>

- Seymour, R. B., & Kauffman, G. B. (1993). The ubiquity and longevity fibers. *Journal of Chemical Education*, 70(6), 399-449.
- Verdú, F., Álvarez, M., Castelló, A., Miquel, M., Negrete, C., & Rodríguez, H. (2006). *Del indicio a la evidencia. Técnicas de criminalística*. Granada: Comares.
- Villanueva, J., & Matamoros, M. (2017). Ciencias Forenses y Pruebas Presuntivas. *Revista de Ciencias Forenses de Honduras*, 2(2), 1-2.
- Villegas, M., Acevedo, M., Miranda, J., & Pinto, E. (2005). Validación de técnicas para detección de sangre, sangre humana y grupo sanguíneo ABO en diferentes soportes y condiciones con fines forenses. *Cuadernos de Medicina Forense*, 11(42), 267-274.
- Wells, D. (2012). *National Institute of Justice*. Recuperado el 2 de Noviembre de 2017, de Forensic DNA: <https://www.nij.gov/journals/269/pages/inbrief.aspx>
- Zajaczkowski, R. E. (1998). *Manual de criminalística*. Buenos Aires: Ediciones Ciudad Argentina.

Anexo I

Características teóricas de combustión de polímeros

Tabla A. Características teóricas de combustión para la identificación de polímeros

Polímero o fibra textil	Color flama	Color del humo	Olor del humo	Auto extinguiible	Se quema o carboniza	Gotea
Polipropileno (PP)	Azul	Blanco	Parafina	No	Quema	Sí
Poliestireno (PS)	Amarillo	Negro	Dulce	No	Se carboniza	No
Tereftalato de polietileno (PET)	Amarillo	Blanco	Fragante	No	Quema	Si
Poliestireno de alto impacto (HIPS)	Naranja	Negro	Irritante	No	Quema	No
Polietileno de alta densidad (HDPE)	Naranja	Blanco	Irritante	No	Carboniza	No
Poliestireno expandido (EPS)	Amarillo	Negro	Llanta	No	Carboniza	No
Policarbonato (PC)	Amarilla	Blanco	Irritante	Si	Quema	No
Fenol-formaldehído (PF)	Amarillo	Negro	Irritante a madera	Si	Quema	No
Perfluoroalcoxi (PFA)	Azul	Blanco	Parafina	Si	Quema	Si

Obtenida de <http://iesodrapisuerga.centros.educa.jcyl.es/sitio/upload/img/tabla.jpg>.

Anexo II

Unidad I

Cadena de Custodia



Introducción a la Unidad I

CADENA DE CUSTODIA

Antecedentes

Atendiendo al carácter multidisciplinario de las ciencias forenses, la criminalística que la Asociación de Criminalistas de California describe como: “la profesión y disciplina científica dirigida hacia el reconocimiento, la identificación, la individualización y la evaluación de la evidencia física mediante la aplicación de las ciencias naturales a los asuntos de la ciencia jurídica” (Gialamas, 2000) es la que se encarga pues de unificar y hacer trabajar a las ciencias forenses para que en conjunto puedan encontrar, preservar e identificar cualquier rastro o indicio dejado por un presunto criminal. Una herramienta fundamental de la criminalística es la química forense. Esta ciencia al igual que otras emplea una terminología particular relacionada a la ciencia jurídica y química por lo que es importante que los químicos forenses estén familiarizados con esta terminología así que a continuación se definen algunos términos importantes (Secretaría de Gobernación, 2017).

Cadena de custodia: Es el registro fiel del curso seguido por los indicios o evidencia desde su descubrimiento por parte de una autoridad, policía o agente del Ministerio Público, hasta que la autoridad competente ordene su conclusión. Generalmente hay dos cadenas de custodia, una externa que comprende del lugar de la toma de muestra hasta el ingreso al laboratorio y la interna que custodia la muestra dentro del laboratorio.

Lugar de los hechos: Es el espacio material o escena del crimen donde presuntamente se cometió el delito que se investiga y que por ello puede contar con evidencias relacionadas con la investigación.

Lugar del hallazgo: Es el espacio material donde se encuentran elementos que pueden ser considerados como evidencias en la integración de una investigación por la comisión de un delito.

Indicio o evidencia: Son las huellas, los vestigios y demás elementos materiales del hecho delictuoso, que puedan encontrarse en el lugar de los hechos y/o lugar del hallazgo y que por sus características pueden tener alguna relación con la comisión del delito que se investiga.

Prueba: Evidencia integrada a una averiguación previa a la cual la autoridad competente le ha otorgado valor judicial.

Obtenidos de (Verdú, et al., 2006) y (Instituto Nacional de Ciencias Penales, 2013).

Una parte importante de las ciencias forenses es la cadena de custodia, que permite conocer la trazabilidad de cada indicio recolectado en la escena de un crimen y con ello garantiza la calidad de un indicio para emplearse como una prueba (Instituto Nacional de Ciencias Penales, 2013).

La Cadena de Custodia se divide en varias etapas dentro de las que podemos mencionar las siguientes:

1. Protección y preservación del lugar de los hechos y/o del hallazgo.
2. Procesamiento de los indicios o evidencias.
3. Entrega al Ministerio Público de los indicios o evidencias e integración de la Carpeta de la Investigación.

Estas tres primeras corresponden a la cadena externa de custodia y las siguientes a la cadena interna de custodia.

4. Manejo de los indicios o evidencias en los laboratorios.
5. Manejo de los indicios o evidencias en el área de almacenamiento.

Proceso de registro de los indicios o evidencias.

1. Una vez localizado cada indicio o evidencia se iniciará el proceso para su registro asignándole el número que le corresponda en todo el procedimiento penal, anotando en una tarjeta, etiqueta u otro medio.
2. Deben protegerse los indicios o evidencias que se encuentren a la intemperie.
3. Hacer un inventario de los mismos, con su descripción y el estado en que se encontraron.
4. Llevar a cabo el levantamiento de acuerdo con los protocolos establecidos en la investigación criminalística.
5. Embalar las evidencias inventariadas en el empaque o contenedor adecuado, debidamente cerrado y etiquetado.

Objetivo

Aplicar los formatos de cadena de custodia empleando la información obtenida de las muestras y las escenas del crimen proporcionadas.

Escenario

Tomar el escenario de los siguientes protocolos, según se vayan realizando.

Equipos, materiales y reactivos

Material	Reactivos
<ul style="list-style-type: none">• Espátula• Pinzas de disección• Hisopos estériles• Parafilm®	<ul style="list-style-type: none">• Bolsas de plástico transparentes y de papel de distintos tamaños• Cinta Maskin• Frascos de vidrio opaco con tapa de distinto tamaño

Actividad Experimental

Observación preliminar

Haga una descripción detallada de la escena del crimen de su elección recolectando toda la información posible. Registrar dicha información en cada uno de los formatos ofrecidos en la sección de resultados dependiendo de la información recolectada.

Tomar en cuenta que los distintos tipos de indicios requieren una preservación y almacenamiento de muestra específico.

Integración y discusión de resultados

FORMATO DE CADENA DE CUSTODIA DE INDICIOS O EVIDENCIAS

1. INFORMACIÓN GENERAL

FORMATO DE CADENA DE CUSTODIA correspondiente a la unidad _____ y el protocolo _____ Código de identificación _____

a) Lugar de los hechos

Fecha y hora re la recolección de muestra	
Calle	
Colonia	
Código Postal	
Del. o Municipio	
Entidad federativa	

b) Croquis del lugar de la investigación

--

c) Observaciones sobre el lugar de los hechos

Acordonamiento	Si ()	No ()
Levantamiento fotográfico o video	Si ()	No ()
Alteraciones evidentes	Si ()	No ()
Descripción de las alteraciones evidentes		

d) Información obtenida sobre el lugar de los hechos y su relación con las evidencias

--

2. ENTREGA DE INDICIOS O EVIDENCIAS

a) Listado e identificación de indicios o evidencias

No. de indicios o evidencias	Descripción de indicios o evidencias	Estado en que fue encontrado	Fecha recolección

b) Recolección o levantamiento de indicios o evidencias

Describir la forma en que se realizó:

c) Medidas tomadas para preservar la integridad del indicio o evidencia

--

3. EMBALAJE DE LOS INDICIOS O EVIDENCIAS*

a) Tipo de embalaje (plástico, papel u otro)
b) Tiene etiqueta Si () No ()
c) Documentos que acompañan la evidencia
d) Observaciones al estado en las que se entrega la evidencia (fecha, hora y etiquetado e identificación apropiados)
e) Observaciones al estado en las que se recibe la evidencia (fecha, hora y etiquetado e identificación apropiados)

** Este rubro se llena para cada uno de los indicios.*

4. TRANSPORTE O TRASLADO DE LOS INDICIOS O EVIDENCIAS

a) Tipo
b) Condiciones en las que se realizó el traslado

5. RECEPCIÓN DE LA EVIDENCIA (LABORATORIO DE ANÁLISIS)

a) Nombre de la persona que lo entrega
b) Nombre de la persona que lo recibe
c) Laboratorio donde se analizará
d) Nombre y descripción breve de las pruebas que se le practicarán
e) Observaciones al estado en las que se recibe la evidencia (fecha, hora y etiquetado e identificación apropiados)

6. FORMATO DE ETIQUETA O ROTULO DE INDICIOS O EVIDENCIAS

No. del indicio o evidencia _____ Código del formato de cadena de custodia _____
Fecha: _____ Hora: _____
Descripción general del indicio o evidencia.

