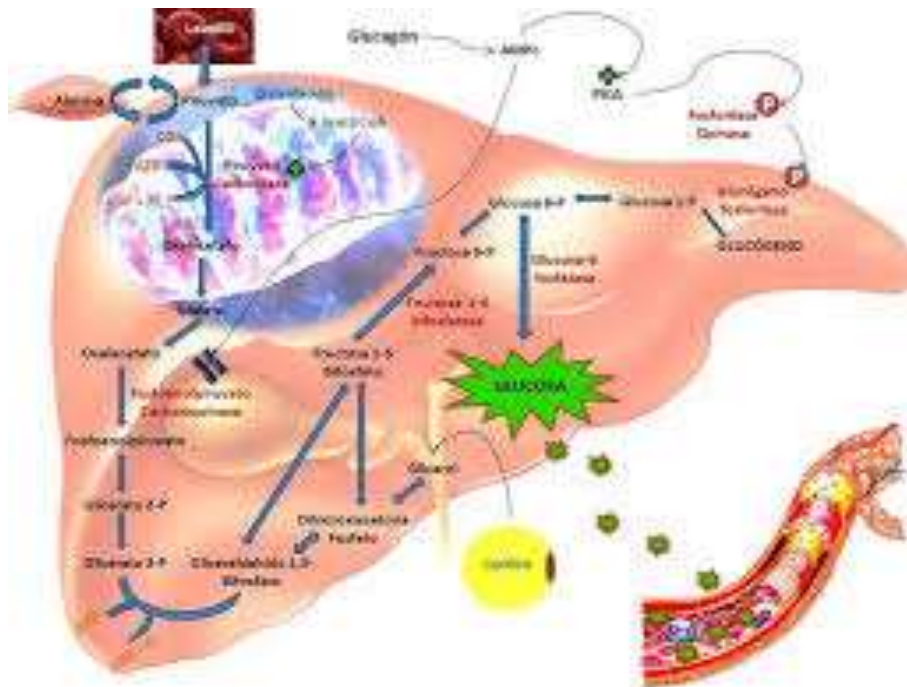




GUÍA DE PRÁCTICAS DE BIOQUÍMICA METABÓLICA



ELABORARON:

Dra. Yolanda Cocotle Ronzón

Dra. Minerva Hernández Lozano

Dra. Alma Vázquez Luna

Xalapa de Enríquez, Veracruz
Septiembre, 2020



INTRODUCCIÓN

En el programa educativo de Química Farmacéutica Biológica, la experiencia educativa de Bioquímica Metabólica se encuentra dentro del área disciplinar lo que representa un pilar fundamental para lograr la preparación académica de los futuros profesionistas en el área de la salud. El estudiante que se enfrentará en algunas de las prácticas al uso y cuidado de animales de laboratorio, además de manejo de técnicas que le harán entender el funcionamiento de diversos mantenimientos regulatorios a través de los cuales una célula u organismos controla sus propias actividades, al enfatizar los procesos de síntesis y degradación de biomoléculas.

En este manual se incluye la duración estimada de cada práctica, sus objetivos, materiales, métodos y cuestionarios, la bibliografía mínima que puede consultar se encuentra antes del índice, con el fin de que se familiaricen con ella, ya que es importante considerar las medidas básicas de seguridad en el laboratorio, además del procedimiento para solicitud, cuidado y manejo de animales de laboratorio de acuerdo al Reglamento Interno de la Facultad de QFB, que a su vez fue aprobado en el Consejo Universitario General y que está armonizado a la normatividad estatal y nacional vigente. Cabe destacar que todas las prácticas pueden abordarse también con videos demostrativos y modelos computacionales, acorde al principio de las 3R's de Russell y Burch (1959) para cumplir con lineamientos bioéticos a nivel nacional e internacional. En los ANEXOS se brindan indicaciones sobre la disposición de los residuos químicos y biológicos generados de acuerdo a la legislación vigente NOM-052-SEMARNAT-2005 (residuos químicos) y NOM-087-ECOL-SSA1-2002 (residuos peligrosos biológico infecciosos).

En cuanto al proceso de enseñanza-aprendizaje, con el presente Manual se pretende cubrir todos los objetivos que las prácticas establecen; para lo cual, el alumno deberá atender cuidadosamente las instrucciones del profesor antes de iniciar cada práctica, de tal manera que quede aclarada cualquier duda al respecto. El profesor realizará evaluaciones exploratorias antes de iniciar la práctica para identificar el grado de comprensión de los estudiantes, de tal manera que se facilite el trabajo en equipo y llenen de manera adecuada la bitácora correspondiente. Se contempla en la evaluación integral la entrega de bitácoras por sesión, de reportes de prácticas y la entrega del manual de laboratorio.



UNIDAD DE COMPETENCIA

Que el alumno aplique metodologías pertinentes para estudiar algunas de las vías de síntesis y degradación de las biomoléculas demostrando que ha integrado los conocimientos adquiridos en el curso teórico, además de aplicar el método científico como una herramienta en la identificación, análisis y la solución de problemas, manteniendo una postura de compromiso, disciplina, colaboración y autocrítica.

ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS

De aprendizaje	De enseñanza
<p><u>Cognitivas:</u> Búsqueda, selección, consulta e integración de fuentes de información documental y científica de forma presencial o electrónica, exámenes parciales y final, resolución de cuestionarios, imitación de modelos, realización de prácticas de laboratorio, elaboración de reportes escritos y de manuales o compendios de prácticas, discusión en pequeños grupos y en sesión plenaria de resultados de las prácticas y redacción de proyectos integradores.</p> <p><u>Metacognitivas:</u> Discusiones grupales en torno a cada tema.</p> <p><u>Afectivas:</u> Discusiones acerca del uso y valor del conocimiento, Exposición de motivos y de metas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Examen diagnóstico - Exposiciones por parte de profesor y estudiantes de forma presencial o en plataforma virtual EMINUS - Organización de grupos colaborativos Revisión, análisis y discusión de bitácoras y de los resultados experimentales obtenidos. - Integración del conocimiento a través de la redacción de las prácticas y proyectos integradores por equipo. - Apoyos tecnológicos variados (simuladores, software educativo, videos) - Aprendizaje basado en problemas - Asistencia a conferencias, talleres o cursos.

APOYOS EDUCATIVOS

Materiales didácticos	Recursos didácticos
<ul style="list-style-type: none"> -Programa de la EE -Grupos en EMINUS 3, Facebook o Blogs. - Guía de laboratorio (avalada en 2020) Otros: Presentaciones de power point, libros electrónicos, artículos impresos y en línea, páginas de internet sobre Bioquímica	Material, equipo y reactivos de laboratorio especificados en la Guía de laboratorio, pintarrón, marcadores, borrador, computadora portátil, proyector digital, programas de cómputo, laboratorios, cámara de video, conexión a internet.



EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO

Evidencia (s) de desempeño	Criterios de desempeño	Ámbito(s) de aplicación	Porcentaje
Examen escrito	➤ Exploratorio/diagnóstico	Laboratorio /Aula / Plataforma EMINUS	0%
Escala estimativa o lista de cotejo	➤ Bitácoras completas	Laboratorio /Aula / Plataforma EMINUS	10%
	➤ Desempeño individual y en equipo		20%
	➤ Prácticas por equipo		20%
	➤ Manual completo con prácticas corregidas		10%
Rúbrica	➤ Proyectos integradores (Tema libre)		20%
Examen Escrito	➤ Exámenes parciales por práctica o sesión	Laboratorio /Aula / Plataforma EMINUS	20%
	➤ Examen final		
Total:			100%

ACREDITACIÓN

Ponderar la calificación con el curso teórico de esta experiencia educativa, en donde el 60% equivale a la teoría y el 40% al laboratorio. La escala de calificación será de 2 al 10. La calificación mínima aprobatoria de 6.



REFERENCIAS NECESARIAS PARA LA ELABORACIÓN DE BITÁCORAS Y REPORTES DE PRÁCTICAS:

- Atzin García J y Ramírez Morales R. (1997). Manual de Prácticas de Bioquímica. UV.
- Berg, J.M., Tymoczko J.L., Stryer, L. (2008) Bioquímica. Ed. Reverté.
- Casados Vázquez LE. (2004). Manual de Prácticas de Bioquímica. Trabajo Práctico Educativo para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo. Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver.
- Díaz Portillo, J. (2010) Bioquímica clínica: a través de 900 preguntas y respuestas. Ergon.
- González Valls, J.M. (2009) Una vuelta al mundo de la bioquímica en 800 preguntas. Formación Alcalá.
- Lenhinger, A. (2009). Principios de Bioquímica. Nelson D.L., Cox M.M. 5ª ed. Ed. Omega, Barcelona.
- Melo Ruiz, V., Cuamatzi Tapia, O. (2007). Bioquímica de los procesos metabólicos. 2ª ed. Editorial Reverté.
- Méndez, JD. (2001). Experimentos Básicos de Bioquímica. Editorial Prado. México.
- NOM-052-SEMARNAT-2005, Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/1055/SEMARNA/SEMARNA.htm>
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/087ecolssa.html>
- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/563492/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB región Xalapa. Legislación Universitaria. Universidad Veracruzana. 2018. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>
- Yañez Ávila, R. (1996). Manual de Prácticas de Bioquímica. IPN.



ÍNDICE

	Pág.
TEMA 1. METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS: CATABOLISMO	
Práctica No. 1. Velocidad de absorción de glucosa por el intestino de la rata	1
Práctica No. 2. Fermentación alcohólica.....	6
Práctica No. 3. Glucólisis en extracto de hígado y músculo.....	13
TEMA 2. PROCESOS OXIDATIVOS: CICLO DE KREBS	
Práctica No. 4. Determinación de la actividad de succinato deshidrogenasa.....	19
TEMA 3. OXIDACIONES BIOLÓGICAS.	
Práctica No. 5. Estudio del bombeo de protones por levaduras: efecto de los inhibidores de la cadena de transporte de electrones y desacoplantes.....	25
Práctica No. 6. Reducción de un colorante por medio de cloroplastos iluminados.....	31
TEMA 4. METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS: ANABOLISMO	
Práctica No. 7. Fotosíntesis en plantas terrestres y acuáticas.....	36
Práctica No. 8. Cuantificación de la respiración aerobia por el método colorimétrico.....	48
Práctica No. 9. Efecto de la dieta y las hormonas sobre el contenido de glucógeno en hígado de ratas.....	52
TEMA 5. METABOLISMO DE LÍPIDOS	
Práctica No. 10. Conversión de lípidos en carbohidratos.....	56
TEMA 6. METABOLISMO DE COMPUESTOS NITROGENADOS	
Práctica No. 11. Absorción intestinal de aminoácidos.....	69
TEMA 7. PROYECTO INTEGRADOR	
Práctica No. 12. Determinación de metabolitos y/o demostración de procesos metabólicos.....	79
6. ANEXOS	
A) Lineamientos para el trabajo en el laboratorio y manejo de animales de laboratorio Facultad de QFB.....	101
B) Manejo de RPBI.....	113
C) Manejo de residuos químicos.....	125



TEMA 1. METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS: CATABOLISMO

PRÁCTICA NO. 1

VELOCIDAD DE ABSORCIÓN DE GLUCOSA POR EL INTESTINO DE LA RATA.

DURACIÓN: 3 h

OBJETIVO GENERAL:

Medir la velocidad de absorción de la glucosa en presencia de sustancias que inhiben o favorecen la absorción de azúcares.

FUNDAMENTO:

Todos los organismos obtienen energía de la degradación oxidativa de glucosa y otros carbohidratos. Incluso para algunas células y organismos, como las células del cerebro y muchas bacterias, esta es la principal o única fuente de energía. Las investigaciones realizadas en la década de 1940 a 1950, en los Estados Unidos, Inglaterra y Alemania, dieron a los bioquímicos la información precisa para trazar las rutas importantes del metabolismo de carbohidratos.

La glucólisis, la ruta más importante de este proceso, transforma la glucosa a piruvato en condiciones anaeróbicas junto con una pequeña producción de energía en forma de ATP y NADH. El piruvato todavía tiene mucha energía potencial, y sólo se puede extraer por metabolismos aeróbico. En la ruta de fosfogluconato, una ruta auxiliar de la oxidación de la glucosa en los animales, se produce la pentosa ribosa 5-fosfato y el cofactor reducido NADPH. La glucosa excedente, que no se requiere en el catabolismo, se almacena en forma de almidón (en las plantas) o de glucógeno (en los animales) o en algunos organismos se utiliza para formar grasas. La glucosa almacenada en esos depósitos se puede liberar cuando hay una demanda de energía. Los niveles de glucosa también se pueden aumentar mediante síntesis (gluconeogénesis) partiendo del piruvato o lactato. Además de su función tan importante en el metabolismo energético, la glucosa también es un precursor en la síntesis de polisacáridos estructurales como celulosa,



disacáridos como sacarosa y lactosa y de otros monosacáridos como galactosa y fructosa.

MATERIAL BIOLÓGICO:

4 ratas adultas de 300-350 g.

MATERIALES Y EQUIPOS:

Jeringas de insulina y de 5 mL
Lancetas estériles
Equipo de disección
Embudo de filtración rápida
Baño maría
Pipetas graduadas de 0.1 y 1 mL
Matraces aforados de 100 mL
Espectrofotómetro
Kit para determinación de glucosa
Balanza granataria y analítica
Refrigerador
Recipientes para residuos químicos y biológicos

REACTIVOS:

Pentobarbital sódico
Glucómetro con tiras reactivas
2mL de Solución de glucosa al 50%
2mL de Solución de glucosa al 50% conteniendo 1 tableta de glibenclamida (5mg)
2mL de Solución de glucosa conteniendo Ácido yodoacético 0.5%

PROCEDIMIENTO:

- 1) Se pesan las ratas y se anotan los resultados.
- 2) Se rasura la zona de la pierna y se coloca vaselina para ubicar la vena safena, de la cual se obtendrá por venopunción con lanceta estéril de una gota de sangre para determinación basal de las 4 ratas de estudio con ayuda del glucómetro (Ver Figura 1). Se anotan los resultados en mg/mL.



Figura 1. Extracción sanguínea de la vena safena en la rata Wistar.

- 3) Posteriormente se administran vía oral con ayuda de una jeringa para insulina con una cánula los siguientes tratamientos:
 - Rata 1.- 2 mL de H₂O.
 - Rata 2.- 2 mL de solución de glucosa al 50%.
 - Rata 3.- 2 mL de solución de glibenclamida en glucosa al 50%.
 - Rata 4.- 2 mL ácido yodoacético en glucosa al 50%.
- 4) Una hora más tarde se miden nuevamente los niveles de glucosa en sangre en cada rata.
- 5) Se procede de inmediato a sacrificarlas por sobreenestesia con éter etílico o cloroformo y se extirpa el estómago y el intestino delgado juntos. Hay que tener cuidado de no desgarrar las paredes del intestino. Ver Figura 2, para ubicar el sitio de abertura dorsal.



Figura 2. Ubicación del estómago e intestino delgado en la rata Wistar.

- 6) Se coloca un embudo en un matraz aforado de 100 mL y se dejan en el piso, frente a la mesa. El extremo anterior (estómago) del tubo digestivo se coloca



en el embudo y se abre con unas tijeras. En la abertura posterior (final del ileon) se conecta una jeringa de 20 mL sin aguja cuyo contenido será agua, el tubo digestivo se mantiene en posición vertical, y se arrastra su contenido con la jeringa que contiene agua destilada, llenar a la mitad el matraz. Después aforar a 100 mL.

- 7) Se mezcla por inversión el contenido de los matraces volumétricos. Se filtra con papel filtro y se pasa un volumen de 2 mL de líquido transparente a un tubo de ensaye. Se diluye hasta 5 mL con agua. La determinación de glucosa se efectúa mediante el método de Trinder. Trabaja como se muestra en la tabla para soluciones obtenidas de cada rata.

	Blanco	Estándar	Muestras
Estándar	-	10 µL	-
Muestra	-	-	10 µL
Reactivo	1 mL	1 mL	2 mL

- 8) Mezclar e incubar 10 minutos a 37 °C leer en el espectrofotómetro a 510 nm la coloración es estable 30 minutos a temperatura ambiente.
- 9) Se procesan todos los tejidos utilizados de las ratas de acuerdo a los lineamientos de la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y se disponen los residuos químicos de acuerdo a la NOM-052-SEMARNAT-2005.

RESULTADOS:

1. Calcula la rapidez con la que se absorbió la glucosa, en las cuatro ratas siguiendo el ejemplo de cálculo para una rata a la que se administró solución de glucosa al 50%.

Peso de la rata= 300 g

Cantidad de la glucosa aplicada= 1 g= 1000 mg

Absorbancia del estándar de glucosa= 0.5 (Ast)

Absorbancia de la muestra = 0.83 (Am)

100 = 100 mL de líquido lavado

5 = dilución de 2 mL de líquido transparente hasta 5 mL con agua.

$$\frac{Am}{Ast} \times 5 \times 100 = \text{mg de glucosa restante}$$

$$\left(\frac{0.85}{0.5}\right) \times 5 \times 100 = 850 \text{ mg}$$



1000 mg (cant. Adm) - 850 mg (cant. Restante)= 150 mg de glucosa (cantidad absorbida).

Como la rata pesó 300 g, la rapidez con que se absorbió la glucosa fue de:
 $150/300 \times 100 = 50 \text{ mg/ } 100 \text{ g de rata por hora.}$

2. Realiza una tabla como la que se indica a continuación:

Muestra	Glu inicial	Glu final	Abs 510nm	mg Glu restante	mg Glu absorbida	Velocidad absorción
Blanco	-	-		-	-	-
Estándar	-	-		-	-	-
Control					-	
Glucosa 50%						
Glibenclamida en Gluc 50%						
Ac. yodoac. en Gluc 50%						

DISCUSIÓN:

Relacionar lo resultados de concentración de glucosa en sangre antes y al final del experimento, con los mg de glucosa absorbidos, así como la velocidad a la cual esto ocurre. Analizar los factores que pueden haber influenciado los resultados obtenidos.

CUESTIONARIO:

1. Menciona brevemente la digestión y absorción de carbohidratos, enumerando las enzimas involucradas y los sitios del aparato gastrointestinal donde ocurre la catálisis.
2. Describe el principal mecanismo de transporte de la glucosa a través del organismo.
3. Investiga qué papel tiene la glibenclamida, el ácido yodoacético en este experimento y si hay alguna enzima de la glucólisis involucrada en su mecanismo de acción.



PRÁCTICA No. 2

FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

DURACIÓN: 3 h

OBJETIVO:

Estudiar el efecto de la concentración de sacarosa en la fermentación del vino.

FUNDAMENTO:

Toda célula viva debe extraer de alguna manera energía libre de los nutrientes que obtiene del medio. Los mecanismos enzimáticos utilizados para extraer la energía libre de compuestos como la glucosa y para conservar una parte de ella en una forma biológicamente útil, como ATP, son muy parecidas en todas las células. Algunas bacterias efectúan el proceso denominado respiración anaerobia; es decir, una respiración que ocurre en ausencia de oxígeno. En la fermentación, que también es anaerobia, se genera ATP mediante un proceso en el que utilizan compuestos orgánicos como donadores y aceptores de electrones. Ciertos tipos de bacterias viven exclusivamente de la fermentación; otras recurren a ese proceso cuando se agota el oxígeno en su medio. La producción de alcohol a partir del azúcar es un ejemplo de fermentación. Cuando se agota el oxígeno, las levaduras convierten el piruvato en etanol. Ciertas bacterias y algunas células animales, principalmente las musculares, son capaces de obtener energía por la vía anaerobia (como en la fermentación) durante un tiempo, a través de la producción de lactato. La ineficiencia del proceso anaerobio (fermentación) demanda el consumo de gran cantidad de combustible. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es capaz de metabolizar la glucosa hasta etanol en condiciones anaerobias y hasta bióxido de carbono en condiciones de aerobiosis.

La fabricación del vino sigue siendo un arte más que una ciencia. Aunque las uvas son en gran medida las frutas más frecuentemente usadas para su elaboración, otras tales como los duraznos también se pueden utilizar para hacer los vinos. El procedimiento para hacer vino de uva en casa es simple. El jugo de



uva se inocula con un cultivo iniciador de levaduras compradas en un supermercado.

La fermentación primaria dura aproximadamente una semana; durante este tiempo la sacarosa originalmente presente en el jugo se convierte en etanol y células de levadura con el desarrollo de bióxido de carbono. El exceso de células de la levadura se quita del jugo junto con otros sedimentos, y se procede a una fermentación secundaria más lenta para desarrollar el sabor final.

La sacarosa puede ser agregada para alcanzar el contenido en alcohol deseado o modificar el sabor. El tipo de vino puede ser clasificado según su color. Otra clasificación se basa en el contenido de sacarosa, Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de vinos según el contenido de sacarosa.

Tipo	Gravedad específica	Contenido de sacarosa (% p/p)
Vino seco	1.085 - 1.100	21 – 25
Vino medio dulce	1.120 – 1.140	29 – 33
Vino dulce	1.140 – 1.160	33 – 37

Uso del alcoholímetro.

Un alcoholímetro es un dispositivo de flotación usado para medir la densidad de un líquido. Debido a que el líquido ejerce una fuerza de flotabilidad igual al peso del volumen desplazado por el alcoholímetro, el contador flotará más arriba en un líquido más denso que en un líquido más ligero, en general, una solución más densa tiene más sólidos disueltos. Un alcoholímetro convencional puede medir fácilmente la gravedad específica de un líquido con una exactitud de 0.001.

Muchas escalas están disponibles en un alcoholímetro. Uno típico empleado en la industria de las bebidas alcohólicas permite lecturas en la escala de Balling/Brix y la del potencial de alcohol (PA), así como la escala de gravedad específica. La escala de Balling, o Brix, cuya calibración está basada en los porcentajes en peso del azúcar en la solución; mientras que, la escala de PA es una indicación del



porcentaje potencial (de volumen) de alcohol que puede ser producido con la fermentación básica en la conversión completa del azúcar originalmente presente en la solución.

Generalmente, el azúcar residual está presente y es a veces deseable para el sabor. Observe que, por razones históricas, el contenido en alcohol está medido comúnmente en unidades de porcentaje de volumen o de prueba, mientras que el contenido del azúcar se expresa en porcentaje de peso. Ambas unidades se utilizan extensamente en la industria del vino.

La manera apropiada de usar un alcoholímetro es hacerlo girar suavemente en el jugo de uva, mosto, o el vino para el cual la gravedad específica debe ser medida. El torcer del alcoholímetro quita la mayoría de las burbujas de aire de su superficie que pueda invalidar la medida. Una probeta graduada se utiliza generalmente para este propósito. Se requiere de dos lecturas para estimar el contenido en alcohol en un vino fermentado. La primera lectura se toma al principio de la fermentación. La segunda lectura al final de la misma. Así, el contenido en alcohol actual es simplemente el valor final menos el valor inicial. Debido a que la densidad de un líquido es una función de la temperatura, la tabla 1.2 da la corrección que uno debe agregar a las lecturas de la gravedad específica para obtener los valores correspondientes en 15.5° C, la temperatura en la cual el contador está calibrado.

Tabla 2. Corrección de la temperatura a la lectura de la gravedad específica.

Temperatura (85.5° C)	Corrección (sp. g.)
10	0
15.5	0.000
21	+0.001
25	+0.002
28.8	+0.003
35	+0.005
40.5	+0.007



MATERIAL BIOLÓGICO:

Cultivo activo de levadura del vino seco, de la cepa *Saccharomyces ellipsoideus*

MATERIAL Y EQUIPO:

Probeta graduada de 250 mL

Tubos de ensaye de 13 X 100

Frascos o botellas con tapa metálica o plástica (iguales dimensiones)

Balanza granataria y analítica

Alcoholímetro (hidrómetro)

Tubo Tygon o de venoclisis

Punzón metálico

REACTIVOS:

Frutas diversas ricas en carbohidratos (uva, manzana, mango, pera, ciruela).

Sacarosa

PROCEDIMIENTO:

Preparar el cultivo iniciador de levadura:

- 1) Adicionar 1 g del cultivo de levadura de vino seco en 100 mL de jugo recién preparado de frutas. Vea la nota 1. Dejar la levadura crecer en un envase tapado sin apretar, a temperatura por 24 h.
- 2) Lavar y desinfectar perfectamente los frascos y las frutas. Extraer con todas las medidas de higiene el jugo y colocarlo en los frascos (100 mL en cada uno).

Fermentación primaria:

- 1) Agregar bastante azúcar al jugo de uva para preparar los 4 sustratos como se muestra en la Tabla 1.



Sustrato	Concentración de sacarosa extra adicionada
A	0.0 g/L
B	100.0 g/L
C	200.0 g/L
D	300.0 g/L

- 2) Medir la gravedad específica y el valor de PA para cada uno de los sustratos iniciales con un alcoholímetro. Este es el valor inicial de PA que será utilizado más adelante para estimar el contenido en alcohol.
- 3) Inocular cada frasco o botella con 20 mL del cultivo iniciador de levadura preparado en el paso previo. Vea la nota 2.
- 4) Tapar la botella del jugo con un tapón perforado al cual se incorpora una pieza de tubo Tygon o venoclisis extendida del tapón para proporcionar un respiradero para el dióxido de carbono desarrollado. El extremo del tubo se sumerge en agua en un pequeño tubo de prueba tapado para la botella. El previene la entrada del oxígeno, que altera el metabolismo de la levadura y estropea el vino. Al mismo tiempo, el bióxido de carbono puede escaparse de la botella (Ver Figura 1).
- 5) Fermente a temperatura ambiente por una semana.

