

Universidad Autónoma de Guadalajara

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México.

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**"METODO PARA LA DETERMINACION
DEL ALCOHOL ETILICO
EN LA SANGRE Y EN LA ORINA
CON FINES MEDICO-LEGALES".**

Tesis presentada por

Leticia Olga Ramirez E.

para Obtener el Título de Químico Farmaco-Biólogo.

GUADALAJARA, JAL., JUNIO DE 1945.



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.

A mis queridos padres.

A mis maestros.

A mis compañeros.

SUMARIO:

- I.—Prólogo
 - II.—Acción Fisiológica del Alcohol.
 - III.—Reconocimiento de Aldehidos y Cetonas.
 - IV.—Eliminación de Aldehidos y Cetonas.
 - V.—Método para la determinación del alcohol etílico en presencia de aldehidos y cetonas.
 - VI.—Cuantificación del Alcohol.
 - VII.—Conclusiones.
- Bibliografía.



QUIMICA

PROLOGO

Existe mucho interés respecto a los métodos que hay para la determinación del alcohol etílico en los cuerpos fluidos, desde que el alcohol que contiene estos fluidos se usa para determinar el grado de intoxicación o embriaguez. Para determinar la cantidad de alcohol en la sangre u orina, hay varios métodos, casi todos caracterizados por lo laboriosos y lo complicados en su operación. El método del cual trataré aquí ha sido desarrollado por F. L. Kozelka y C. H. Hine en la Universidad de Wisconsin en Estados Unidos, y fué publicado en una revista de Química americana: habiendo llegado ella a mis manos me interesó el tema para desarrollarlo en mi tesis. Esperando así mismo contribuir con algo en los conocimientos del punto en nuestro medio.

Para llevar a cabo las pruebas experimentales de este estudio, se necesitó sangre que fué donada por diferentes personas. Por estas líneas agradezco a esas personas que tan bondadosamente se prestaron.



ACCION FISIOLÓGICA DEL ALCOHOL.

QUÍMICA

El alcohol es fácilmente absorbido por el organismo y después de transcurridos unos cincuenta o sesenta minutos, está bastante uniformemente distribuido en todos los líquidos que en él existen. Hay poco más o menos la misma concentración en el plasma, la orina y el líquido cefalorraquídeo. El peso del cuerpo por $2/3$ (parte líquida) por el porcentaje de alcohol en la orina o en la sangre, dá la cantidad calculada de alcohol absorbido.

La cantidad de alcohol en la sangre o en la orina que se ha tomado como un máximo, pasado el cual se supone que hay intoxicación alcohólica es, 0.150%. Bogen efectuó unos experimentos con personas que habían ingerido alcohol encontrando que las personas que tenían un miligramo de alcohol por centímetro cúbico de sangre o menos, no sufrían intoxicación alguna. Con 1 a 2 miligramos el 50% parecían estar intoxicadas; con 3 miligramos el 75%, con 4 o más el 100% y con más de 5 mgms por c.c., todas se hallaban en estado comatoso.

Las vías de eliminación son los riñones, los pulmones (olor alcohólico del aliento) y la piel.

La transformación del alcohol en la sangre y en los tejidos, se opera por oxidación en contacto de la oxihemoglobina con formación de ácido acético y acetato de sosa, y después de carbonato de sosa, que por fin pasa a anhídrido carbónico, por oxidación y transformación del acetato en el seno de los hematíes. El acetato formado no se encuentra en la sangre como producto de la oxidación del alcohol, ya que el acetato de sosa es rápidamente oxidado por los hematíes.

RECONOCIMIENTO DE ALDEHIDOS Y CETONAS.

Para el reconocimiento de aldehidos y cetonas, usé el reactivo de Imbert que es común para la determinación de los dos.

El reactivo es, una solución de nitroprusiato de sodio al 0.5 o 1%.

PROCEDIMIENTO:

Se ponen en un tubo unos 4 c.c. del líquido conteniendo aldehidos y cetonas, al cual se añade un c.c. del reactivo. En seguida se agrega amoniaco dejándolo resbalar por las paredes del tubo. En el límite de separación del amoniaco y de la mezcla del líquido con el de Imbert, se forma un círculo rojo rubi.

