



Servicio Nacional
de Medicina Legal
y Ciencias Forenses

INSTRUCTIVO PARA LA DETERMINACIÓN CUALI - CUANTITATIVA DE CIANURO EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE REACCIONES COLORIMÉTRICAS Y TITULACIÓN

Octubre, 2017



Código: SNMLCF-ML-TOXICOLOGÍA-09	INSTRUCTIVO PARA LA DETERMINACIÓN CUALI - CUANTITATIVA DE CIANURO EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE REACCIONES COLORIMÉTRICAS Y TITULACIÓN	Versión: 1.0 Página 2 de 11
----------------------------------	--	--------------------------------

CONTROLES

ELABORACIÓN DEL INSTRUCTIVO.

Fase	Nombre / Cargo	Firma	Fecha
Elaborado o Modificado por:	Microbióloga Luz Cadavid		26/06/2017
	BQC. Catalina Carrillo		
	BQ. Silvia Yumiseba		
	PERITOS DE LA GESTIÓN TOXICOLOGÍA FORENSE		

APROBACIÓN METODOLÓGICA DE LA GESTIÓN ESTRATÉGICA

Fase	Nombre / Cargo	Firma	Fecha
Asistencia técnica:	Ing. Alejandra Pérez M. ANALISTA DE LA UNIDAD DE PROCESOS, SERVICIOS Y CALIDAD		29/09/2017
Revisado por:	Lcdo. Christian Escobar RESPONSABLE DE LA UNIDAD DE PROCESOS, SERVICIOS Y CALIDAD		29/09/2017
Aprobado por:	Mgs. Sheldon López COORDINADOR GENERAL DE PLANIFICACIÓN Y GESTIÓN ESTRATÉGICA		29/09/2017

APROBACIÓN DEL INSTRUCTIVO.

Nombre / Cargo	Firma	Fecha
Lcda. María Eliza Lara COORDINADORA DE MEDICINA LEGAL		30/10/2017

CONTROL E HISTORIAL DE CAMBIOS

Versión	Descripción del cambio	Fecha de creación/actualización
1.0	Primera versión del Instructivo para la determinación cuali-cuantitativa de cianuro en muestras biológicas mediante reacciones colorimétricas y titulación.	29/06/2017



ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INFORMACIÓN BÁSICA.....	4
2. GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.....	5
3. DESCRIPCIÓN DEL INSTRUCTIVO.....	6
5. BIBLIOGRAFÍA.....	9
6. ANEXOS.....	10

ÍNDICE DE TABLAS.

TABLA 1.....	9
--------------	---



1. INFORMACIÓN BÁSICA

Macroproceso:	PERICIAS TÉCNICO CIENTÍFICAS
Proceso:	PERICIAS TÉCNICO CIENTÍFICAS MEDICINA LEGAL
Subproceso:	GESTIÓN PERICIAL TOXICOLOGÍA FORENSE
Nombre del instructivo:	INSTRUCTIVO PARA LA DETERMINACIÓN CUALI – CUANTITATIVA DE CIANURO EN MUESTRAS BIOLÓGICAS.
Código del instructivo:	SNMLCF-ML-TOXICOLOGÍA-09
Descripción:	<p>PROPÓSITO:</p> <p>Estandarizar la determinación cualitativa – cuantitativa de cianuro en muestras biológicas mediante reacciones colorimétricas y titulación.</p> <p>ALCANCE:</p> <p>Se aplica en muestras biológicas (sangre, contenido gástrico, vómito, vísceras, tejidos) y sustancias sospechosas de causar intoxicación (medicamentos, bebidas, alimentos, vegetales, etc.) en casos forenses.</p>
Responsable:	Jefe de la gestión pericial y peritos acreditados de la Gestión de Toxicología Forense del Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses.
Marco Legal:	<p>1. CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR.</p> <ul style="list-style-type: none">➤ Art. 195. La Fiscalía General del Estado.➤ Art. 233. Deberes de servidores públicos <p>2. CÓDIGO ORGÁNICO INTEGRAL PENAL.</p> <ul style="list-style-type: none">➤ Art. 292. Alteración de evidencias y elementos de prueba➤ Art.448. Organización y Dirección➤ Art. 449. Atribuciones. Numerales 8 y 9.➤ Art. 456. Cadena de Custodia.➤ Art. 458. Preservación de la escena del hecho o indicios➤ Art. 459.