Fermentación secundaria:

- 1) Al término de una semana, decante el jugo de la botella para limpiar los envases temporales individuales.
- 2) Medir los valores de PA para cada uno de los sobrenadantes con un alcoholímetro. Estimar el contenido en alcohol restando el valor final del PA del valor inicial del PA.
- 3) Desechar el sedimento y lavar cada botella con agua.
- 4) Verter el jugo nuevamente dentro de la botella limpia. Poner detrás el ensamblaje limpio del tapón de goma y el tubo Tygon o de venoclisis.



- 5) Fermentar lentamente por 4–6 semanas.
- 6) Medir los valores del PA como antes, cuando esté listo para consumir.
- 7) Probar el vino
- 8) Probar con otros jugos de frutas.

Nota 1. Las uvas frescas pueden ser machacadas para obtener el jugo. En la mayoría de los lugares agregan el dióxido de sulfuro como gas o como sal sólida para prevenir el crecimiento de otras levaduras y bacterias que causen los desperdicios. El dióxido de sulfuro también es producido por *Saccharomyces* durante la fermentación. La fuente más simple del jugo es el estante del supermercado. Utilice todo “natural” la variedad sin preservativos o azúcar agregados.

Nota 2: la levadura del vino seco se agrega directamente al jugo de uva en un nivel de 1 g por 4 L. para mejores resultados, primero suspenda 1 g de la levadura del vino seco en 19 mL del agua caliente cerca de 35 °C. Entonces agregue el cultivo suspendido al jugo de uva.

Al final de la práctica, disponer los residuos de acuerdo a la NOM-052-SEMARNAT-2005.

RESULTADOS:

1. Anotar en la tabla el contenido de alcohol que se midió:

Sustrato	Contenido de alcohol en fermentación primaria	Contenido de alcohol en fermentación secundaria
A		
B		
C		
D		



DISCUSIÓN:

Explicar lo ocurrido en cada frasco, con fundamento en el fenómeno estudiado, condiciones de aireación y tipo de fruto empleado.

CUESTIONARIO:

1. ¿Qué es el efecto Pasteur?
2. Comenta sobre las maneras de mejorar el experimento.
3. ¿De qué frutas se pueden obtener vinos?
4. Refiere bebidas fermentadas y su grado de alcohol en °GL.



PRÁCTICA No. 3

GLUCÓLISIS EN EXTRACTO DE HÍGADO Y MÚSCULO.

DURACIÓN: 3h

OBJETIVO:

Confirmar las diferencias metabólicas entre hígado y músculo, para lo cual, extractos acuosos de hígado y músculo, que tienen las enzimas respectivas, trabajarán en un sustrato de almidón enriquecido con iones fosfato y magnesio.

FUNDAMENTO:

Las reacciones de la glucólisis ocurren en el citoplasma y no están ligadas a estructuras celulares. El producto de la vía es el piruvato, el cual puede seguir diversos destinos según las condiciones de la célula. En condiciones de anaerobiosis, el piruvato se transforma en lactato por acción de la enzima lactato deshidrogenasa en presencia del NADH obtenido de la oxidación del gliceraldehído 3 fosfato. En las levaduras, el piruvato se descarboxila a acetaldehído y se forma etanol por la reducción del acetaldehído con el NADH mediante la acción de la deshidrogenasa alcohólica. Bajo condiciones aerobias, el piruvato se descarboxila por un complejo multienzimático, la piruvato deshidrogenasa, en presencia de la HSCoA y produce NADH y acetil CoA, la cual es el sustrato principal del ciclo de Krebs. Sólo una pequeña parte de la energía almacenada en la molécula de la glucosa se libera en la glucólisis (2 ATP netos por cada molécula de glucosa). En estricta anaerobiosis, la glucólisis es la única fuente de energía de la célula. A continuación, se exponen los detalles de la ruta glucolítica (Figura 1).

La regulación de la vía glucolítica se realiza a nivel de la transformación de la fructosa 6P en fructosa 1-6 bisP. Esta reacción es catalizada por la fosfofructocinasa. La fosfofructocinasa es una enzima alostérica cuya actividad se estimula por AMP y ADP y se inhibe por ATP y citrato.

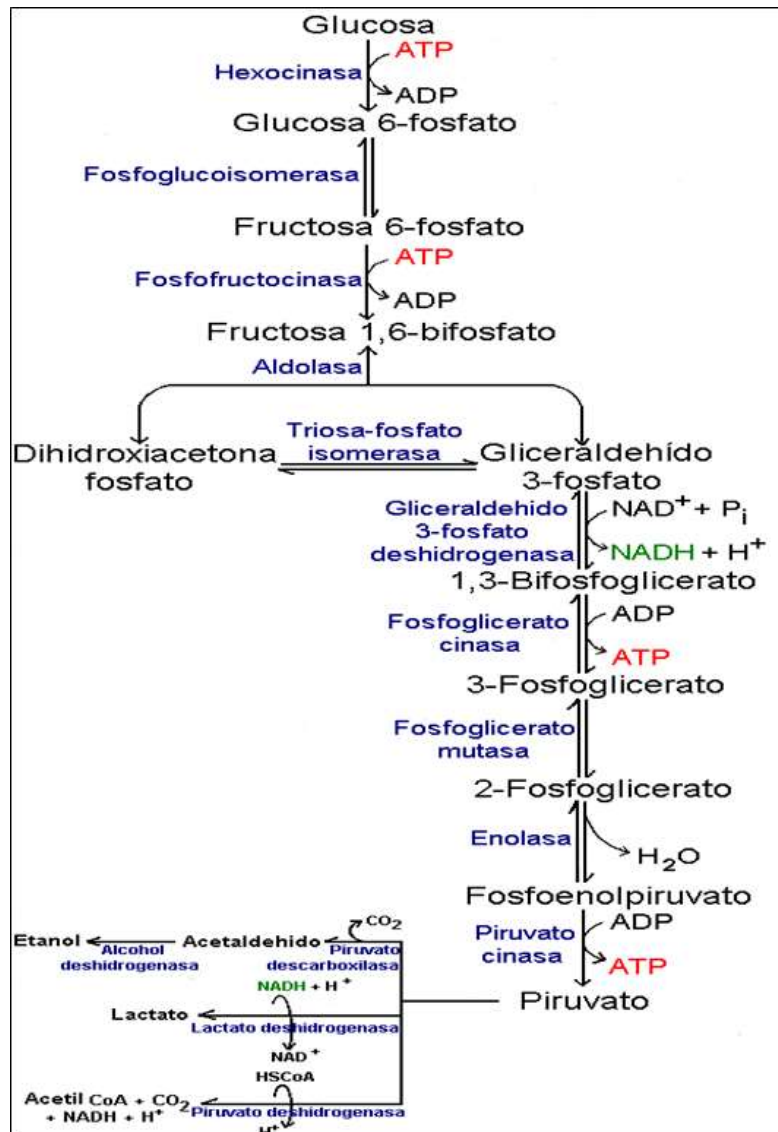


Figura 1. Ruta glucolítica.

MATERIAL BIOLÓGICO:

Hígado y músculo de pollo, cerdo, res frescos preferentemente

MATERIALES Y EQUIPO:

Matraces Erlenmeyer de 250 mL

Baño de incubación a 30 °C

Baño de agua hirviendo

Probetas de 100 mL



Tubos de centrífuga
Centrífuga
Pipetas graduadas de 10, 5 y 1 mL
Bureta y pinzas para bureta
Vasos de precipitado de 100 mL
Embudos de filtración rápida
Soporte universal
Gradilla
Tubos de ensaye
Mechero
Licuadora
Gasa
Recipientes para residuos químicos y biológicos

REACTIVOS:

Cloruro de magnesio 0.001 M
Solución de almidón-fosfato. Prepara una solución de almidón al 0.5 % en solución amortiguadora de fosfato 0.1 M de pH 7.5. Esta última, se prepara con 1.3 g de KH_2PO_4 y 7.05 g de Na_2HPO_4 aforado a 100 mL. Ajustar el pH a 7.5 con HCl o NaOH.
NaOH 0.02 N
Solución de azul de timol al 0.04 % en alcohol
Solución salina isotónica al 0.9 % fría
Agua destilada

PROCEDIMIENTO:

A. Preparar de los extractos acuosos del hígado y músculo.

1. Lavar los tejidos con solución salina isotónica, envolverlos en papel aluminio y hielo para su transporte o bien en frascos con solución salina isotónica fría.



2. Pesar el músculo (aprox. 250 g) cortarlo en trocitos y licuarlo con un volumen igual al de su peso de agua destilada fría y filtrar a través de gasa. Llevar el filtrado a un volumen conocido con agua helada. Este filtrado es el extracto de músculo. Si se usa el día siguiente, guardarlo congelado.
3. Pesar y cortar el hígado (aprox. 25-30 g) en trocitos, homogeneizar con tres volúmenes de su peso de agua destilada helada en la licuadora. Filtrar a través de gasa y llevar el filtrado a un volumen que deberá guardarse congelado si se va a usar al día siguiente.

B. Preparación del material

1. Prepara un baño de agua hirviendo y otro a 30 °C.
2. Preparar 8 tubos de centrifuga (determinación de acidez libre-A.L.) con 5 mL de agua destilada. Rotular 4 con "A.L Hígado": 0', 15', 30' y 45' y otros 4 con "A.L músculo": 0', 15', 30' y 45'.
3. Preparar 2 matraces Erlenmeyer de 250 mL donde se llevará a cabo la reacción, con 10 mL de la solución de almidón fosfato y 0.05 mL de cloruro de magnesio. Rotular a uno "hígado" y a otro "músculo".
4. Tener listos 25 mL de extracto de músculo y 25 mL de hígado a temperatura ambiente.

C. Reacción

1. Una vez listo el material, colocar en el matraz rotulado "hígado" los 25 mL de extracto de hígado, agitar y tomar el tiempo.
2. Inmediatamente tomar con una pipeta graduada 6 mL de la mezcla, depositar 5 mL en el tubo de centrifuga rotulado "A.L Hígado 0' " y colocarlo en el baño de agua hirviendo por 5 minutos. Agitar bien y colocarlo en la gradilla.
3. Llevar el matraz de la reacción al baño de agua a 30 °C y repetir la toma de muestra a los 15', 30' y 45' de la misma forma.
4. Colocar los 25 mL de extracto de músculo en el matraz rotulado "músculo", agitar y tomar el tiempo.



5. Inmediatamente tomar con una pipeta graduada 6 mL de la muestra y depositar 5 mL en el tubo de centrifuga rotulado "A.L Hígado 0" y colocarlo en el baño de agua hirviendo por 5 min. Agitar bien y colocarlo en la gradilla.
6. Llevar el matraz de la reacción al baño a 30 °C y repetir la toma de las muestras a los 15', 30' y 45' de la misma forma.

D. Determinación de la acidez libre

1. Al final del tiempo de incubación, se tendrán los tubos de centrifuga (4 de hígado y 4 de músculo en los diferentes tiempos). Centrifugar todos los tubos a velocidad media durante 5 min.
2. Tomar 5 mL del sobrenadante de cada tubo y titular con NaOH 0.02 N usando 6 gotas de azul de timol como indicador. Anotar cuidadosamente los mL de NaOH gastados para cada tiempo.
3. Procesar todos los tejidos utilizados de acuerdo a los lineamientos de la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y se disponen los residuos químicos de acuerdo a la NOM-052-SEMARNAT-2005.
4. La acidez libre se expresa como moles de ácido láctico/ 100 g de tejido, a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez libre} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times V_t \times 35.05 \times 10 \times 100}{W \times 25 \times 5 \times 5}$$

Donde:

V_{NaOH} = volumen empleado de base en la titulación.

V_t = volumen conocido al que se llevó el filtrado.

35.05 = cantidad total de mL contenidos en el matraz de reacción.

10 = cantidad equivalente a 5 mL tomados de la mezcla de reacción más 5 mL de agua.

100 = equivalencia a 100 g de tejido.

W = peso del tejido.

25 = cantidad en mL del extracto de hígado y músculo.

5 = cantidad tomada de alícuota.



Graficar M de ácido láctico por 100 g de tejido vs tiempo, colocando los valores de músculo e hígado en la misma gráfica, restando el valor del tubo 0' en cada caso. Graficar de la misma manera mM de glucosa por 100 g de tejido.

RESULTADOS:

1. Realizar tablas con los resultados obtenidos:

Acidez libre

Solución	mL NaOH	Moles de ácido láctico /100g tejido
Músculo		
Hígado		

2. Dibujar la gráfica correspondiente a acidez libre considerando los diferentes tejidos estudiados.

DISCUSIÓN:

Explicar lo ocurrido en cada titulación, con fundamento en el fenómeno estudiado, la variable tiempo y tipo de tejido empleado.

CUESTIONARIO:

1. ¿Cuál es el principal producto de la glucólisis en hígado?
2. ¿Cuál es el principal producto de la glucólisis en músculo?
3. ¿A qué se refieren los términos de acidez libre y reductores totales?

TEMA 2. PROCESOS OXIDATIVOS: CICLO DE KREBS

PRÁCTICA No. 4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE SUCCINATO DESHIDROGENASA

DURACIÓN: 1.5 h

OBJETIVO:

Comprender el funcionamiento del Ciclo de Krebs por medio de la actividad de una de las enzimas involucradas en dicho ciclo.

FUNDAMENTO:

La oxidación de la Acetil-CoA derivada de la glucosa, los ácidos grasos y los aminoácidos es la función primaria del ciclo de Krebs, el cual la procesa en una serie de reacciones que se inician y terminan con el oxaloacetato; en cada vuelta del ciclo de Krebs se produce un ATP por fosforilación a nivel del sustrato y se liberan cuatro pares de hidrógeno que alimentan la cadena respiratoria con la producción de 12 ATP en la fosforilación oxidativa. El ciclo de Krebs se lleva a cabo por enzimas solubles (a excepción de la succinato deshidrogenasa que es parte integral de la membrana interna) de la matriz mitocondrial (Figura 1).

Además de su papel central en la oxidación de la acetil-CoA, el ciclo de Krebs participa en los siguientes procesos metabólicos (Figura 2): **a) Gluconeogénesis:** Reúne numerosos sustratos que se convierten en oxaloacetato. Este compuesto sale de la mitocondria en forma de malato, citrato o aspartato y se transforma en el citosol, primero en fosfoenol piruvato y después en glucosa.

b) Biosíntesis de los Ácidos Grasos: Aporta la molécula de citrato que, al salir de la mitocondria, es transformada con gasto de un ATP por la citratoliasa en oxaloacetato y acetil-CoA, que es el alimentador inicial de la biosíntesis de los ácidos grasos. El oxaloacetato se reduce a malato, el cual es oxidado por la enzima málica para la producción de NADPH, coenzima indispensable en la biosíntesis de los ácidos grasos.

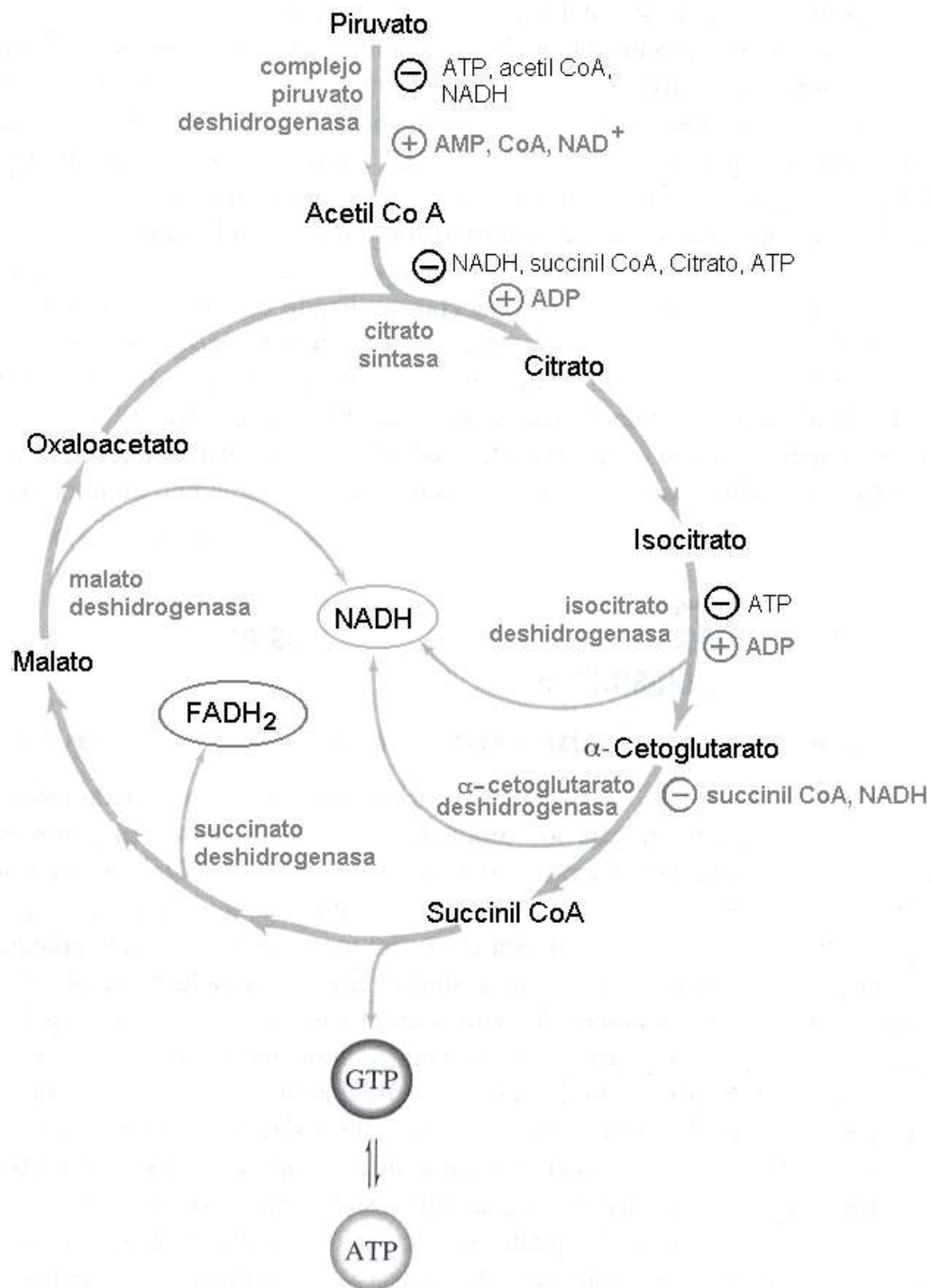


Figura 1. Ciclo del ácido cítrico. Fuente:



c) Interconversión de Aminoácidos: Numerosos aminoácidos entregan sus carbonos al ciclo de Krebs al transformarse por reacciones sucesivas en alguno de los metabolitos clave del ciclo: α -cetoglutarato, succinil-CoA, fumarato y oxaloacetato; una vez ahí, mediante las reacciones del ciclo de Krebs, pueden transformarse en algún otro aminoácido que se derive de otro intermediario del ciclo.

d) Biosíntesis de Purinas y Pirimidinas: El ciclo de Krebs alimenta la síntesis de bases púricas y pirimídicas aportando aspartato y glutamina.

e) Biosíntesis de Porfirinas: El ciclo de Krebs aporta el sustrato inicial: la succinil-CoA.

Regulación del ciclo de Krebs. Por el hecho de que entrega NADH y FADH₂ a la cadena respiratoria y recibe de ella las mismas coenzimas oxidadas, el ciclo de Krebs funciona bajo el control de la cadena respiratoria y depende en última instancia de la fosforilación oxidativa. Sin embargo, el ciclo de Krebs responde a moduladores alostéricos generados en el propio ciclo y también en otras vías del metabolismo; son moduladores negativos NADH, ATP, citrato, succinil-CoA y oxaloacetato y modulador positivo ADP. En la figura siguiente se muestra estas interrelaciones.

La conversión de succinato a fumarato, la tercera oxidación del ciclo del ácido cítrico, es catalizada por la succinato deshidrogenasa, una flavoproteína y oxidoreductasa que contiene FAD (Figura 3). Dicha enzima exhibe una estricta especificidad estereoquímica, eliminando hidrógeno en forma exclusiva por eliminación trans. No se conocen características regulatorias in vivo significativas para este paso. La enzima está sujeta a una poderosa inhibición competitiva por el malonato, lo que constituye una manera de inhibir la actividad del ciclo del ácido cítrico en sistemas de laboratorio. Mientras que las otras enzimas del ciclo del ácido cítrico son proteínas solubles presentes en la matriz mitocondrial, la succinato deshidrogenasa es única porque está asociada a la membrana y se localiza de modo específico en la membrana mitocondrial interna, permitiendo la entrada de

electrones en la cadena respiratoria formando parte del complejo II. En este experimento se utiliza el Azul de Metileno como el aceptor final de electrones

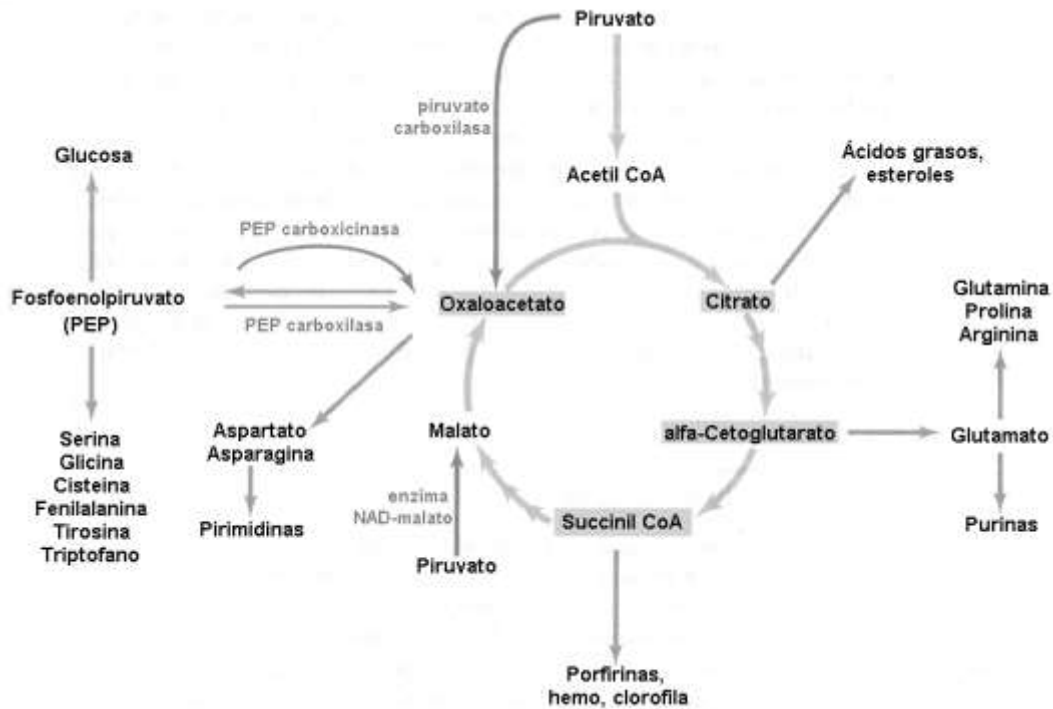


Figura 2. Utilización de los intermediarios del ciclo del ácido cítrico en la síntesis de biomoléculas.

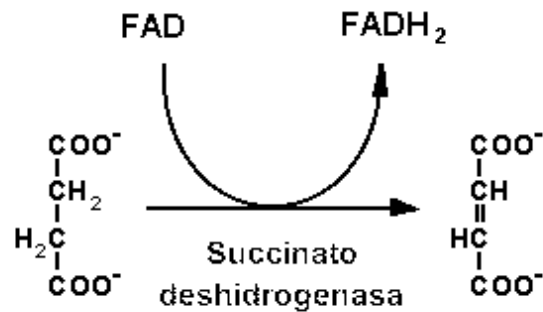


Figura 3. Conversión de succinato a fumarato.



MATERIAL BIOLÓGICO:

Músculo e hígado frescos de diferentes animales (1g)

MATERIALES Y EQUIPO:

Baño maría

1 Mortero

1 Gradilla

2 Tubos de ensaye

2 Pipetas de 5 mL

1 Pipeta de 1 mL

1 Termómetro de 0 a 100°C

Arena de vidrio o perlas de ebullición

Refrigerador

Balanza granataria y analítica

REACTIVOS:

Aceite de vaselina o vegetal, 10 mL

Ácido succínico al 3 % neutralizado con hidróxido de sodio al 10 % hasta pH 7.4, 50 mL

Azul de metileno al 0.001 %, 25 mL.

Ácido tricloroacético al 20 %, 10 mL.

PROCEDIMIENTO:

1. Triture cuidadosamente con arena de vidrio 1 g del tejido en un mortero, añadiendo de 3 a 4 mL de la disolución de ácido succínico y filtre a través de una gasa la mezcla.
2. El líquido homogeneizado se reparte en dos porciones iguales, las cuales se pondrán en tubos de ensaye.
3. En el tubo control se añade 1 mL de disolución de ácido tricloroacético para destruir la enzima.



4. Añada a ambos tubos de 1 a 2 gotas de azul de metileno y agítelos.
5. Sobre la superficie del líquido de cada tubo se vierten de 0.5 a 1 mL de aceite con el fin de aislar el oxígeno del aire.
6. Los tubos se incuban en baño maría a 50° C durante 10 minutos.
7. Una vez transcurrido este tiempo, en el tubo de ensaye experimental se observa la decoloración del azul de metileno.
8. Procesar todos los tejidos utilizados de acuerdo a los lineamientos de la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y se disponen los residuos químicos de acuerdo a la NOM-052-SEMARNAT-2005.