Nombre de quién recolecta el indicio o evidencia.

Questionario

- a) ¿Se encontraron todos los datos para el adecuado llenado de los formatos?
- b) ¿Por qué los distintos indicios deben llevar una cadena de custodia diferente?
- c) ¿Según lo observado cuál es la importancia de la cadena de custodia?
- d) ¿Qué indicios requieren más condiciones de embalaje y transporte?, ¿Por qué?

Disposición de residuos

Residuos generados	Tratamiento
Materiales con RPBI	Los materiales con sangre se deben desechar como RPBI
Materiales orgánicos sin halógenos y metales pesados	Empacar en bolsas de plástico y enviar a incineración.

Bibliografía

Gialamas, D. (2000). *Encyclopedia of forensic sciences*. San Diego: Academic Press.

Instituto Nacional de Ciencias Penales. (2013). *Protocolos de Cadena de Custodia. Dos grandes etapas: preservación y procesamiento*. Recuperado el 7 de Mayo de 2018, de http://www.inacipe.gob.mx/stories/publicaciones/descargas_gratuitas/ProtocolosdeCadenadeCustodia.pdf

Nieto, J. (2007). *Apuntes de criminalística*. Madrid: Práctica Jurídica.

Secretaría de Gobernación (SEGOB). (2017). *Guía Nacional de Cadena de Custodia*. Recuperado el 2 de Mayo de 2018, de <http://www.secretariadoejecutivo.gob.mx/docs/pdfs/normateca/protocolos/VF10GuaNacionalCadenadeustodia28-10-2015.pdf>

Verdú, F., Álvarez, M., Castelló, A., Miquel, M., Negrete, C., & Rodríguez, H. (2006). *Del indicio a la evidencia. Técnicas de criminalística*. Granada: Comares.

Anexo III

Unidad II

Evidencias Biológicas



Introducción a la Unidad II

Un indicio se puede definir como una circunstancia que permite inducir una prueba. Existen distintos tipos de indicios, uno de ellos son los indicios de pruebas materiales, que se identifican como aquellos rastros, manchas y restos encontrados en una escena de crimen. Los indicios pueden provenir del lugar de los hechos, de la víctima o del autor del crimen y su ambiente. Según su implicación se pueden definir como (Nieto, 2007):

- Rastros no determinantes. Se denominan de esta forma porque no muestran una relación obvia con el autor de dicha evidencia; principalmente son de naturaleza química y permiten una caracterización inicial y, en algunos casos, un análisis completo. Pueden tener un origen biológico (humano, animal o vegetal) o mineral.
- Rastros determinantes. Los cuales conservan una relación interpretable con el hombre u objeto del que provienen. Son de naturaleza física y generalmente son producidos por frotamiento, raspado, arrancamiento, etc.

Los rastros de orina, cabello, sangre o saliva son un indicio de origen biológico de gran importancia médico-legal para los científicos forenses ya que permiten obtener información amplia del crimen, conocer su desarrollo proporcionando evidencias para interpretar el movimiento de la víctima y/o victimario además de hacer posible la identificación del origen de la muestra mediante una prueba de individualización que emplea ADN generando una prueba fehaciente a favor o en contra del presunto culpable (Houck, et al.,2012).

Objetivos generales de esta unidad

- Aplicar las bases de cadena de custodia para la toma de muestras biológicas.
- Analizar dos técnicas de detección de presencia de sangre y sus posibles interferencias.
- Evaluar la comparación microscópica de pelo.

Protocolo 1: IDENTIFICACIÓN DE MANCHAS DE SANGRE

Antecedentes

La sangre es un tejido líquido de composición compleja que circula a través del cuerpo de los mamíferos, incluido el hombre y constituye aproximadamente el 8% del peso corporal. Está formada por partículas sólidas (eritrocitos, leucocitos y trombocitos), una fracción líquida (plasma), varias enzimas y proteínas. Dentro de las proteínas, la de mayor interés forense es la hemoglobina ya que muchas pruebas de identificación de sangre se basan en su composición y reactividad (Franco de Ambriz, 2009).

La identificación adecuada de una mancha de sangre requiere de diversas etapas de análisis:

- Pruebas presuntivas o de orientación
- Pruebas de confirmación
- Determinación del origen de la muestra
- Determinación del grupo sanguíneo
- Determinación de enzimas y proteínas
- Identificación forense (ADN)

Pruebas presuntivas o de orientación

De forma general, las pruebas presuntivas para la identificación de sangre se basan en el mismo tipo de reacción química, independientemente de los reactivos utilizados. Dichas pruebas se basan en la actividad enzimática tipo peroxidasa que posee el grupo hemo de la hemoglobina, el cual en presencia de un oxidante como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) reacciona provocando el cambio de color de la forma reducida a la oxidada.

En este caso, se empleará la técnica de Kastle-Meyer (Zajaczkowski, 1998) como prueba presuntiva la cual utiliza fenofalina como especie sensible (indicadora), la fenofalina se obtiene de reducir la fenofaleína en medio básico y, en su forma oxidada (en medio básico) presenta un color rosa intenso mientras que en su forma reducida (en medio básico) es incolora. En la Figura 1 observamos el equilibrio redox de la fenofalina.

La desventaja de este tipo de pruebas es que la actividad catalítica no es exclusiva de la hemoglobina dando pie a la existencia de falsos positivos, debido a lo anterior un resultado positivo de esta prueba se debe respaldar mediante una prueba de confirmación.

Pruebas de confirmación

Las pruebas de certeza tradicionales son muy específicas, pero con poca sensibilidad y se basan en la comprobación de los componentes de la sangre en la muestra. Dentro de las técnicas modernas de confirmación se encuentran las llamadas técnicas microquímicas o cristalográficas en las que se somete la mancha a la acción de diversos reactivos con el fin de obtener derivados específicos de la hemoglobina, que poseen colores y formas cristalinas diferentes que pueden ser identificados al observarse en el microscopio, lo cual

permite asegurar la naturaleza sanguínea de la muestra. Entre las más empleadas se encuentran las pruebas de Takayama y la de Teichmann.

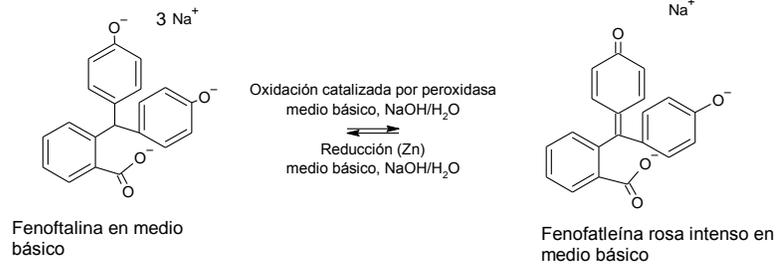


Figura 1. Equilibrio redox de la fenofaltalina en medio básico¹

La prueba de Takayama (Zajaczkowski, 1998), utiliza piridina para complejar con el hierro del grupo hemo y formar un cristal rojo-rosa de ferroprotoporfirina de piridina, Figura 2. En las manchas de sangre el ion hierro en el grupo hemo presenta un estado de oxidación +2, por lo que primero debe oxidarse a un estado de oxidación +3 mediante un azúcar reductor como lo es la glucosa.

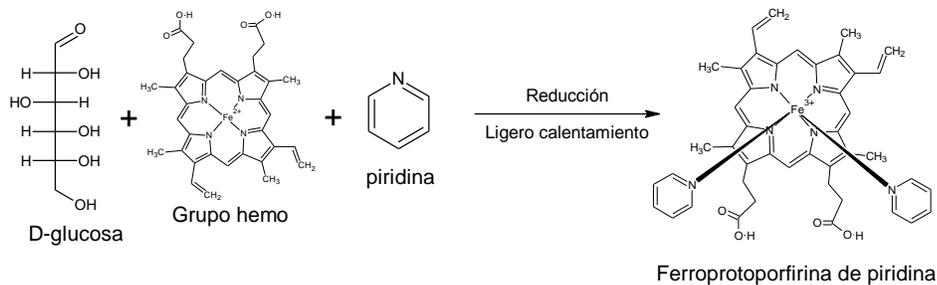


Figura 2. Formación de cristales de ferroprotoporfirina

¹ Fenofaltalina es el nombre de la forma reducida de la fenofaltalina

Objetivos

- Determinar si las muestras obtenidas de la escena del crimen contienen sangre mediante las pruebas Kastle-Meyer y Takayama
- Emitir una declaratoria respecto a la presencia de sangre en las muestras una vez que estas sean analizadas mediante las pruebas presuntiva y confirmatoria.

