

TRABAJO PRACTICO N°2

ETANOL



Determinación de Etanol

- * Dentro de los tóxicos volátiles, el Etanol es una sustancia de importancia toxicológica dada su acción farmacológica **depresora** del sistema nervioso central (S.N.C) y el abuso creciente del consumo de bebidas alcohólicas.
- * Esto último presenta importancia médico-legal debido a que los individuos alcoholizados pueden ser causantes de trastornos y accidentes de los cuales son imputables.



- * Las vías de penetración posibles de los alcoholes son digestiva, respiratoria y absorción por piel
- * Los tipos de muestras generalmente usados para estas determinaciones son: sangre (alcoholemia), orina, humor vítreo, bebidas, etc.



*Se clasifican como tóxicos volátiles a todas las sustancias que independientemente de su estado físico pueden separarse de la matriz que los contiene por destilación simple, destilación por arrastre con vapor, **micro difusión y cromatografía gaseosa**

*Entre los tóxicos volátiles mas importantes encontramos acido acético, cetonas, aldehídos, benceno, fenol, alcoholes primarios (etanol y metanol), gliceroles, éter, cloroformo, plaguicidas organofosforados, etc.

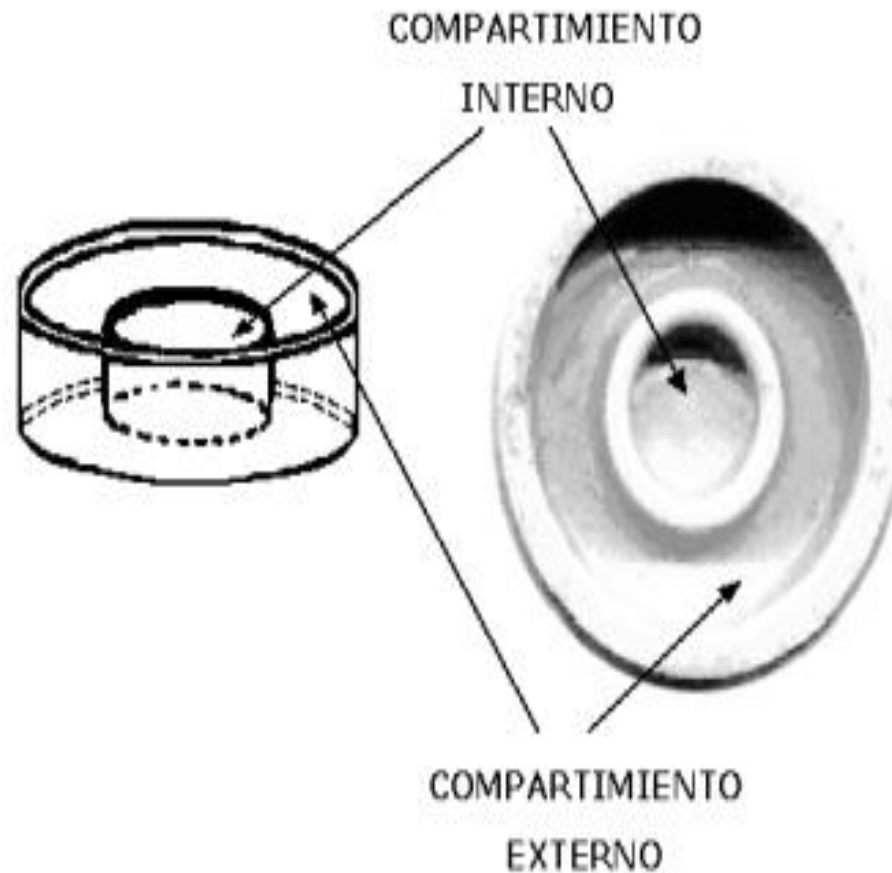


EL METODO USADO DE SCREENING ES:

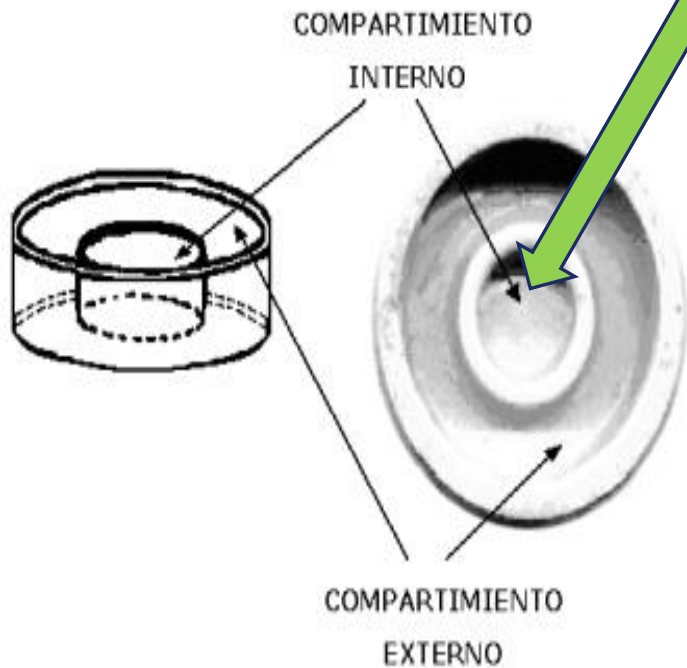
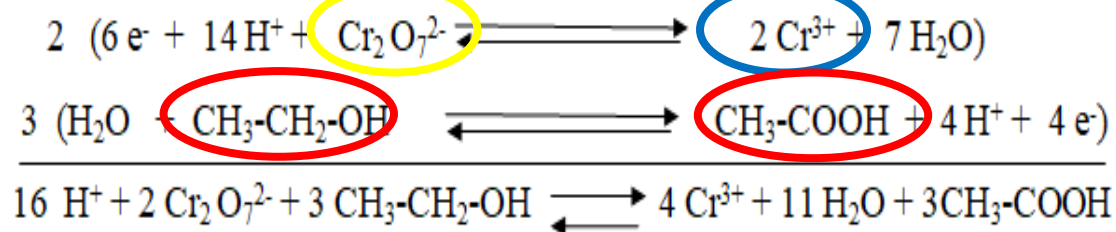
- DETERMINACION DE REDUCTORES VOLATILES TOTALES POR MICRODIFUSIÓN (Aplicada a Alcholemia)