RESULTADOS:

1. Anotar los cambios de color en los tubos.
2. Explicar ¿Por qué el azul de metileno puede actuar como indicador la enzima está presente y activa?
3. ¿Qué implica la diferencia de color de acuerdo a los diversos tejidos?

DISCUSIÓN:

Explicar lo ocurrido en cada tubo, con fundamento en el fenómeno estudiado y tipo de tejido empleado.

CUESTIONARIO:

1. ¿Por qué se utiliza músculo como material biológico de experimentación?
2. Nombra las enzimas del ciclo de Krebs e indica el tipo de reacción que cataliza cada una. Indica ¿cuáles actúan como óxido-reductasas y cuál es su cofactor?
3. En la reacción en la cual la succinil-CoA es convertida a succinato una molécula de GTP es producida. Es sabido que la producción de GTP es equivalente a la de ATP. ¿Cómo puedes explicar esto considerando los siguientes cambios de reacción? $GTP+ADP = GDP+ATP$



TEMA 3. OXIDACIONES BIOLÓGICAS

PRÁCTICA No. 5. ESTUDIO DEL BOMBEO DE PROTONES POR LEVADURAS; EFECTO DE LOS INHIBIDORES DE LA CADENA DE TRANSPORTE Y DE LOS DESACOPLANTES.

DURACIÓN: 1.5.h

OBJETIVOS:

- Que el alumno relacione el consumo de glucosa con los cambios de pH producidos por las levaduras.
- Que el alumno describa las vías por las cuales la glucosa genera los cambios de pH.
- Que el alumno interprete el efecto de los inhibidores y los desacoplantes sobre la salida de protones.

FUNDAMENTO:

En los organismos aerobios es esencial que las enzimas del ciclo de Krebs estén asociadas con las del sistema de transporte de electrones. Es a través de esta oxidación que los nucleótidos de la piridina (NADP y NAD) y el FAD, reducidos en el ciclo de Krebs, son devueltos a su forma oxidada. La energía cedida en estas oxidaciones es utilizada en la síntesis de ATP.

El sistema transportador de electrones está constituido por una serie secuencial de enzimas del grupo de los citocromos, capaces de pasarse electrones de uno a otro. Los electrones, tomados por aceptores de hidrógeno (NADP, NAD, FAD) a partir de los pasos oxidativos de la respiración, acaban pasando al sistema transportador de electrones, en donde van “descendiendo” a lo largo de la cadena de los citocromos.

Es especialmente importante para la célula viva el hecho de que en cada paso de este sistema, el nivel de energía del electrón disminuye, de manera que la diferencia de energía pueda ser transformada en energía de enlace fosfato por conversión de ADP en ATP.

Durante la reoxidación de ubiquinona reducida (UQ) los iones hidrógeno pasan al citoplasma; solo los electrones circulan a lo largo de una serie de las enzimas citocrómicas. Para cada par de electrones que pasan por este sistema, se forman 3 moléculas de ATP. La síntesis de ATP tiene lugar en la oxidación del NADH, en la oxidación de dos citocromos b y en la oxidación de dos citocromos a.

Cuando alcanzan su nivel de energía más bajo, los electrones son pasados al oxígeno desde el citocromo a₃ reducido, activando así el oxígeno. En este estado, el oxígeno puede aceptar iones libres de hidrógeno para formar agua (Ver Figura 4).

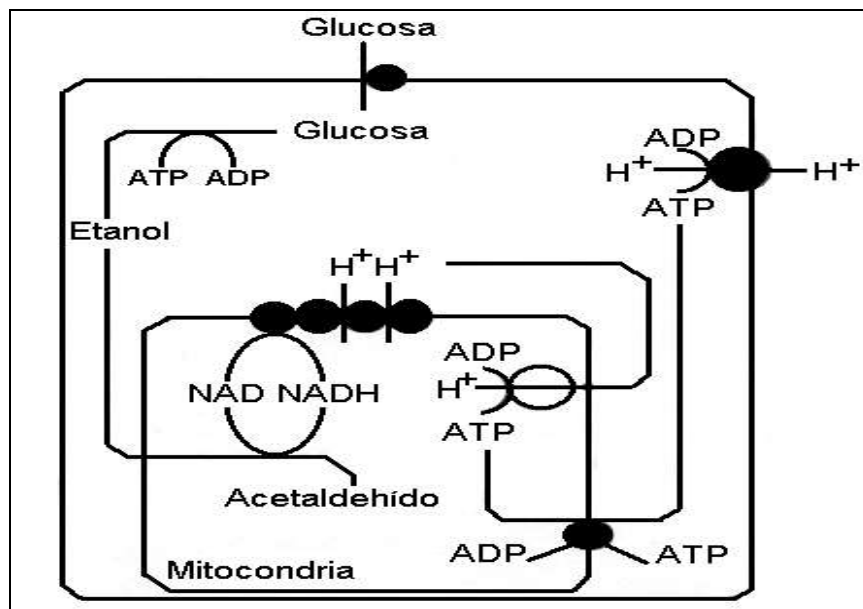


Figura 4. Vías que siguen los protones en la levadura.

MATERIAL BIOLÓGICO:

Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), con la cual se preparará una solución a una concentración de 200 mg/ mL

MATERIALES Y EQUIPOS:

3 Vasos de precipitados de 100 mL

Pipetas de 5 y 10 mL



Piceta

Potenciómetros

Recipientes para residuos químicos y biológicos

REACTIVOS:

Solución de glucosa al 10 %

Solución de dinitrofenol 40 mMol/L en etanol ó NaCN 5%

Solución de azida de sodio 400 mMol/L

Agua destilada

PROCEDIMIENTO:

a) Experimento I (control levadura).

1. Diluir 10 mL de la levadura con 40 mL de agua destilada en un vaso de precipitados.
2. Determinar el pH de la solución cada 5 minutos cinco veces, y luego cada 10 minutos dos veces más.

b) Experimento II (control glucosa10%)

3. Diluir 10 mL de glucosa al 10 % en 40 ml de agua destilada en un vaso de precipitados.
4. Determinar el pH de la solución cada 5 minutos cinco veces, y luego cada 10 minutos dos veces más.

c) Experimento III (respiración aerobia).

5. Diluir 5 mL de la levadura con 40 mL de agua destilada en un vaso de precipitados.
6. Adicionar 5 mL de glucosa a 10 %, agitar y medir el pH.
7. Determinar el pH de la solución cada 5 minutos cinco veces, y luego cada 10 minutos dos veces más.



d) Experimento IV (control dinitrofenol).

8. Diluir 5 mL de la levadura con 40 mL de agua destilada en un vaso de precipitados. Usar guantes durante todo el procedimiento.
9. Añadir por decantación (no pipetear) 0.2 mL de la solución de dinitrofenol 40 mMol/L.
10. Determinar el pH de la solución cada 5 minutos cinco veces, y luego cada 10 minutos dos veces más.

e) Experimento V (dinitrofenol + respiración aerobia).

11. Diluir 5 mL de la levadura con 40 mL de agua destilada en un vaso de precipitados. Usar guantes durante todo el procedimiento.
12. Añadir por decantación (no pipetear) 0.2 mL de la solución de dinitrofenol 40 mMol/L. Agitar con cuidado.
13. Adicionar 5 mL de glucosa a 10 % y agitar.
14. Determinar el pH de la solución cada 5 minutos cinco veces, y luego cada 10 minutos dos veces más.

f) Experimento 3 (control azida).

15. Diluir 5 mL de la levadura con 40 mL de agua destilada en un vaso de precipitados. Usar guantes durante todo el procedimiento.
16. Añadir por decantación (no pipetear) 0.5 mL de la solución de azida de sodio 400 mol/L. Agitar con cuidado.
17. Determinar el pH de la solución cada 5 minutos cinco veces, y luego cada 10 minutos dos veces más.

g) Experimento V (azida + respiración aerobia).

18. Diluir 5 mL de la levadura con 40 mL de agua destilada en un vaso de precipitados. Usar guantes durante el procedimiento.
19. Añadir 0.5 mL de la solución de azida de sodio. Agitar con cuidado.
20. Adicionar 5 mL de glucosa a 10 % y agitar.



21. Determinar el pH de la solución cada 5 minutos cinco veces, y luego cada 10 minutos dos veces más.
22. Procesar todos los tejidos utilizados de acuerdo a los lineamientos de la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y se disponen los residuos químicos de acuerdo a la NOM-052-SEMARNAT-2005, ya que la azida de sodio y el 2,4-dinitrofenol son muy tóxicos.

RESULTADOS:

1. Haga una gráfica de cada uno de los experimentos; utilizar los valores de las lecturas de pH contra tiempo.

EXPERIMENTO	TIEMPO (min)						
	0	5	10	15	20	30	40
Levadura							
Glucosa 10 %							
Levadura + glucosa 10 %							
Dinitrofenol							
Dinitrofenol + glucosa							
Azida							
Azida + glucosa 10 %							

2. Analizar el significado de los cambios de pH en el experimento control con dinitrofenol como desacoplante y con azida de sodio.
3. Hacer una relación de las vías que producen estos cambios; tomar en cuenta que las levaduras poseen una ATPasa de protones en la membrana mitocondrial que se encarga de sintetizar ATP y que tienen otra ATPasa de protones en la membrana plasmática cuya función es similar a la bomba de Na^+/K^+ en las células de los mamíferos.



DISCUSIÓN:

Explicar lo ocurrido en cada vaso de precipitado, con fundamento en el fenómeno estudiado y tipo de inhibidor o desacoplante empleado.

CUESTIONARIO:

1. ¿Cuál es el efecto de cada uno de las siguientes sustancias en el transporte de electrones y producción de ATP? Se especificó acerca de cuál reacción es afectada.
 - a) Azida
 - b) Antimicina A
 - c) Amital
 - d) Rotenona
 - e) Dinitrofenol
 - f) Gramicidina A
 - g) Monóxido de carbono
2. ¿Por qué se puede usar el dinitrofenol como un medicamento de dieta?
3. Indica las especies moleculares en el interior de la membrana de la mitocondria las cuales sirven como bombas de protones o canales.
4. Escribe la primera reacción en la ruta de transporte de electrones la cual envuelve NADH y CoQ. Indica los agentes de oxidación y reducción de la reacción.
5. ¿Por qué la producción de ATP requiere una membrana mitocondrial intacta?



PRÁCTICA No. 6. REDUCCIÓN DE UN COLORANTE POR MEDIO DE CLOROPLASTOS ILUMINADOS

DURACIÓN: 3h

OBJETIVO:

Comprobar el fenómeno fotosintético efectuado por cloroplastos aislados por uso de aceptores de electrones.

FUNDAMENTO

La gama de radiaciones solares que llega hasta la corteza terrestre se denomina luz visible o blanca; su límite inferior de longitud de onda es de 400 nm (4000 Å) y el límite superior de longitud de onda es de 700 nm (7000 Å). La luz es la energía de la vida. Los organismos fotosintéticos tienen la tarea suprema de dominar esa energía radiante y convertirla en energía química útil para el sostén no sólo de su propia existencia, sino también de la de todos los organismos aeróbicos no fotosintéticos (heterótrofos). En la siguiente ecuación neta se resume el mecanismo crucial de la fotosíntesis:

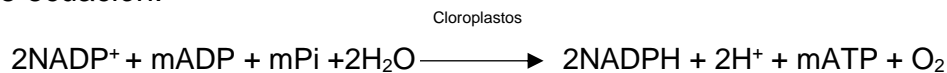


Los resultados son: 1) la energía lumínica se usa para convertir una forma oxidada de baja energía del carbono inorgánico (CO_2) en una forma reducida de mayor energía de carbono orgánico (carbohidrato), para lo cual se emplea agua como agente reductor; y 2) se produce oxígeno molecular. Estos productos de los organismos fotosintéticos se usan luego para sostener la vida de los organismos aeróbicos heterótrofos, los cuales extraen la energía química del carbono orgánico reducido (originalmente energía solar) al oxidarlo otra vez a CO_2 . Esta relación química recíproca de la biosfera se denomina ciclo del carbono-oxígeno (o simplemente ciclo del carbono). Se ha recalcado la suprema importancia de la fotosíntesis porque este fenómeno inicia el ciclo y, por tanto, sin él no habría vida.



El organelo especializado de las células fotosintéticas en el que tiene lugar este proceso químico es el cloroplasto. Los fenómenos químicos ocurren en dos fases bien definidas, a las que se denomina fase lumínica y fase oscura. Como su nombre indica, la fase lumínica depende de la entrada de energía radiante. En el proceso global participan muchas sustancias, entre las cuales destaca la clorofila. La fase lumínica consta de tres fenómenos: el rompimiento oxidativo de agua, la formación de NADPH y la formación de ATP. La fase oscura consiste en la asimilación enzimática y la conversión de CO₂ en carbohidratos. El NADPH y el ATP formados durante la fase lumínica sirven en la fase oscura como fuentes de capacidad reductora y energía, respectivamente.

El efecto combinado de la fase dependiente de la luz (que requiere $nh\nu$) de todas las plantas fotosintéticas y de varias algas puede representarse con la siguiente ecuación:



Ésta es una ecuación neta que resume los cuatro fenómenos principales de la fase lumínica: 1) la excitación fotoquímica de la clorofila; 2) el rompimiento oxidativo del agua, llamado fotooxidación; 3) la reducción de NADP⁺, denominada fotorreducción; y 4) la formación de ATP, o fotofosforilación.

La ecuación anterior se escribió con el propósito de mostrar la generación de una unidad de oxígeno molecular. Como la producción de O₂ implica la transferencia de cuatro electrones del H₂O al NADP⁺, la ecuación también representa una estequiometría idealizada 2+2 entre el H₂O y el NADP⁺. Todavía no se tiene seguridad en cuanto al número m de moléculas de ATP producidas y al número n de cuantos lumínicos necesarios por molécula de oxígeno desprendida.

MATERIAL BIOLÓGICO:

Hojas de espinaca o acelgas (50 g)



MATERIAL Y EQUIPO:

Probeta de 25 mL
Pipetas de 10, 5 y 1 mL
Embudo de filtración rápida
Vasos de precipitado de 100 mL
Tubos de ensaye
Gradilla
Tela de asbesto
Tripié
Mechero
Tubos de centrifuga
Pipeta Pasteur
Perilla
Cubos de hielo
Gasa
Licuadora
Recipientes para residuos químicos y biológicos

REACTIVOS:

Solución de sacarosa 0.5 M, 500 ml
Solución de KCl 0.08 M, 100 mL
2,6-diclorofenolindofenol (DCFI) (1.6 mg/10mL) o $K_3Fe(CN)_6$ 0.025 M
Solución buffer de fosfatos a pH 6.5, 1 L
Solución de propilenglicol al 10 %

PROCEDIMIENTO:

1. Preparar 100 mL de una solución de sacarosa 0.5 M y ponerla en un recipiente con hielo.
2. Lavar las hojas de espinaca, pese 30 g y licuarlas 30 s con 75 mL de la solución de sacarosa helada.
3. Filtrar la suspensión pasándola a través de dos capas de gasa.



4. Tomar el sobrenadante y centrifugar a 3500 rpm durante 10 min.
5. Tomar el sobrenadante y centrifugar nuevamente a 3500 rpm durante 10 min.
6. Retirar el sobrenadante y resuspender el residuo en 30 mL de propilenglicol al 10 % enfriando en hielo y agitando con una varilla de vidrio, en esta fracción se encuentran los cloroplastos.
7. Dividir la suspensión en dos partes, conservar una en hielo y la otra (10 mL) calentarla suavemente hasta ebullición en un tubo de ensaye sobre la flama de un mechero e inmediatamente enfriarla en un baño de agua.
8. Preparar una solución buffer de fosfatos añadiendo a 0.3 mL de buffer de fosfatos (pH 6.5) 19 mL de KCl 0.08M.
9. Con la solución anterior y la suspensión de cloroplastos prepare 6 tubos de ensayo de acuerdo con lo solicitado en la siguiente tabla:
 - a) 3.5 mL de buffer de fosfatos + 1.5mL de solución de cloroplastos
 - b) 3.5 mL de buffer de fosfatos + 1.5 mL de solución de cloroplastos hervida
 - c) 3.5 mL de buffer de fosfatos + 1.5 mL de solución de cloroplastos + 0.5 mL de solución de diclorofenolindofenol (2 tubos con este mismo contenido, que serán 3 y 5)
 - d) 3.5 mL de buffer de fosfatos + 1.5 ml de solución de cloroplastos hervida + 0.5 mL de solución de diclorofenolindofenol (2 tubos con este mismo contenido, que serán 4 y 6)
 - e) Colocar los tubos 1,2, 3 y 4 bajo luz intensa (30 cm, 100 Volts) y los tubos 5 y 6 en la oscuridad.
 - f) Después de 10 a 15 min, observar la coloración de los tubos. Si no se observa cambio, agitar los tubos y medir la absorbancia a 520 nm cada 15 min durante una hora.
 - g) Procesar todos los tejidos utilizados de acuerdo a los lineamientos de la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y se disponen los residuos químicos de acuerdo a la NOM-052-SEMARNAT-2005.



RESULTADOS:

Realizar una tabla como la siguiente:

Tubos	1 Cloropl + luz	2 Cloropl hervidos + luz	3 Clorop + DCF1 + luz	4 Clorop hervidos + DCF1 + luz	5 Clorop + DCF1 + oscuridad	6 Clorop hervidos + DCF1 + oscuridad
0						
15min						
30min						
45min						
60min						

DISCUSIÓN:

Explicar lo ocurrido en cada condición con fundamento en el fenómeno estudiado, el tejido activo o inactivo, las condiciones de iluminación y el aceptor de electrones.

CUESTIONARIO:

1. ¿En qué se diferencia la fosforilación cíclica de la acíclica?
2. Compara la ultraestructura y funcionamiento del cloroplasto con la mitocondria.
3. ¿En qué se diferencia el fotosistema I del II?
4. ¿En qué se parecen las reacciones de la glucólisis a las del ciclo de Calvin?



TEMA 4. METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS: ANABOLISMO

PRÁCTICA No. 7

FOTOSÍNTESIS EN PLANTAS TERRESTRES Y ACUÁTICAS

DURACIÓN: 6h

OBJETIVOS:

- Comprobar mediante el uso de aceptores electrónicos artificiales el fenómeno fotosintético efectuado por cloroplastos aislados.
- Comprobar la fotosíntesis en plantas superiores mediante la determinación del intercambio de gases involucrados en este fenómeno.
- Identificar el almidón como producto final de la fase oscura de la fotosíntesis en plantas superiores.

FUNDAMENTO:

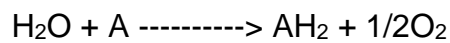
Fase luminosa

Los cloroplastos de las células fotosintéticas atrapan la energía solar y la convierten en energía en forma de enlaces fosfoanhídrido (ATP) y potencial reductor (NADPH). Ambos productos reactivos de la fase luminosa de la fotosíntesis se pueden utilizar para la biosíntesis o para otros procesos celulares que necesitan energía. En esta práctica, veremos cómo utilizan las plantas verdes el ATP y el NADPH para incorporar CO_2 , una forma inorgánica de carbono, en moléculas orgánicas simples con las que se construyen: glucosa, sacarosa, almidón y otros carbohidratos. Estas reacciones metabólicas se llaman "reacciones oscuras", porque no participa directamente la luz, únicamente los productos de los procesos fotosintéticos (ATP y NADPH). Las reacciones específicas que se llevan a cabo, incluyen la formación de nuevos enlaces carbono-carbono (fijación de carbono), partiendo de CO_2 y reducción posterior del CO_2 incorporado a nivel de carbohidratos (aldehído y alcohol). Las reacciones oscuras se presentan como individuales, pero todas concuerdan con un panorama más amplio de una ruta metabólica conocida como el ciclo de Calvin.



En 1937, el investigador británico Robert Hill probó, en especial, que la oxidación del agua y la reducción del gas carbónico en la fotosíntesis se desarrollan independientemente en el tiempo y en el espacio celular. Formalmente, la ecuación de la fotosíntesis puede, por tanto, descomponerse en dos etapas: la oxidación del agua ($2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$) provoca el desprendimiento de oxígeno; la reducción del gas carbónico [$\text{CO}_2 + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+$] produce glúcidos $(\text{CHOH})_n$. Este proceso es exactamente inverso al de la respiración.

Reacción de Hill y transporte electrónico inducido por la luz. La reacción resumida en la siguiente ecuación se conoce como reacción de Hill.



En la que A es aceptor de hidrógeno (electrones) y AH_2 es su forma reducida, el aceptor A recibe el nombre del reactivo de Hill. Este último actúa como un aceptor artificial de los electrones que se separan del agua. Característica importante de la reacción de Hill es que los electrones son inducidos para fluir hacia fuera de las moléculas del agua hasta el aceptor A, en lo que se produce oxígeno molecular a partir del agua. En contraposición, en los tejidos animales, los electrones procedentes de los sustratos orgánicos fluyen hacia el oxígeno molecular, que se reduce y forma agua.

Se observa claramente que en la reacción de Hill la dirección del flujo electrónico es la opuesta a la de la respiración. La energía para este flujo electrónico invertido, que sólo tiene lugar con la iluminación, proviene de la luz absorbida. En esta práctica se usará 2,6-diclorofenolindofenol como aceptor A.

Fase oscura

El ciclo de Calvin (o de los tres carbonos) se desarrolla en estroma de los cloroplastos. El anhídrido carbónico es fijado en la molécula ribulosa 1,5 bifosfato (RuBP). La RuBP tiene 5 carbonos en su molécula. Seis moléculas de anhídrido carbónico entran en el Ciclo de Calvin y, eventualmente, producen una molécula de glucosa. El primer producto estable del ciclo es el ácido 3-fosfoglicérico (PGA),



molécula de tres carbonos. Globalmente 6 moléculas de RuBP (ribulosa bifosfato) se combinan con 6 de anhídrido carbónico y dan 12 de 3-fosfoglicérico. La enzima que cataliza esta reacción es la RuBP carboxilasa (la *rubisco*), posiblemente la proteína más abundante del mundo y se encuentra en la superficie de las membranas tilacoideas.

La energía del ATP y el NADPH generados por los fotosistemas se usan para fosforilar fosfatos al 3-PGA y reducirlo a fosfogliceraldehido o PGAL, también de tres carbonos. Del total de 12 moléculas transformadas, dos moléculas de 3-PGAL salen del ciclo para convertirse en glucosa y posteriormente en almidón. Las moléculas restantes de PGAL son convertidas por medio del ATP en 6 moléculas de RuBP (5 carbonos), que reinician el ciclo. La formación de hidratos de carbono puede demostrarse fácilmente exponiendo cloroplastos a la luz y observando la aparición de inclusiones de almidón en su interior, el cual se oscurece con solución de Lugol.

Fotosíntesis en plantas acuáticas

Si se hace incidir luz sobre plantas acuáticas (por ejemplo, la Elodea), se observa el desprendimiento de burbujas de oxígeno dentro del agua; la marcación de agua y de CO₂ con O₁₆ demostró que el oxígeno liberado proviene de la lisis de la molécula de agua en oxígeno e hidrógeno y no de la molécula de CO₂. Igualmente se ha comprobado que la lisis de agua (llamada fotólisis) es un fenómeno muy rápido, realizándose en milésimos de segundo, inmediatamente después de la incidencia de la luz. La reducción de gas carbónico es un proceso más lento e independiente de la presencia de luz, por lo que se ha convenido dividir la fotosíntesis en dos etapas o fases sucesivas. La primera sería la fase lumínica, durante la cual se produce la fotólisis del agua, y la segunda la fase oscura en la cual es reducido el gas carbónico.



MATERIAL BIOLÓGICO:

Hojas de espinaca o acelga fresca (50 g)

Tallos de Elodea o Hydrilla

Geranio adulto (Pelargonium), malva u otra similar, con hojas verdes

MATERIAL Y EQUIPOS:

1 Probeta de 50 mL

1 Pipeta Pasteur, de 1 mL, 10 mL

3 Pipetas de 5 mL

1 Pipeta de 10 mL

1 Pipeta automática de 200 μ L

2 Embudos de filtración rápida

1 Vaso de precipitados de 50 mL, 100 mL y 1,000 mL

2 Vasos de precipitados 250 mL

8 Tubos de ensaye y para centrífuga

Gradilla

Tela de asbesto

Tripié o anillo metálico

Mechero

Soporte universal

Papel aluminio y celofán azul

Perilla

Baño maría

Cerillos

Pincel de pelo fino

Gasa

Espectrofotómetro

Parrilla de calentamiento con agitación magnética

Balanza analítica y granataria

Centrifuga



Licudadora

Hielo

1 foco de 100 watts

Recipientes para residuos químicos y biológicos

REACTIVOS:

2,6-Diclorofenolindofenol (DCFI), 4 mM

Diuron (3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea), 3 mM

Sulfato de cobre al 0.5 %

Acetona al 80 %

Medio de aislamiento de cloroplastos

Medio de resuspensión de cloroplastos

Medio para la medición del transporte de electrones

Bicarbonato de sodio al 2 %, 2 litros

Fenolftaleína al 1 %, 25 mL

Alcohol al 70 %, 500 mL

Solución de yodo-ioduro de potasio (Iugol) 50 mL

PROCEDIMIENTO:

Fotosíntesis en plantas terrestres: fase luminosa

A) Aislamiento de cloroplastos.