Esta reacción se conserva y aún se acentúa por la adición de unas gotas de ácido acético.

Para este mismo reconocimiento se usan otras reacciones, que en general son menos sensibles y más complicadas que la presente. Esta es la causa por la que preferi ésta en las prácticas en que tuve que investigar la presencia de aldehidos y cetonas. Como se verá más adelante.

ELIMINACION DE ALDEHIDOS Y CETONAS

La mayoría de los métodos empleados para la determinación del alcohol, depende de la oxidación directa de las sustancias volátiles separadas del líquido por aereación o destilación de un medio ácido.

La aereación directa o la destilación de un medio ácido, debe necesariamente suponer la presencia de relativamente muy pequeñas cantidades de otras sustancias volátiles, las cuales puedan reducir el agente oxidante y ser interpretadas como alcohol.

Esas otras sustancias reductoras no se encuentran presentes en cantidad suficiente para aumentar la existencia alcohólica significativamente. Sin embargo hay casos en que el formaldehído o la acetona se encuentran en suficiente cantidad, para que las lecturas del alcohol se eleven a un nivel considerado como intoxicante.

La urotropina, por ejemplo, se usa como antiséptico urinario y después de su administración se encuentran en la orina cantidades bastantes significativas de formaldehído. La presencia de acetona también aumenta la cantidad aparente de alcohol, a pesar de no ser oxidada totalmente bajo las condiciones comunmente empleadas.

En los trabajos médico-legales, el estado de salud del individuo o si ha tomado o no algún medicamento no siempre se sabe. Por consiguiente siempre existe la posibilidad de la presencia de otras sustancias volátiles, tales como aldehídos, ácidos, fenoles y acetona.

De allí la necesidad de separar estas sustancias volátiles.

Hay varios métodos; en uno descrito por Gorr y Wagner, se refluje la mezcla de una solución de alcohol con aldehídos y cetonas, con cloruro mercúrico ($HgCl_2$) en una solución normal de hidróxido de sodio ($NaOH$), durante tres horas y destilando en seguida el alcohol.

En la práctica de este método hecha por mí obtuve muy satisfactorios resultados pues habiendo hecho las reacciones características de aldehídos y cetonas (descritas anteriormente) en el alcohol destilado, no encontré la presencia de ellos.

La práctica la hice como sigue:

Puse en un matraz una solución conteniendo 1 grm. de alcohol, 0.070 mgrs. de formaldehído, y 0.025 mgrms. de acetona, con 20 c.c. de solución de sosa normal y 0.5 grms. de Cl_2Hg , refluí por tres horas y destillé después hasta que se hubo destilado unas tres cuartas partes del volumen total.

En la mitad de este destilado hice las pruebas de aldehídos y cetonas resultando negativas. En la otra mitad valoré el alcohol por el método que describiré adelante obteniendo 0.466 grms. lo cual quiere decir, que hay una recuperación de alcohol de un 94%, más o menos. Tomé 0.070 mgrms. de formaldehído y 0.025 de acetona basándome en que el método alcanza a eliminar 0.075 mgrms. de aldehídos y 0.030 de cetonas (cantidades excesivas, que nunca aun en las condiciones más desfavorables se encuentran presentes en la orina y en la sangre).

Otro de los métodos usados es el propuesto por Friedemann y Klaas, que recomiendan destilar el alcohol de un medio ácido después de precipitar las proteínas con Tungstato de Sodio y sulfato mercúrico y hacer una segunda destilación del destilado anterior, después de mezclarlo con hidrato de calcio conteniendo óxido mercúrico para quitar las sustancias volátiles aparte del alcohol, que fueron destiladas del medio ácido. Este método no lo llevé a la práctica ya que no es recomendable por ser más complicado y por tanto objeccionable para usarse con propósitos rutinarios.

En el método que yo usé se substituye el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ por una solución de NaOH conteniendo HgCl_2 , así las sustancias que estorban son eliminadas pasando el vapor destilado del medio ácido por la solución, el alcohol es destilado una sola vez, simplificando considerablemente la técnica.