La microdifusión constituye un método de asilamiento y se realiza en Cámaras de Conway. Estas cámaras poseen dos compartimientos, uno externo en el que se coloca la muestra a analizar con un agente liberador y otro interno en el que se coloca un agente atrapante

Cámara de Conway



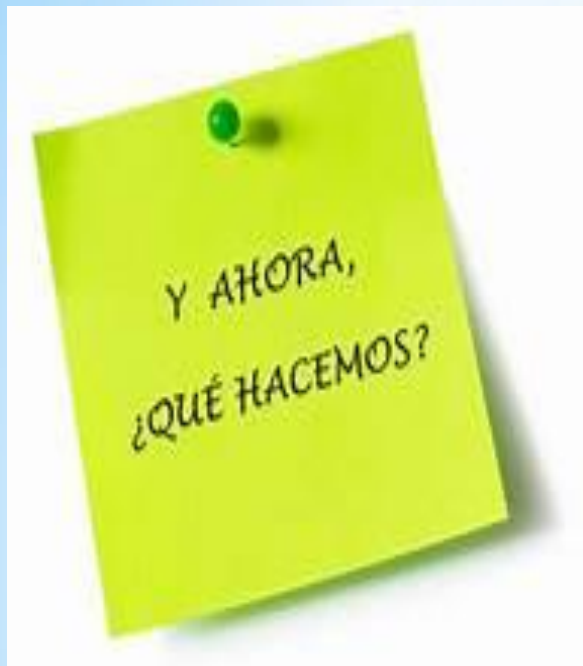
- * Muestra a analizar: solución de etanol - bebida alcohólica
- * Agente liberador: solución saturada de carbonato de Potasio (K_2CO_3)
- * Agente atrapante o reactivo fijador: solución Sulfúrica de Dicromato de Potasio. ($K_2Cr_2O_7$ en H_2SO_4)
- * Durante la reacción, el etanol presente en la muestra, es liberado y difunde en el seno de la cámara de Conway, donde se produce la captación y la reacción de óxido-reducción entre el etanol y el dicromato (en medio ácido), forzándose así la remoción completa del primer compuesto al cabo de un tiempo y temperatura previamente determinados.



Oxidación del etanol a ácido acético

Reducción de dicromato (Cr^{2+} a Cr^{3+})

Durante la reducción se obtiene un cambio de color Cr^{2+} amarillo \rightarrow Cr^{3+} azul



Finalizada la difusión, se valora el exceso de Cr_2O_7
 K_2 (que quedó sin reaccionar) del compartimiento interno, que puede llevarse a cabo por distintas técnicas.

Como empezamos???



Paso 1: curva de calibrado

Diseño de la curva de calibrado

- * Definimos los puntos de la curva, es decir entre que valores espero obtener las concentraciones de las muestras

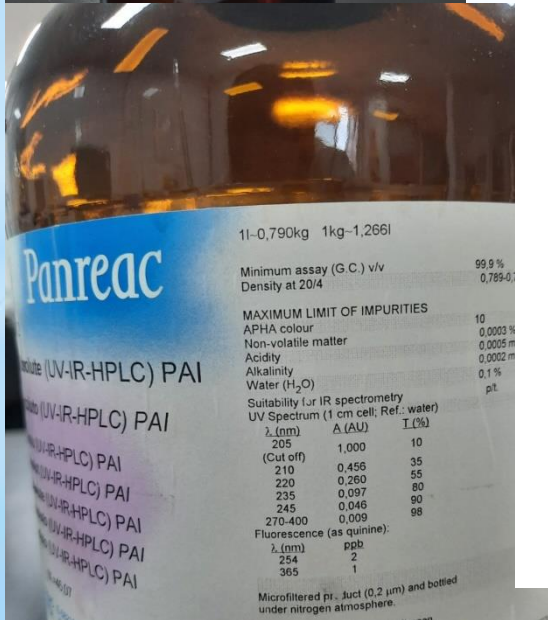
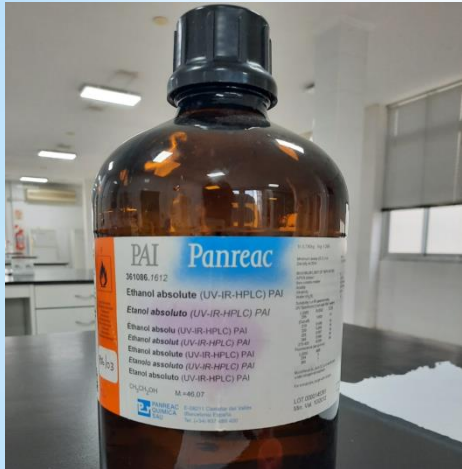
Relación Sintomatología - Alcoholemia

ALCOHOLEMIA	ESTADO	SIGNOS Y SÍNTOMAS
Entre 0,10 a 0,50 gramos/litro	Periodo subclínico	Comportamiento normal. Sin signos aparentes, sólo en test especiales: prolongación en los tiempos de respuesta a estímulos, alteración motricidad fina.
0,50 – 1,50 gramos/litro	Intoxicación leve	Euforia, verborragia y excitación, sobrevaloración de las capacidades personales. Enlentecimiento del tiempo de reacción psicomotriz. Dificultad para mantener la postura. Alteraciones visuales (adaptación visual nocturna, apreciación de distancias, disminución del campo visual)
1,50 – 3,00 gramos/litro	Intoxicación moderada	Trastornos de la memoria, confusión, ataxia, trastornos del habla, incoordinación muscular, alteración del equilibrio. Diplopía. Agresividad y pérdida del control.
3,00 – 4,00 gramos/litro	Intoxicación severa	Estupor. Déficit motores. Apatía vómitos, relajación de esfínteres, disminución severa del estado de conciencia, sueño profundo. Posible coma alcohólico!!