1. Todo el experimento se realizará en frío. El aislamiento se realiza por equipos que determine el facilitador. El material vegetal fresco, previamente lavadas y guardadas en el refrigerador dentro de una bolsa de plástico durante toda la noche (para eliminar el almidón), desechando las hojas rotas y amarillas. Lavar las hojas con suficiente agua de la llave hasta eliminar bien el polvo. Cortar desechar 2 cm de la base y la punta de la hoja, se le quita la vena central y se corta en pedazos pequeños los cuales se irán depositando sobre el papel aluminio que se encuentre sobre hielo, hasta completar 15 g.



2. Poner los pedazos de hojas en el vaso de licuadora que previamente ha sido enfriado en el refrigerador durante 30 min; agregar 100 mL de medio de aislamiento frío.
3. Licuar, dando solo pulsos con la velocidad 3 y en el apagado de la licuadora, esto se realiza 3 veces durante 5 segundos para evitar que se calienten y se dañen los cloroplastos.
4. Filtrar a través de 12 capas de gasa evitando exprimirlas.
5. Centrifugar a 3500 rpm por 5 minutos en frío.
6. Se desecha el sobrenadante.
7. Se resuspende el paquete de cloroplastos con 10 mL de medio de aislamiento frío, ayudados con un pincel fino, procurando hacerlo muy suavemente, al tiempo que se gira el tubo.
8. Centrifugar a 4000 rpm en frío por 5 min. Desechar el sobrenadante.
9. Resuspender el paquete de cloroplastos con 10 mL de medio de resuspensión, ayudado con el pincel como en el paso 7.
10. Guardar esta suspensión en un tubo cubierto con papel carbón y aluminio (Incluyendo la luz del tubo).

B) Determinación del contenido de clorofila (Clorofila a y b).

1. En 5 mL de acetona al 80% se colocan 50 μ L del paquete de cloroplastos y se agitan en un vórtex (hacerlo por duplicado).
2. Mantener 5 min. en la oscuridad.
3. Centrifugar 5 min. en centrífuga clínica, a toda su capacidad.
4. Decantar el sobrenadante en tubos de ensaye de 13 X 100.
5. Leer a 646 nm y 663 nm contra un blanco de acetona al 80%.
6. El contenido de clorofila total (μ g de clorofila /mL) se calcula de acuerdo a la ecuación de Arnon, corregida por Porra:



$$100(17.76 A^{646} + 7.34 A^{663}) = \mu\text{g de clorofila/mL}$$

Donde, 100 es el factor de dilución.

C) Determinación del transporte de electrones fotosintéticos (Reacción de Hill).

1. Todo el experimento se realiza en la obscuridad hasta que se indique encender el sistema de iluminación, que deberá estar situado a 30 cm del vaso de precipitados con las soluciones, teniendo como filtro de luz azul un matraz con sulfato de cobre o bien, envolviendo el vaso en papel celofán azul.
2. En este vaso de precipitados de 50 mL (vaso de reacción), agregar 40 mL de medio de transporte de electrones (Nota: este deberá estar colocado sobre una parrilla de agitación en un baño de hielo-agua) y agitación constante.
3. Adicionar 0.8 mL de solución de 2,6-diclorofenolindofenol 4 mM.
4. Tomar 3 mL, aproximadamente de la solución anterior y leer a 600 nm; regresarla nuevamente al vaso de reacción. Usar como blanco el medio de transporte.
5. A esta mezcla agregarle cloroplastos equivalentes a 8 $\mu\text{g/ml}$ de solución por lo tanto 320 μg totales de clorofila para 40 mL de medio de transporte utilizados en el vaso de reacción.
6. Realizar la primera lectura tomado 3 mL, aproximadamente, de la mezcla anterior y desecharlos una vez hecha la lectura. Esta será la lectura del tiempo cero (A_{t_0}).
7. Iluminar el vaso de reacción, a partir de este momento, se deberá medir el tiempo.
8. En las primeras tres lecturas la alícuota de 3 mL deberá tomarse cada minuto. Las siguientes, cada 3 min hasta que la lectura sea constante (incluyendo la lectura del tiempo cero).
9. Repetir el experimento adicionando con ayuda de guantes 0.1 mL de Diuron 3 mM antes de hacer la primera lectura, ya que este reactivo es potencial cancerígeno.
10. La absorción de los cloroplastos (punto 6) menos la absorción de las soluciones (punto 4) será igual a la absorción de los cloroplastos añadidos.



11. A la absorción de todos los problemas restarles la absorción de los cloroplastos calculada en el punto anterior.
12. Calcula la ΔA de la siguiente manera:

$$\Delta A = A_{t_0} - A_t$$

Donde; t_0 = tiempo cero t = tiempos distintos de cero

Fotosíntesis en plantas terrestres: fase oscura

1. Tomar el Geranio o Malva y mantenerlas en un lugar oscuro al menos durante dos días previos a la práctica.
2. Una vez que las plantas tengan unas 48 h en la oscuridad, cubrir algunas de las hojas con papel metálico, teniendo cuidado en lo siguiente:
 - a) La planta debe permanecer en un lugar oscuro, mientras se cubren las hojas.
 - b) El papel debe cubrir bien las hojas por ambos lados.
 - c) Se recortarán algunas figuras en el papel que cubre algunas hojas, las cuales deberán quedar visibles y aisladas sobre el haz de la hoja (parte frontal, usualmente más verde y lisa). Ver la Figura 5.
3. Sin retirar el papel metálico, sacar la planta del lugar oscuro y llevarla al sol directo bajo la luz intensa al menos 2 h previas a la práctica.
4. Tomar hojas cubiertas con papel y dos o 3 hojas que no hayan sido cubiertas, retirar el papel metálico rápidamente e introducir las hojas en etanol o metanol al 70% caliente, hasta que se vean color pálido.
5. Lavarlas con agua purificada y aplicarles unas gotas de lugol en su superficie dejando actuar unos segundos. Quitar el exceso de reactivo y observar. Si no hay cambios, calentar la hoja ligeramente en solución de lugol.
- 6.) En una nueva lámina de papel aluminio acomodar en una sección las hojas que fueron cubiertas vs. las que recibieron luz para efectos de observación y comparación.

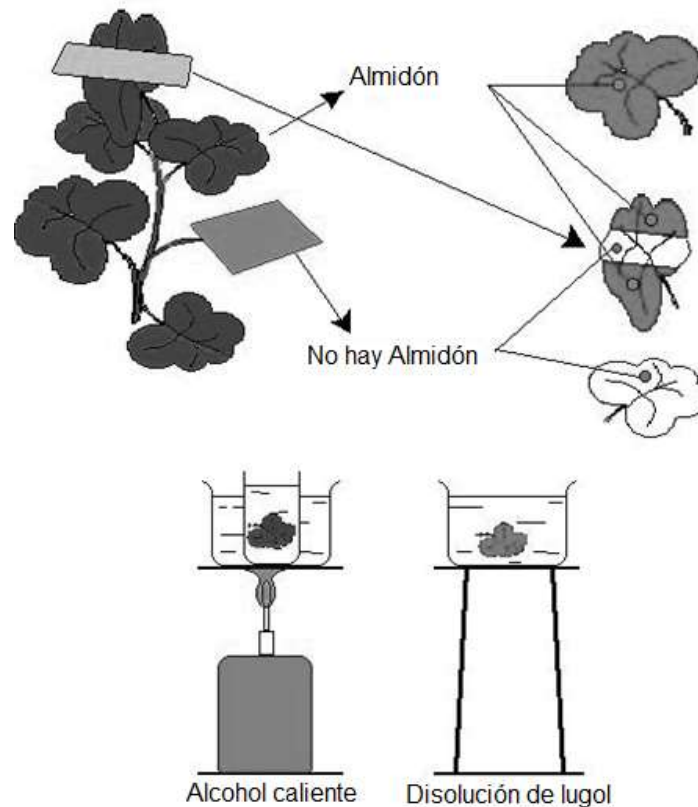


Figura 5. Estudio de la fotosíntesis fase oscura

Fotosíntesis en plantas acuáticas

Captura de CO₂ y producción de Oxígeno

1. Prepare dos cubas de vidrio con partes iguales de agua y de la solución de bicarbonato de sodio a 2% y agregue solución de fenolftaleína hasta que de un color rosado.
2. Ponga en las cubas algunos tallos de Elodea o Hydrilla, de manera que quede en su mayor parte dentro de un embudo de tallo corto, pero sirviendo a este de asiento para que haya libre paso del líquido de afuera hacia adentro del embudo
3. Coloque un tubo de ensaye lleno de agua sobre el tallo del embudo. Marque con plumón el nivel de agua contenido dentro del tubo (Figura 6).
4. Ponga todo bajo iluminación fuerte y observe durante una hora lo que ocurre en el interior del tubo de ensaye y los cambios que ocurren en la solución.



5. Mida nuevamente el nivel de agua dentro del tubo de ensayo y levántelo verticalmente, como se muestra en la Figura 7, cuidando que no se escape el gas en su interior. Acerque un cerillo encendido y registre sus observaciones.

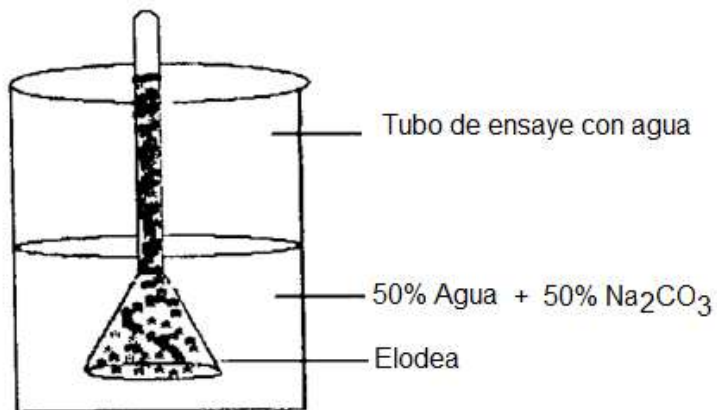


Figura 6. Fotosíntesis en plantas acuáticas.

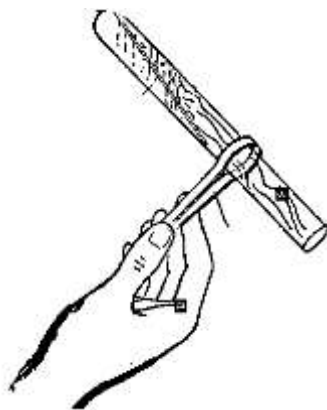


Figura 7. Determinación de O₂.

Procesar todos los residuos químicos de esta práctica de acuerdo a la NOM-052-SEMARNAT-2005.

NOTA: Las plantas acuáticas se pueden conseguir en el Instituto de Ecología, A. C., ubicado en la carretera antigua a Coatepec o en acuarios.



RESULTADOS:

- 1) Coloca en una tabla los resultados obtenidos de la determinación del contenido de clorofila (Clorofila a y b).
- 2) Con los resultados de la reacción de Hill construye una gráfica de Δabs contra tiempo.
- 3) Dibuje lo que ocurrió en cada hoja de Geranio en las dos condiciones y si considera positiva o no la prueba del Lugol y en qué grado (+, ++, +++).
- 4) Refiere en una Tabla los cambios ocurridos en el agua de las plantas acuáticas en ambas condiciones y calcula el volumen de oxígeno obtenido por el desplazamiento del agua del tubo. Indica en qué grado se intensificó la flama al acercarla a la boca del tubo (+, ++, +++).

DISCUSIÓN:

Explicar lo ocurrido en la fotosíntesis en las plantas terrestres y acuáticas con fundamento en las etapas descritas y los productos de la reacción.

CUESTIONARIO:

1. ¿Qué cambios ocurrieron en la planta que fue sometida a iluminación intensa?
2. ¿Cuáles son las principales diferencias y similitudes entre la síntesis de ATP en cloroplastos y en mitocondria?
3. ¿Cuáles son las diferencias encontradas en la cadena transportadora de electrones de cloroplastos y las de mitocondria?
4. ¿Qué compuesto químico causa el color amarillo en las hojas de otoño?
5. La siguiente reacción representa un método de electrones que fluyen en cloroplastos, Completa la reacción:



6. Describe la bioquímica que explica los cambios de color de las hojas de los árboles en otoño.



7. ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca de la fotofosforilación es verdadero?
 - a) Los electrones fluyen de NADPH a O_2 .
 - b) Un gradiente de concentración de protones es producido a través de la membrana tilacoide.
 - c) La mayor molécula fotorreceptora en plantas verdes es clorofila a.
 - d) El resultado monocíclico de fotofosforilación en producción de NADPH, oxidación de H_2O evolución de O_2 y fosforilación de ATP.
 - e) Resultado cíclico de fotofosforilación en producción de ATP, oxidación de agua y evolución de O_2 .
8. Escribe las diferencias metabólicas entre organismos heterotróficos y fototróficos.
9. Define un papel para los pigmentos accesorios (carotenoides etc.) encontrados en cloroplastos.
10. ¿Para qué se colocaron las hojas del geranio en metanol en esta práctica?
11. ¿Por qué se utilizó esta especie de planta?
12. ¿En qué se fundamenta la prueba del lugol, es específica para el almidón?
13. ¿Cuál fue la función de la fenolftaleína?
14. ¿De que otra forma se habría podido demostrar la fotosíntesis en plantas acuáticas?



PRÁCTICA No. 8

CUANTIFICACIÓN DE LA RESPIRACIÓN AEROBIA POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO.

DURACIÓN: 3h

OBJETIVO:

Comprobar el evento de la respiración a través de la formación de un subproducto natural como es el bióxido de carbono.

FUNDAMENTO:

A bajas concentraciones de oxígeno se puede esperar que tengan lugar en la planta reacciones tanto aerobias como anaerobias. En condiciones anaerobias, el CO_2 sería uno de los productos. A medida que va aumentando la concentración de oxígeno, la producción anaerobia de CO_2 desciende rápidamente, mientras que la respiración aerobia aumenta.

Entre límites amplios de concentración y oxígeno, es interesante medir tanto la producción de CO_2 como el consumo de O_2 . El consumo de oxígeno nos proporciona una medida de la respiración aerobia, al igual que la producción de CO_2 una vez que se ha sobrepasado el punto de extinción.

Sin embargo, por debajo del punto de extinción la producción de CO_2 es debida en parte a la respiración aerobia y en parte a la respiración anaerobia, mientras que el consumo de O_2 por debajo de ese punto es aún una medida estricta de la respiración aerobia. La determinación de la participación de ambos gases para distintas concentraciones de O_2 comprendidas entre amplios límites nos permite medir la respiración tanto aerobia como anaerobia.

Después de numerosos estudios sobre la intensidad de respiración de una amplia variedad de plantas, se puede hacer una afirmación general: a medida que la concentración de oxígeno va aumentando a partir de cero, se produce un incremento de la intensidad de la respiración aerobia. En la mayoría de las plantas,



este incremento es hiperbólico, es decir, el incremento de la intensidad se anula, al hacerlo la intensidad de la concentración de oxígeno.

MATERIAL BIOLÓGICO:

Semillas de chícharo, frijol u otras que sugiera el facilitador (30 g)

MATERIALES Y EQUIPO:

4 frascos de 500 mL con tapa
4 vasos de precipitados de 50 mL
Probeta de 50 mL
Bureta de 25 mL
Pipeta de 5 mL
Pipeta de 10 mL
Vaso de precipitados de 500 mL
1 Termómetro de 0 a 100 °C
Algodón
Manta de cielo o gasa
Cordón de cáñamo o hilo fuerte
Balanza granataria y analítica
Estufa de cultivo
Refrigerador

REACTIVOS:

Cloruro de bario 1 M, 50 mL
Hidróxido de sodio 0.5 N, 200 mL
Ácido clorhídrico 0.5 N, 200 mL
Fenolftaleína a 1 %, 25 mL

PROCEDIMIENTO:

1. Ponga 50 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 0.5 N en cada uno de los cuatro frascos de 500 mL y tape inmediatamente.

2. Pese con ayuda de guantes 30 g de semillas en agua purificada, durante una hora, posteriormente pese tres porciones de 10 g de estas semillas.
3. Coloque cada porción con ayuda de guantes en un saquito de manta de cielo o de gasa y suspéndalo del tapón del frasco utilizando un cordón o hilo, para evitar que las semillas estén en contacto con el hidróxido de sodio (NaOH), como se muestra en la Figura 1:

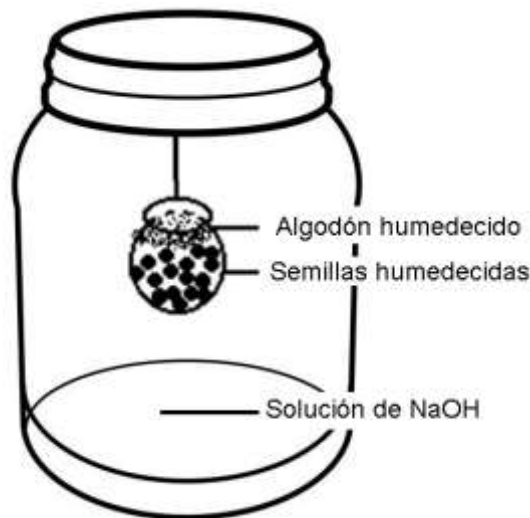


Figura 8. Preparación de frascos para respiración aerobia.

4. Coloque los otros tres frascos a diferentes temperaturas (5, 25 y 40° C).
5. Después de 36 horas, extraiga las semillas y tape rápidamente.
6. Titule para encontrar la cantidad de CO₂ respirado por las semillas. Para ello, tome una pipeta y extraiga 10 mL de hidróxido de sodio de cada uno de los frascos y póngalos en un vaso de precipitado de 50 mL.
7. Añada 5 mL de la solución de cloruro de bario 1 M, el cual precipitará el CO₂ absorbido por el álcali.
8. Agregue tres gotas de fenolftaleína quedarán un color rosa-violáceo y titule con ácido clorhídrico 0.2 N hasta que desaparezca el color (pH 8.5) y anote la cantidad de ácido necesario para ello.



9. Repita la titulación con cada uno de los frascos por duplicado, para calcular la cantidad de CO₂ del ambiente que haya sido atrapado al cerrar el frasco.
10. Reste esta cantidad a la cantidad necesaria para cada uno de los tratamientos y multiplique por 5 para obtener la cantidad de ácido clorhídrico (HCl) equivalente al CO₂ desprendido por las semillas.
11. Retirar los tejidos y colocarlos en la basura general y disponer los residuos químicos de acuerdo a la NOM-052-SEMARNAT-2005.

RESULTADOS:

1. Anotar los volúmenes de HCL gastados:

Temperatura	Volumen de HCL gastado
Ambiente	
Ambiente	
25 °C	
25 °C	
40 °C	
40 °C	
5 °C	
5 °C	

DISCUSIÓN:

Explicar lo ocurrido en cada frasco, con fundamento en el fenómeno estudiado y el efecto de la temperatura y tipo de semilla sobre la intensidad de la respiración aerobia.

CUESTIONARIO:

1. Definir y explicar el concepto de coeficiente respiratorio.
2. ¿Cuál es su utilidad práctica?
3. ¿Qué importancia tiene considerar la respiración aerobia en la conservación de semillas para consumo humano o animal?

PRÁCTICA No. 9

EFFECTO DE LA DIETA Y LAS HORMONAS SOBRE EL CONTENIDO DE GLUCÓGENO EN HÍGADO DE RATA.

DURACIÓN: 3h

OBJETIVOS:

Demostrar que la síntesis y degradación de la glucosa es controlada por varias hormonas.

FUNDAMENTO

Los seres vivos almacenan glúcidos en forma de polisacáridos, que sirven como materiales de reserva. El almidón, la inulina en los vegetales superiores y el glucógeno en los animales.

El glucógeno consta de cadena de glucosa unidas por enlaces glicosídicos α (1-4) y ramificaciones, cada 8 ó 10 unidades, de glucosa mediante enlace glicosídico α (1-6). Este es especialmente abundante en el hígado en donde puede ocupar hasta un 10% de su peso y en músculo, un 1 %. En situación de ayuno, el glucógeno es la primera reserva que se moviliza para mantener la glucemia, al menos durante dos horas. Los principales lugares destinados para la reserva de glucógeno en animales son el hígado que puede almacenar aproximadamente 70 g (280 kcal) de glucógeno y los músculos esqueléticos que pueden contener hasta 400 g (1600 kcal). En el hígado, el glucógeno tiene como misión mantener el nivel de glucosa en la sangre (glicemia) constante. En los músculos, el glucógeno se utiliza para abastecer de energía (ATP) al proceso de contracción muscular.

Debido a la estructura tan ramificada del glucógeno, permite la obtención de moléculas de glucosa libre en el momento que se necesiten, este proceso se denomina Catabolismo del Glucógeno o Glucogenólisis. Para llevar a cabo este proceso se requiere la acción combinada u secuencial de 3 enzimas: glucógeno fosforilasa, enzima desramificante del glucógeno, fosfoglucomutasa.



La glucogenolisis o degradación del glucógeno es un proceso muy rápido, ya que se lleva a cabo sobre los extremos no reductores. En este proceso actúan tres enzimas: la glucógeno fosforilasa, la oligo α 1,4-1,4 glucan-transferasa o enzima desramificante y la amilo α 1-6 glucosidasa. Los productos finales de la glucogenolisis son la Glc1P y Glc, que se transforman en Glc6P; en el hígado, la Glc-6-fosfatasa transforma la glucosa fosforilada en glucosa, que se libera a la sangre para mantener la glucemia. La extracción del glucógeno del hígado de la presente práctica implica un proceso de homogenización del tejido y ruptura celular, así como la extracción y la eliminación de las proteínas. Su identificación puede realizarse con Lugol.

MATERIAL BIOLÓGICO:

4 ratas Wistar del mismo peso y sexo

MATERIAL Y EQUIPO:

Desecador

Papel filtro Whatman No. 54

Mortero con pistilo

Recipientes para residuos químicos y biológicos

Parrilla de calentamiento

Balanza analítica

Jeringas de insulina

REACTIVOS:

Adrenalina o Salbutamol

Cortisol (solución inyectable)

Pentobarbital sódico

Insulina de acción corta

Ácido tricloroacético (50 g/L)

Etanol 95 %



NaCl

Solución de Lugol (5 mM/L en KI 30 g/L)

PROCEDIMIENTO:

Preparación de los animales

1. Alimentar las ratas con su dieta normal durante 1 semana, luego dividir las en 4 grupos: A, B, C y D. Acostumbrar a los animales a la manipulación durante esa semana, practicando diariamente la inyección subcutánea o intraperitoneal sin aguja.
2. Los grupos A y B se seguirán alimentando normalmente y los grupos C y D se someterán a ayuno 48 h antes del experimento.
3. Los grupos A y C serán los controles alimentados y en ayuno respectivamente.
4. Las ratas del grupo B se inyectarán vía s.c. con adrenalina (10 mg/100 g) y se eutanizarán 10 min después con pentobarbital sódico. Se puede sustituir la adrenalina por salbutamol.
5. Las ratas del grupo D recibirán cortisol (1.2 mg/100 g) cada 2 h hasta el momento de sacrificarlas con anestésico general.

Aislamiento del glucógeno hepático

1. Extraer los hígados tan rápido como sea posible y pesarlos.
2. Cortar el hígado en pedazos muy pequeños con tijeras y transferir el tejido al mortero, triturar con 20 mL de ácido tricloroacético.
3. Decantar el homogeneizado, filtrar a través del papel filtro Whatman y recoger el filtrado en un vaso helado.
4. Agregar 10 mL de ácido tricloroacético al sedimento, homogenizar y filtrar como se indicó arriba.
5. Tomar una gota del filtrado y agregar una gota de yodo, decir lo que observa y porqué. Guardar este tubo para compararlo entre las diferentes condiciones.
6. Agregar de acuerdo al volumen original del filtrado obtenido 2 volúmenes de etanol al 95 %.



7. Agitar la mezcla y dejarla hasta que el precipitado de glucógeno flocule. Si encuentra alguna dificultad al precipitar el glucógeno, agregar 200 mg de cloruro de sodio y calentar ligeramente.
8. Centrifugar a 3,000 rpm durante 15 minutos y separar el sobrenadante.
9. Extender el precipitado sobre un vidrio de reloj y sacar en un desecador. Anotar el porcentaje de material recuperado.

RESULTADOS:

Elabore una tabla con los resultados obtenidos como la siguiente:

Rata	Peso rata (g)	Peso hígado (g)	Peso glucógeno (g)	% glucógeno hepático
A				
B				
C				
D				

DISCUSIÓN:

Explicar lo ocurrido a cada rata con fundamento en el fenómeno estudiado comparando la intensidad de la reacción con Lugol, el peso del animal, del hígado y del glucógeno obtenido. Considere posibles fuentes de error.

CUESTIONARIO:

1. ¿En qué difiere el glucógeno del almidón?
2. ¿En qué tejidos se almacena?
3. ¿En qué condiciones se produce glucógeno y en cuales se degrada?
4. ¿Qué factores regulan sus síntesis?
5. ¿Cuáles son las diferencias entre la glucogenólisis y la gluconeogénesis?
6. ¿Por qué el etanol es un mal precursor gluconeogénico?
7. Investigue 3 enfermedades del metabolismo del glucógeno.

TEMA 6. METABOLISMO DE LÍPIDOS

PRÁCTICA No. 10 CONVERSIÓN DE LÍPIDOS EN CARBOHIDRATOS

DURACIÓN: 3h

OBJETIVO:

Demostrar que en los vegetales se puede dar la conversión de lípidos a carbohidratos.

FUNDAMENTO

Los lípidos son sustancias biológicas solubles en solventes orgánicos, pero escasamente solubles en el agua. Pertenecen a este grupo moléculas tan diversas como las grasas, los aceites, algunas vitaminas y hormonas, así como todos los componentes no proteícos de las membranas.