El medio ácido elimina cualesquier sustancia volátil básica, mientras que la solución de sosa concentrada y el óxido mercúrico eliminan los ácidos, aldehidos, acetona y fenoles.

El alcohol deberá oxidarse en frasco cerrado, pues si no se obtendrían recuperaciones bajas, debidas a que se pierde acetaldehido durante la digestión.

METODO PARA LA DETERMINACION DEL ALCOHOL ETILICO EN PRESENCIA DE ALDEHIDOS Y CETONAS.

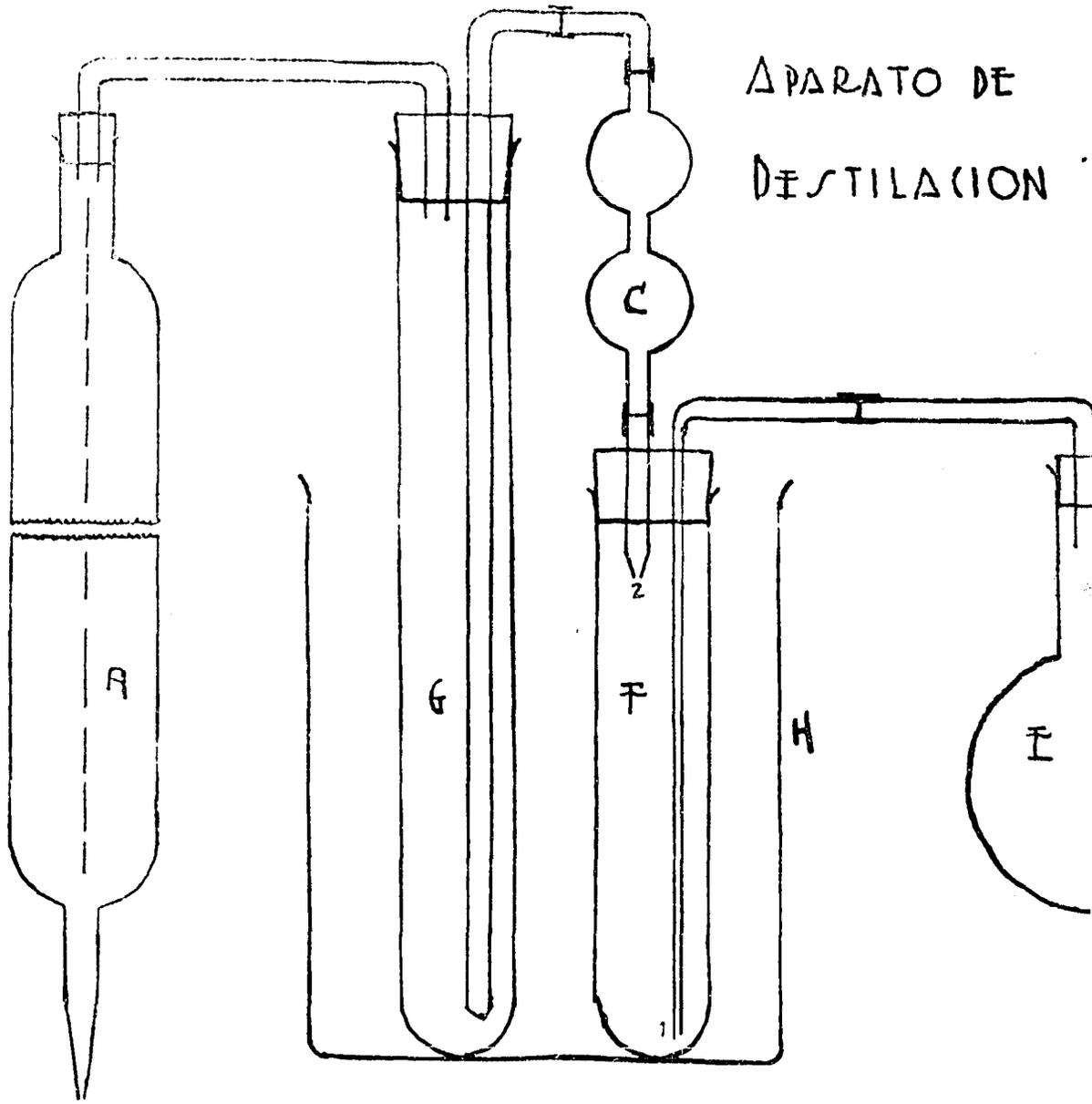
A P A R A T O

El aparato de destilación y digestión que muestro en la figura consta de dos tubos (F) y (G) que son sostenidos en su lugar durante la destilación, por resortes colocados arriba y a los lados de ellos, del rompeespumas (C) que previene el arrastre mecánico del material cuando hay espuma abundante. Del balón (E) que es el productor del vapor de agua. El vapor pasa a través de la abertura (1) y el condensado junto con cualquier otro fluido vuelve al tubo de destilación por la abertura (2). Los tubos se introducen en un vaso de precipitados de dos litros (H), que se usa como baño de agua hirviente. El alcohol se reúne en un frasco después de haber pasado por el refrigerante (A). Para este frasco ocupé el mismo donde hice la valoración.