Conc (g/L)
0
0,25
0,5
1
2
3

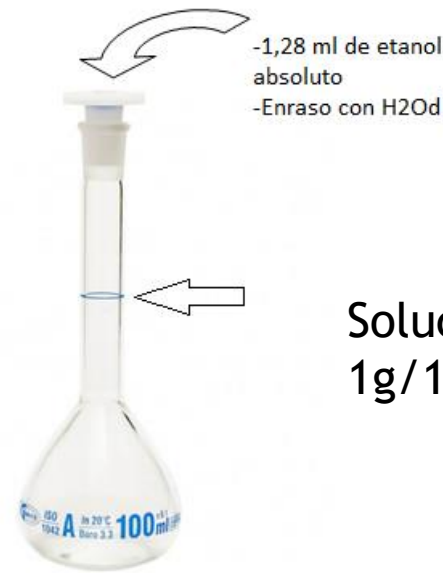
Solución madre de etanol

99,99 %V/V----→ 99,99 ml et en 100 ml de sol



$$0,78 \text{ g etanol} \text{ ----- } 1 \text{ ml etanol}$$

$$1 \text{ g etanol} \text{ ----- } X = \frac{1 \text{ g etanol} \times 1 \text{ ml etanol}}{0,78 \text{ g etanol}} = 1,28 \text{ ml etanol}$$



Solución madre de etanol
1g/100 ml = 10 g/L

Para la curva, basándonos en la ecuación

$$C_i \times V_i = C_f \times V_f$$

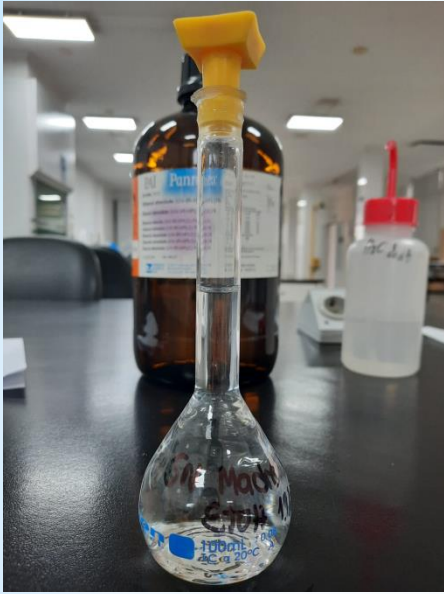
$$V_i = \frac{C_f \times V_f}{C_i}$$

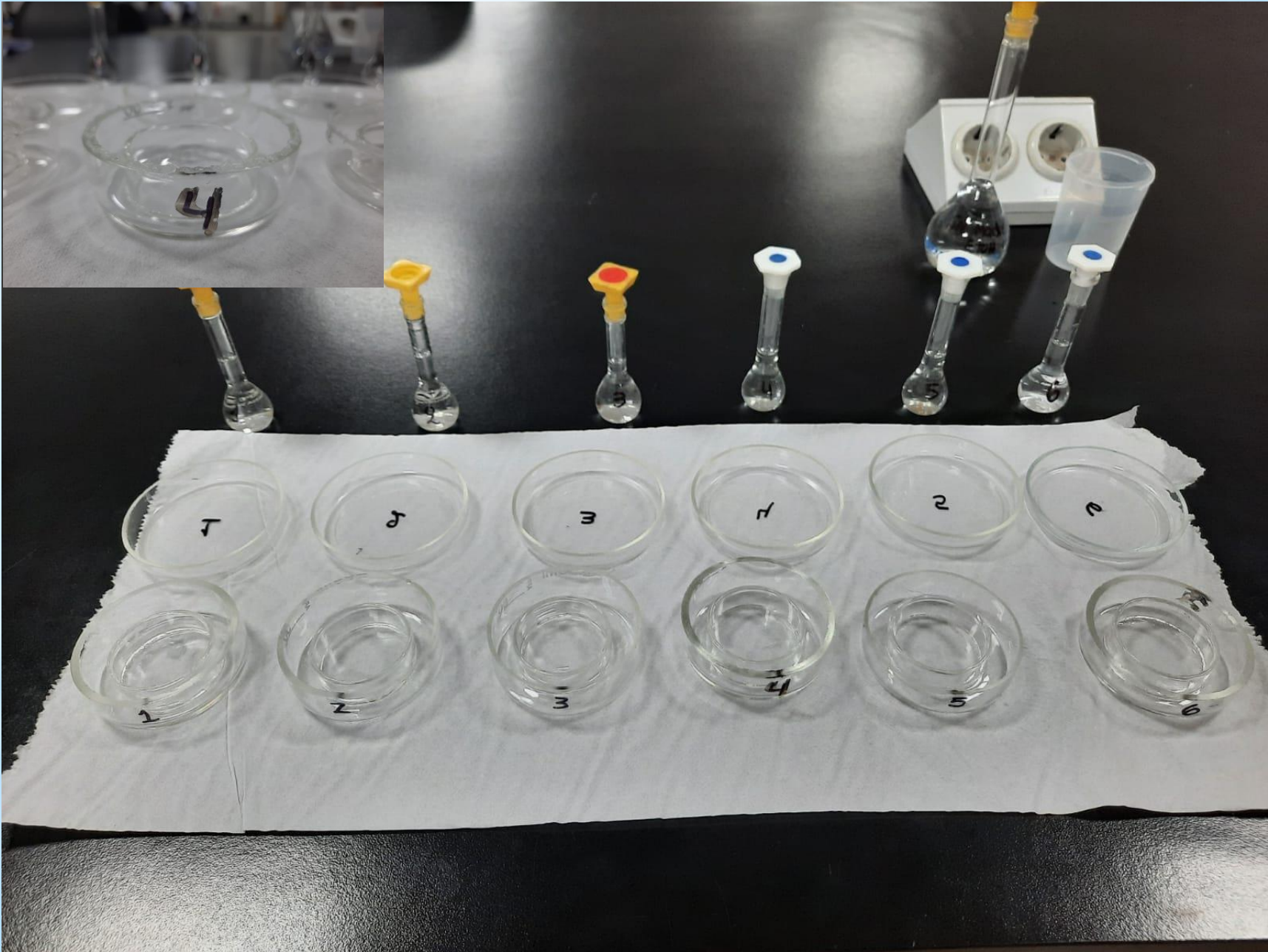
$$V_i = \frac{0,25 \text{ g/L} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ g/L}} = 0,25 \text{ mL}$$