Los lípidos pueden clasificarse en dos grandes grupos: los saponificables y los no saponificables. Los primeros tienen la característica de que, en soluciones alcalinas, se hidrolizan produciendo ésteres de ácidos grasos, mientras que los segundos no son objeto de hidrólisis alcalina.

Lípidos saponificables

A esta clasificación pertenecen los acilgliceroles, los fosfoacilgliceroles, los esfingolípidos y las ceras, mientras que en el grupo de los lípidos insaponificables encontramos los terpenos, los esteroides y las prostaglandinas, así como los compuestos relacionados con estos. Existen lípidos con un grupo extremo polar y otro grupo opuesto no polar. Este grupo se conoce como lípidos anfipáticos y son los responsables de estabilizar las emulsiones o formar parte de la bicapa lipídica de las membranas.

Los ácidos grasos biológicamente importantes son ácidos monocarboxílicos con cadenas alifáticas de diverso tamaño, con un número par de átomos de carbono que pueden ser saturados o insaturados. En el caso de los insaturados, los de origen



natural son isómeros geométricos cis; pueden ser monoinsaturados o poliinsaturados y son líquidos a temperatura ambiente. Los ácidos grasos poliinsaturados no son sintetizados en el organismo por lo que se consideran esenciales. En soluciones fisiológicas se encuentran en forma ionizada formando sales o “jabones”. Los ácidos grasos de cadena larga son insolubles en agua, pero los jabones forman micelas.

Los acilgliceroles son compuestos en los que uno o más de los grupos hidroxilo del glicerol están esterificados. Pueden dividirse en monoacilgliceroles, diacilgliceroles y triacilgliceroles. En los triacilgliceroles los tres grupos hidroxilo están esterificados con ácidos grasos que pueden o no ser iguales. Las propiedades de los triacilgliceroles están determinadas por la naturaleza de sus ácidos grasos componentes y se dividen en aceites (líquidos) o grasas (sólidos) de acuerdo con la longitud de sus cadenas o con su grado de saturación, los triacilgliceroles son hidrofóbicos y no forman micelas.

Los fosfoacilgliceroles o fosfoglicéridos son derivados del ácido fosfatídico, es decir, del L-glicerolfosfato esterificado con dos ácidos grasos. El ácido fosfatídico se esterifica a su vez a través de su grupo fosfato, con un alcohol y forma las diversas familias de fosfoglicéridos las cuales poseen un carácter anfipático.

Los esfingolípidos son lípidos complejos derivados de un alcohol insaturado llamado esfingosina, el que se une con un ácido graso de cadena larga por medio de un enlace amida para formar una ceramida. Las esfingomielinas contienen una ceramida esterificada con fosforilcolina o fosforiletanolamina. Cuando la ceramida se combina con un azúcar forma los glucoesfingolípidos, que pueden subdividirse en cerebrósidos (si solo contienen una unidad de azúcar), sulfatidos (contienen un sulfato esterificado en la unidad de azúcar) y gangliósidos (contienen oligosacáridos con uno más ácidos siálicos). Entre las propiedades químicas más destacadas de los lípidos saponificables se encuentran:

a) *Número de yodo*: Los enlaces insaturados en un ácido graso reaccionan para incorporar yodo por adición, lo que constituye un provechoso auxiliar para determinar la insaturación. Mientras mayor sea el número de yodo, más insaturada es la grasa.



b) *Hidrogenación*: Los aceites se pueden convertir por hidrogenación en grasas sólidas, o sea, por adición de hidrógeno a los dobles enlaces de la molécula. Las mantecas vegetales se producen comercialmente por hidrogenación parcial del aceite de soya, de maíz o de algodón.

c) *Hidrólisis*: La hidrólisis de grasas puede tener lugar en presencia de vapor sobrecalentado, ácidos minerales calientes o enzimas específicas. Bajo dichas condiciones, la hidrólisis produce glicerol y tres ácidos grasos.

d) *Rancidez*: Las grasas y aceites desarrollan con frecuencia un olor y sabor desagradable y se dice que están rancios. Son dos las causas de la rancidez: la hidrólisis y la oxidación. Por ejemplo, cuando se deja demasiado tiempo a temperatura ambiente, la mantequilla se vuelve rancia. Esto se debe a que parte de la grasa de la mantequilla, experimenta hidrólisis, acelerada por las enzimas producidas por microorganismos presentes en el aire. Esta hidrólisis produce el ácido graso conocido como ácido butírico. También el oxígeno del aire puede oxidar las grasas o aceites insaturados o producir ácidos o aldehídos de cadena corta que posee olor y sabor desagradable.

e) *Saponificación*: Cuando la hidrólisis se lleva a cabo en presencia de una base fuerte, como el hidróxido de sodio, se produce el glicerol y sales sódicas de los ácidos grasos. Dichas sales se conocen como jabones, las sales de sodio de los ácidos grasos se utilizan en jabones en barra o en pastilla, un jabón duro contiene un número mayor de ácidos grasos saturados que un jabón blando.

Lípidos no saponificables

- **Esteroides**. Los lípidos que no pueden ser descompuestos por hidrólisis alcalina se conocen como, lípidos no saponificables. Los esteroides son lípidos no saponificables cuya estructura se basa en una complicada molécula de cuatro anillos, tres anillos de ciclohexano y uno de ciclopentano. El núcleo esteroide se



halla en la estructura de varias vitaminas, hormonas, fármacos, venenos, ácidos biliares y esteroides.

- Colesterol. Los esteroides son alcoholes esteroides. El esteroide más conocido es el colesterol. El colesterol forma parte de todas las membranas celulares y es la materia prima para la síntesis de esteroides como los ácidos biliares, hormonas sexuales y vitamina D. Todas las células tienen la capacidad de sintetizar colesterol a partir de CoA, pero el 90% de los 3 a 5 gramos de colesterol producido diariamente en el cuerpo se origina en el hígado.
- Lipoproteínas. En las moléculas naturales suele encontrarse a los lípidos asociados con las proteínas. Casi todas las membranas biológicas, como la citoplásmica y la nuclear, el retículo endoplásmico, las crestas de mitocondrias, las lámelas de los cloroplastos y la mielina de las fibras nerviosas, están compuestas por lipoproteínas.

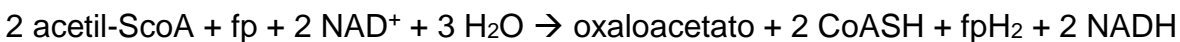
Las lipoproteínas soportan el aparato metabólico de la mitocondria, el aparato fotosintético de los cloroplastos y se les cree asociadas con la actividad enzimática de la mitocondria. Los lípidos y las proteínas se encuentran en el sistema nervioso como lipoproteínas.

Las plantas y algunas bacterias pueden usar la Acetil-CoA derivada del catabolismo de los lípidos (o de cualquiera otra sustancia) no sólo como fuente de energía, sino también como fuente de carbono para la formación de casi todas las otras clases de compuestos.

Los animales tienen casi la misma versatilidad, aunque son particularmente ineficaces al usar el carbono lipídico para la formación de carbohidratos. Esto se debe a que las plantas y las bacterias sintetizan dos enzimas auxiliares, isocitritasa (o liasa del isocitrato) y cintaza del malato, pero ninguna de ellas se forma en los animales. Junto con otras enzimas del ciclo de ácido cítrico, estas enzimas auxiliares participan en una vía llamada ciclo del glioxilato.



En las semillas oleaginosas, el ciclo del glioxilato ocurre en un organelo aparte, el glioxisoma. El resultado del ciclo del glioxilato es:



La vía del glioxilato facilita el consumo de dos moléculas de acetil-ScoA; una por condensación con oxaloacetato y otra por condensación con glioxilato. Esta entrada no sólo genera intermediarios utilizables en la biosíntesis de aminoácidos, sino que además da por resultado la producción neta de oxaloacetato (OAA). De este modo, si se elimina uno de los intermediarios previos al OAA, el ciclo del glioxilato tiene una reacción anapletórica intrínseca. Además, el propio OAA puede convertirse ya sea en aminoácidos o en carbohidratos.

MATERIAL BIOLÓGICO:

Semillas de ajonjolí, soya u otra que establezca el facilitador

MATERIAL Y EQUIPOS

2 Pipetas de 1, 5 y 10 mL

2 Vasos de precipitados de 50 mL

9 frascos limpios Gerber pequeños

10 Tubos de ensaye

4 frascos de boca ancha

1 Bandeja para transporte de muestras

Papel filtro

Papel aluminio

Gasa

Vortex

2 Espectrofotómetros con 10 celdas plásticas y 1 de vidrio

Estufa de cultivo a temperatura constante 28-30° C

Recipientes para residuos químicos y biológicos

REACTIVOS:

Mezcla cloroformo-metanol 2:1



Fenol al 5 %

H₂SO₄ concentrado

Solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, pH 7.5, 3 mM de MgCl₂

Reactivo de Biuret

Solución patrón de glucosa 100 µg /mL

Solución patrón de caseína o albumina 20 mg /mL

Solución de NaCl 1 %

Sol. de hipoclorito de sodio 1 %

Sulfato de sodio anhidro

PROCEDIMIENTO:

1. Germinación de las Semillas.

Soya:

1. Pesar 3 lotes de semillas de soya de 2.5 g cada uno.
2. Lavar las semillas con 25 mL de solución de hipoclorito de sodio al 1 % y enjuagarlas con agua hervida y fría hasta que ya no huelan a cloro.
3. Colocar cada lote de semillas en un frasco de boca ancha y taparlo con gasa detenida por una liga.
4. En una bandeja con un poco de agua colocar los dos frascos boca abajo a manera de que las semillas estén en contacto con el agua.
5. Tapar los frascos con papel aluminio y guardar los lotes sobre la charola durante 4 días a 30° C.
6. El día que se realizará la sesión experimental pesar otros 3 lotes de semillas de 2.5 g cada uno, estos serán los controles (semillas sin germinar).

Ajonjolí:

1. Pesar 3 lotes de semillas de ajonjolí de 0.5 g cada uno.
2. Lavar las semillas con 25 mL de solución de hipoclorito de sodio y enjuagarlas con agua previamente hervida y fría hasta que ya no huelan a cloro.
3. Colocar cada lote de semillas en un frasco estéril de boca ancha cubierto con papel aluminio, que contiene un disco de papel filtro humedecido.
4. Ponerlos en la estufa a 28° C durante 4 días.



5. El día que se realizará la sesión experimental pesar otros 3 lotes de semillas de 0.5 g cada uno, estos serán los controles (semillas sin germinar).

2. Preparación de los Extractos y Determinación de Biomoléculas.

Antes de preparar los extractos secar con papel absorbente cada uno de los lotes germinados de semillas, que se vayan a utilizar.

a) Proteínas

1. Homogenizar en un mortero, por separado y en frío, 2 lotes de semillas (1 lote sin germinar y 1 lote germinado) con 10 mL de solución amortiguadora de fosfatos pH 7.5, MgCl₂ 3 mM.
2. Centrifugar a 15000 rpm durante 15 minutos. Si es necesario, filtrar los sobrenadantes a través de varias capas de papel filtro, a que los filtrados salgan claros. Guardar los extractos en frío mientras se utilizan.
3. Realizar la determinación de proteínas mediante el reactivo de Biuret, guiándose de la Tabla 1. El tubo o frasco 1 al 4 es la curva patrón de proteínas el 5 y 6 los extractos enzimáticos sin germinar y germinados, el 7 y 8 los extractos enzimáticos sin germinar y germinados diluidos 1:10 y el 9 el blanco. Una vez agregados los reactivos, reposar 30 minutos y leer a 540 nm.

Tabla 1. Determinación de Proteínas.

Tubos frascos Gerber (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Sol. patrón de caseína o albúmina	0.25	0.5	0.75	1.0	-	-	-	-	-
Extracto sin germinar	-	-	-	-	1.0	-	-	-	-
Extracto germinado	-	-	-	-	-	1.0	-	-	-
Extracto sin germinar diluido 1:10	-	-	-	-	-	-	1.0	-	-



Extracto germinado diluido 1:10	-	-	-	-	-	-	-	1.0	-
Cloruro de sodio 1%	5.75	5.5	5.25	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	6.0
Reactivo de Biuret	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0

NOTA: Se recomienda centrifugar el tubo número 6 en caso de que se note turbia la solución.

b) Carbohidratos

1. Homogenizar en un mortero, por separado y en frío, 2 lotes de semillas (1 lote sin germinar y 1 lote germinado) con 10 mL de etanol al 75 % frío.
2. Filtrar los homogenizados, centrifugar a 15000 rpm durante 15 min. Si es necesario, filtrar los sobrenadantes para que queden claros.
3. Guardar los extractos en frío mientras se utilizan.
4. Preparar tubos con los reactivos que se indican en la Tabla 2. Del 1 al 5 es la curva patrón de carbohidratos, el 6 y 7 los extractos enzimáticos sin germinar y germinados diluidos 1:20, el 8 y 9 los extractos enzimáticos sin germinar y germinados diluidos 1:50 y el 10 el blanco.

Tabla 2. Determinación de Carbohidratos.

Tubo (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sol. Patrón de glucosa	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	-	-	-	-	-
Agua destilada	0.95	0.9	0.8	0.7	0.6	0.9	0.9	0.9	0.9	1.0
Extracto sin germinar 1:20	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-
Extracto germinado 1:20	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-
Extracto sin germinar 1:50	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-
Extracto germinado 1:50	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-



5. Agitar todos los tubos en el vortéx. Los siguientes pasos se realizan en la campana de extracción. Se adicionan a los tubos anterior los siguientes reactivos en orden secuencial, primero el fenol, agitando todos y posteriormente el ácido sulfúrico.

Tubo (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fenol 5% (mL)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Ac. sulfúrico	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8

7. Agitar los tubos en el vortéx con cuidado pues la reacción es exotérmica y la temperatura puede aumentar hasta 110° C.

8. Colocar los tubos en un baño de hielo y dejar hasta que se enfríen. Leer a 485 nm en el espectrofotómetro. El tubo 10 corresponde al blanco.

c) Lípidos

1. Lavar y secar perfectamente dos vasos de precipitado de 50 mL, pesarlos y rotularlos.

Vaso 1: Lípidos de semillas germinadas.

Vaso 2: Lípidos de semillas sin germinar.

2. Tomar los dos lotes de semillas restantes (uno sin germinar y otro germinado) y pasar cada grupo de semillas por separado a un mortero para macerarlas con 10 mL de solución de cloroformo-metanol fría. Evitar que las semillas germinadas lleven agua.

3. Separar el sobrenadante pasándolo a un tubo para centrifuga y rotúlelo.

4. Volver a homogenizar las semillas con 5 mL de cloroformo-metanol y pasar el sobrenadante a su respectivo tubo de centrifuga.

5. Centrifugar a 3,000 rpm durante 5 minutos.

6. Si se observa agua en el sobrenadante, agregar una pizca de sulfato de sodio anhidro.



7. Pasar los sobrenadantes a sus respectivos vasos y eliminar los solventes mediante calentamiento en baño maría y pesar los vasos. Realizar este procedimiento en campa de extracción, con ayuda de guantes y mascarilla de seguridad.
8. Por diferencia de pesos entre los vasos vacíos y los vasos con los lípidos después de eliminar los solventes, calcular la cantidad de lípidos en cada lote de semillas (si uso sulfato de sodio, descuenta su peso del peso final de su vaso).

RESULTADOS:

1. *Proteínas*. Colocar los resultados de las absorbancias obtenidas para la determinación de proteínas en la siguiente tabla:

Curva patrón de proteína (1 mg/mL)	
Concentración	Abs 540nm
0.25	
0.5	
0.75	
1	
Extracto sin germinar	
Extracto germinado	
Extracto sin germinar 1:10	
Extracto germinado 1:10	

Calcular la concentración de los extractos mediante interpolación en la curva y calcular con el peso inicial de las semillas el % p/p.

2. *Carbohidratos*. Colocar los resultados de las absorbancias obtenidas para la determinación de carbohidratos en la siguiente tabla:



Curva patrón de glucosa o sacarosa (100 µg/mL)	
Concentración	Abs 485 nm
5	
10	
20	
30	
40	
Extracto sin germinar 1:20	
Extracto germinado 1:20	
Extracto sin germinar 1:50	
Extracto germinado 1:50	

Calcular la concentración de los extractos mediante interpolación en la curva y calcule con el peso inicial de las semillas el % p/p.

3. *Lípidos*. Compare los resultados de la cantidad de lípidos con los obtenidos por sus compañeros para otros tipos de semillas y calcule con el peso inicial de las semillas el % p/p.

Lotes de semillas	Peso del vaso vacío	Peso del vaso con el extracto seco	Peso del extracto de lípidos	% del total del peso de las semillas
Germinadas				
Sin germinar				



Análisis global

Observe los resultados obtenidos y compare los lotes de semillas germinadas contra los obtenidos en los lotes de semillas sin germinar.

Lotes de semillas	Proteínas (% p/p)	Carbohidratos (% p/p)	Lípidos (% p/p)
Germinadas			
Sin germinar			

4. Utilizando los resultados obtenidos y los datos siguientes proporcionados en la Tabla 3, identifique el tipo de vías metabólicas activas durante la germinación de las semillas utilizadas en esta práctica.

Tabla 3. Vías metabólicas activas en semillas.

Tiempo de germinación (días)	0	4	
		- Oxalato	+ Oxalato
Enzima	µg de producto/min/mg de proteína		
α-cetogluto-deshidrogenasa	25	25	60
Malato sintasa	10	120	18
Malico deshidrogenasa	25	50	50
Trans GP*	35	60	150
PEPcinasa*	8	75	75

* Transaminasa glutámico pirúvica ** Fosfoenolpiruvato cinasa

DISCUSIÓN:

Explicar lo ocurrido en los lotes de semillas germinadas y sin germinar para cada tipo de metabolitos estudiados. Considere posibles fuentes de error y las diferencias esperadas por las diferentes especies estudiadas.



CUESTIONARIO:

1. ¿Es posible convertir ácidos grasos a otros lípidos sin intermediarios de acil-CoA?
2. ¿Cómo se regula el ciclo del glioxilato?
3. ¿Cómo los animales pueden obtener carbohidratos a partir de compuestos que no son carbohidratos?
4. Explica como una dieta baja en carbohidratos y grasas ayuda a reducir la grasa del cuerpo.



TEMA 7. METABOLISMO DE COMPUESTOS NITROGENADOS

PRÁCTICA No. 11

ABSORCIÓN INTESTINAL DE AMINOÁCIDOS

DURACIÓN: 3h

OBJETIVO:

Demostrar que los aminoácidos, atraviesan la pared del intestino delgado mediante un mecanismo activo de absorción, que implica un gasto de energía. Por la acción de ciertos inhibidores de la producción de energía es posible comprobar dicho gasto.

FUNDAMENTO:

El nitrógeno es el nutriente mineral más demandado por las plantas. Esto no resulta sorprendente si se tiene en cuenta que el nitrógeno es el constituyente más habitual de las plantas, después del carbono y el oxígeno. De esta manera, resulta importante saber acerca de sus transformaciones microbianas en el suelo. La mineralización, tal y como se define, es la descomposición de compuestos orgánicos de nitrógeno para liberar nitrógeno inorgánico. La amonificación es otro término utilizado para este proceso, puesto que el producto inmediato es el amoniaco (NH_3 , que rápidamente se convierte en NH_4^+ en las soluciones del suelo). La descomposición es un término que suele asociarse a la mineralización.

Si se excluyen los fertilizantes sintéticos, los seres vivos de la biosfera dependen en última instancia del nitrógeno presente en la atmósfera: el 78 % del volumen del material atmosférico es N_2 , de modo que la tierra está envuelta por unos 4000 millones de toneladas de nitrógeno. Cada año, diversas bacterias fijan de 30 a 60 millones de toneladas de N_2 atmosférico. Las plantas y los animales carecen de esta capacidad. (La fijación no biológica de N_2 atmosférico, resultante de reacciones químicas que ocurren durante las tormentas eléctricas, es mínima.)



Impidiendo un desastre ecológico, la cantidad de nitrógeno atmosférico se mantiene estable gracias a otros microorganismos que convierten nitratos (NO_3^-) en nitritos (NO_2^-) y nitritos en N_2 , el cual retorna a la atmósfera.

El metabolismo de los aminoácidos comprende dos vías importantes que son; la biosíntesis de aminoácidos en la cual el organismo sólo es capaz de sintetizar los aminoácidos llamados no esenciales a partir de intermediarios anfibólicos del ciclo de Krebs y de la degradación de la glucosa. Los aminoácidos esenciales deberán ser tomados en la dieta. La degradación de los aminoácidos comprende la conversión de los grupos amino de los aminoácidos excedentes en urea mediante la transaminación y desaminación oxidativa y la conversión de los esqueletos de carbono de los aminoácidos en intermediarios anfibólicos.

Catabolismo de nitrógeno de los aminoácidos

Uno de los productos del metabolismo del nitrógeno es el amoniaco, el cual es tóxico para el sistema nervioso central. El ácido úrico y sus sales son sumamente insolubles y precipitan en los tejidos y en los líquidos corporales cuando sus concentraciones son excedidas de lo normal, por lo que el organismo convierte su excedente de nitrógeno en urea, compuesto muy soluble y no tóxico.

Biosíntesis de la Urea

La biosíntesis de la urea se divide convencionalmente en cuatro etapas:

1) Transaminación. La transaminación es catalizada por las enzimas llamadas transaminasas, corresponde a la interconversión de un par de aminoácidos y un par de cetoácidos que generalmente son un alfa-amino y un alfa-cetoácido. La alanino-amino-transferasa (ALT), y la glutamato-amino-transferasa (AST), se encuentran presentes en la mayor parte de los tejidos de los mamíferos y catalizan la transferencia de grupos amino de casi todos los aminoácidos para formar alanina (a partir de piruvato) ó para formar glutamato (a partir de alfa-ceto-glutarato).

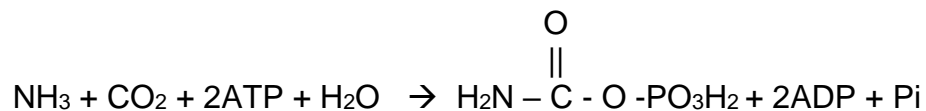
2) Desaminación Oxidativa. El L-glutamato es el único aminoácido de los tejidos que experimenta desaminación oxidativa; ésto se explica debido a que los grupos



amino de la mayoría de los aminoácidos son transferidos al alfa-cetoglutarato por transaminación. La conversión del alfa-cetoglutarato a L-glutamato está catalizada por la L-glutamato deshidrogenasa; en esta reacción se libera un nitrógeno como amoníaco.

3) Transporte de Amoníaco. Del amoníaco formado de los tejidos también una considerable cantidad es producida por las bacterias intestinales a partir de las proteínas de la dieta. Este amoníaco se absorbe en el intestino y pasa a la sangre de la vena porta, la cual característicamente contiene concentraciones mayores de amoníaco que la sangre de la circulación general. Normalmente el hígado elimina rápidamente el amoníaco de la sangre, evitando así su evaluación. El amoníaco es excretado primordialmente como urea, es inerte y suele abundar en los líquidos corporales que se eliminan con gran facilidad, es el principal componente nitrogenado de la orina. En el hígado la vía más importante es la formación de urea, aunque también libera amoníaco en forma de glutamato o glutamina, mientras que en el encéfalo el mecanismo principal para la eliminación de amoníaco es la formación de glutamina. El amoníaco puede ser excretado también como sales de amonio, particularmente en estados de acidosis metabólica, la mayor parte es excretado como urea.

4) Biosíntesis de la Urea. El amonio obtenido por la desaminación de los aminoácidos a través de la deshidrogenasa junto con el CO₂ y el ATP y en presencia de la carbamilfosfato sintetasa, se forma el carbamilfosfato, ver figura 6.1.



El carbamilfosfato es el alimentador por excelencia del ciclo de la Urea, además es un precursor importante de las bases pirimídicas sintetizadas en el organismo. a) Formación de Citrulina. El carbamilfosfato formado, transfiere su fracción carbamilo a la ornitina formando citrulina más fosfato inorgánico, esta reacción es llamada transcarbamilación, por lo tanto la citrulina es un carbamilornitina. b) Síntesis de

Arginosuccinato. Para la formación de la arginina interviene la enzima argininosuccinato sintetasa en esta síntesis se une el aspartato y la citrulina por medio del grupo amino del aspartato. La reacción requiere de ATP. c) Desdoblamiento de Arginosuccinato. El arginosuccinato se fragmenta en arginina y fumarato éste entra al ciclo de krebs. d) Desdoblamiento de la Arginina en Ornitina y Urea. La arginina es hidrolizada por la arginasa en ornitina y urea; la ornitina formada queda disponible para iniciar otro ciclo aceptando otro carbamilo fosfato (Figura 9).