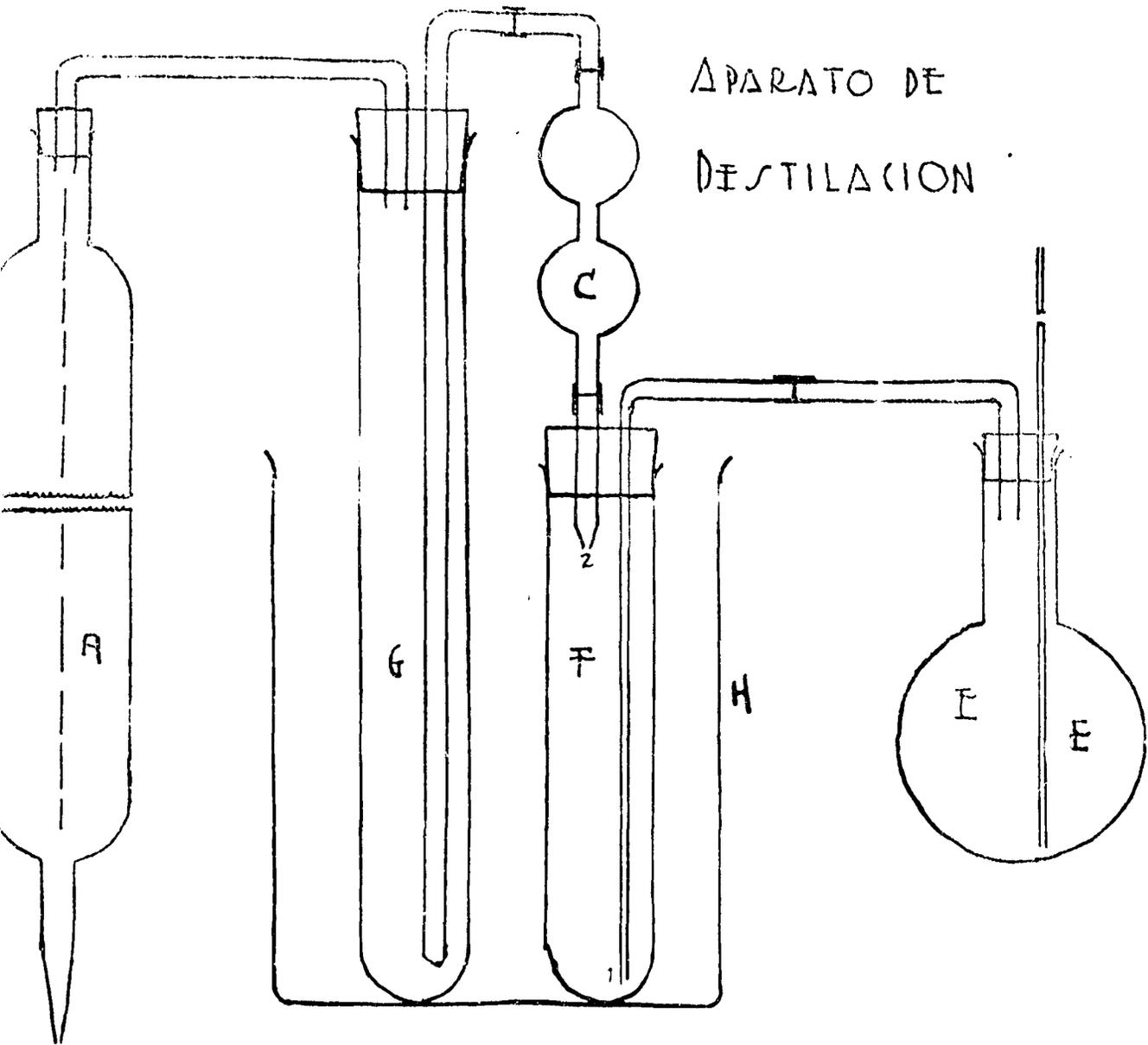
R E A C T I V O S

Solución de $K_2Cr_2O_7$ 0.1N.

APARATO DE
DESTILACION



APARATO DE
DESTILACION



Pulvericé dicromato potásico Q.P.; después lo sequé al vacío durante seis horas a 120°C. Pesé lo más exactamente que pude 4.903 grms. y disolvi en agua destilada aforando a un litro.

Un centímetro cúbico de solución equivale a 2.3 miligramos de alcohol.

Una solución 0.1 Normal es preferible respecto a otra más diluida, debido a que cubre los límites de las cantidades de alcohol normalmente encontradas en la sangre u orina y otras sustancias.

Solución de Na₂S₂O₃ 0.1N.

Disolvi 25 gramos de tiosulfato sódico en un litro, valorando esta solución con la de dicromato 0.1 normal, preparada previamente.

Acido Sulfúrico Q.P.

Solución Saturada de Cloruro Mercurico.

Solución Saturada de Hidróxido de Sodio.

Solución de Tungstato Sódico al 10%.

Solución de Acido Sulfúrico Normal.

Solución de Almidón.

Yoduro de Potasio Q.P. en cristales.

P R O C E D I M I E N T O

Se miden de uno a cinco centímetros cúbicos de sangre, a la cual se añade citrato u oxalato sódico (en mi caso usé citrato) como anticoagulante, en el tubo de destilación (F), se po-

nen 5 centímetros cúbicos de tungstato de sodio y 5 de ácido sulfúrico normal. Estas cantidades efectúan una completa precipitación de las proteínas, siempre que no ocurra alguna espuma durante la destilación.