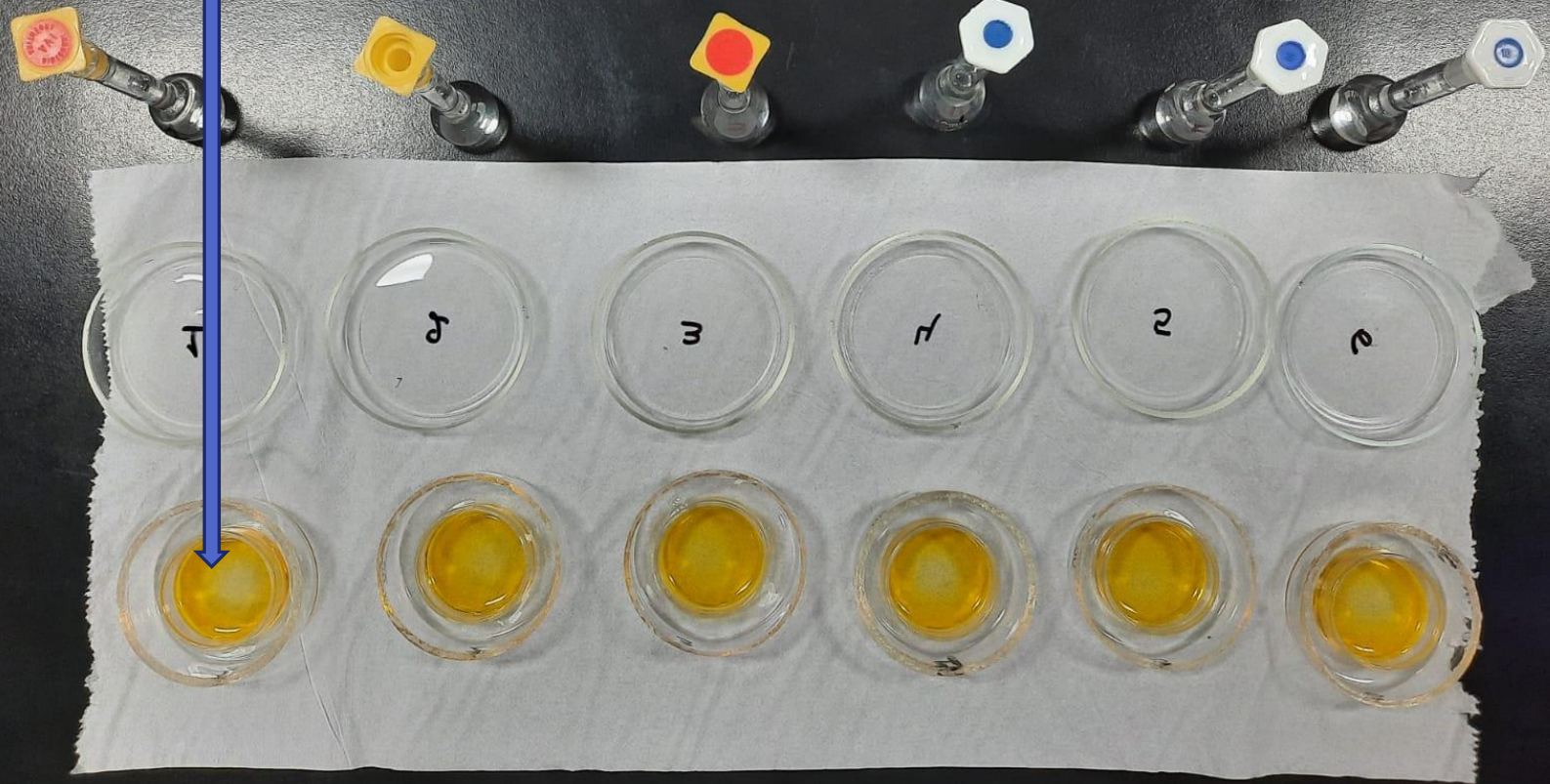
Matraz	Sn. Madre Etanol (ml)	H2Od (ml)	Conc. (g/L)
1	-	10,0	0
2	0,25	9,75	0,25
3	0,5	9,5	0,5
4	1,0	9,0	1,0
5	2,0	8,0	2,0
6	3,0	7,0	3,0

Importante!!!