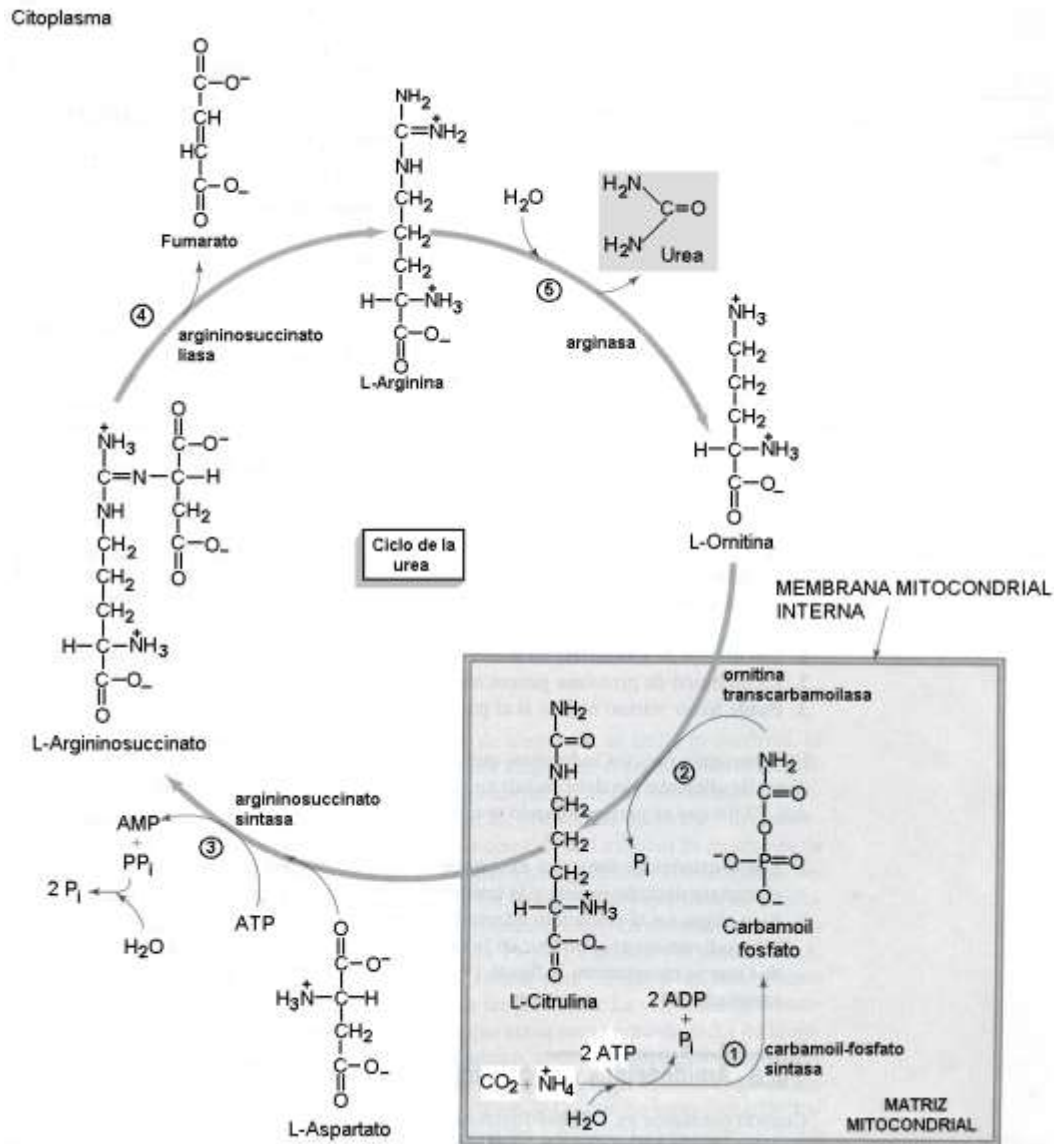


Figura 9. Biosíntesis de la Urea.

A partir de estudios de nutrición se ha podido evidenciar la conversión de los esqueletos de carbono de los aminoácidos comunes a intermediarios anfibólicos. En la Figura 10 se muestra un diagrama del destino de cada uno de ellos.

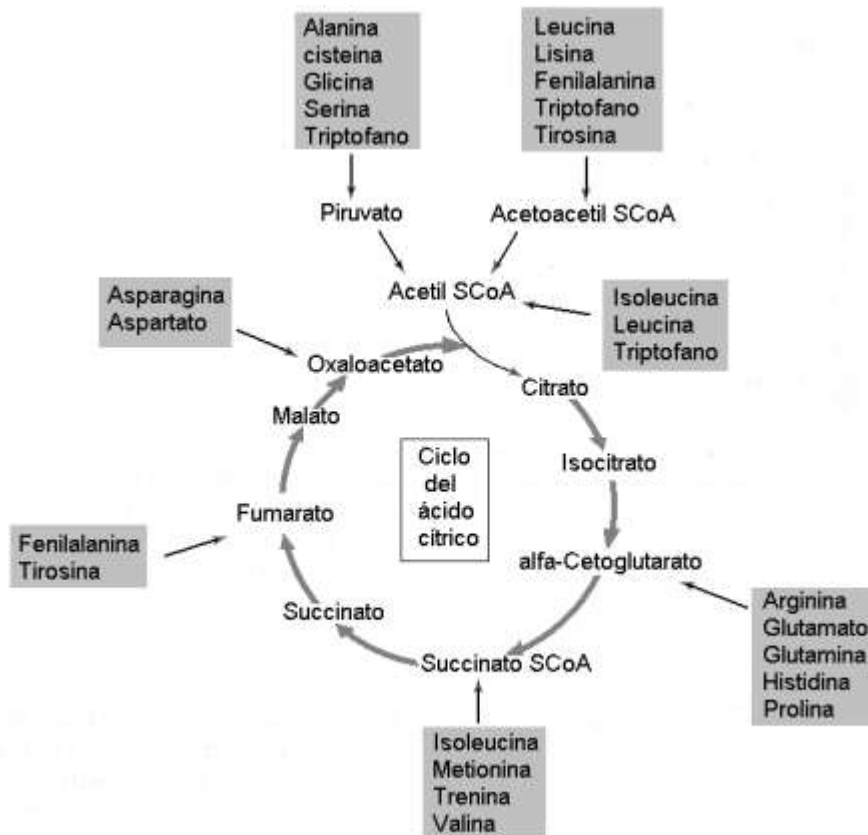


Figura 10. Destino de cada uno de los esqueletos carbonados en el catabolismo de los aminoácidos.

La absorción y transporte de los aminoácidos requiere la hidrólisis previa de las proteínas a lo largo del tracto gastrointestinal. Tras su ingestión, la proteína de la dieta es digerida y absorbida en el tracto gastrointestinal. Después de su desnaturalización por el ácido gástrico es hidrolizada en pequeños péptidos y aminoácidos por las proteasas gástricas y pancreáticas. Estos productos de la digestión son transportados a las células mucosales. En ellas se produce una nueva



hidrólisis mediada por peptidasas intracelulares. Algunos de los aminoácidos presentes en la célula son utilizados por los propios enterocitos (como fuente energética y en el recambio celular), otros sufren transformaciones metabólicas (transaminación de aminoácidos dicarboxílicos) antes de pasar a la sangre de forma que el perfil de aminoácidos que llega, por vía portal, al hígado no refleja exactamente el de aminoácidos absorbidos.

Los aminoácidos libres se absorben a través de la mucosa intestinal, por medio de transporte activo dependientes de sodio. Los diversos aminoácidos transportados compiten entre sí por la absorción y por la captación hacia los tejidos. Los dipéptidos y tripéptidos entran en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal, donde se hidrolizan hacia aminoácidos libres, que siguen hacia la vena porta hepática. Los péptidos relativamente grandes pueden absorberse intactos, mediante captación hacia las células epiteliales de la mucosa o al pasar entre las células epiteliales. La pérdida de esto ha sido un proceso evolutivo mediante el cual se ha prescindido de vías biosintéticas especializadas en la síntesis de determinados compuestos que pueden obtenerse de forma más económica a través de los alimentos, si se supone que la dieta tenga una composición adecuada. Muchos microorganismos y plantas conservan la capacidad de sintetizar todos los aminoácidos, y las limitaciones que en este sentido presentan otros organismos vivos muestran algunas diferencias entre las diferentes especies.

MATERIAL BIOLÓGICO:

1 rata Wistar en ayuno previo de 36 h

MATERIAL Y EQUIPO:

3 Matraces o vasos de precipitado de 250 mL

9 Tubos de ensaye grandes o frascos gerber

Baño de agua a 37 °C

Baño de hielo

Jeringa de 1 mL con jeringa de 20-22 despuntada



Tijeras

Hilo

Baño de agua hirviendo

2 vasos de precipitado de 150 mL

Varilla de vidrio o metal

Palitos largos de madera

Bomba para pecera con manguera

Recipientes para residuos químicos y biológicos

Bomba para pecera con tubería plástica o tubo de venoclisis para oxigenación manual

Jeringas de insulina

REACTIVOS:

Solución Krebs- Ringer bicarbonato (K-R)

Solución de L-treonina de 12 μ moles /mL

2,4-dinitrofenol 0.001 M ó Ác. Sulfanílico 10 g/L en HCl 1 M

Ninhidrina al 1 % en etanol

Mezcla de etanol-agua 1:1

Pentobarbital sódico

PROCEDIMIENTO:

1. Antes de iniciar la práctica, construir un sistema de aireación y probarlo, ya sea con la bomba de pecera o manual. A partir de este momento, todo se trabajará con guantes para evitar contaminar las muestras con proteínas o aminoácidos provenientes de la piel y porque algunos reactivos son tóxicos. Todas las manipulaciones de los tejidos deben hacerse rápidamente, con las manos limpias y dedos constantemente humedecidos.
2. Preparar los matraces de incubación con las soluciones, de la siguiente manera:
 - Matraz o Vaso I: 150 mL de sol. K-R
 - Matraz o Vaso II: 150 mL de sol. K-R y 20 mL de solución de L-leucina



- Matraz o Vaso III: 70 mL desol. K-R, 10 mL de solución de L-leucina y 5 mL de solución 2,4-dinitrofenol.
3. Colocar un vaso de precipitado con 150 mL de solución K-R, sobre un baño de hielo.
 4. Eutanizar la rata con pentobarbital sódico, extraer el intestino delgado descartando los primeros 10 cm más cercanos al estómago.
 5. Medir y cortar 8 segmentos iguales y colocarlos en solución de K-R fría.
 6. En este momento, colocar los matraces en el baño a 37 °C para equilibrar la temperatura de la solución.
 7. Voltear al revés los segmentos de intestino con ayuda de una varilla de vidrio. Tener en esta manipulación cuidado de no tocar la mucosa del intestino (que ahora queda al exterior). Se van colocando las asas en otro vaso con solución K-R fría.
 8. Cerrar un extremo de los segmentos ligándolos con hilaza y colocar nuevamente en solución K-R fría.
 9. Depositar en cada una de las asas 0.5 mL de la solución K-R de la forma siguiente: sobre una caja Petri limpia y húmeda con solución K-R, extender el segmento de intestino ya cerrado por un lado y antes de cerrar por el otro extremo, inyectar 0.5 mL de la solución con la jeringa, al momento que se irá cerrando con el hilo para evitar pérdidas de volumen.
 10. Colocar las asas todas simultáneamente en el matraz I. una vez llenas todas las asas distribuidas en los 3 matraces de la siguiente manera:
 - a) colocar 4 asas en el matraz II: conectar el sistema de aireación y empezar a contar el tiempo.
 - b) Colocar 2 asas en el matraz III: conectar el sistema de aireación y empezar a contar el tiempo.
 - c) Colocar 2 asas en el matraz I: conectar el sistema de aireación.
 - d) Colocar 2 asas en el matraz 0: sin sistema de aireación.
 11. Asegurarse que durante todo el experimento el sistema de aireación sea uniforme y suave.



12. Al terminar de colocar las asas sacar las dos que quedaron en el matraz I para tomar las muestras de tiempo cero. Lavarlas con agua destilada y secarlas ligeramente.
13. Tomar las muestras del matraz II a los 10, 20, 30 y 40 min (un asa para cada tiempo). Tomar las muestras del matraz III a los 20 y 40 min.
14. Para recolectar el líquido del asa tomarla, limpiarla por fuera con agua destilada, secarla y colocar uno de los extremos en la boca de un tubo y vaciarlo. Desechar entonces el asa.
15. De cada tubo tomar 0.1 mL y pasarlo a un vaso o frasco gerber, donde se adicionan los reactivos que se describen en la siguiente Tabla para desarrollar el color (lila a morado) en presencia de aminoácidos.

Tabla 1. Cuantificación de la absorción de aminoácidos.

Reactivo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	M/T	M/T	M/T	M/T	M/T	M/T	M/T	M/T	M/T
	0/O	I/O	I/O	II/10	II/20	II/30	II/40	III/20	III/40
Problema	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
Etanol-agua 1:1	0.9 mL	0.9 mL	0.9 mL	0.9 mL	0.9 mL	0.9 mL	0.9 mL	0.9 mL	0.9 mL
Nihidrina	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
Agitar tubos y calentar en baño de agua a 90 °C durante 15 min. Taparlos, sacar y enfriar con agua fría.									
Etanol-agua 1:1	8.5 mL	8.5 mL	8.5 mL	8.5 mL	8.5 mL	8.5 mL	8.5 mL	8.5 mL	8.5 mL
Mezclar perfectamente y leer a 535 nm, usado como blanco el tubo marcado con 0 de la curva estándar.									

M/T= Matraz /tiempo

RESULTADOS:

Coloque los resultados obtenidos de absorbancia en la siguiente tabla.

Tiempo	0	10'	20'	30'	40'
--------	---	-----	-----	-----	-----



Condición					
Matraz 0* (K.R) sin aire					
Matraz I (K.R) aire					
Matraz II (K.R) + aa+ aire					
Matraz III (K.R) + aa+ 2,4-DNF+ aire					

DISCUSIÓN:

Explicar lo ocurrido en cada matraz o vaso, comparando la absorción de aminoácido y el efecto del inhibidor. Considere posibles fuentes de error y las diferencias esperadas por influencia del tiempo y el nivel de aireación.

CUESTIONARIO:

1. Describir brevemente la digestión y absorción de proteínas.
2. En el tratamiento de la diabetes, se administra insulina por inyección en lugar de oralmente. Explique.
3. Diferencie los siguientes términos, en cada caso, proporcione un ejemplo apropiado:
Aminoácido esencial y no esencial.
Aminoácido glucogénico y aminoácido cetogénico.
4. ¿Cuáles son los posibles destinos metabólicos de los aminoácidos?
5. Escriba ecuaciones para la formación de los siguientes compuestos a partir de un aminoácido:
 - a) Ácido pirúvico
 - b) Histidina
 - c) Ácido α -cetoglutárico
 - d) Cadaverina
 - e) Ácido oxalacético
 - f) Etanolamina

TEMA 7. PROYECTO INTEGRADOR

PRÁCTICA No. 12. DETERMINACIÓN DE METABOLITOS Y/O DEMOSTRACIÓN DE PROCESOS METABÓLICOS

DURACIÓN: 3h

OBJETIVO:

Con la asesoría directa del responsable del laboratorio de bioquímica metabólica, el alumno diseñará una propuesta de práctica de laboratorio.

PROCEDIMIENTO:

Tomando como base las técnicas aprendidas a lo largo del curso para valorar el metabolismo de las Biomoléculas, los estudiantes propondrán una práctica de laboratorio para cuantificar alguna molécula del metabolismo intermedio, la cual debe poder desarrollarse en una sesión de 3h y con los reactivos, materiales y equipos disponibles en la Facultad, además de la normatividad vigente en cuanto al manejo de residuos químicos y biológicos. El proyecto podrá exponerse al final del curso en un foro abierto al público en modalidad cartel.

RESULTADOS:

Los proyectos se exponen el cartel en un foro abierto al público. Durante la sesión, los estudiantes y el facilitador a cargo seguirán los lineamientos de trabajo de laboratorio establecidos en el Reglamento de la Facultad de QFB (Ver ANEXOS).



ANEXOS

A) Lineamientos sobre el trabajo en el laboratorio y manejo de animales de laboratorio Facultad de QFB.

REGLAMENTO INTERNO DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA. LEGISLACIÓN UNIVERSITARIA. H. CONSEJO UNIVERSITARIO GENERAL, 2018.

Capítulo II

De los laboratorios

Artículo 115. Los laboratorios son los espacios en donde se realizan prácticas para desarrollar habilidades técnico-científicas que integren los conocimientos teóricos adquiridos en el aula. El uso de las instalaciones y de los servicios prestados por los laboratorios está reservado exclusivamente para los usuarios.

Artículo 116. Son usuarios de los laboratorios, de la Facultad de Química Farmacéutica Biológica los siguientes:

- I. El personal académico;
- II. Los alumnos con inscripción vigente, de licenciatura o posgrado;
- III. El personal académico y alumnos de otras instituciones de educación superior con las que se haya acordado un convenio de colaboración; y
- IV. Las personas ajenas a la Facultad que requieran el uso de los laboratorios deberán solicitar autorización por escrito al Director de la Facultad.

Artículo 117. Los usuarios del laboratorio deberán observar lo siguiente:

- I. Utilizar bata blanca abotonada de manga larga;
- II. Utilizar el material de seguridad personal necesario como mascarilla, lentes de seguridad, guantes, cubre bocas, gorra, entre otros;
- III. En caso de que se realicen pruebas o experimentos de larga duración y cuando sea necesario dejar encendido el equipo e instrumentos como estufas u hornos durante largos periodos de tiempo, el usuario deberá comunicarlo al Técnico Académico o personal académico de tiempo completo con carga académica



diversificada y asignada al laboratorio y colocar las etiquetas correspondientes a los equipos en uso;

IV. Hacerse responsable del buen uso y manejo de los instrumentos y equipos del laboratorio y disponiendo para tal fin de los manuales correspondientes;

V. Notificar al personal del laboratorio cualquier desperfecto observado en los equipos e instrumentos que se le otorgaron;

VI. Devolver el equipo e instrumentos con todos los accesorios que recibió al solicitarlos;

VII. Al término de la práctica, deben dejar limpias y libres de desechos las mesas de trabajo;

VIII. Queda estrictamente prohibido arrojar desechos sólidos a coladeras de las mesas de trabajo y áreas destinadas al lavado de material dentro del laboratorio;

IX. Se prohíbe fumar y jugar en los laboratorios;

X. Las actividades como correr e ingerir alimentos o bebidas serán permitidas única y exclusivamente si lo justifica la práctica a realizar;

XI. Para el préstamo de equipo, instrumentos o material, el usuario deberá llenar el vale correspondiente y dejar al responsable del laboratorio, su credencial vigente que lo acredita como miembro de la Facultad o una identificación oficial vigente con fotografía; para el caso de personas ajenas a la Facultad, además de los requisitos anteriores deberá tener el visto bueno del Director de la Facultad;

XII. Reparar o reponer los materiales y equipos de laboratorio concedidos en préstamo que hayan sido dañados o extraviados, de acuerdo con las características que indique el técnico académico o personal de tiempo completo con carga académica diversificada y asignada al laboratorio, quedando retenida la credencial del usuario involucrado hasta que se cubra el adeudo, observando lo siguiente:

a) El adeudo deberá cubrirse a más tardar en la última semana del periodo de clases. En tanto no se cubra este adeudo no se podrá disponer de otros préstamos;

y

b) En caso de incumplimiento de la reposición del bien dañado, el adeudo correspondiente se turnará al encargado del almacén general de la Unidad de



Ingeniería y Ciencias Químicas, quien informará al Director de la Facultad para la aplicación de la sanción que corresponda en términos de la legislación universitaria.

Artículo 118. El personal académico responsable de la experiencia educativa debe cumplir con lo siguiente:

- I. Entregar al técnico académico del laboratorio o personal académico de tiempo completo con carga académica diversificada y asignada al laboratorio el Programa de actividades de las prácticas a realizar; e
- II. Informar los reactivos, materiales, equipos e instrumentos que requerirá por sección, promedio de 30 alumnos, a fin de que éstos sean adquiridos o preparados oportunamente; esta información se entregará en un formato establecido que proporcionará el técnico académico o personal académico de tiempo completo con anticipación de por lo menos 5 días hábiles previos al desarrollo de la práctica.

Artículo 119. Además de las obligaciones establecidas en el Estatuto del Personal Académico el técnico académico en turno o personal académico de tiempo completo con carga académica diversificada y asignada al laboratorio, es el responsable del buen funcionamiento del mismo, así como del uso y conservación de los equipos, materiales y espacios físicos que le hayan sido asignados. Sus funciones serán las siguientes:

- I. Gestionar ante la Coordinación de Laboratorios, la adquisición de los materiales, consumibles y equipos necesarios para la realización de las prácticas programadas en el semestre inmediato, de acuerdo con los recursos disponibles;
- II. Garantizar que el académico cuente con el equipo y material necesario para realizar su práctica y deberá estar pendiente del seguimiento de la misma, fungiendo como apoyo en su realización, sobre todo en lo relacionado al manejo de los equipos. En caso de que el personal de apoyo falte, el Técnico Académico deberá comprometerse a suplir las funciones que éste realice con la finalidad de no atrasar las prácticas programadas;



III. Tener el material y reactivos listos antes de iniciada la sesión y de no contar con los insumos requeridos, deberá notificar al académico en la sesión anterior a fin de que éste pueda, en caso necesario, cambiar la práctica a realizar; y

IV. Organizar y supervisar las actividades diarias que se tienen planeadas, como es la preparación de soluciones, reactivos, equipos e instrumentos a emplear, inóculo, limpieza de las áreas de trabajo, retiro de residuos químicos peligrosos o residuos peligrosos biológico infecciosos, entre otros.

Artículo 120. El personal académico titular de la experiencia educativa es responsable en los laboratorios de lo siguiente:

I. Respetar la hora de entrada y salida, con la finalidad de optimizar los tiempos que se requieren para dar continuidad a las prácticas de otras experiencias educativas;

II. Capacitar adecuadamente a los alumnos para el uso y manejo de reactivos, equipos y materiales de laboratorio que se vayan a requerir, pero también serán apoyados por el técnico académico en cuanto al uso de los mismos;

III. Verificar al menos con 5 días hábiles de anticipación con el técnico académico o personal académico con carga académica diversificada y asignada al laboratorio, que estén disponibles los requerimientos para la realización de la práctica, siempre basados en la “Guía de Prácticas” de la experiencia educativa aprobado por la academia del programa educativo;

IV. Supervisar las prácticas de laboratorio y demás actividades que deban realizar los alumnos;

V. Estar presente en las prácticas de la experiencia educativa o en su ausencia, el Técnico Académico o personal académico de tiempo completo con carga académica diversificada y asignada al laboratorio en caso eventual de que el académico responsable de la práctica deba atender alguna comisión académica avalada por la Dirección de la Facultad, en cuyo caso deberá dejar con antelación las indicaciones necesarias para realizar la sesión experimental;

VI. Notificar en caso de que los alumnos tengan que realizar preparaciones u observaciones para iniciar, continuar o concluir una práctica, en horario diferente al



establecido para la experiencia educativa, al técnico académico o personal académico con carga académica diversificada y asignada al laboratorio con al menos dos días de anticipación, y respetando los horarios de trabajo y actividades ya programadas; y

VII. Solicitar con una semana de anticipación por escrito al técnico académico del laboratorio correspondiente o personal académico con carga académica diversificada y asignada al laboratorio, en el formato que para tal efecto éste le proporcione al académico responsable de la experiencia educativa, la aprobación de la realización de prácticas de laboratorio extraclase, esta solicitud estará supeditada a la disponibilidad de horarios y de recursos humanos y materiales.

Artículo 121. Los usuarios o encargados de los laboratorios que incurran en una falta establecida en este Reglamento se harán acreedores a la sanción correspondiente de acuerdo con lo que establece la legislación universitaria.

Artículo 122. Para el manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI) y químicos, la Facultad cuenta con un programa institucional a cargo de la coordinación de laboratorios y sustentado en las Normas Oficiales Mexicanas NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y de la NOM-052-SEMARNAT-2005.

Artículo 123. El responsable de llevar a cabo el programa para cada tipo de residuos es el técnico académico designado por el Director de la Facultad.

Artículo 124. Para el manejo de los residuos químicos peligrosos se observará lo siguiente:

I. Se depositarán en recipientes identificados por grupos funcionales, solventes, ácidos orgánicos, compuestos halogenados y no halogenados, entre otros, los cuales serán proporcionados por el Técnico Académico, el personal académico de



tiempo completo con carga académica diversificada y asignada al laboratorio o el preparador, desde el inicio del semestre; y

II. Los residuos químicos deberán ser tratados por los alumnos y los académicos de la experiencia educativa de acuerdo con la normatividad en materia.

Capítulo VII

Del área de mantenimiento y resguardo de animales

Artículo 141. El área de mantenimiento y resguardo de animales es una unidad de servicio que tiene como funciones alojar y proveer animales de laboratorio para ser utilizados en prácticas de enseñanza, procedimientos experimentales, capacitación de personal y apoyo al desarrollo de proyectos de investigación por la comunidad académica de la Facultad de Química Farmacéutica Biológica.

Artículo 142. El área de mantenimiento y resguardo de animales albergará conejos, ratas y ratones para uso exclusivo en enseñanza, permitiendo a los alumnos adquirir conocimientos, habilidades y destrezas requeridas en el programa educativo de Químico Farmacéutico Biólogo y podrá albergar otras especies autorizadas por la normativa de conformidad con los programas educativos.

Artículo 143. El responsable del área de mantenimiento y resguardo de animales por cada turno será designado por el Director de la Facultad, y sus funciones son:

I. Verificar que los animales albergados en esta área cuenten con agua y alimento suficiente;

II. Verificar que las cajas y jaulas de estancia de los animales, se mantengan limpias y con suficiente material de cama, aserrín o viruta;

III. Establecer y mantener pie de cría para el abasto de animales utilizados en docencia e investigación;

IV. Verificar el cumplimiento del rol de limpieza y mantenimiento del área; y

V. Para cumplir eficientemente con estas funciones, se contará con el apoyo del personal técnico y manual que está capacitado para el manejo de animales.