Escenario

El domingo 25 de enero de 2009 fue detenido Santiago Meza López “El Pozolero”, en Tijuana. Un hombre bajo, de pelo corto color negro azabache, cejas espesas, facciones abigarradas y barriga protuberante. Trabajaba para el crimen organizado, desempeñando la labor de pozolero (en el lenguaje del narco el pozolero es quien disuelve los cadáveres). El interrogatorio duró menos de cinco minutos y, aunque cortante y escueto, Meza López respondió todo lo que le preguntaron. Así, se supo que entre sus víctimas no había niños ni mujeres y que por su trabajo recibía 600 dólares al mes. Dijo que disolvió a 300 víctimas

durante los 10 años que practicó el oficio. El principal componente era la sosa cáustica. El método de cocción, a fuego alto durante un día entero. La capacidad por semana, de tres cuerpos.

En la escena de la captura se encontraron rastros presumiblemente de sangre la cual los peritos trataran de identificar. Al laboratorio forense llegaron seis muestras para la identificación de sangre, así como indicios de otro tipo.

Equipos, materiales y reactivos

Material	Reactivos*
<ul style="list-style-type: none"> • Espátula • Placa de pruebas de porcelana o placas de vidrio • Hisopos estériles • Matraz de fondo plano de 25 mL • Parrilla con agitación magnética con mosca • Pipetas beral o goteros • Micropipeta de 50 µL • Probeta de 10 mL • Condensador con mangueras • Microscopio • Portaobjetos y cubreobjetos. • Mechero Bunsen 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada • Fenolftaleína • Hidróxido de sodio en hojuelas • Zinc en polvo • Peróxido de hidrógeno (30% v/v) • Piridina Glucosa

*La tabla de código de riesgos según el SGA para los reactivos empleados se puede consultar al final de los protocolos en el Anexo VI.

Antes de iniciar la actividad experimental se deben preparar las disoluciones de reactivos correspondientes a cada prueba. Estas se preparan para todo el grupo.

Preparación del reactivo de Kastle-Mayer

- Pesar 0.1 g de fenolftaleína en polvo, 1 g de zinc en polvo y 1 g de hidróxido de sodio y mezclar en el matraz de fondo plano con 5 mL de agua.
- Colocar el matraz con el condensador, y poner a reflujo con agitación hasta que se decolore la disolución.
- En un frasco colocar una capa de zinc en polvo para recibir en caliente el filtrado de la disolución.
- Dejar enfriar y refrigerar hasta su uso.

Preparación del reactivo de Takayama

- Preparar para todo el grupo 20 mL de una disolución de sosa al 10% (m/v).
- Preparar para todo el grupo 20 mL de una disolución saturada de glucosa (26 g por 20 mL).
- Mezclar en el frasco ámbar 1 mL de la disolución de glucosa, 1 mL de la disolución de sosa, 1 mL de agua destilada y 1.5 mL de piridina.
- Cerrar herméticamente y etiquetar.

Actividad Experimental

A. Observación preliminar

1. Haga una descripción detallada del color y forma de cada una de las manchas a estudiar en la Tabla 1 de la sección de resultados.

B. Prueba presuntiva: Kastle-Mayer

1. Si la muestra se encuentra adherida a una superficie que permita retirar la muestra con material absorbente se debe:
 - Humedecer en agua destilada un hisopo de algodón
 - Poner en contacto con la mancha a estudiar hasta que un poco de esta se absorba en el hisopo.
2. Si la muestra se encuentra absorbida en una matriz y está seca, será necesario tomar una porción de la matriz con la muestra adsorbida.
3. Colocar el hisopo con muestra o la porción de matriz con muestra, según sea el caso, en uno de los pozos de la placa de porcelana o en la placa de vidrio y permitir que se disuelva agregando gotas de agua destilada. Observar el color de la muestra. Una vez disuelta se puede retirar la matriz donde se encontraba la muestra o el hisopo.
4. Agregar dos gotas del reactivo Kastle-Meyer dentro del pozo de porcelana donde se encuentra la muestra disuelta y observar algún cambio de color.
5. Agregar 1 gota de peróxido de hidrógeno (30% v/v) en el mismo sitio y observar si existe algún cambio de color. Se considera un resultado positivo cuando después de 20 segundos de haber agregado el reactivo Kastle a la muestra, esta presenta coloración rosada, típica de la fenoltaleína. Registrar resultados en la Tabla 2 de la sección de resultados.

C. Prueba de confirmación: Técnica de Takayama

1. Si la muestra se encuentra adherida a una superficie, raspar con la espátula la superficie donde se encuentra la mancha hasta obtener una pequeña muestra y colocarla en el portaobjetos. Si la muestra se encuentra en una matriz de tela, se coloca una fibra con muestra de la misma bajo el portaobjetos.
2. Observar al microscopio y registrar la apariencia de la muestra: el color, la presencia de células, etc. en la Tabla 1 de la sección de resultados.
3. Retirar del microscopio y colocar encima el cubreobjetos, agregar 10 μL del reactivo de Takayama en el borde del cubreobjetos para que por capilaridad moje la muestra y dejar reposar 10 minutos.
4. Calentar levemente el portaobjetos con el mechero de Bunsen, sin dejar ebullición y llegando a sequedad.
5. Dejar enfriar y observar al microscopio. Se considera un resultado positivo cuando existe la formación de cristales en forma de aguja de color rosa-naranja alrededor de la muestra. Registrar en la Tabla 3 de la sección de resultados.

Integración y discusión de resultados

Entregar el formato de cadena de custodia correspondiente a la toma de las muestras con las que trabajó y respecto al escenario descrito.

Tabla 1. Observación preliminar

Muestra	Observaciones (sobre la matriz de la muestra, color y forma de la mancha)
1	
2	
3	
4	
5	
6	

Tabla 2. Observaciones de la prueba de orientación: Kastle-Meyer

Muestra	Reactivo de Kastle-Meyer (cambio de color)	Peróxido de hidrógeno (cambio de color)
1		
2		
3		
4		
5		
6		

Tabla 3. Observaciones la prueba de confirmación: Takayama

Muestra	Reactivo de Takayama (cambio de color)	Presencia de cristales (forma color y características)
1		
2		
3		
4		
5		
6		

Declaratoria de resultados

Con base en las observaciones de las muestras y los resultados de las pruebas realizadas emitir la declaratoria correspondiente y argumentarla.

Tabla 4. Formato de resolución

Muestra	Resultado positivo para sangre		Enviar a análisis de ADN	Declaratoria
	Prueba presuntiva	Prueba confirmatoria		
1				
2				
3				
4				
5				
6				

Questionario

- a) ¿Qué otro tipo de manchas darían positivo con la prueba presuntiva y por qué?
- b) ¿Qué nombre se les da a los cristales formados en la prueba de confirmación?
- c) ¿Cómo se evita la aparición de falsos positivos en la prueba de orientación?
- d) ¿Qué otro tipo de pruebas podrían llevarse a cabo como análisis más específicos y con qué fin?

Disposición de residuos

Residuos generados	Tratamiento
Hisopos, papel con muestra y muestra de la prueba de confirmación	Los materiales con sangre se deben desechar como RPBI

Bibliografía

- Buquet, A., & Goldstein, V. (2006). *Manual de criminalística moderna: la ciencia y la investigación de la prueba*. México: Siglo XXI.
- Castelló, A. (2009). *Manual de Química Forense*. Granada: COMARES.
- Franco de Ambriz, M. (2009). *Hematología Forense y otras técnicas serológicas*. México: Porrúa.
- Houck, M., Crispino, F., & McAdam, T. (2012). *The science of crime scenes*. San Diego: Academic Press.
- Nieto, J. (2007). *Apuntes de criminalística*. Madrid: Práctica Jurídica.
- Verdú, F., Álvarez, M., Castelló, A., Miquel, M., Negrete, C., & Rodríguez, H. (2006). *Del indicio a la evidencia. Técnicas de criminalística*. Granada: Comares.

Protocolo 2: IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CABELLO HUMANO Y NO HUMANO

Antecedentes

El pelo es un elemento común en los mamíferos producido en la epidermis y compuesto por queratina que le confiere propiedades como rigidez y resistencia. Cada pelo se forma en el folículo piloso donde existen células que se multiplican rápidamente, Figura 1.

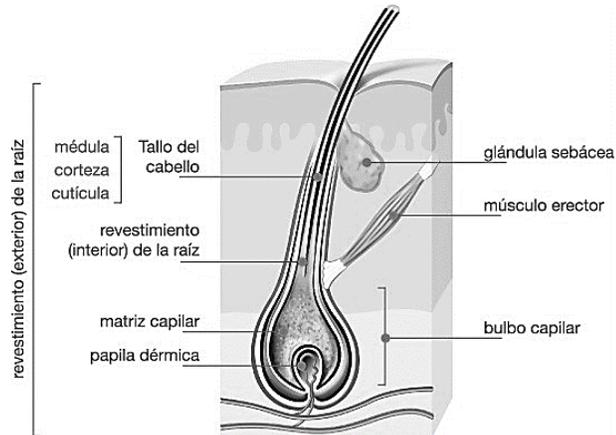


Figura 1. Anatomía del pelo humano
Imagen tomada de www.pantogar.com, 2018

El pelo es un indicio orgánico bastante habitual en una escena del crimen, tanto de humano como de animal. Es significativo debido a que permanece sin alteraciones por varios años, lleva consigo gran cantidad de información biológica, puede demostrar contacto físico entre un sospechoso, una víctima o una escena del crimen, además, es un colector de varios materiales como cosméticos, drogas, nicotina, explosivos y factores ambientales. Adicionalmente su análisis es económico (Gialamas, 2000).