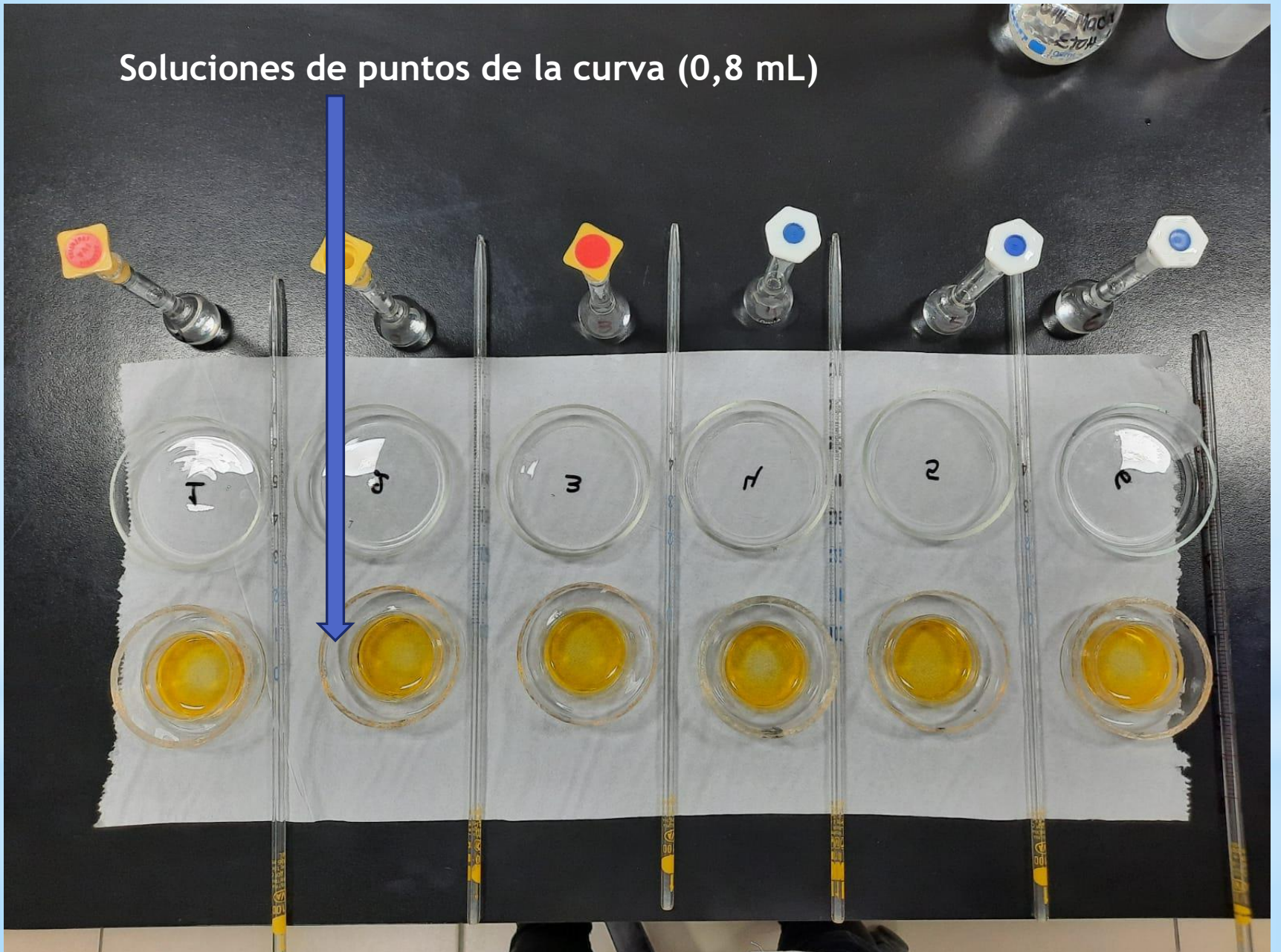




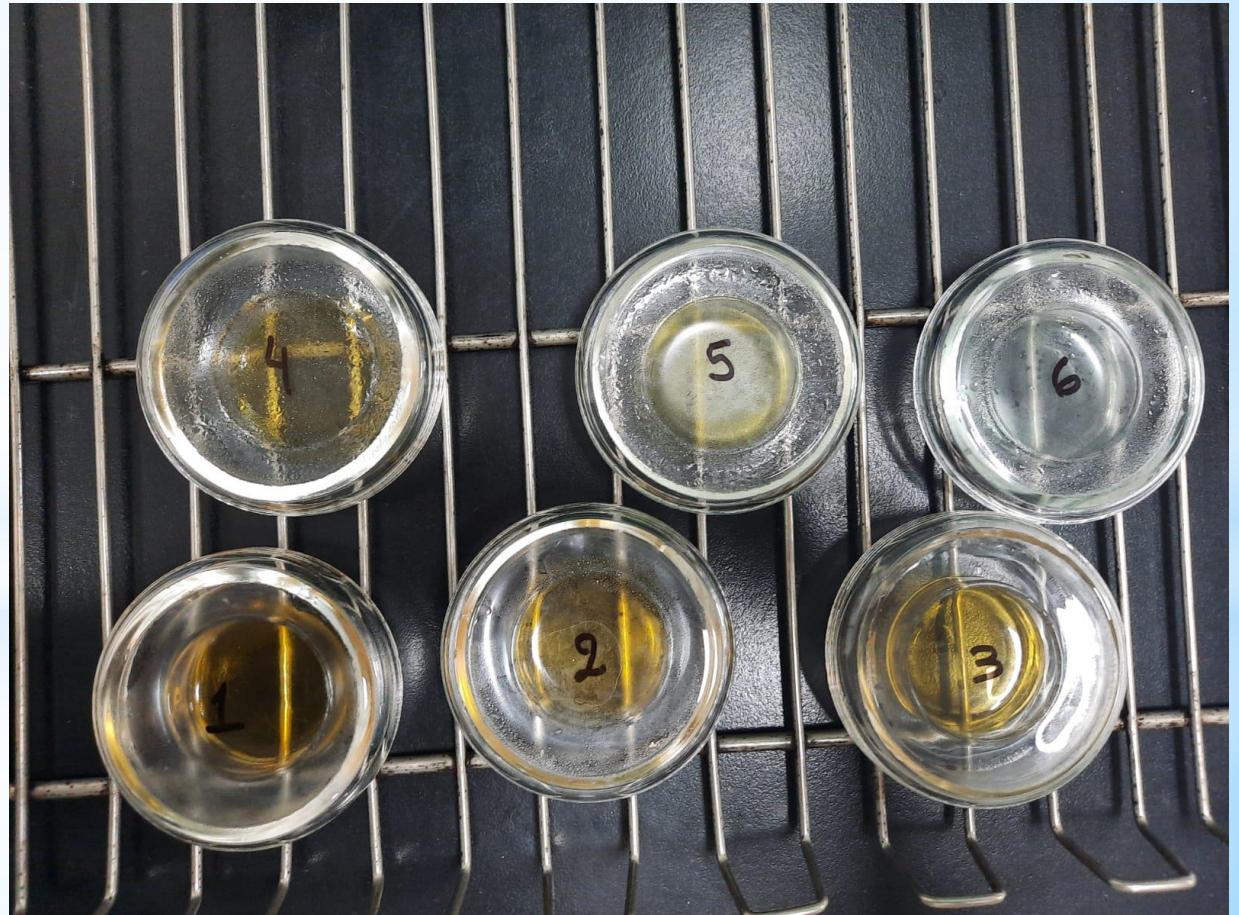
Solución Sulfochromica (2 mL)