Artículo 144. Son considerados usuarios del área de mantenimiento y resguardo de animales:

- I. Personal académico que impartan o reciban experiencias educativas en las que se empleen animales de experimentación;
- II. Alumnos adscritos a la Facultad de Química Farmacéutica Biológica; y
- III. Los alumnos que realicen proyectos de investigación en la Facultad o bien alumnos de posgrado afín, que realicen sus experimentos bajo la dirección de un académico adscrito a la Facultad de Química Farmacéutica Biológica.

Artículo 145. Los usuarios, deberán observar lo siguiente:

- I. Solicitar oportunamente el material biológico y cumplir con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, el Reglamento de la Ley de Protección a los Animales para el Estado de Veracruz de Ignacio de la Llave 2012 y el Reglamento de Bienestar y Protección a los Animales para el Municipio de Xalapa, Veracruz 2013;
- II. No introducir materiales ajenos al área; y
- III. No fumar, ni introducir e ingerir alimentos o bebidas.

Artículo 146. Los servicios que se ofrecen en el área de mantenimiento y resguardo de animales serán gratuitos.

Artículo 147. El uso de los servicios del Área de Mantenimiento y Resguardo de Animales es de lunes a viernes y el horario de servicio estará en función de las actividades académicas programadas. Durante los fines de semana, periodos de vacaciones o días de descanso obligatorio, el ingreso está sujeto a aprobación, previa solicitud al responsable y a la Dirección de la Facultad, indicando el nombre de la o las personas que ingresan y el horario en que lo hacen.

En caso de ser autorizado se deben sujetar a las disposiciones del responsable.



Artículo 148. Para ser usuario autorizado del área de mantenimiento y resguardo de animales se requiere:

- I. Identificarse mediante credencial vigente o talón de cheque;
- II. Solicitar los servicios al encargado o responsable;
- III. Realizar un registro de datos completos; y
- IV. Firmar una carta compromiso.

Artículo 149. Los usuarios del área de mantenimiento y resguardo de animales deberán observar lo siguiente:

- I. Conocer y cumplir con las disposiciones del presente Reglamento;
- II. Registrarse en los formatos especiales antes de ingresar a estas instalaciones;
- III. Usar bata blanca de manga larga, guantes y cubre bocas, así como registrarse en la bitácora ubicada en la entrada;
- IV. Introducir los materiales y eliminar los desechos por las vías indicadas;
- V. Actualizar de manera semestral su registro como usuario, presentando su credencial vigente o su arancel de inscripción, en el caso del personal académico, talón de cheque;
- VI. Rotular sus materiales y animales con los cuales realizan experimentación. En la etiqueta de rotulación indicar la metodología a seguir, número de animales, sexo, nombre del usuario y vigencia de almacenamiento. Cualquier objeto o sustancia que no esté rotulado debe ser desechado;
- VII. Informar específicamente las condiciones de mantenimiento de animales de acuerdo con lo requerido para la experimentación; y
- VIII. Ante la duda respecto del funcionamiento o los procedimientos establecidos dentro del área de mantenimiento y resguardo de animales, el usuario debe preguntar al personal encargado o responsable.

Artículo 150. Sólo se permite el acceso al Área de Mantenimiento y Resguardo de Animales a los usuarios autorizados, los cuales pueden ingresar con un máximo de dos personas simultáneamente. Si el usuario requiere asistir en días no laborables,



es necesario informar por escrito al encargado del Área de Mantenimiento y Resguardo de Animales.

Artículo 151. Queda prohibido en el interior del área de mantenimiento y resguardo de animales:

- I. Fumar;
- II. Introducir y consumir alimentos o bebidas;
- III. Masticar chicle;
- IV. Aplicarse cosméticos y perfumes;
- V. Hablar en voz alta, gritar, reírse a carcajadas, chiflar o hacer ruidos estruendosos;
- y
- VI. Utilizar equipos que produzcan ruidos o timbres que perturben a los animales tales como radios, teléfonos celulares y radio-localizadores.

Artículo 152. Se prohíbe entrar a áreas no autorizadas o restringidas o visitar el área de mantenimiento y resguardo de animales con niños y mascotas, introducir animales silvestres o de otras instituciones sin previa autorización del encargado de esta área.

Artículo 153. Los pasillos, área de animales y estanterías, deben permanecer limpios y secos. Estas actividades estarán a cargo del personal manual.

Artículo 154. En caso de que un usuario requiera extraer animales de las instalaciones del área de mantenimiento y resguardo de animales, lo hará a través de una solicitud por escrito al académico designado por la Dirección.

Artículo 155. Es responsabilidad del personal que labora en las instalaciones del área de mantenimiento y resguardo de animales asegurarse de que las puertas de los diferentes accesos se mantengan bien cerradas.



Artículo 156. Es responsabilidad del académico, al inicio del periodo escolar, realizar por escrito la solicitud de los animales de experimentación a utilizar en sus prácticas de laboratorio. Las solicitudes son atendidas en estricto orden de recepción. Todas las solicitudes están sujetas a la disponibilidad de los animales. Si durante el primer mes del inicio del periodo escolar semestral los académicos no hacen su requisición de animales de laboratorio no se les proporcionara posteriormente.

Artículo 157. Las solicitudes de animales realizadas por los alumnos deben hacerse con un tiempo mínimo de 48 horas antes de la práctica y considerando la solicitud previa del académico. Estas solicitudes deben estar firmadas por el solicitante y por el encargado del área de mantenimiento y resguardo de animales.

Artículo 158. Después de la práctica, los animales deben ser regresados al área de mantenimiento y resguardo de animales y entregados a la persona responsable.

Artículo 159. Cuando algún animal no se haya recuperado del procedimiento al que fue sometido, es obligación de los alumnos vigilarlo en las instalaciones del área de mantenimiento y resguardo de animales y tomar las decisiones necesarias para procurar el bienestar del espécimen. En caso de muerte del animal, se notificará al responsable del área de mantenimiento y resguardo de animales, para su manejo como Residuo Peligroso Biológico Infeccioso (RPBI).

Artículo 160. Es obligación de los alumnos avisar con la debida anticipación al personal del área de mantenimiento y resguardo de animales acerca de los requerimientos especiales de sus animales, como el ayuno, entre otros.

Artículo 161. En caso de no recoger los animales solicitados dentro de los tres días posteriores a la fecha de entrega, serán asignados para otros experimentos.



Artículo 162. Durante los días inhábiles el personal del Área de Mantenimiento y Resguardo de Animales está eximido de proporcionar alimento, agua y cambio de cama a los animales, por lo cual los usuarios deben organizarse en grupos para llevar a cabo estas actividades, previo conocimiento del Director y el Administrador de la Facultad.

Artículo 163. El personal del área de mantenimiento y resguardo de animales no es responsable de los animales que mueren durante la estancia, sólo se encarga de vigilar el bienestar, reportando a los alumnos la existencia de animales enfermos o en mal estado por los procedimientos realizados.

Artículo 164. Se consideran causas de suspensión del servicio del área de mantenimiento y resguardo de animales, las siguientes:

- I. Sustraer animales, mobiliario o equipo del área sin autorización;
- II. Hacer uso indebido y deteriorar en forma deliberada, el mobiliario y equipo, así como causar daños al inmueble;
- III. Incurrir en actos de violencia o malos tratos en contra de personal o de los animales; e
- IV. Incumplir reiteradamente los procedimientos operativos establecidos para el ingreso, egreso, tráfico y uso de las instalaciones y el manejo de los animales en experimentación.

Artículo 165. El incumplimiento del artículo anterior podría configurar la existencia de una falta, la cual puede ser sancionada de conformidad a la legislación universitaria.

Artículo 166. Debido a las condiciones de espacio, sólo se pueden alojar veinticuatro conejos y noventa y seis ratas, por lo cual los académicos deben respetar esta disposición para no generar conflictos internos.



B) Manejo de RPBI.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-087-ECOL-SSA1-2002, PROTECCION AMBIENTAL-SALUD AMBIENTAL-RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECTIOSOS- CLASIFICACION Y ESPECIFICACIONES DE MANEJO. Fecha de publicación: 17 de febrero de 2003.

0. Introducción

La Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, define como residuos peligrosos a todos aquellos residuos que por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables y biológico-infecciosas, que representan un peligro para el equilibrio ecológico o el ambiente; mismos que serán manejados en términos de la propia ley, su Reglamento y normas oficiales mexicanas que expida la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales previa opinión de diversas dependencias que tengan alguna injerencia en la materia, correspondiéndole a la citada SEMARNAT su regulación y control.

Con fecha de 7 de noviembre de 1995, se publicó en el Diario Oficial de la Federación la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten servicios de atención médica.

Los establecimientos de atención médica son regulados por la Secretaría de Salud por lo que en la revisión de la norma mencionada, se incluye a los representantes del sector.

Esta revisión consideró las características de los diferentes tipos de unidades médicas que prestan atención a poblaciones rurales.

Los residuos peligrosos biológico-infecciosos se han venido manejando en términos de las regulaciones ambientales antes señaladas, sin embargo fue necesario actualizar la NOM-087-ECOL-1995, tomándose en consideración las experiencias y competencias de los sectores involucrados en su cumplimiento, con el fin de que sus disposiciones sean operativas y adecuadas para proteger el medio ambiente y la salud de la población en general.

1. Objetivo y campo de aplicación

La presente Norma Oficial Mexicana establece la clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos así como las especificaciones para su manejo.



Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria para los establecimientos que generen residuos peligrosos biológico-infecciosos y los prestadores de servicios a terceros que tengan relación directa con los mismos.

2. Referencias

Norma Oficial Mexicana NOM-052-ECOL-1993, Que establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de octubre de 1993. Esta Norma contiene la nomenclatura en términos del Acuerdo Secretarial publicado el 29 de noviembre de 1994, por el cual se actualiza la nomenclatura de 58 normas oficiales mexicanas.

3. Definiciones y terminología

Para efectos de esta Norma Oficial Mexicana, se consideran las definiciones contenidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, su Reglamento en materia de Residuos Peligrosos, la Ley General de Salud, sus Reglamentos, y las siguientes:

3.1 Agente biológico-infeccioso. Cualquier microorganismo capaz de producir enfermedades cuando está presente en concentraciones suficientes (inóculo), en un ambiente propicio (supervivencia), en un hospedero susceptible y en presencia de una vía de entrada.

3.2 Agente enteropatógeno. Microorganismo que bajo ciertas circunstancias puede producir enfermedad en el ser humano a nivel del sistema digestivo, se transmite vía oral-fecal.

3.3 Bioterio. Es un área o departamento especializado en la reproducción, mantenimiento y control de diversas especies de animales de laboratorio en óptimas condiciones, los cuales son utilizados para la experimentación, investigación científica y desarrollo tecnológico.

3.4 Carga útil. Es el resultado de la sustracción del peso vehicular al peso bruto vehicular.

3.5 Centro de acopio. Instalación de servicio que tiene por objeto resguardar temporalmente y bajo ciertas condiciones a los residuos peligrosos biológico-infecciosos para su envío a instalaciones autorizadas para su tratamiento o disposición final.

3.6 Cepa. Cultivo de microorganismos procedente de un aislamiento.



3.7 Establecimientos generadores. Son los lugares públicos, sociales o privados, fijos o móviles cualquiera que sea su denominación, que estén relacionados con servicios de salud y que presten servicios de atención médica ya sea ambulatoria o para internamiento de seres humanos y utilización de animales de bioterio, de acuerdo con la tabla 1 del presente instrumento.

3.8 Irreconocible. Pérdida de las características físicas y biológico-infecciosas del objeto para no ser reutilizado.

3.9 Manejo. Conjunto de operaciones que incluyen la identificación, separación, envasado, almacenamiento, acopio, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos.

3.10 Muestra biológica. Parte anatómica o fracción de órganos o tejido, excreciones o secreciones obtenidas de un ser humano o animal vivo o muerto para su análisis.

3.11 Órgano. Entidad morfológica compuesta por la agrupación de tejidos diferentes que concurren al desempeño de un trabajo fisiológico.

3.12 Prestador de servicios. Empresa autorizada para realizar una o varias de las siguientes actividades: recolección, transporte, acopio, tratamiento y disposición final de residuos peligrosos biológico-infecciosos.

3.13 Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI). Son aquellos materiales generados durante los servicios de atención médica que contengan agentes biológico-infecciosos según son definidos en esta Norma, y que puedan causar efectos nocivos a la salud y al ambiente.

3.14 Sangre. El tejido hemático con todos sus elementos.

3.15 SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

3.16 SSA. Secretaría de Salud.

3.17 Separación. Segregación de las sustancias, materiales y residuos peligrosos de iguales características cuando presentan un riesgo.

3.18 Tejido. Entidad morfológica compuesta por la agrupación de células de la misma naturaleza, ordenadas con regularidad y que desempeñan una misma función.

3.19 Tratamiento. El método físico o químico que elimina las características infecciosas y hace irreconocibles a los residuos peligrosos biológico-infecciosos.



4. Clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos

Para efectos de esta Norma Oficial Mexicana se consideran residuos peligrosos biológico-infecciosos los siguientes:

4.1 La sangre

4.1.1 La sangre y los componentes de ésta, sólo en su forma líquida, así como los derivados no comerciales, incluyendo las células progenitoras, hematopoyéticas y las fracciones celulares o acelulares de la sangre resultante (hemoderivados).

4.2 Los cultivos y cepas de agentes biológico-infecciosos.

4.2.1 Los cultivos generados en los procedimientos de diagnóstico e investigación, así como los generados en la producción y control de agentes biológico-infecciosos.

4.2.2 Utensilios desechables usados para contener, transferir, inocular y mezclar cultivos de agentes biológico-infecciosos.

4.3 Los patológicos.

4.3.1 Los tejidos, órganos y partes que se extirpan o remueven durante las necropsias, la cirugía o algún otro tipo de intervención quirúrgica, que no se encuentren en formol.

4.3.2 Las muestras biológicas para análisis químico, microbiológico, citológico e histológico, excluyendo orina y excremento.

4.3.3 Los cadáveres y partes de animales que fueron inoculados con agentes enteropatógenos en centros de investigación y bioterios.

4.4 Los residuos no anatómicos. Son residuos no anatómicos los siguientes:

4.4.1 Los recipientes desechables que contengan sangre líquida.

4.4.2 Los materiales de curación, empapados, saturados, o goteando sangre o cualquiera de los siguientes fluidos corporales: líquido sinovial, líquido pericárdico, líquido pleural, líquido Céfaló-Raquídeo o líquido peritoneal.

4.4.3 Los materiales desechables que contengan esputo, secreciones pulmonares y cualquier material usado para contener éstos, de pacientes con sospecha o diagnóstico de tuberculosis o de otra enfermedad infecciosa según sea determinado por la SSA mediante memorándum interno o el Boletín Epidemiológico.



4.4.4 Los materiales desechables que estén empapados, saturados o goteando sangre, o secreciones de pacientes con sospecha o diagnóstico de fiebres hemorrágicas, así como otras enfermedades infecciosas emergentes según sea determinado por la SSA mediante memorándum interno o el Boletín Epidemiológico.

4.4.5 Materiales absorbentes utilizados en las jaulas de animales que hayan sido expuestos a agentes enteropatógenos.

4.5 Los objetos punzocortantes

4.5.1 Los que han estado en contacto con humanos o animales o sus muestras biológicas durante el diagnóstico y tratamiento, únicamente: tubos capilares, navajas, lancetas, agujas de jeringas desechables, agujas hipodérmicas, de sutura, de acupuntura y para tatuaje, bisturís y estiletes de catéter, excepto todo material de vidrio roto utilizado en el laboratorio, el cual deberá desinfectar o esterilizar antes de ser dispuesto como residuo municipal.

5. Clasificación de los establecimientos generadores de residuos peligrosos biológico-infecciosos

5.1 Para efectos de esta Norma Oficial Mexicana, los establecimientos generadores se clasifican como se establece en la tabla 1.

5.2 Los establecimientos generadores independientes del Nivel I que se encuentren ubicados en un mismo inmueble, podrán contratar los servicios de un prestador de servicios común, quien será el responsable del manejo de los residuos peligrosos biológico-infecciosos.

6. Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos

6.1 Los generadores y prestadores de servicios, además de cumplir con las disposiciones legales aplicables, deben:

6.1.1 Cumplir con las disposiciones correspondientes a las siguientes fases de manejo, según el caso:

- a) Identificación de los residuos.
- b) Envasado de los residuos generados.
- c) Almacenamiento temporal.
- d) Recolección y transporte externo.
- e) Tratamiento.



f) Disposición final.

NIVEL I	NIVEL II	NIVEL III
<p>Unidades hospitalarias de 1 a 5 camas e instituciones de investigación con excepción de los señalados en el Nivel III.</p> <p>Laboratorios clínicos y bancos de sangre que realicen análisis de 1 a 50 muestras al día.</p> <p>Unidades hospitalarias psiquiátricas.</p> <p>Centros de toma de muestras para análisis clínicos.</p>	<p>Unidades hospitalarias de 6 hasta 60 camas;</p> <p>Laboratorios clínicos y bancos de sangre que realicen análisis de 51 a 200 muestras al día;</p> <p>Bioterios que se dediquen a la investigación con agentes biológico-infecciosos, o</p> <p>Establecimientos que generen de 25 a 100 kilogramos al mes de RPBI.</p>	<p>Unidades hospitalarias de más de 60 camas;</p> <p>Centros de producción e investigación experimental en enfermedades infecciosas;</p> <p>Laboratorios clínicos y bancos de sangre que realicen análisis a más de 200 muestras al día, o</p> <p>Establecimientos que generen más de 100 kilogramos al mes de RPBI.</p>

6.2 Identificación y envasado

6.2.1 En las áreas de generación de los establecimientos generadores, se deberán separar y envasar todos los residuos peligrosos biológico-infecciosos, de acuerdo con sus características físicas y biológicas infecciosas, conforme a la tabla 2 de esta Norma Oficial Mexicana. Durante el envasado, los residuos peligrosos biológico-infecciosos no deberán mezclarse con ningún otro tipo de residuos municipales o peligrosos.

a) Las bolsas deberán ser de polietileno de color rojo traslúcido de calibre mínimo 200 y de color amarillo traslúcido de calibre mínimo 300, impermeables y con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, además deberán estar marcadas con el símbolo universal de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (Apéndice Normativo), deberán cumplir los valores mínimos de los parámetros indicados en la tabla 3 de esta Norma Oficial Mexicana. Las bolsas se llenarán al 80 por ciento (80%) de su capacidad, cerrándose antes de ser transportadas al sitio de almacenamiento temporal y no podrán ser abiertas o vaciadas.



TIPO DE RESIDUOS	ESTADO FISICO	ENVASADO	COLOR
4.1 Sangre	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
4.2 Cultivos y cepas de agentes infecciosos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
4.3 Patológicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Amarillo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Amarillo
4.4 Residuos no anatómicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
4.5 Objetos punzocortantes	Sólidos	Recipientes rígidos polipropileno	Rojo

PARAMETRO	UNIDADES	ESPECIFICACIONES
Resistencia a la tensión	Kg/cm ²	SL: 140 ST: 120
Elongación	%	SL: 150 ST: 400
Resistencia al rasgado	G	SL: 90 ST: 150

SL: Sistema longitudinal.

ST: Sistema transversal.

6.2.2 Los recipientes de los residuos peligrosos punzocortantes deberán ser rígidos, de polipropileno color rojo, con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, que permitan verificar el volumen ocupado en el mismo, resistentes a fracturas y pérdidas de contenido al caerse, destructibles por métodos físicos, tener separador de agujas y abertura para depósito, con tapa(s) de ensamble seguro y cierre permanente, deberán contar con la leyenda que indique "RESIDUOS PELIGROSOS PUNZOCORTANTES BIOLÓGICO-INFECTIOSOS" y marcados con el símbolo universal de riesgo biológico (Apéndice Normativo).

a) La resistencia mínima de penetración para los recipientes tanto para punzocortantes como para líquidos, debe ser de 12.5 N (doce punto cinco Newtons) en todas sus partes y será determinada por la medición de la fuerza requerida para penetrar los lados y la base con una aguja hipodérmica calibre 21 x 32 mm mediante calibrador de fuerza o tensiómetro.



b) Los recipientes para los residuos peligrosos punzocortantes y líquidos se llenarán hasta el 80% (ochenta por ciento) de su capacidad, asegurándose los dispositivos de cierre y no deberán ser abiertos o vaciados.

c) Las unidades médicas que presten atención a poblaciones rurales, con menos de 2,500 habitantes y ubicadas en zonas geográficas de difícil acceso, podrán utilizar latas con tapa removible o botes de plástico con tapa de rosca, con capacidad mínima de uno hasta dos litros, que deberán marcar previamente con la leyenda de "RESIDUOS PELIGROSOS PUNZOCORTANTES BIOLÓGICO-INFECCIOSOS".

6.2.3 Los recipientes de los residuos peligrosos líquidos deben ser rígidos, con tapa hermética de polipropileno color rojo o amarillo, con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, resistente a fracturas y pérdidas de contenido al caerse, destructible por métodos físicos, deberá contar con la leyenda que indique "RESIDUOS PELIGROSOS LIQUIDOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS" y marcados con el símbolo universal de riesgo biológico (Apéndice Normativo). En caso de que los residuos líquidos no sean tratados dentro de las instalaciones del establecimiento generador, deberán ser envasados como se indica en la tabla 2 de esta Norma Oficial Mexicana.

6.3 Almacenamiento

6.3.1 Se deberá destinar un área para el almacenamiento temporal de los residuos peligrosos biológico-infecciosos. Los establecimientos generadores incluidos en el Nivel I de la tabla 1 de esta Norma Oficial Mexicana, quedan exentos del cumplimiento del punto 6.3.5 y podrán ubicar los contenedores a que se refiere el punto 6.3.2 en el lugar más apropiado dentro de sus instalaciones, de manera tal que no obstruyan las vías de acceso.

6.3.2 Los residuos peligrosos biológico-infecciosos envasados deberán almacenarse en contenedores metálicos o de plástico con tapa y ser rotulados con el símbolo universal de riesgo biológico, con la leyenda "RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICOINFECCIOSOS".

6.3.3 El periodo de almacenamiento temporal estará sujeto al tipo de establecimiento generador, como sigue:

(a) Nivel I: Máximo 30 días.

(b) Nivel II: Máximo 15 días.

(c) Nivel III: Máximo 7 días.

6.3.4 Los residuos patológicos, humanos o de animales (que no estén en formol) deberán conservarse a una temperatura no mayor de 4°C (cuatro grados Celsius),



en las áreas de patología, o en almacenes temporales con sistemas de refrigeración o en refrigeradores en áreas que designe el responsable del establecimiento generador dentro del mismo.

6.3.5 El área de almacenamiento temporal de residuos peligrosos biológico-infecciosos debe:

a) Estar separada de las áreas de pacientes, almacén de medicamentos y materiales para la atención de los mismos, cocinas, comedores, instalaciones sanitarias, sitios de reunión, áreas de esparcimiento, oficinas, talleres y lavanderías.

b) Estar techada, ser de fácil acceso, para la recolección y transporte, sin riesgos de inundación e ingreso de animales.

c) Contar con señalamientos y letreros alusivos a la peligrosidad de los mismos, en lugares y formas visibles, el acceso a esta área sólo se permitirá al personal responsable de estas actividades.

d) El diseño, construcción y ubicación de las áreas de almacenamiento temporal destinadas al manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos en las empresas prestadoras de servicios, deberán ajustarse a las disposiciones señaladas y contar con la autorización correspondiente por parte de la SEMARNAT.

e) Los establecimientos generadores de residuos peligrosos biológico-infecciosos que no cuenten con espacios disponibles para construir un almacenamiento temporal, podrán utilizar contenedores plásticos o metálicos para tal fin, siempre y cuando cumplan con los requisitos mencionados en los incisos a), b) y c) de este numeral.

6.3.6 Los residuos peligrosos biológico-infecciosos podrán ser almacenados en centros de acopio, previamente autorizados por la SEMARNAT. Dichos centros de acopio deberán operar sistemas de refrigeración para mantener los residuos peligrosos biológico-infecciosos a una temperatura máxima de 4°C (cuatro grados Celsius) y llevar una bitácora de conformidad con el artículo 21 del Reglamento en materia de Residuos Peligrosos de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. El tiempo de estancia de los residuos en un centro de acopio podrá ser de hasta treinta días.

6.4 Recolección y transporte externo

6.4.1 La recolección y el transporte de los residuos peligrosos biológico-infecciosos referidos en esta Norma Oficial Mexicana, deberá realizarse conforme a lo dispuesto en los ordenamientos jurídicos aplicables y cumplir lo siguiente:



- a) Sólo podrán recolectarse los residuos que cumplan con el envasado, embalado y etiquetado o rotulado como se establece en el punto 6.2 de esta Norma Oficial Mexicana.
- b) Los residuos peligrosos biológico-infecciosos no deben ser compactados durante su recolección y transporte.
- c) Los contenedores referidos en el punto 6.3.2 deben ser desinfectados y lavados después de cada ciclo de recolección.
- d) Los vehículos recolectores deben ser de caja cerrada y hermética, contar con sistemas de captación de escurrimientos, y operar con sistemas de enfriamiento para mantener los residuos a una temperatura máxima de 4° C (cuatro grados Celsius).

Además, los vehículos con capacidad de carga útil de 1,000 kg o más deben operar con sistemas mecanizados de carga y descarga.

- e) Durante su transporte, los residuos peligrosos biológico-infecciosos sin tratamiento no deberán mezclarse con ningún otro tipo de residuos municipales o de origen industrial.

6.4.2 Para la recolección y transporte de residuos peligrosos biológico-infecciosos se requiere la autorización por parte de la SEMARNAT. Dicho transporte deberá dar cumplimiento con los incisos a), b), d) y e) del numeral

6.4.1 de esta Norma Oficial Mexicana.