Lineamientos:

- Actuaciones y Técnicas Especiales de Investigación. Numeral 1.
- **Art. 463.**
Obtención de muestras.
 - **Art. 498.**
Medios de prueba.
 - **Art. 511.**
Reglas Generales.
- 3. DECRETO EJECUTIVO N°759.** Reglamento de Coordinación Interinstitucional para la Organización, Dirección, Administración y Operación del Sistema Especializado Integral de Investigación, Medicina Legal y Ciencias Forenses.
- **Art.13**
Director General del Servicio Nacional de medicina legal y Ciencias Forenses, **numeral: 5**
 - **Art. 14.**
Atribuciones del Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, **numeral: 1, 2, 4,5.**
- 4. RESOLUCIÓN N° 040-2014.** Reglamento del Sistema Pericial Integral de la Función Judicial.
- **Capítulos: 2, 3,4 y 5.**
- 5. RESOLUCIÓN N°073-FGE-2014.** Suplemento del Registro Oficial 318,25-VIII-2014.
- Acápites:** Manual de Química y Toxicología Forense.
- El instructivo es "RESTRINGIDO" y de uso exclusivo del Laboratorio de Criminalística y Ciencias Forenses de Pichincha-Quito en su Gestión Toxicología Forense.
 - El instructivo es de "USO OBLIGATORIO" para el personal de la Gestión de Toxicología.
 - Es responsabilidad del Jefe de la Gestión de Toxicología garantizar la aplicación y el cumplimiento del presente instructivo.
 - Se prohíbe reproducción total o parcial del instructivo sin autorización expresa.

2. GLOSARIO DE TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.

2.1. GLOSARIO DE TÉRMINOS.

- **Destilación:** proceso que se utiliza para llevar a cabo la separación de diferentes líquidos, o sólidos que se encuentren disueltos en líquidos, o incluso gases de una mezcla, gracias al aprovechamiento de los diversos puntos de ebullición de cada sustancia partícipe, mediante la vaporización y la condensación. (Méndez, 2010)



Código: SNMLCF-ML- TOXICOLOGÍA-09	INSTRUCTIVO PARA LA DETERMINACIÓN CUALI - CUANTITATIVA DE CIANURO EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE REACCIONES COLORIMÉTRICAS Y TITULACIÓN	Versión: 1.0
		Página 6 de 11

- **Determinación cuantitativa:** permite examinar los datos de manera científica, o más específicamente en forma numérica, generalmente con ayuda de herramientas del campo de la estadística. Para que exista metodología **cuantitativa** se requiere que entre los elementos del problema de investigación exista una relación cuya naturaleza sea representable por algún modelo numérico ya sea lineal, exponencial o similar. (Rojas, 2011)
- **Muestra biológica:** espécimen sobre el cual se realizará el análisis toxicológico de rutina, cuya adquisición, almacenamiento y transporte al laboratorio se han documentado adecuadamente para garantizar la debida Cadena de Custodia. (Jickells, 2008)
- **Pruebas cualitativas:** "reacciones químicas orientativas de color y precipitación que indican la posible presencia de la sustancia que se pretende identificar con el análisis, estas cubren un número importante de drogas y otros tóxicos" (Skoog, 1992).
- **Sustancia sospechosa:** "sustancia relacionada causante de la intoxicación y puede ser: medicamentos, sólidos, líquidos, etc." (Repetto M. y., 2016)

2.2. ABREVIATURAS.

- HCN : Ácido Cianhídrico
- HCl : Ácido Clorhídrico
- SNMLCF : Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses

3. DESCRIPCIÓN DEL INSTRUCTIVO.

3.1. FUNDAMENTO TEÓRICO.

El HCN, es uno de los tóxicos conocidos desde la antigüedad, se denomina también ácido prúsico, de olor a almendras amargas. El gas cianógeno se utilizó como gases de guerra y en la cámara de gas. El HCN es un tóxico que actúa por inhalación y en su estado líquido a través de la piel. Los cianuros y sus sales que son ingeridos se absorben en el aparato digestivo por liberación del ion CN de su correspondiente sal para formar el HCN por acción de HCl del jugo gástrico; en el ambiente la liberación del HCN desde sus sales puede ocurrir por acción del ácido carbónico del aire. (Vargas, 2001).