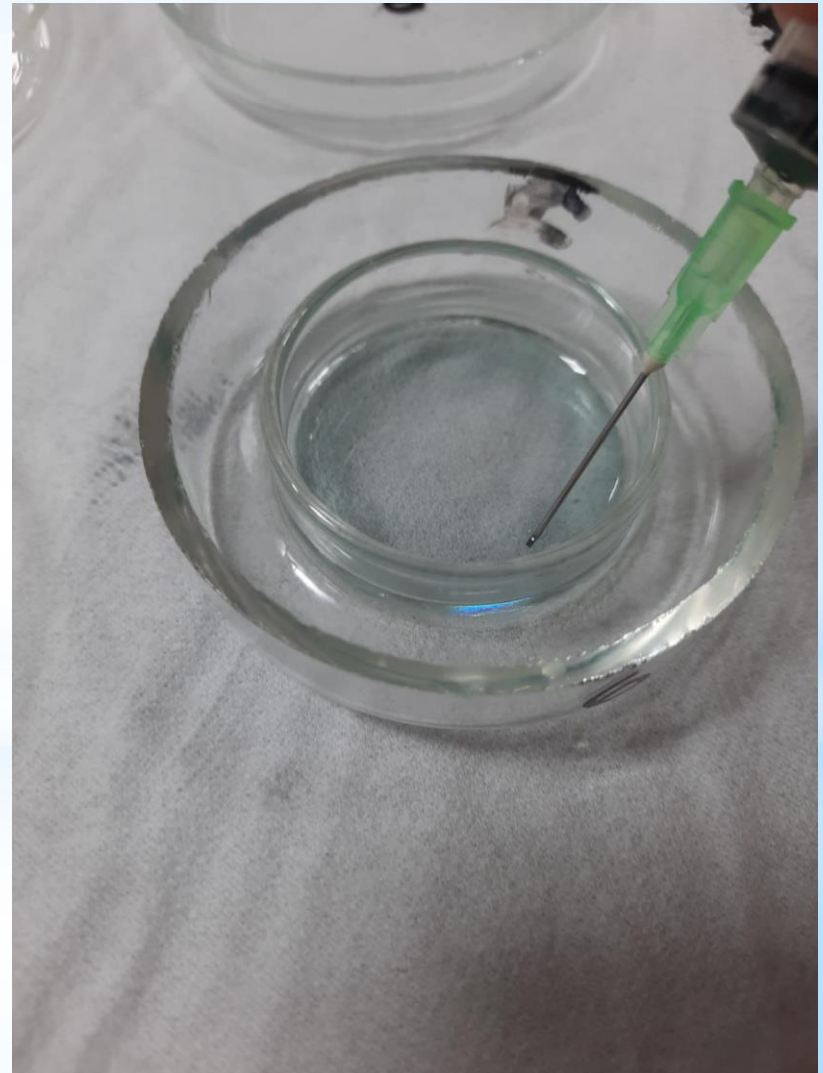
Soluciones de puntos de la curva (0,8 mL)



Llevar a estufa acondicionada previamente a 90°C por un período de 30 minutos. Transcurridos los 30 minutos, retirar y destapar para detener la difusión.

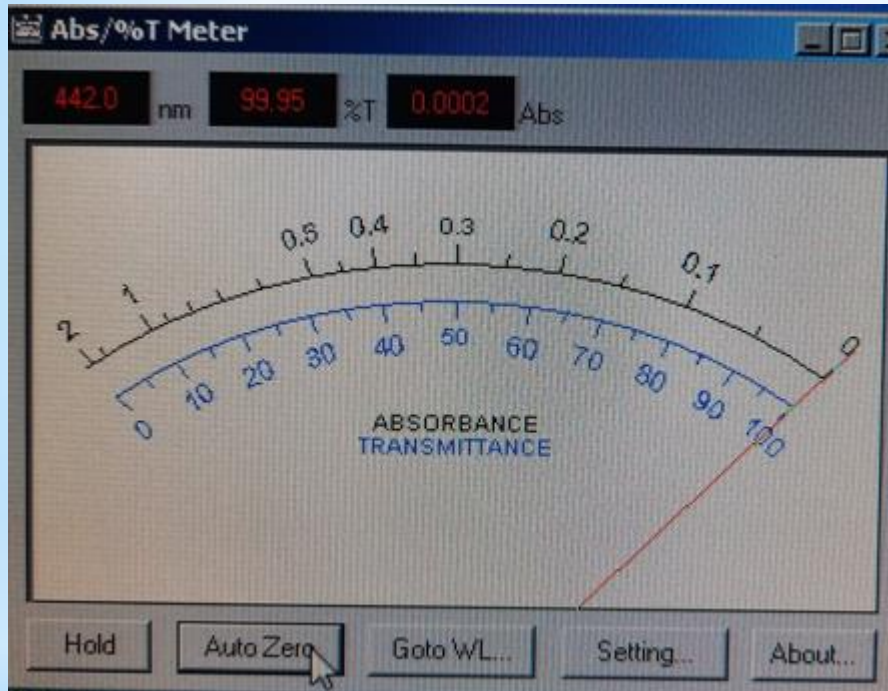


Trasvasar la solución sulfocrómica del compartimiento interno de cada cámara a un matraz de 10 ml con ayuda de una jeringa y aguja, enjuagando con agua destilada el compartimiento interno. Llevar a volumen