Mediante una inspección habitual bajo el microscopio es posible para un forense experimentado obtener datos como: la zona del cuerpo de donde proviene el pelo, la raza o grupo racial al que pertenece, en algunos casos específicos aporta información sobre la edad del individuo, es posible observar si está teñido, si fue quemado, cortado, arrancado o su caída fue espontánea; si se trata de pelo de un animal y si aún está unido al bulbo piloso o raíz del cabello es generalmente viable obtener información del ADN. Para aumentar la validez de los estudios realizados en el cabello es necesario contar con una base de datos fotográfica de varias muestras de cabello bajo el microscopio con sus características para poder comparar las muestras tomando la información de la base de datos como referencia.

En ciencia forense se clasifica al pelo como evidencia de origen biológico y en inspección microscópica se evalúan características como (Anandón & Robledo, 2010):

- Forma de la médula

- Diámetro del tallo
- El largo de la muestra
- Forma de la raíz
- Forma y patrón en la cutícula
- El color y las partículas de pigmento asociado
- La forma de la corteza
- Comparación directa con otras muestras o base de datos de pelo

Otras pruebas utilizadas en una muestra de pelo

Las siguientes pruebas se emplean para individualizar la muestra de pelo, es decir, asociarla a un individuo en particular (Castelló, 2009).

- Determinación del tipo de sangre en una muestra de pelo. Es posible ya el tejido presente en el pelo contiene los antígenos necesarios para hacer la identificación.
- Análisis por activación de neutrones. Es un tipo de análisis elemental para detectar elementos presentes en el cabello y requiere una interpretación de datos completas por lo que se emplea en casos específicos.
- Índice refractivo. Únicamente viable en comparación directa.
- Determinación del ADN. También es necesario que el bulbo piloso esté adherido a la muestra de pelo y permita hacer una caracterización del material genético de la muestra.
- Determinación del sexo. Para esta prueba es necesario que el bulbo piloso se encuentre adherido al pelo ya que ahí se encuentran células viables para la determinación. Se basa en la identificación de cuerpos de Barr (masa observada en un cromosoma normal del sexo femenino) entre menos tiempo haya pasado entre el desprendimiento del pelo y el análisis es mejor.

Tener en cuenta que un indicio biológico como el pelo puede convertirse en una prueba feaciente dependiendo de la capacidad de los científicos forenses de encontrar asociaciones entre las características de una muestra en particular y las demás circunstancias e indicios (Anandón & Robledo, 2010).

Objetivos

- La identificación presuntiva del sexo en las muestras de pelo
- Establecer las diferencias entre el pelo de animal y de humano

Escenario

El 7 de febrero del 2015 fue detenido Jaime C. como sospechoso del asesinato de Mariana R., la relación entre ambos sujetos consistía en que eran vecinos en una unidad familiar ubicada al norte de la Ciudad de México. Según la declaración de varios testigos de dicha unidad tanto el sospechoso como la víctima habían tenido altercados verbales desde hacía algún tiempo debido a las travesuras de los gatos que tiene como mascotas el señor Jaime.

Durante el levantamiento de pruebas se notó al sospechoso nervioso y evasivo a las preguntas que le realizaron los oficiales. Al ser detenido se inspeccionaron sus manos, ropas y pertenencias en busca de algún rastro o mancha, se encontraron entre otros indicios, tres pelos color rubio cenizo adheridos a su chaqueta de pana. Durante la autopsia de la víctima se encontró bajo sus uñas pelo corto de color blanco.

El sospechoso por consejo de su abogado accedió a proporcionar muestras pelo de sus dos gatos y de su persona. Los científicos forenses analizaran las muestras de pelo y otros indicios encontrados en el lugar.

Equipos, materiales y reactivos

Material

- Espátula
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Microscopio óptico
- Muestras de pelo de todo el grupo y de mascotas** (2)
- Micrómetro ocular

Reactivos*

- Barniz de uñas transparente
- Disolución de aceto-orceína
- Glicerina (opcional)

*La tabla de código de riesgos según el SGA para los reactivos empleados se puede consultar al final de los protocolos en el Anexo VI.

**Nota: Obtenidas ese día, pelo arrancado en caso de humanos y cepillado en caso de mascotas. Estas servirán como referencia para las muestras de la escena del crimen.

Actividad Experimental

A. Observación microscópica

1. Fije el cabello al portaobjetos aplicando una capa ligera de barniz de uñas transparente y deje secar el barniz por completo. Una vez seco, centre el pelo y empiece su observación con el objetivo de menos aumento, probando después, objetivos de mayor aumento, anotando todas sus observaciones respecto a la morfología en la Tabla 1 de la sección de resultados.
2. Cuando haya llegado al objetivo de mayor aumento (1000x), puede mejorar la resolución de la imagen con ayuda de aceite de inmersión, utilizando en este caso: una gota de glicerina sobre el cubreobjetos antes de utilizar el objetivo de mayor aumento.
3. En un portaobjetos colocar una muestra de pelo humano y una muestra de pelo animal, y las muestras encontradas en la escena del crimen y fijar con barniz de uñas y dejar secar.
4. Haga una descripción detallada del color, estructura y mida cada parte de la muestra de pelo tanto de animal como de humano

B. Prueba de tinción de cromatina sexual: corpúsculo de Barr

Esta prueba se realiza solamente en pelo humano con el folículo adherido

1. Hacer un frotis de la raíz del pelo sobre un portaobjetos limpio.
2. Colocar una gota de la disolución de aceto-orceína y luego el cubreobjetos, presionar ligeramente con una toalla de papel absorbente para retirar el exceso de tinción y dejar secar.

3. Observar bajo el microscopio óptico la presencia de cuerpos de Barr. Generar un registro visual por medio de un dibujo o fotografía y anotar la descripción morfológica de lo que se observa en la Tabla 2 de la sección de resultados.

Integración y discusión de resultados

Entregar el formato de cadena de custodia correspondiente a la toma de las muestras con las que trabajó y respecto al escenario descrito.

Observación microscópica.

Describir las características morfológicas de las muestras de pelo humano y animal.

Tabla 1. Observación morfológica

Muestra	Presencia de médula	Patrones en cutícula	Color	Medidas	Presencia de folículo
1° (Pelo de animal (1) del sospechoso)					
2° (Pelo de animal (2) del sospechoso)					
3° (Pelo del humano sospechoso)					
4° (Pelo del humano víctima)					
5° (Pelo humano o animal encontrada en las uñas de la víctima)					
6° (Pelo de humano de referencia)					
7° (Pelo de animal de referencia)					

Tabla 2. Diferencias morfológicas

Muestra (indicar el nombre, siguiendo la nomenclatura de la Tabla 1)	Observaciones (semejanzas morfológicas: presencia de médula, patrones de corteza, color y medidas)	Observaciones (diferencias morfológicas: presencia de médula, patrones de corteza, color y medidas)

Tinción de cromatina sexual

Descripción morfológica detallada y un dibujo o fotografía de lo observado bajo el microscopio, señalando la ubicación del corpúsculo de Barr (para muestras que si lo presentan) e indicando la muestra empleada siguiendo la nomenclatura de la Tabla 1.

Tabla 3. Observación corpúsculo de Barr

Muestra (indicar el nombre, siguiendo la nomenclatura de la Tabla 1)	Observaciones (sobre la morfología: color y medidas)	Presencia del corpúsculo de Barr (si/no)

Declaratoria de resultados

Con base en las observaciones de las muestras y los resultados de las pruebas realizadas emitir la declaratoria correspondiente y argumentarla.

Tabla 4. Formato de resolución

Muestra (indicar el nombre, siguiendo la nomenclatura de la Tabla 1)	Origen de las muestras		¿El sospechoso y sus gatos están implicados en el crimen?
	La muestra coincide con alguna otra muestra existente. Argumente su respuesta	La muestra no coincide con alguna otra muestra existente. Argumente su respuesta	

Cuestionario

- a) ¿Cuáles son las limitaciones de la caracterización de pelo por observación microscópica?
- b) ¿Cuál es la limitación de la identificación de sexo por corpúsculos de Barr?
- c) ¿Qué falsos positivos existen en la prueba de Barr?
- d) ¿Qué diferencia encuentras en el pelo humano y el de animal? Enuncia al menos tres

Disposición de residuos

Residuos generados	Tratamiento
Muestras de ambas pruebas	Desechar en contenedores de RPBI

Bibliografía

Anandón, M. J., & Robledo, M. (2010). *Manual de criminalística y ciencias forenses*. Madrid, España: TÉBAR.

Castelló, A. (2009). *Manual de Química Forense*. Granada, España: COMARES.

Houck, M. M., & Siegel, J. A. (2015). *Fundamentals of forensic sciences*. San Diego, United States of America: Academic Press.

Houck, M., Crispino, F., & McAdam, T. (2012). *The science of crime scenes*. San Diego, United States of America: Academic Press.