Diez centímetros cúbicos de solución saturada de Cloruro Mercuríco y 10 c.c. de solución saturada de sosa se ponen en el tubo (G) (eliminación de aldehidos y cetonas). Los tubos son entonces colocados en el aparato de destilación y sumergidos en el baño de agua hirviente, el que debe guardarse a la temperatura de ebullición durante el proceso de destilación. El alcohol es destilado como vapor dentro del frasco de destilación (D). En este destilado se hace la titulación del alcohol como describiré más adelante.

CUANTIFICACION DEL ALCOHOL.

EN UNA SOLUCION TIPO.

En el método descrito por Kozelka y Hine se trata el destilado de la sangre u orina, con 10 centímetros cúbicos de dicromato potásico 0.1 Normal y 5 c.c. de ácido sulfúrico concentrado en un frasco cerrado que se lleva a un baño de agua hirviente durante veinte minutos y después de enfriado es diluído el ácido a un 10% y se determina el exceso de dicromato potásico añadiendo 0.2 grms. de yoduro de potasio cristalizado y titulando el yodo libre con solución de tiosulfato de sodio.

Seguendo este método hice varias valoraciones, obteniendo resultados por demás diversos y erróneos, como a continuación se verá.

Hice una solución de alcohol al 1%, midiendo 1.08 c.c. de alcohol de 95°, que corresponde a un gramo, ya que la densidad del alcohol es de 0.9242. Y diluyendo éstos con agua hasta 100 c.c.

Usando 1 c.c. de esta solución, con las cantidades de dicromato y ácido sulfúrico ya dichas, debería gastar de tiosulfa-

ta sódico 0.1 normal, ó 53 c.c. según calcula.