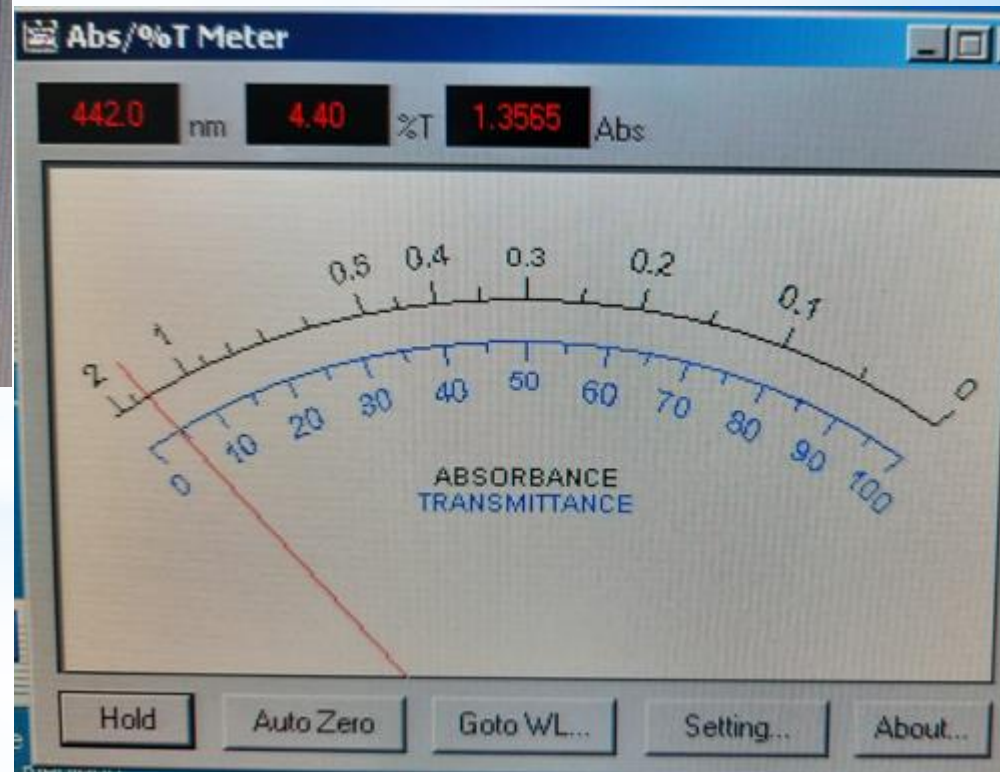


Lectura a 442 nm

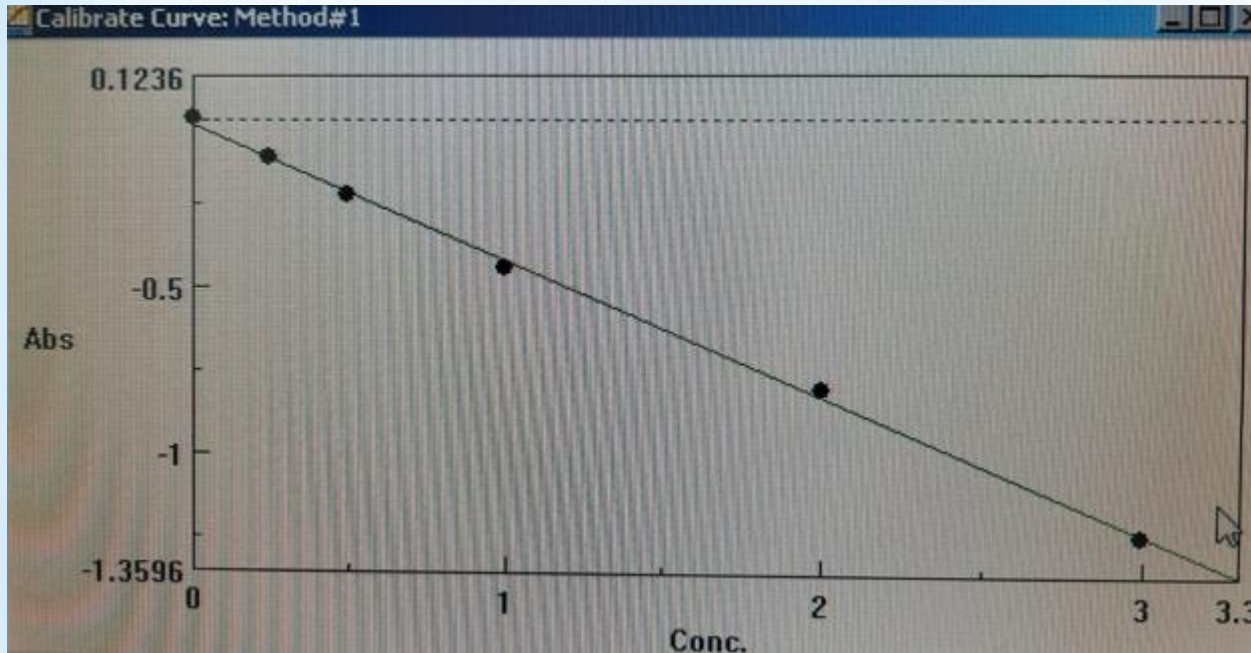
Calibración instrumental



Medida del valor 0 de concentración



Curva de calibrado



Standard blank: 1.3556
Blank correct: On

No.	Conc.	Abs
1	0.0000	0.0000
2	0.2500	-0.1168
3	0.5000	-0.2254
4	1.0000	-0.4437
5	2.0000	-0.8023
6	3.0000	-1.2360

Listo curva realizada !!!!





Muestras

- * MUESTRAS INDIVIDUOS VIVOS:
- * Sangre entera (punción venosa)
- * CUIDADO No desinfectar previamente el sitio de punción con alcohol (utilizar soluciones de cloruro mercurico al 0,5 % o solución jabonosa)
- * SIN CÁMARA DE AIRE
- * PRESERVANTE ELECCIÓN NaF 1% (p/v)
- * Conservar 0 - 4°C / hasta 14 días sin pérdidas significativas

Procesamiento de muestras

- * [Video 1](#): preparación de las cámaras
- * [Video 2](#): llenado de cámara interna
- * [Video 3](#): colocación de muestras
- * [Video 4](#): solución liberadora
- * [Video 5](#): contacto
- * [Video 6](#): difusión
- * [Video 7](#): stop
- * [Video 8](#): recuperación
- * [Video 9](#): lectura en espectro- blanco
- * [Video 10](#): lectura espectro - muestra
- * [Video 11](#): Absorbancias

- * La densidad óptica del blanco corresponde al dicromato total (inicial), mientras que la muestra mide el exceso de dicromato sin reducir.
- * La diferencia entre la absorbancia del blanco y de la muestra es proporcional a la cantidad de etanol presente en la muestra.

Abs Cr₂ inicial - Abs Cr₂ remanente = Cr₂ reducido = etanol presente



Se trata de un método químico basado en óxido - reducción y por lo tanto **no es específico para el etanol**. Interfieren alcoholes, aldehídos y cetonas (metanol, isopropanol, acetona, acetaldehído, formaldehído). La interferencia de la acetona es importante en diabéticos y en individuos con ayuno prolongado.

Tips Prácticos

- * Mezcla de parafina y vaselina para sellar cámara
- * La sustancia liberadora debe colocarse a un lado y al otro la muestra a analizar, evitando que se mezclen
- * Una vez sellada la cámara realizar movimientos en ocho para mezclar la muestra y la solución liberadora (comienza la reacción)
- * Respetar la «receta»
- * Hacer lavado del compartimento con agua destilada para que todo el dicromato restante pueda ser cuantificado.
- * Se debe realizar una curva de calibrado con soluciones testigos y así poder hacer calculo de concentración