La investigación de HCN puede realizarse con diferentes tipos de muestras: vísceras, líquidos biológicos, sangre u orina, alimentos y medicamentos.

La sangre venosa presenta un color rojo vivo característico. En cadáveres frescos se observa color rojo cereza así como manchas de color rojo más o menos intenso. Junto al olor típico de las almendras amargas que desprenden los órganos se observan numerosas hemorragias pequeñas en las serosas.

Existen tres tipos de determinaciones del ácido cianhídrico: los ensayos inmediatos o preliminares, los ensayos mediatos y los ensayos cuantitativos.

Los ensayos cualitativos o **inmediatos** son aquellos que identifican de forma directa el HCN en el recipiente que contiene el material, esto es posible gracias a su elevada presión de vapor del medio, pH, temperatura, etc.

Para los ensayos **medios**, se requiere de una separación previa del HCN de la muestra, para esto es adecuado una destilación simple o una micro difusión.

El ensayo **cuantitativo** constituye una valoración en donde se forma una sal estable, el mismo que puede ser determinado mediante espectrofotometría. (Giannuzzi, Tomas, & Ferrari, S/A)

3.2. EQUIPOS, MATERIALES, REACTIVOS Y CONDICIONES AMBIENTALES.

3.2.1. EQUIPOS:

- Equipo de destilación;
- Balanza Analítica;
- Plancha térmica; y,
- Bureta

3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO:

- Tubos de ensayo tapa rosca;
- Pipetas: serológicas y pasteur;
- Vasos de precipitación;
- Espátula;
- Balones volumétricos;
- Gradilla; y,
- Erlenmeyer.

3.2.3. REACTIVOS Y ESTÁNDARES DE REFERENCIA:

3.2.3.1. REACTIVOS

- Ácido tartárico
- Hidróxido de sodio 20%*
- Amoníaco 6M*
- Yoduro de potasio
- Nitrato de plata 0.01N*
- Sulfato de cobre 0,5%*
- Ortotoluidina 1% en etanol*
- Agua destilada
- Tira reactiva*

***Nota Técnica:** la preparación de los reactivos señalados con un asterisco (*) serán observados en el campo de anexos.*

3.2.3.2. ESTÁNDARES.

- No Aplica.

3.2.4. MATERIALES VARIOS:

- Guantes desechables; y,
- Papel absorbente.

3.2.5. CONDICIONES AMBIENTALES:

- Ver: Instructivo para el control de temperatura.

3.3. MANEJO DE INDICIOS Y MUESTRAS:

3.3.1. TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO:

- Ver: Instructivo para Transporte, Almacenamiento y Conservación de Indicios.

3.3.2. PREPARACIÓN. Y MANIPULACIÓN:

- Ver: Protocolo de Toma, Conservación y Recepción de Muestras Biológicas para Análisis Toxicológicos.

3.4. PROCEDIMIENTO:

3.4.1. TÉCNICA:

3.4.1.1 PRUEBA CUALITATIVA:

- Preparar la solución de sulfato de cobre y luego la solución de ortotoluidina.
- Humedecer la tira de papel en el sulfato de cobre y posteriormente en la solución de ortotoluidina.
- Destapar el recipiente que contiene la muestra y acercar una tira reactiva, de la presencia de vapores del HCN la tira se tomará de color azul.

3.4.1.2 PRUEBA CUANTITATIVA:

- Colocar 5.0 ml de muestra de sangre o la muestra disponible en un balón de destilación que contenga 60 ml. de ácido tartárico al 10%.
- Destilar lentamente evitando pérdidas por fuga, introducir en el extremo del refrigerante una alargadura que irá sumergido en 10 ml de una solución de NaOH al 10%.
- Recoger 50 ml. de destilado; antes de valorar hacer una prueba con el método de la ortotoluidina (método cualitativo).
- Añadir al destilado 3ml de NH_3 6 M y 0,1 g de KI.(para valorar)
- Titular con la solución de AgNO_3 0.01 N, hasta el cambio de color (precipitado amarillo lechoso)

3.5 MÉTODO DE CÁLCULO:

- Por cada ml. de $\text{AgNO}_3 = 0,49$ mg de NaCN.