Anexo IV

Unidad III

Evidencias Químicas



Introducción a la Unidad III

Dentro del quehacer de un Químico Forense una de las tareas más recurrentes es el análisis de muestras en las que se presume existe la presencia de sustancias controladas; para ello, de forma general, se llevan a cabo dos tipos diferentes de exámenes para la identificación: botánicos y químicos (Houck & Siegel, 2015). Los análisis de carácter químico comúnmente se engloban en tres tipos de técnicas:

- Instrumentales
- Indicadores farmacéuticos
- Pruebas a la gota

Esta unidad está enfocada en el estudio del tercer conjunto: Pruebas a la gota, que son métodos de identificación preliminar de sustancias controladas, en su forma pura o diluida, por la presencia o ausencia de grupos funcionales específicos. De forma general, en estas pruebas el analito se somete a una serie de reactivos que producen un cambio en la muestra, cambio de color, formación de precipitado, etc. (Houck, et al., 2012) Dentro de las ventajas de este tipo de pruebas se encuentra su bajo costo, ya que no se requiere de los sofisticados instrumentos y estándares necesarios en las técnicas de las otras categorías, además de que se pueden llevar a cabo en el sitio de forma rápida y se toma como un veredicto preliminar confiable. Este tipo de exámenes también sirven en la planeación de análisis más específicos a futuro, dependiendo de la muestra. Sin embargo, dicho conjunto de pruebas tiene como principal desventaja la falta de especificidad, puesto que, al estar basadas en una reacción con un grupo funcional, pueden existir interferencias con sustancias que contengan dicho grupo sin necesariamente estar bajo regulación federal (Dutelle, 2016). Otra desventaja es que las pruebas a la gota son de carácter cualitativo, aunque esto puede salvarse mediante la generación de una curva de calibración en la que la respuesta (coloración) sea comparada con una carta de color.

Objetivos generales de esta unidad

- Aplicar las bases de Química Orgánica para explicar el principio de las pruebas propuestas.
- Generar el conocimiento necesario para diferenciar entre un resultado positivo y un posible falso-positivo.

Protocolo 3: IDENTIFICACIÓN DE SUSTANCIAS CONTROLADAS POR PRUEBAS A LA GOTA

Antecedentes

Los fenoles son compuestos en los que uno o más grupos hidróxilo (-OH) se encuentra unido a un carbono perteneciente a un anillo aromático. Estos compuestos son líquidos o sólidos de alto punto de ebullición, son incoloros a menos que contengan en sus estructuras grupos cromóforos o se encuentren oxidados en cierto grado. Debido a las características electrónicas de los anillos aromáticos, las bases conjugadas de los fenoles (iones fenóxido) se encuentran estabilizadas por resonancia, confiriéndole a los fenoles una acidez mayor que los alcoholes alifáticos pero menor que los ácidos carboxílicos, por lo cual son solubles en hidróxido acuoso, pero no en agua o disoluciones de bicarbonato de sodio (Morrison & Boyd, 1987).

Los fenoles también presentan propiedades nucleofílicas debido a los pares electrónicos libres del átomo de oxígeno del grupo hidróxilo.

Debido a la gran cantidad de fenoles que se producen a nivel mundial, estos compuestos son de los compuestos aromáticos más sintetizados y su principal uso es en la manufactura de polímeros fenol-formaldehído. El fenol, y en menor o mayor grado sus derivados, se utiliza como fungicida, bactericida, antiséptico y desinfectante; también son utilizados como intermediarios en la síntesis orgánica.

Dentro del subgrupo de drogas conocido como narcótico u opiáceo se encuentran el opio, mezcla de más de 25 alcaloides obtenidos de la planta Amapola (*Papaver somniferum*), y sus derivados naturales, como la morfina (Figura 1a), codeína (Figura 1b) y papaverina, y semisintéticos como la heroína (Figura 1c) y la oxicodona (Houck, et al., 2012)

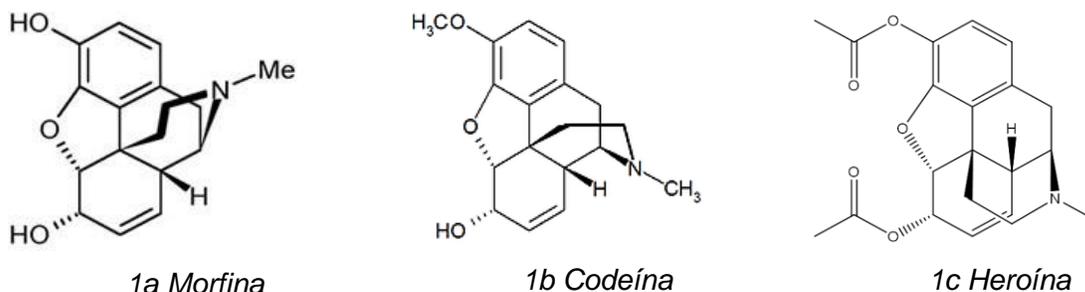


Figura 1. Ejemplos de drogas opiáceas

Prueba de cloruro férrico

Las disoluciones de cloruro férrico (FeCl_3) a baja concentración se utilizan para identificar fenoles por formación de una coloración azul, verde o morado, aunque también es posible obtener su reacción con enoles y otras sustancias que no poseen grupos fenólicos en su estructura.

Para el caso de fenoles, que es el grupo funcional de interés, se reporta la formación de compuestos de coordinación por enlazamiento del oxígeno fenólico y el centro metálico (Figura 2).

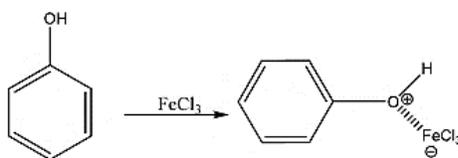


Figura 2. Esquema de reacción para prueba con cloruro férrico

Esta prueba a la gota es la más socorrida en la identificación de morfina, reportándose un límite de detección para morfina monohidratada de aproximadamente 200 µg (U.S. Dept. of Justice, National Institute of Justice,, 2015).

Prueba de ácido nítrico

El ácido nítrico concentrado (HNO₃) se utiliza como revelador de fenoles, es indicativo de la existencia de este grupo funcional con la formación de precipitado rojo, amarillo o café que se disuelve en el ácido confiriéndole color a la disolución. Dentro de los mecanismos propuestos para explicar la formación de compuestos coloridos en este tipo de reacciones se propone la nitración en posiciones orto y para al fenol, y la interacción de los orbitales π del grupo nitro como cromóforo (Morrison & Boyd, 1987) (Figura 3).

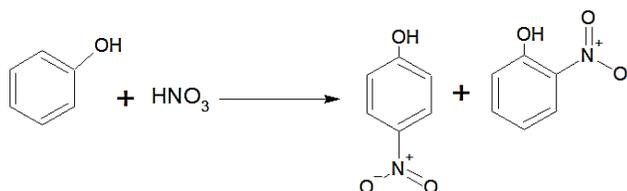


Figura 3. Esquema de reacción para la prueba con ácido nítrico

Objetivos

- Identificar sustancias en cuya estructura se encuentre presente uno o varios grupos fenol.
- Discernir entre un resultado positivo y un falso-positivo en la detección de un grupo fenol por medio de las pruebas con FeCl₃ y HNO₃

Escenario

La semana pasada la Policía Federal localizó tres plantíos de amapola, con una extensión cercana a los 110 m² y con un aproximado de 220 plantas, en el municipio de Ensenada, Baja California. En las inmediaciones de las plantaciones se encontró una vivienda que al parecer se utilizaba como laboratorio clandestino para la producción de heroína. Alrededor de 15 plantas encontradas y varias muestras (2 sólidos blancos y amarillo claro) recolectadas en el sitio fueron puestas a disposición de la Procuraduría General de la República (PGR) para la integración de la averiguación previa y para continuar las investigaciones.

Equipos, materiales y reactivos

Material	Reactivos*
<ul style="list-style-type: none">▪ Espátula▪ Placa de pruebas de porcelana o tubos de ensayo con gradilla▪ Matraz aforado de 10 mL▪ 3 matraces aforados de 5 mL▪ Pipetas beral o gotero▪ Piseta de agua destilada▪ Pipeta graduada de 10 mL▪ Palillos de dientes	<ul style="list-style-type: none">▪ Etanol▪ Cloruro de hierro (III) [FeCl₃]▪ Agua destilada▪ Bicarbonato de sodio▪ Ácido nítrico concentrado [HNO₃] MRI, A y B

*La tabla de código de riesgos según el SGA para los reactivos empleados se puede consultar al final de los protocolos en el Anexo VI.

Actividad Experimental

Procedimiento experimental

A. Prueba de ácido nítrico

1. Preparar 5 mL de HNO₃ al 10, 30 y 60 %.
2. Colocar una pequeña porción de la muestra MRI en tres cavidades de la placa de porcelana o en tres tubos de ensayo y marcarlos como 10, 30 y 60.
3. Añadir 1 gota de la disolución correspondiente a cada una de las muestras y mezclar con un palillo, si después de 2 minutos no hay ningún cambio añadir otra gota, mezclar y volver a esperar, repetir hasta que haya un cambio o se hayan añadido 3 gotas. La presencia de **coloración rojiza, café o amarilla** es indicativo de una prueba positiva.
4. Decidir cuál disolución es la idónea para seguir trabajando.
5. Colocar una pequeña cantidad de la muestra A en una de las cavidades de la placa o en un tubo de ensayo y añadir 2 gotas de la disolución elegida y mezclar.
6. Esperar dos minutos y examinar en busca de algún cambio de coloración.
7. Repetir los pasos 5 y 6 para las muestras utilizadas previamente. Registrar en la Tabla 1 de la sección de resultados.
8. Tomar una pequeña cantidad de bicarbonato de sodio y repetir el procedimiento descrito. Registrar en la Tabla 1 de la sección de resultados.