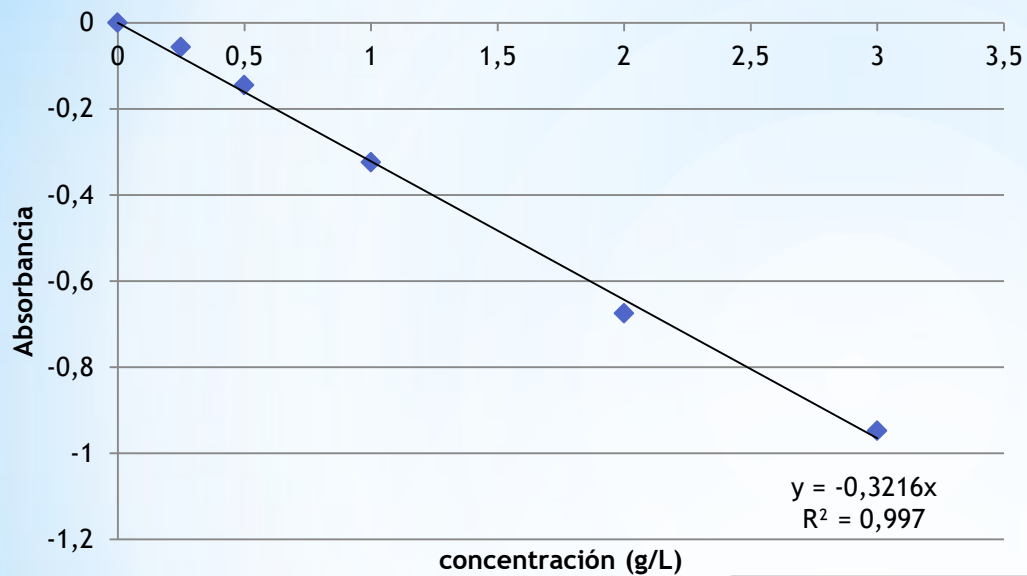
Caso judicial

- * Femenino de 34 años de edad, imputado por homicidio en grado de tentativa. Es detenida luego darse a la fuga durante 2 horas desde que vecinos llamaron al 911 por fuertes disturbios en la locación del occiso. Testigos afirman que en el domicilio se realizó una reunión clandestina de las de 10 personas que se juntaron a almorzar.
- * Se le realiza la extracción de sangre
 - * Que consideraciones hay que tener????
- * De la misma se obtiene una Absorbancia de 0,58

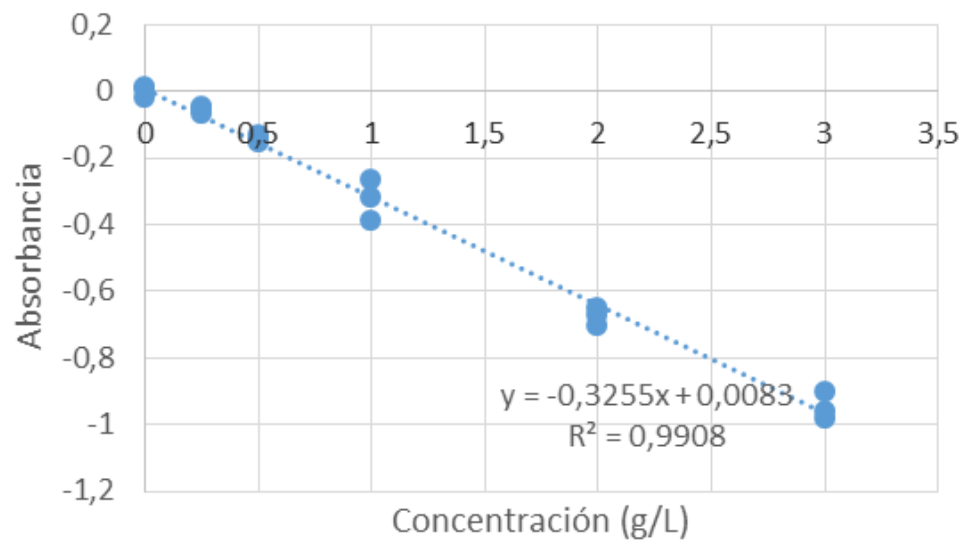
Construir curva de calibrado

Concentración (g/L)	Absorbancia	
0	1,2763	1,2967
0	1,3032	
0	1,3106	
0,25	1,2499	1,2405
0,25	1,2266	
0,25	1,245	
0,5	1,1422	1,1522
0,5	1,1665	
0,5	1,1479	
1	0,9758	0,97253333
1	1,0324	
1	0,9094	
2	0,647	0,62186667
2	0,6255	
2	0,5931	
3	0,3139	0,34933333
3	0,3376	
3	0,3965	

curva de calibrado de etanol



Curva de Calibrado EtOH



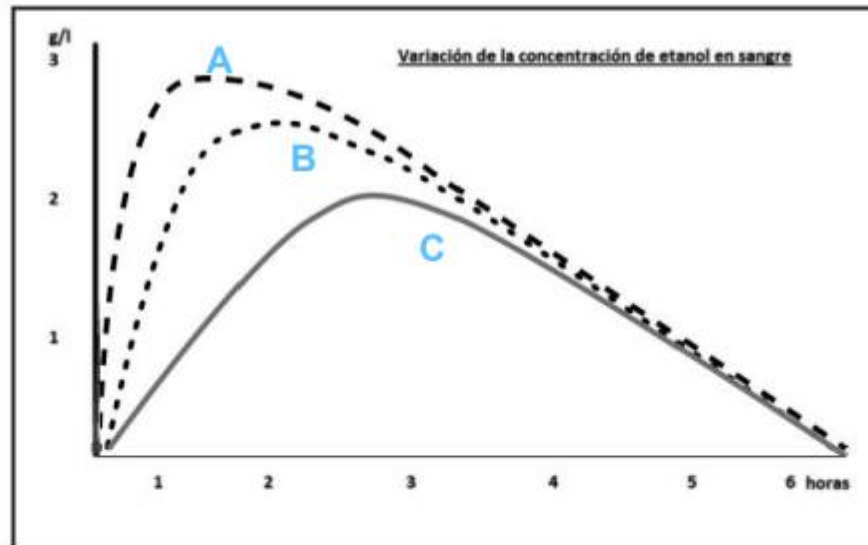
Ejercicios

* Calcule el valor de alcoholemia

* Calcule el valor de alcoholemia al momento de ocurrido el ilícito

$$C_t = C_m + \beta \cdot t$$

* Como sabemos si el calculo retrospectivo es representativo??



A- Cuando la ingesta ocurre con el **estómago “vacío”**, el valor de concentración alcanzado es mayor, y, el tiempo de absorción para alcanzar la concentración máxima en sangre se alcanza una hora después de producida la ingesta, tiempo que se ha corregido a 15-30 minutos según Repetto (2013).

C- Situación que tiene lugar cuando la ingesta alcohólica se produce con el **estómago “lleno”** con alimentos sólidos y/o grasos.

FINNNNN!!!!