3.6 RESULTADOS Y ANÁLISIS: la determinación de resultados será estipulada en función de la siguiente tabla:

TABLA 1
INTERPRETACIÓN CLÍNICA DE VALORES DE CIANURO EN MUESTRAS BIOLÓGICAS

NIVEL	MUESTRA	VALOR
Tóxico	Sangre	0.2 mg/l
	Suero	0.5 – 1.0 mg/l (a)
Letal/post mortem	Sangre	1.0 mg/l
	Suero – plasma	2.5 mg/l
	Orina	0.5 mg/l

- (Repetto M. y., 2016)

Nota Técnica: (a) se refiere a efecto tóxico severo tras una única y elevada dosis.

4. NORMAS DE SEGURIDAD.

Considere lo estipulado en la Resolución N°073-FGE-2014. Suplemento del Registro Oficial 31825-VIII-2014, acápite: Manual de Bioseguridad.

5. BIBLIOGRAFÍA.

- Giannuzzi, L., Tomas, L., & Ferrari, L. (S/A). *Manual de Técnicas Analíticas en el Laboratorio de Toxicología*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/adnestelamartin/capitulo-4-monxido-de-carbono-y-cianuro>
- Jickells, S. Y. (2008). *Clarke's Analytical Forensic Toxicology*. Londres: Pharmaceutical Press.
- Méndez, Á. (2010). *La Guía*. Obtenido de <http://quimica.laguia2000.com/general/destilacion>
- Repetto, M. Y. (2016). Experto Internacional en Toxicología. *Glosario de Términos usados en Toxicología*. Sevilla, España: CD-ROM.2016.
- Rojas, E. (2011). *Metodología de la Investigación. Investigación Cuantitativa*. Obtenido de <http://metodologiaeconomia2011.blogspot.com/2011/05/investigacion-cuantitativa.html>
- Skoog, D. Y. (1992). *Principios de Análisis Instrumental*. Madrid: Mc Graw Hill.
- Vargas, B. (2001). *Cátedra de Toxicología Clínica y Toxicología II*. Quito.



ANEXOS.

5.1. Preparación de Solución de Hidróxido de Sodio al 20%.

- Pesar 20 g Hidróxido de Sodio.
- Disolver en agua destilada.
- Aforar a 100 ml con agua destilada.

5.2. Preparación de Solución de NH₃ 6M.

- Medir 37 ml de solución de amoníaco al 25%.
- Disolver en agua destilada.
- Aforar a 100 ml con agua destilada.

5.3. Preparación de AgNO₃ 0.01N.

- Pesar 0.17g de Nitrato de plata.
- Disolver en agua destilada.
- Aforar a 100 ml con agua destilada.

5.4. Preparación de la Tira reactiva.

En un extremo de la tira de papel filtro humedecer con:

- Colocar gotas de solución de Sulfato de Cobre al 0.5%
- Dejar secar ligeramente
- Finalmente colocar unas gotas de ortotoluidina al 1% en etanol
- Preparar la tira reactiva, siempre en el orden descrito anteriormente.

5.5. Preparación de Solución de Sulfato de cobre al 0,5%.

- Pesar 0.5 g de sulfato de cobre
- Disolver en agua destilada
- Aforar a 100 ml con agua destilada

5.6. Preparación de Solución de Sulfato de ortotoluidina 1% en etanol.

- Pesar 1.0 g de ortotoluidina
- Disolver en etanol absoluto
- Aforar a 100 ml etanol absoluto



TRAZABILIDAD DEL DOCUMENTO, COPIAS Y COMPULSAS.

No. de Versión	No. de Copias Distribuidas	Nombre de la persona que recibe	Firma	Fecha	Firma del SGC - Devolución