B. Prueba de cloruro férrico

1. Preparar 10 mL de una disolución 0.1 M de FeCl₃·6H₂O
2. Tomar una pequeña cantidad del MRI y colocarla en una de las cavidades de la placa para pruebas o en un tubo de ensayo, colocar una gota de la disolución 0.1 M de FeCl₃ y mezclar con un palillo.
3. Colocar una gota de la disolución 0.1 M de FeCl₃ en otra cavidad o tubo de ensayo, este servirá como blanco.
4. Esperar de 30 segundos a 2 minutos a que aparezca algún cambio. La presencia de **coloración azul, morada o verde** indica un resultado positivo.

- Repetir los pasos 2, 3 y 4 para las muestras A y B. Registrar en la Tabla 1 de la sección de resultados.
- Tomar una pequeña cantidad de bicarbonato de sodio y repetir el procedimiento descrito previamente. Registrar en la Tabla 1 de la sección de resultados.

Integración y discusión de resultados

Entregar el formato de cadena de custodia correspondiente a la toma de las muestras con las que trabajó y respecto al escenario descrito.

Tabla 1. Observaciones experimentales.

Muestra	FeCl₃ (coloración después de 2 minutos y formación de precipitado)	HNO₃ (coloración después de 2 minutos y formación de precipitado)
MRI		
A		
B		
Bicarbonato de sodio		

En la siguiente Tabla registrar las observaciones al efectuar la prueba de ácido nítrico a distintas concentraciones

Tabla 2. Registro de la concentración idónea de ácido nítrico

Muestra	HNO₃ (10% v/v) Cambio de color positivo característico	HNO₃ (30% v/v) Cambio de color positivo característico	HNO₃ (60% v/v) Cambio de color positivo característico
MRI			

Declaratoria de resultados

Con base en las observaciones de las muestras y los resultados de las pruebas realizadas emitir la declaratoria correspondiente y argumentarla.

Tabla 3. Formato de resolución

Muestra	Positivo para grupo fenol		Declaratoria
	FeCl₃ (coloración después de 2 minutos y formación de precipitado)	HNO₃ (coloración después de 2 minutos y formación de precipitado)	
A			
B			

Cuestionario

- a) ¿Por qué el bicarbonato de sodio forma un precipitado al hacerlo reaccionar con la disolución de FeCl_3 si no presenta algún fenol en su estructura?
- b) Suponiendo morfina como muestra a analizar, ¿qué reacciones se llevarían a cabo al realizar las identificaciones presentadas?
- c) Si la muestra a analizar fuera heroína, ¿qué tratamiento previo (derivatización) debería llevarse a cabo para que presentara reacción en las condiciones trabajadas?

Disposición de residuos

Residuos generados	Tratamiento
Gotas de muestras analizadas	Absorción con papel e incineración
Disoluciones de FeCl_3	Precipitación de hierro como hidróxido (pH =8), filtración, neutralización y desecho
Disoluciones de HNO_3	Neutralización y desecho o reutilización

Bibliografía

- Dutelle, A. W. (2016). *An Introduction to Crime Scene Investigation* (2° Edición ed.). Burlington: Jones & Bartlet Learning.
- Houck, M. M., & Siegel, J. A. (2015). *Fundamentals of forensic sciences*. San Diego: Academic Press.
- Houck, M., Crispino, F., & McAdam, T. (2012). *The science of crime scenes*. San Diego: Academic Press.
- Kintz, P. (1996). *Drug testing in hair*. Boca Ratón: CRC Press.
- Morrison, R. T., & Boyd, R. N. (1987). *Química Orgánica*. México: Adison Wesley Iberoamericana.
- U.S. Dept. of Justice, Office of Justice Programs, National Institute of Justice,. (2015). *Kits for Preliminary Identification of Drugs Abuse*. United States of America: U.S. Dept. of Justice.

Anexo V

Unidad IV

Evidencias Físicas



Introducción a la Unidad IV

De forma general las muestras que son denominadas indicios físicos se refieren a todo objeto, instrumento, huella, marca, señal o vestigio que se usa y se produce respectivamente en la comisión de un hecho; puede ser cualquier cosa, desde objetos enormes hasta partículas microscópicas, que se originaron en la perpetración de un delito y se recogen en la escena del delito o en lugares conexos (Houck & Siegel, 2015). Para el análisis de los indicios físicos, como en casi todas las muestras sujetas a análisis de identificación, se realizan dos tipos de pruebas: cualitativas y cuantitativas, las cuales son mutuamente complementarias. Las pruebas cualitativas, en las que se basa el capítulo en general, proporcionan importante información preliminar sobre la naturaleza y posible composición de la evidencia; estos análisis son un método de identificación rápida y sirve de base para la elección de una posterior técnica cuantitativa y/o de confirmación (Castelló, 2009). Aunque también en algunos casos los resultados son considerados como definitivos, dependiendo de la naturaleza de la muestra.

Como en cualquier análisis es necesario que las muestras, en especial los restos criminalísticos, se sometan a uno o más procesos de preparación previo al análisis; estos procesos son específicos para cada muestra y tipo de análisis, de tal manera que se pueden generalizar de la siguiente manera (Houck et al., 2012)

- a) Muestras líquidas: la mayoría de las veces no requieren preparación previa.
- b) Muestras sólidas: se trata de fragmentos de plásticos, fibras, cristal, tierra, etc., los cuales deben ser disueltos en su totalidad o al menos una parte para su análisis.
- c) Manchas y gases: En esta categoría entran evidencias que se encuentran impregnadas en diferentes materiales y puesto que se requiere extraer los vestigios de material, se debe realizar una muy cuidadosa selección del agente extractante.

Objetivos de esta unidad

- Inferir las características de las muestras textiles y poliméricas mediante las pruebas realizadas
- Proponer una relación entre la información generada de las pruebas y las características fisicoquímicas de las muestras

Protocolo 4: IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA DE FIBRAS TEXTILES

Antecedentes

Tomando como punto de partida el *Principio de intercambio de Locard*, que indica que “*siempre que dos objetos entran en contacto, transfieren parte del material que incorporan entre ellos*” (Locard, 1930), la recolección de fibras en una escena de crimen es vital en las investigaciones forenses puesto que permite la posibilidad de asociar a un individuo con una escena del crimen. Entiéndase por fibra, en el contexto textil, a las unidades de las que se componen hilos y por ende todos los tejidos, es la unidad mínima de todo textil (Deedrick, 2000).

Como en cualquier proceso de identificación, la identificación de las fibras se realiza sometiendo las muestras a varios ensayos seleccionados, hasta obtener suficiente información que permita decidir la clase genérica o el tipo específico. La elección de los ensayos y el orden en que se ejecutan dependerán de la información previa disponible y de los resultados de los ensayos preliminares. En el presente protocolo se presentan dos tipos de análisis con el fin de realizar una identificación genérica entre fibras de origen animal, vegetal o sintético y, de ser posible, un acercamiento a su posible identidad (Martínez de las Marías, 1972).

Prueba de combustión

Esta prueba es destructiva y de carácter presuntiva y requiere de una fuente de flama para llevarse a cabo. De forma general esta prueba aplicada a la identificación de fibras permite discernir entre fibras animales, vegetales, semisintéticos o sintéticas teniendo especial análisis en el olor de la combustión y el residuo obtenido (Fisher, 2000). Algunas fibras presentan un olor muy característico al quemarse, por ejemplo, las fibras animales y las proteicas manufacturadas tienen el olor del pelo o las plumas quemadas. Las fibras vegetales y las de celulosa regenerada huelen como papel quemado. Es probable que algunas fibras contengan retardante de llama, lo que además de retardar el quemado puede modificar el olor al arder y el aspecto de las cenizas; de igual forma las fibras teñidas, especialmente las coloreadas con pigmentos retendrán el color en el residuo.

Prueba de solubilidad

Esta prueba está basada en el comportamiento, soluble o insoluble, de las distintas fibras en diferentes medios, como consecuencia de la composición química de éstas y su interacción con diferentes disoluciones (COAT, 2018).

Objetivo

Clasificar las muestras proporcionadas como naturales o sintéticas mediante la información generada al realizar las pruebas de solubilidad y densidad.

Escenario

En la residencia del afamado escritor Gabriel García Márquez, ubicada al sur de la ciudad, se reportó el robo la medalla de oro otorgada al Premio Nobel, la cual se presume fue extraída por los asaltantes el fin de semana que la casa se encontraba sola. Se presume

que brincaron la cerca perimetral de la vivienda. Los investigadores de la escena encontraron entre el alambre de púas que rodeaba la casa un trozo de ropa desgarrada. A unas cuerdas de la escena del crimen se detuvo a un sospechoso que merodeaba por la zona y el cual había sido reportado por los vecinos, se señaló que la ropa que vestía estaba desgarrada.