Los resultados obtenidos fueron:

2.2

4.75

2.5

4.3

3.4

17.15

Promedio 3.43 c.c. de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$

que como se ve, es mucho menor que el resultado correcto.

Al efectuar estas valoraciones, noté que ellas eran influenciadas por diversos factores a saber: Tiempo de calentamiento en el baño maría, manera de introducir el ácido sulfúrico y el dicromato potásico en el frasco, enfriamiento antes de introducir el yoduro de potasio y cantidad de éste. Usando diferente cantidad de reactivos noté también que los resultados eran diversos.

Tomando en cuenta estos factores hice distintas valoraciones y después de hacer por lo menos veinte, encontré que el método correcto a seguir en esta valoración es el siguiente

Puse en un frasco de tapón esmerillado de 500 c.c., 10 c.c. de alcohol al 1% y añadí con una pipeta 50 c.c. de solución 0.1 normal de dicromato potásico, introduciendo la punta de la pipeta en el líquido para evitar que se mezclen bruscamente y haya gran producción de calor que puede evaporar algo de alcohol. Puede añadirse al alcohol diluido una o dos gotas de solución concentrada de sosa que al reaccionar con el ácido sulfúrico dejará en solución sulfato sódico que sirve para regularizar la reacción.



QUÍMICA

Después introduje de la misma manera 20 c.c. de ácido sulfúrico previamente diluido con 200 c.c. de agua destilada. El objeto de diluir antes el ácido, es el de evitar el calentamiento del frasco antes de encontrarse cerrado, no habiendo en esa forma manera de que el alcohol se evapore. Tapé el frasco y lo puse a reaccionar en un baño maria durante 40 minutos, agitando de cuando en cuando pero no antes de los primeros 15 minutos. Al final agité vigorosamente teniendo cuidado de que no se destapara. Añadi dos gramos de yoduro de potasio cristalizado después de haber enfriado completamente, agitando para disolverlo. Lo dejé 15 minutos pero en la obscuridad porque la luz descompone el yoduro de potasio y deja un equivalente de yodo. Valoré después con tiosulfato sódico 0.1 normal.

La adición del indicador de almidón debe hacerse hasta que el color del yodo haya desaparecido casi totalmente.

Esta misma operación la repetí usando agua destilada en vez de alcohol, para saber la cantidad de dicromato que gasta la materia orgánica que tiene el agua, obteniendo los siguientes resultados:

54.9
55.0
55.15
<hr/>
165.05

Promedio: 55.02 c.c. de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 normal
(factor: 0.9050) o sean $55.02 \times 0.9050 = 49.79$ c.c. Es decir, se gastó 0.21 c.c. de dicromato al oxidar la materia orgánica del

agua, que tendrán que restarse del resultado obtenido con el alcohol. Para obtener este resultado hice cinco lecturas que fueron:

7.35
7.40
7.40
7.50
7.45

que dan un promedio de 7.42, esto por el factor 0.9050 dá 6.715, restándole a esta cantidad los 0.21 c.c. gastados en la prueba en blanco me quedan 6,505 c.c. de tiosulfato de sodio, o sea que se gastó de dicromato:

$$50 - 6,505 = 43.49 \text{ c. c.}$$

El cálculo de lo que se deberá gastar es el siguiente:

Reacción:



unir con anteriores



Peso molecular del $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$: 294.2

Peso molecular del $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$: 138

En 1 c.c. de dicromato de potasio 0.1 normal hay 0.0049 grms. Tomando 10 c.c. de la solución de alcohol al 1% (o sean 0.1 gramo de alcohol). Necesité:

$$294.2 \quad \times$$

$$\begin{array}{r} \hline 138 \\ 1 \times 0.213 \\ \hline 0.0049 \end{array} \quad \begin{array}{r} \times \\ 0.1 \\ \hline \end{array} \quad \begin{array}{l} X = 0.213 \text{ grms. de } \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \\ \\ \\ \hline = 43.47 \text{ c.c.} \end{array}$$

Tomé después cantidades diferentes de alcohol (10 y 5 miligramos), haciendo la práctica en la misma forma y con cantidades de reactivos proporcionales a las dichas anteriormente. Los resultados obtenidos fueron también correctos, aunque no tan exactos como el anterior, debido más que todo según creo a los errores inevitables que surgen al trabajar con cantidades pequeñas.