Equipos, materiales y reactivos

Material	Reactivos*
<ul style="list-style-type: none"> • Tubos de ensayo con gradilla • Varilla de vidrio • Pipeta graduada de 10 mL • Mechero Bunsen • Pinzas 	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido sulfúrico (60%) • Ácido clorhídrico (30%) • Hipoclorito de sodio (10%) • Muestras de fibras (1, 2, 3, 4, 5, que funcionaran como muestras de referencia internas y la muestra encontrada en escena y la muestra encontrada en el sospechoso*La tabla de código de riesgos para los reactivos empleados se puede consultar al final de los protocolos en el Anexo VI.

*La tabla de código de riesgos según el SGA para los reactivos empleados se puede consultar al final de los protocolos en el Anexo VI.

Actividad Experimental

A. Prueba de combustión

1. En una campana de extracción o en una zona bastante ventilada conectar el mechero Bunsen a una salida de gas y encenderlo, procurar mantener una llama constante de color azul.
2. Tomar 1 cm² una fibra de la muestra 1 con las pinzas (si se trata de hilo, fraccionarlo conforme sea necesario; si es un trozo de material tomar un poco con las pinzas), y depositarlo en una cucharilla de combustión limpia y poner cerca de la flama, después introducir en esta y una vez encendida la muestra, quitar de la flama.
3. Anotar observaciones como si la muestra si se quema o carboniza, si genera humo y el color de este, si se mantiene encendida al retirarla de la flama o se auto extingue, si gotea, el tipo de residuo que queda después de la combustión y si se produce algún olor.
4. Repetir los pasos 2 y 3 para todas las muestras. Registrar observaciones en la Tabla 1 de la sección de resultados.

B. Prueba de solubilidad

1. En tres tubos de ensayo entregar 2 mL de las disoluciones a emplear (ácido sulfúrico (60%), ácido clorhídrico (30%) e hipoclorito de sodio (10%)) respectivamente. Generar esta serie de tres tubos para cada muestra de fibra a analizar y etiquetar.
2. Colocar en cada serie de tubos 1cm² de la fibra.
3. Agitar constantemente por dos minutos y observar.
4. Anotar observaciones: si la fibra se disuelve completamente, si se ablandó o permanece insoluble.
5. Repita los pasos anteriores con las demás fibras. Registrar las observaciones en la Tabla 2 de la sección de resultados.

Integración y discusión de resultados

Resultados

Entregar el formato de cadena de custodia correspondiente a la toma de las muestras con las que trabajó y respecto al escenario descrito.

Tabla 1. Pruebas de combustión

Muestra	Comportamiento cerca de la llama	Comportamiento en la llama	Comportamiento al retirar de la llama	Olor	Residuo
Fibra 1					
Fibra 2					
Fibra 3					
Fibra 4					
Fibra 5					
Evidencia escena					
Ropa del sospechoso					

Registrar si la fibra se disuelve o no en la disolución dada.

Tabla 2. Resultados de la prueba de solubilidad

Disolvente	Fibra 1	Fibra 2	Fibra 3	Fibra 4	Fibra 5	Evidencia escena	Ropa del sospechoso
HCl							
H₂SO₄							
NaClO							

Declaratoria de resultados

Con base en las observaciones de las muestras y los resultados de las pruebas realizadas emitir la declaratoria correspondiente y argumentarla.

Tabla 3. Formato de resolución

Muestra	Coincidencia de características		¿Es posible indicar la identidad de la muestra?
	Presenta características de combustión semejantes a otra muestra proporcionada	Presenta solubilidad semejante a otra muestra proporcionada	
Fibra 1			
Fibra 2			
Fibra 3			
Fibra 4			
Fibra 5			
Evidencia escena			
Sospechoso			
¿Existe relación entre la muestra de la escena del crimen y la del sospechoso? Explique			

Cuestionario

- a) ¿A qué se debe que las muestras tengan distintas características de combustión?
- b) ¿Las pruebas de solubilidad bastan para identificar la naturaleza de una fibra? ¿por qué?
- c) ¿Cómo afectaría a las pruebas que las fibras analizadas fueran mezclas de fibras?
- d) ¿Qué otro tipo de pruebas podrían llevarse a cabo como análisis más específicos y con qué fin?

Disposición de residuos

Residuos generados	Tratamiento
Restos de fibras	Se enjuagan con agua corriente y se envían a incineración
Disoluciones empleadas	Los ácidos se neutralizan y se desechan neutros al drenaje y el oxidante se puede diluir a una concentración de 5% para emplear como desinfectante.

Bibliografía

- Castelló, A. (2009). *Manual de Química Forense*. Granada: COMARES.
- COAT. (2018). *Todo sobre fibras textiles*. Recuperado el 6 de Abril de 2018, de <http://languages.coatsindustrial.com/es/information-hub/apparel-expertise/know-about-textile-fibres>
- Fisher, B. J. (2000). *Techniques of crime scene investigation*. Boca Raton: CRC PRESS.
- Houck, M. M., & Siegel, J. A. (2015). *Fundamentals of forensic sciences*. San Diego: Academic Press.
- Houck, M., Crispino, F., & McAdam, T. (2012). *The science of crime scenes*. San Diego: Academic Press.
- Johll, M. E. (2008). *Química e investigación criminal: una perspectiva de la ciencia forense*. Barcelona: Reverté.
- Locard, E. (1930). *Traité de criminalistique*. Lyon: J. Desvigne et ses fils.
- Martínez de las Marías, P. (1972). *Química y física de los altos polímeros y materias plásticas*. Madrid: Alhambra.

Protocolo 5: IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA DE POLÍMEROS

Antecedentes

El conocer las propiedades físicas de alguna muestra obtenida en una escena de crimen sirve para la identificación de sustancias desconocidas; esta identificación es posible cuando se averiguan las propiedades físicas del material desconocido y se comparan las propiedades físicas de una serie de materiales conocidos. De forma general, es muy poco probable una identificación certera de un material por medio de la determinación de las propiedades físicas de éste, pero es posible reducir la lista de posibles sustancias, lo cual es de gran ventaja para llevar a cabo análisis posteriores; además es posible una mejor identificación si se llevan a cabo dos o más pruebas de carácter preliminar y los resultados de estos son concordantes (Katz, 2017).

Una de las grandes ventajas de las pruebas físicas es que no se necesita de una preparación previa ni de un equipo especial o estándares, confiriéndole rapidez y bajos costos a este tipo de análisis.

Los métodos que se presentan a continuación son los mejores cuando se tratan de polímeros simples.

Prueba de densidad

Esta prueba forma parte de los análisis no destructivos ya que no altera en ninguna manera las propiedades de las muestras analizadas y es un tipo de análisis de identificación preliminar. Es posible la identificación de polímeros por medio de su densidad puesto que estos poseen densidades en un amplio rango de valores (Buquet & Goldstein, 2006). El método utilizado en esta práctica no consiste en la determinación específica de la densidad de la muestra sino en identificación indirecta de éstas por el método de flotación, al comparar su comportamiento, si flotan o se hunden, ante disoluciones de diferentes densidades conocidas.

Prueba de combustión

Esta prueba es un ejemplo del análisis de tipo destructivo puesto que altera de forma permanente las propiedades de las muestras sujetas a este, y forma parte de las llamadas pruebas preliminares. Para llevar a cabo esta prueba es necesario una fuente de flama a la que se somete la muestra analizar. A partir del comportamiento de la muestra ante el calor o la flama directa se puede saber si es termoestable o termoplástico y es posible una identificación más certera si se pone a observar si se generan gases o no, si la muestra se auto extingue o no después de alejarla de la flama, si se reblandece, si se carboniza, si gotea y el tipo de residuo que queda después de la combustión (Fisher, 2000).

Objetivo

Clasificar muestras de polímeros mediante las pruebas de densidad y combustión

Escenario

El pasado domingo por la mañana fue hallado el cuerpo de una joven al lado del canal de aguas negras en el poblado de San Juan en Oztolotepec, en el Valle de Toluca. La joven,

quien fue identificada como Beatriz K., llevaba desaparecida tres días; su cuerpo presentaba signos de haber sido golpeada. El principal sospechoso del secuestro y asesinato de la joven es su exnovio, quien trabaja como vigilante de una bodega de una recicladora de PET cercana a la zona donde fue encontrado el cadáver.

En el calzado que llevaba la joven se encontraron restos de viruta de materiales plásticos que se presume provienen de haber estado en la bodega donde trabaja su exnovio por lo que se han mandado a identificar al laboratorio de Química Forense.

Equipos, materiales y reactivos

Material	Reactivos*
<ul style="list-style-type: none"> • Tubos de ensayo con gradilla • Varilla de vidrio • Pipeta volumétrica de 5 mL • Balanza analítica • Vaso de precipitados de 50 mL • Mechero Bünsen • Pinzas 	<ul style="list-style-type: none"> • Disoluciones: isopropanol 20 %. Isopropanol 60%, NaOH 10%, NaOH 20%, NaOH 50% (v/v) • Muestras (A, B, C y D)

*La tabla de código de riesgos según el SGA para los reactivos empleados se puede consultar al final de los protocolos en el Anexo VI.

Actividad Experimental

A. Prueba de densidad

- Determinar la densidad de las disoluciones: isopropanol 20 %, Isopropanol 60%, NaOH 10%, NaOH 20% y NaOH 50%
 1. Para ello tomar alícuotas de 5 mL y medir la masa de estas en la balanza. Realizar las mediciones por triplicado. Registrar en la Tabla 1 de la sección de resultados.
 2. Colocar 5 mL de cada disolución en un tubo de ensayo y rotularlos con su valor de densidad.
 3. Agregar una porción (1cm²) de la muestra A en cada uno de los tubos de ensayo rotulados. Empujar suavemente la muestra con la varilla dentro de la disolución y retirarla.
 4. Repetir los pasos 3, 4 y 5 con las demás muestras.
 5. Anotar en la Tabla 2 de la sección de resultados el comportamiento del plástico en disolución: si flota o se sumerge.

B. Prueba de combustión

1. En una campana de extracción o en una zona bastante ventilada conectar el mechero Bünsen a una salida de gas y encenderlo, procurar mantener una llama oxidante constante.
2. Tomar una porción (1 cm²) de la muestra A con las pinzas y poner cerca de la flama, después introducir en esta y una vez encendida la muestra, quitar de la flama.

3. Anotar en la Tabla 3 de la sección de resultados las observaciones: si la muestra se reblandece, si se quema o carboniza, si genera humo y el color de este, si se mantiene encendida al retirarla de la flama o se auto extingue, si gotea, el tipo de residuo que queda después de la combustión y si se produce algún olor.
4. Repetir los pasos 2 y 3 para todas las muestras.

Integración y discusión de resultados

Resultados

Entregar el formato de cadena de custodia correspondiente a la toma de las muestras con las que trabajó y respecto al escenario descrito.

Tabla 1. Determinación de la densidad de las disoluciones

Disolución	Repetición 1		Repetición 2		Repetición 3		Densidad media (g/L)
	Volumen alícuota	Masa alícuota	Volumen alícuota	Masa alícuota	Volumen alícuota	Masa alícuota	
1							
2							
3							
4							
5							

Tabla 2. Comportamiento de las muestras en las disoluciones

Muestra	Disoluciones				
	1	2	3	4	5
A sospechoso	$\delta=$	$\delta=$	$\delta=$	$\delta=$	$\delta=$
B víctima					
C sospechoso					
D referencia					

Tabla 3. Observaciones de la prueba de combustión.

Muestra	Observaciones	Coincidencias respecto a la Tabla de Características teóricas de combustión*
A sospechoso		
B víctima		
C sospechoso		
D referencia		

Declaratoria de resultados

Con base en las observaciones de los resultados de las muestras y la comparación con la Tabla de “Características teóricas de combustión” (Anexo I) emitir la declaratoria correspondiente y argumentarla.

Tabla 4. Formato de resolución

Muestra	Pruebas comparativas		Declaratoria
	Se identificó la muestra como algún polímero conocido	Tiene relación con alguna otra muestra estudiada	
A sospechoso			
B víctima			
C sospechoso			
D referencia			

Cuestionario

- a) ¿Alguna de las muestras se sumergió sólo después de empujarla con la varilla?, ¿por qué crees que ocurrió esto?
- b) ¿A qué se debe que la densidad de los polímeros sea un intervalo en lugar de un dato puntual?
- c) Esquematiza, en un diagrama de flujo, la identificación de un polímero por medio de las pruebas presentadas.

Disposición de residuos

Residuos generados	Tratamiento
Disoluciones de agua/isopropanol	Destilación o reutilización
Disoluciones de hidróxido de sodio	Neutralización y desecho o reutilización
Muestras de plástico	Lavado y secado para su posterior reutilización
Residuos de combustión	Empacado para su posterior incineración

Bibliografía

- Buquet, A., & Goldstein, V. (2006). *Manual de criminalística moderna: la ciencia y la investigación de la prueba*. México: Siglo XXI.
- Castelló, A. (2009). *Manual de Química Forense*. Granada: COMARES.
- Fisher, B. J. (2000). *Techniques of crime scene investigation*. Boca Raton: CRC PRESS.
- Katz, D. A. (2017). *Polymer identification*. Recuperado el 5 de Diciembre de 2017, de <http://www.chymist.com/Polymer%20Identification.pdf>
- Martínez de las Marías, P. (1972). *Química y física de los altos polímeros y materias plásticas*. Madrid: Alhambra.
- Verdú, F., Álvarez, M., Castelló, A., Miquel, M., Negrete, C., & Rodríguez, H. (2006). *Del indicio a la evidencia. Técnicas de criminalística*. Granada: Comares.

Anexo VI

Tabla de clasificación de productos químicos empleados en cada protocolo

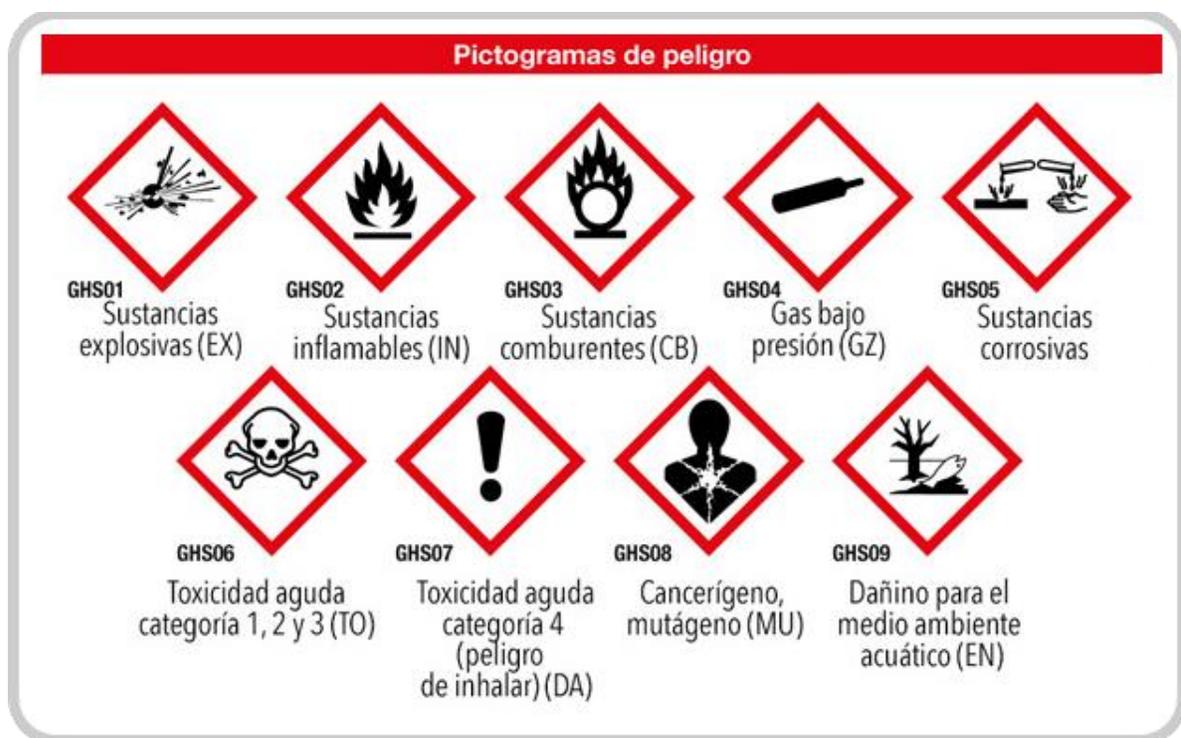
Reactivo	Pictogramas referentes a peligros físicos, a la salud humana y al medio ambiente	Equipo de Protección
Fenolftaleína		Anteojos de seguridad, guantes y bata de algodón
Hidróxido de sodio		
Zinc		
Peróxido de hidrógeno	  	
Piridina	 	
Aceto-orceína		Anteojos de seguridad, guantes y bata de algodón
Ácido sulfúrico		Anteojos de seguridad y guantes
Ácido clorhídrico	 	Anteojos de seguridad, guantes y mandil
Hipoclorito de sodio	 	Anteojos de seguridad
Isopropanol	 	Anteojos de seguridad y guantes
Etanol	 	Anteojos de seguridad, guantes y mandil
Cloruro de hierro	 	Anteojos de seguridad y guantes
Bicarbonato de sodio		Anteojos de seguridad

Reactivo	Pictogramas referentes a peligros físicos, a la salud humana y al medio ambiente	Equipo de Protección
Ácido nítrico		Anteojos de seguridad y guantes
Vainillina		Anteojos de seguridad
2-fenilfenol		Anteojos de seguridad y guantes

*Adaptado de "Sistema globalmente armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos, SGA 080119"

Las sustancias: glicerina, glucosa, barniz de uñas y acetaminofén no fueron incluidos en la tabla anterior, debido a que esta clasificación no aplica para productos: cosméticos, farmacéuticos o alimentarios.

Significado de los Pictogramas de peligro, según el SGA



Significado de Pictogramas de peligro
 Imagen obtenida de <https://www.aev.cgfie.ipn.mx>