Debo hacer notar que el método anterior con el cual obtuve resultados correctos no fue sólo producto de mis observaciones sino ayudada por los datos proporcionados por algunos autores que previamente consulté.

Práctica N° 4

Se trabajó con orina de individuo en estado de embriaguez.

Sexo masculino.

Edad 24 años.

Peso 60 kilogramos.

Cantidad de orina usada: 2 c.c.

Dicromato gastado (corregido): 1.7 c.c.

Alcohol equivalente: 3.91 miligramos.



QUINQUE

RESUMEN DE LAS PRACTICAS HECHAS.

Material usado.	Cantidad	Alcohol añadido mgrms.	Alcohol recogido mgrms.	%
	c.c.			
Agua.	10	100	100.19	100.19
Agua.	10	100	100.07	100.07
Agua.	10	100	100.07	100.07
Agua.	10	100	99.86	99.86
Agua.	10	100	99.99	99.99
Sangre.	3	3	2.89	96.33
Orina.	4	6	6.16	102.66
Sangre.	2	—	6.05	—
Orina.	2	—	3.91	—

CONCLUSIONES

Después de haber trabajado por espacio de unos tres meses en la preparación de éste trabajo, he venido a obtener las siguientes conclusiones:

El método seguido es poco laborioso, ya que si tomamos en cuenta lo complicado de otros métodos éste viene a ser relativamente fácil. Tiene la ventaja de hacerse toda la práctica en sólo dos operaciones, (destilación y valoración del destilado), lo cual lo hace recomendable para trabajos en serie y de rutina.

Los resultados son por lo general exactos, como se ve por las prácticas hechas. Aunque debo mencionar que también obtuve algunos resultados muy erróneos cuando aparentemente no había razón para ello. Las causas que influenciaron estos errores pasaron para mí desapercibidas, pero me inclino a creer que son de carácter técnico, es decir, ocasionadas por la poca práctica que tengo en esta clase de trabajos.

Algo que debe tenerse muy en cuenta al seguir este método, es la construcción del aparato de destilación. El que yo usé es aún poco eficiente y está a merced seguramente de innovaciones. No pocas prácticas se perdieron debido a esta anomalía.

Guadalajara, Jal., Junio de 1945

LETICIA OLGA RAMIREZ E.

CONCLUSIONES

Después de haber trabajado por espacio de unos tres meses en la preparación de éste trabajo, he venido a obtener las siguientes conclusiones:

El método seguido es poco laborioso, ya que si tomamos en cuenta lo complicado de otros métodos éste viene a ser relativamente fácil. Tiene la ventaja de hacerse toda la práctica en sólo dos operaciones, (destilación y valoración del destilado), lo cual lo hace recomendable para trabajos en serie y de rutina.

Los resultados son por lo general exactos, como se ve por las prácticas hechas. Aunque debo mencionar que también obtuve algunos resultados muy erróneos cuando aparentemente no había razón para ello. Las causas que influenciaron estos errores pasaron para mí desapercibidas, pero me inclino a creer que son de carácter técnico, es decir, ocasionadas por la poca práctica que tengo en esta clase de trabajos.

Algo que debe tenerse muy en cuenta al seguir este método, es la construcción del aparato de destilación. El que yo usé es aún poco eficiente y está a merced seguramente de innovaciones. No pocas prácticas se perdieron debido a esta anomalía.

Guadalajara, Jal., Junio de 1945

LETICIA OLGA RAMIREZ E.

BIBLIOGRAFIA

- | | |
|-------------------|--|
| Allen | Industrial Chemical Analysis |
| Suárez y Peregrín | Manual Técnico de Análisis Clínico |
| Vitoria, S. J | Química del Carbono |
| Saz | Análisis Cuantitativo |
| Arnaud | Terapéutica, Farmacología y Materia Médica |
| Arthus | Química Fisiológica |
| Kozelka y Hine | Revista "Industrial and Engineering Chemistry" (Analytical Edition). |