6.5 Tratamiento

6.5.1 Los residuos peligrosos biológico-infecciosos deben ser tratados por métodos físicos o químicos que garanticen la eliminación de microorganismos patógenos y deben hacerse irreconocibles para su disposición final en los sitios autorizados.

6.5.2 La operación de sistemas de tratamiento que apliquen tanto a establecimientos generadores como prestadores de servicios dentro o fuera de la instalación del generador, requieren autorización previa de la SEMARNAT, sin perjuicio de los procedimientos que competan a la SSA de conformidad con las disposiciones aplicables en la materia.

6.5.3 Los residuos patológicos deben ser incinerados o inhumados, excepto aquellos que estén destinados a fines terapéuticos, de investigación y los que se mencionan en el inciso 4.3.2 de esta Norma Oficial Mexicana. En caso de ser inhumados debe realizarse en sitios autorizados por la SSA.



6.6. Disposición final

Los residuos peligrosos biológico-infecciosos tratados e irreconocibles, podrán disponerse como residuos no peligrosos en sitios autorizados por las autoridades competentes.

6.7 Programa de contingencias

Los establecimientos generadores de residuos peligrosos biológico-infecciosos y los prestadores de servicios deberán contar con un programa de contingencias en caso de derrames, fugas o accidentes relacionados con el manejo de estos residuos.

7. Grado de concordancia con normas y lineamientos internacionales y con las normas mexicanas tomadas como base para su elaboración

7.1 Esta Norma Oficial Mexicana no concuerda con ninguna Norma Internacional por no existir referencia en el momento de su elaboración, ni existen normas mexicanas que hayan servido de base para su elaboración.

8. Bibliografía (se omitió del documento para fines prácticos).

9. Observancia de esta Norma

9.1 La SEMARNAT, a través de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente y la SSA, a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios en el ámbito de sus respectivas atribuciones y competencias, vigilarán del cumplimiento de la presente Norma Oficial Mexicana de conformidad con las Bases de Colaboración que celebren entre SSA y SEMARNAT, mismas que se publicarán en el Diario Oficial de la Federación. Las violaciones a la misma se sancionarán en los términos de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, y su Reglamento en materia de Residuos Peligrosos, la Ley General de Salud y sus Reglamentos, así como los demás ordenamientos jurídicos aplicables.

9.2 Los gobiernos del Distrito Federal, de los estados y de los municipios, podrán realizar actos de vigilancia para la verificación del cumplimiento de esta Norma Oficial Mexicana, previa la publicación en el Diario Oficial de la Federación de los Acuerdos de Coordinación que se celebren con la SEMARNAT.

9.3 Dentro del marco de los Acuerdos de Coordinación para la Descentralización Integral de los Servicios de Salud, las entidades federativas verificarán el cumplimiento de esta Norma Oficial Mexicana.

TRANSITORIOS



PRIMERO.- Provéase la publicación de esta Norma Oficial Mexicana en el Diario Oficial de la Federación.

SEGUNDO.- La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor a los 60 días posteriores al de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

TERCERO.- Los establecimientos generadores de residuos peligrosos biológico-infecciosos deben cumplir con la fase de manejo señalada en el punto 6, a los 90 días posteriores al de la entrada en vigor de la presente Norma, tiempo en el cual seguirá surtiendo sus efectos legales en lo conducente la NOM-087-ECOL-1995.

CUARTO.- La presente Norma Oficial Mexicana ABROGA a su similar NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 7 de noviembre de 1995 y su aclaración publicada en el citado órgano informativo el 12 de junio de 1996. México, Distrito Federal, a los veintidós días del mes de enero de dos mil tres.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Cassio Luiselli Fernández.- Rúbrica.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización, de Regulación y Fomento Sanitario, Ernesto Enríquez Rubio.- Rúbrica.

APENDICE NORMATIVO

SIMBOLO UNIVERSAL DE RIESGO BIOLOGICO





C) Manejo de residuos Químicos.

NORMA Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. Fecha de publicación: 15 de diciembre de 2005.

1. Introducción

Los residuos peligrosos, en cualquier estado físico, por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, inflamables, tóxicas, y biológico-infecciosas, y por su forma de manejo pueden representar un riesgo para el equilibrio ecológico, el ambiente y la salud de la población en general, por lo que es necesario determinar los criterios, procedimientos, características y listados que los identifiquen.

Los avances científicos y tecnológicos y la experiencia internacional sobre la caracterización de los residuos peligrosos han permitido definir como constituyentes tóxicos ambientales, agudos y crónicos a aquellas sustancias químicas que son capaces de producir efectos adversos a la salud o al ambiente.

2. Objetivo

Esta Norma Oficial Mexicana establece el procedimiento para identificar si un residuo es peligroso, el cual incluye los listados de los residuos peligrosos y las características que hacen que se consideren como tales.

3. Campo de aplicación

Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en lo conducente para los responsables de identificar la peligrosidad de un residuo.

4. Referencias

4.1 Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección Ambiental.- Lodos y biosólidos.- Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 15 de agosto de 2003.

4.2 Norma Oficial Mexicana NOM-053-SEMARNAT-1993, Que establece el procedimiento para llevar a cabo la prueba de extracción para determinar los



constituyentes que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente, publicada en el Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) el 22 de octubre de 1993, la cual ha cambiado de nomenclatura en dos ocasiones, la primera, por el Acuerdo Secretarial publicado en el D.O.F. el 29 de noviembre de 1994, siendo modificada a NOM-053-ECOL-1993 y, la segunda, por el Acuerdo emitido en el mismo órgano de difusión el 23 de abril de 2003, quedando con el nombre que aparece al inicio de esta cita.

4.3 Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo, publicada en el Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) el 17 de febrero de 2003, la cual cambió de nomenclatura por el Acuerdo Secretarial publicado en el D.O.F. el 23 de abril de 2003, quedando con el nombre que aparece al inicio de esta cita.

4.4 Norma Oficial Mexicana NOM-133-SEMARNAT-2000, Protección Ambiental-Bifenilos Policlorados (BPC's)-Especificaciones de manejo, publicada en el Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) el 10 de diciembre de 2001, la cual cambió de nomenclatura por el Acuerdo Secretarial publicado en el D.O.F. el 23 de abril de 2003, quedando con el nombre que aparece al inicio de esta cita.

4.5 Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 29 de marzo de 2005.

4.6 Norma Oficial Mexicana NOM-141-SEMARNAT-2003, Que establece el procedimiento para caracterizar los jales, así como las especificaciones y criterios para la caracterización y preparación del sitio, proyecto, construcción, operación y postoperación de presas de jales, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 13 de septiembre de 2004.

4.7 Norma Oficial Mexicana NOM-002-SCT/2003, Listado de las Substancias y Materiales Peligrosos más usualmente transportados, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 3 de diciembre de 2003.

5. Definiciones



Para los efectos de esta Norma Oficial Mexicana se consideran las definiciones contenidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos y en los Reglamentos correspondientes y las siguientes:

5.1 Constituyente Tóxico.- Cualquier sustancia química contenida en un residuo y que hace que éste sea peligroso por su toxicidad, ya sea ambiental, aguda o crónica.

5.2 CRETIB.- El acrónimo de clasificación de las características a identificar en los residuos peligrosos y que significa: corrosivo, reactivo, explosivo, tóxico ambiental, inflamable y biológico-infeccioso.

5.3 CRIT.- El acrónimo de clasificación de las características a identificar en los residuos peligrosos y que significa: corrosivo, reactivo, inflamable y tóxico ambiental.

5.4 Extracto PECT.- El lixiviado a partir del cual se determinan los constituyentes tóxicos del residuo y su concentración con la finalidad de identificar si éste es peligroso por su toxicidad al ambiente.

5.5 Fuente específica.- Las actividades que generan residuos peligrosos y que están definidas por giro o proceso industrial.

5.6 Fuente no específica.- Las actividades que generan residuos peligrosos y que por llevarse a cabo en diferentes giros o procesos se clasifican de manera general.

5.7 Ley.- La Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos.

5.8 PECT.- Procedimiento de Extracción de Constituyentes Tóxicos.

5.9 Residuos peligrosos resultado del desecho de productos fuera de especificaciones o caducos.- Sustancias químicas que han perdido, carecen o presentan variación en las características necesarias para ser utilizados, transformados o comercializados respecto a los estándares de diseño o producción originales.

5.10 Reglamento.- El Reglamento de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos.



5.11 Secretaría.- La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

5.12 Toxicidad.- La propiedad de una sustancia o mezcla de sustancias de provocar efectos adversos en la salud o en los ecosistemas.

5.13 Toxicidad Ambiental.- La característica de una sustancia o mezcla de sustancias que ocasiona un desequilibrio ecológico.

5.14 Toxicidad Aguda.- El grado en el cual una sustancia o mezcla de sustancias puede provocar, en un corto periodo de tiempo o en una sola exposición, daños o la muerte de un organismo.

5.15 Toxicidad Crónica.- Es la propiedad de una sustancia o mezcla de sustancias de causar efectos dañinos a largo plazo en los organismos, generalmente a partir de exposiciones continuas o repetidas y que son capaces de producir efectos cancerígenos, teratogénicos o mutagénicos.

6. Procedimiento para determinar si un residuo es peligroso

6.1 El procedimiento para determinar si un residuo es peligroso se presenta en la Figura 1.

6.2 Un residuo es peligroso si se encuentra en alguno de los siguientes listados:

Listado 1: Clasificación de residuos peligrosos por fuente específica.

Listado 2: Clasificación de residuos peligrosos por fuente no específica.

Listado 3: Clasificación de residuos peligrosos resultado del desecho de productos químicos fuera de especificaciones o caducos (Tóxicos Agudos).

Listado 4: Clasificación de residuos peligrosos resultado del desecho de productos químicos fuera de especificaciones o caducos (Tóxicos Crónicos).

Listado 5: Clasificación por tipo de residuos, sujetos a Condiciones Particulares de Manejo.



6.2.1 Las Toxicidades aguda y crónica referidas en los Listados 1, 2, 3 y 4 de esta Norma Oficial Mexicana no están contempladas en los análisis a realizar para la determinación de las características CRIT de peligrosidad en los residuos.

6.2.2 El Anexo 1 de esta Norma Oficial Mexicana contiene las bases para listar residuos peligrosos por “Fuente Específica” y “Fuente No Específica”, en función de sus Toxicidades ambiental, aguda o crónica.

6.3 Si el residuo no se encuentra en ninguno de los Listados 1 a 5 y es regulado por alguno de los criterios contemplados en los numerales 6.3.1 a 6.3.4 de esta norma, éste se sujetará a lo dispuesto en el Instrumento Regulatorio correspondiente.

6.3.1 Los lodos y biosólidos están regulados por la NOM-004-SEMARNAT-2002.

6.3.2 Los bifenilos policlorados (BPC's) están sujetos a las disposiciones establecidas en la NOM-133-SEMARNAT-2000.

6.3.3 Los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos están sujetos a lo definido en la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003.

6.3.4 Los jales mineros se rigen bajo las especificaciones incluidas en la NOM-141-SEMARNAT-2003.

6.4 Si el residuo no está listado o no cumple con las particularidades establecidas en el inciso 6.3 se deberá definir si es que éste presenta alguna de las características de peligrosidad que se mencionan en el numeral 7 de esta Norma Oficial Mexicana. Esta determinación se llevará a cabo mediante alguna de las opciones que se mencionan a continuación:

6.4.1 Caracterización o análisis CRIT de los residuos junto con la determinación de las características de Explosividad y Biológico-Infecioso.

6.4.2 Manifestación basada en el conocimiento científico o la evidencia empírica sobre los materiales y procesos empleados en la generación del residuo en los siguientes casos:



6.4.2.1 Si el generador sabe que su residuo tiene alguna de las características de peligrosidad establecidas en esta norma.

6.4.2.2 Si el generador conoce que el residuo contiene un constituyente tóxico que lo hace peligroso.

6.4.2.3 Si el generador declara, bajo protesta de decir verdad, que su residuo no es peligroso.

7. Características que definen a un residuo como peligroso

7.1 El residuo es peligroso si presenta al menos una de las siguientes características, bajo las condiciones señaladas en los numerales 7.2 a 7.7 de esta Norma Oficial Mexicana:

- Corrosividad
- Reactividad
- Explosividad
- Toxicidad Ambiental
- Inflamabilidad
- Biológico-Infeciosa

7.1.1 Las Toxicidades aguda y crónica quedan exceptuadas de los análisis a realizar para la determinación de la característica de Toxicidad Ambiental en los residuos establecida en el numeral 7.5 de esta Norma Oficial Mexicana.

7.2 Es Corrosivo cuando una muestra representativa presenta cualquiera de las siguientes propiedades:

7.2.1 Es un líquido acuoso y presenta un pH menor o igual a 2,0 o mayor o igual a 12,5 de conformidad con el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente.



7.2.2 Es un sólido que cuando se mezcla con agua destilada presenta un pH menor o igual a 2,0 o mayor o igual a 12,5 según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente.

7.2.3 Es un líquido no acuoso capaz de corroer el acero al carbón, tipo SAE 1020, a una velocidad de 6,35 milímetros o más por año a una temperatura de 328 K (55°C), según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente.

7.3 Es Reactivo cuando una muestra representativa presenta cualquiera de las siguientes propiedades:

7.3.1 Es un líquido o sólido que después de ponerse en contacto con el aire se inflama en un tiempo menor a cinco minutos sin que exista una fuente externa de ignición, según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente.

7.3.2 Cuando se pone en contacto con agua reacciona espontáneamente y genera gases inflamables en una cantidad mayor de 1 litro por kilogramo del residuo por hora, según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente.

7.3.3 Es un residuo que en contacto con el aire y sin una fuente de energía suplementaria genera calor, según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente.

7.3.4 Posee en su constitución cianuros o sulfuros liberables, que cuando se expone a condiciones ácidas genera gases en cantidades mayores a 250 mg de ácido cianhídrico por kg de residuo o 500 mg de ácido sulfhídrico por kg de residuo, según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente.

7.4 Es Explosivo cuando es capaz de producir una reacción o descomposición detonante o explosiva solo o en presencia de una fuente de energía o si es calentado bajo confinamiento. Esta característica no debe determinarse mediante análisis de laboratorio, por lo que la identificación de esta característica debe estar basada en el conocimiento del origen o composición del residuo.

7.5 Es Tóxico Ambiental cuando:



7.5.1 El extracto PECT, obtenido mediante el procedimiento establecido en la NOM-053-SEMARNAT-1993, contiene cualquiera de los constituyentes tóxicos listados en la Tabla 2 de esta Norma en una concentración mayor a los límites ahí señalados, la cual deberá obtenerse según los procedimientos que se establecen en las Normas Mexicanas correspondientes.

7.6 Es Inflamable cuando una muestra representativa presenta cualquiera de las siguientes propiedades:

7.6.1 Es un líquido o una mezcla de líquidos que contienen sólidos en solución o suspensión que tiene un punto de inflamación inferior a 60,5°C, medido en copa cerrada, de conformidad con el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente, quedando excluidas las soluciones acuosas que contengan un porcentaje de alcohol, en volumen, menor a 24%.

7.6.2 No es líquido y es capaz de provocar fuego por fricción, absorción de humedad o cambios químicos espontáneos a 25°C, según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente.

7.6.3 Es un gas que, a 20°C y una presión de 101,3 kPa, arde cuando se encuentra en una mezcla del 13% o menos por volumen de aire, o tiene un rango de inflamabilidad con aire de cuando menos 12% sin importar el límite inferior de inflamabilidad.

7.6.4 Es un gas oxidante que puede causar o contribuir más que el aire, a la combustión de otro material.

7.7 Es Biológico-Infecioso de conformidad con lo que se establece en la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, referida en el punto 4 de esta Norma.

8. Procedimiento para la evaluación de la conformidad

8.1 Las muestras para determinaciones analíticas deben ser tomadas directamente a la salida del proceso o del área de almacenamiento en su caso, de conformidad con los procedimientos establecidos en la Norma Mexicana correspondiente y deberán ser representativas del volumen generado, considerando las variaciones en el proceso y, además, se debe establecer la cadena de custodia para las mismas.



8.2 La Secretaría reconocerá las determinaciones analíticas de la prueba CRIT que hayan sido muestreadas y analizadas por un laboratorio acreditado y aprobado conforme a las disposiciones legales aplicables.

9. Grado de concordancia con normas y lineamientos internacionales y con las normas mexicanas tomadas como base para su elaboración

Esta Norma Oficial Mexicana no concuerda con ninguna norma internacional ni norma mexicana.

10. Bibliografía

10.1 Ley Federal sobre Metrología y Normalización, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 1 de julio de 1992 y reformada por Decretos publicados en el mismo órgano el 24 de diciembre de 1996 y el 20 de mayo de 1997.

10.2 Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 14 de enero de 1999.

10.3 Code of Federal Regulations, Vol. 40 Part. 261. 1999. U.S.A. (Código de Regulaciones Federales, Vol. 40, Parte 261, 1999, Estados Unidos de América).

10.4 Registro Internacional de Sustancias Químicas Potencialmente Tóxicas, Ginebra, Suiza, 1982.

10.5 Reglamento para el Transporte Terrestre de Materiales y Residuos Peligrosos de la SCT, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 7 de abril de 1993.

10.6 Hazardous Waste Characteristics Scoping Study. Office of Solid Waste, USEPA, November 1996 (Estudio de los Alcances de las Características de los Residuos Peligrosos, Oficina de Residuos Sólidos, USEPA, Noviembre de 1996).

11. Vigilancia de esta Norma

La vigilancia del cumplimiento de la presente Norma Oficial Mexicana corresponde a la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, por conducto de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, cuyo personal realizará los



trabajos de inspección y vigilancia que sean necesarios. Las violaciones a la misma se sancionarán en los términos de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos, sus Reglamentos y demás ordenamientos jurídicos aplicables.

TRANSITORIOS

PRIMERO.- La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor a los noventa días naturales siguientes de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

SEGUNDO.- A la entrada en vigor de esta Norma Oficial Mexicana se abroga la Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-1993, Que establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente, publicada en el Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) el 22 de octubre de 1993.

TERCERO.- Las Constancias de No Peligrosidad que estén vigentes a la entrada en vigor de esta Norma Oficial Mexicana tendrán validez hasta el plazo por el cual fueron emitidas.

Provéase la publicación de esta Norma Oficial Mexicana en el Diario Oficial de la Federación.

México, Distrito Federal, al segundo día del mes de junio de dos mil seis.- El Subsecretario de Fomento y Normatividad Ambiental de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Medio Ambiente y Recursos Naturales, José Ramón Ardaín Ituarte.- Rúbrica.

TABLA 1
CODIGOS DE PELIGROSIDAD DE LOS RESIDUOS (CPR)

Características	Código de Peligrosidad de los Residuos (CPR)
Corrosividad	C
Reactividad	R
Explosividad	E
Toxicidad	T
Ambiental	Te
Aguda	Th
Crónica	Tt
Inflamabilidad	I
Biológico-Infecioso	B



Quando se trate de una mezcla de residuos peligrosos de los Listados 3 y 4 se identificarán con la característica del residuo de mayor volumen, agregándole al CPR la letra "M".

TABLA 2

LIMITES MAXIMOS PERMISIBLES PARA LOS CONSTITUYENTES TOXICOS EN EL EXTRACTO PECT

CONSTITUYENTES INORGANICOS (METALES)

7440-38-2	Arsénico	5.0
7440-39-3	Barlo	100.0
7440-43-9	Cadmio	1.0
7440-47-3	Cromo	5.0
7439-97-6	Mercurio	0.2
7440-22-4	Plata	5.0
7439-92-1	Plomo	5.0
7782-49-2	Selenio	1.0

CONSTITUYENTES ORGANICOS SEMIVOLATILES

94-75-7	Acido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D)	10.0
93-72-1	Acido 2,4,5-Triclorofenoxipropiónico (Silvex)	1.0
57-74-9	Clordano	0.03
95-48-7	o-Cresol	200.0
108-39-4	m-Cresol	200.0
106-44-5	p-Cresol	200.0
1319-77-3	Cresol	200.0
121-14-2	2,4-Dinitrotolueno	0.13
72-20-8	Endrin	0.02
76-44-8	Heptacoloro (y su Epóxido)	0.008
67-72-1	Hexacloroetano	3.0
58-89-9	Lindano	0.4
74-43-5	Metoxicloro	10.0
98-95-3	Nitrobenceno	2.0
87-86-5	Pentaclorofenol	100.0
8001-35-2	Toxafeno	0.5
95-95-4	2,4,5-Triclorofenol	400.0
88-06-2	2,4,6-Triclorofenol	2.0

**CONSTITUYENTES ORGANICOS VOLATILES**

71-43-2	Benceno	0.5
108-90-7	Clorobenceno	100.0
67-66-3	Cloroformo	6.0
75-01-4	Cloruro de Vinilo	0.2
106-46-7	1,4-Diclorobenceno	7.5
107-06-2	1,2-Dicloroetano	0.5
75-35-4	1,1-Dicloroetileno	0.7
118-74-1	Hexaclorobenceno	0.13
87-68-3	Hexaclorobutadieno	0.5
78-93-3	Metil etil cetona	200.0
110-86-1	Piridina	5.0
127-18-4	Tetracloroetileno	0.7
56-23-5	Tetracloruro de Carbono	0.5
79-01-6	Tricloroetileno	0.5

¹ No. CAS: Número del Chemical Abstracts Service (Servicio de Resúmenes Químicos)

² LMP: Limite Máximo Permisible

LISTADO 1**CLASIFICACION DE RESIDUOS PELIGROSOS POR FUENTE ESPECIFICA**

Residuo	CPR	Clave
GIRO 1: BENEFICIO DE METALES		
CUBAS ELECTROLITICAS GASTADAS DE LA REDUCCION PRIMARIA DE ALUMINIO	(Tt)	E1/01
LICOR GASTADO GENERADO POR LAS OPERACIONES DE ACABADO DEL ACERO EN INSTALACIONES PERTENECIENTES A LA INDUSTRIA DEL HIERRO Y DEL ACERO	(C,Tt)	E1/02
LODOS Y POLVOS DEL EQUIPO DE CONTROL DE EMISIONES DE FUNDICION Y AFINADO EN LA PRODUCCION SECUNDARIA DE PLOMO	(Tt)	E1/03
SOLUCION GASTADA PROVENIENTE DE LA LIXIVIACION ACIDA DE LOS LODOS/POLVOS DEL EQUIPO DE CONTROL DE EMISIONES EN LA FUNDICION SECUNDARIA DE PLOMO	(Tt)	E1/04
GIRO 2: PRODUCCION DE COQUE		
RESIDUOS QUE NO SE REINTEGREN AL PROCESO DE LA PRODUCCION DE COQUE Y QUE NO PUEDAN SER REUTILIZADOS	(Tt)	E2/01
GIRO 3: EXPLOSIVOS		
CARBON AGOTADO DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES QUE CONTIENEN EXPLOSIVOS	(R,E)	E3/01
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN LA FABRICACION, FORMULACION Y CARGA DE LOS COMPUESTOS INICIADORES BASE PLOMO	(Tt)	E3/02
RESIDUOS DE AGUA ROSA-ROJA Y DE ACIDOS GASTADOS DE LA MANUFACTURA DE TNT	(R,E)	E3/03



GIRO 4: PETROLEO, GAS Y PETROQUIMICA		
CATALIZADORES GASTADOS DEL PROCESO DE "HIDROCRACKING" CATALITICO DE RESIDUALES EN LA REFINACION DE PETROLEO	(I,Tt)	E4/01
LODOS DE LA SEPARACION PRIMARIA DE ACEITE/AGUA/SOLIDOS DE LA REFINACION DEL PETROLEO-CUALQUIER LODO GENERADO POR SEPARACION GRAVITACIONAL DE ACEITE/AGUA/SOLIDOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO O TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE PROCESO Y AGUAS RESIDUALES ACEITOSAS DE ENFRIAMIENTO, DE REFINERIAS DE PETROLEO. TALES LODOS INCLUYEN, PERO NO SE LIMITAN, A AQUELLOS GENERADOS EN SEPARADORES DE ACEITE/AGUA/SOLIDOS; TANQUES Y LAGUNAS DE CAPTACION; ZANJAS Y OTROS DISPOSITIVOS DE TRANSPORTE DE AGUA PLUVIAL. LODOS GENERADOS DE AGUAS DE ENFRIAMIENTO SIN CONTACTO, DE UN SOLO PASO, SEGREGADAS PARA TRATAMIENTO DE OTROS PROCESOS O AGUAS DE ENFRIAMIENTO ACEITOSAS Y LODOS GENERADOS EN UNIDADES DE TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS	(Tt)	E4/02
LODOS DE SEPARACION SECUNDARIA (EMULSIFICADOS) DE ACEITE/AGUA/SOLIDOS. CUALQUIER LODO Y/O NATA GENERADO EN LA SEPARACION FISICA Y/O QUIMICA DE ACEITE/AGUA/SOLIDOS DE AGUAS RESIDUALES DE PROCESO Y AGUAS RESIDUALES ACEITOSAS DE ENFRIAMIENTO DE LAS REFINERIAS DE PETROLEO. TALES RESIDUOS INCLUYEN, PERO NO SE LIMITAN A, TODOS LOS LODOS Y LAS NATAS GENERADAS EN: UNIDADES DE FLOTACION DE AIRE INDUCIDA, TANQUES Y LAGUNAS DE CAPTACION Y TODOS LOS LODOS GENERADOS EN UNIDADES DAF (FLOTACION CON AIRE DISUELTO). LODOS GENERADOS DE AGUAS DE ENFRIAMIENTO SIN CONTACTO, DE UN SOLO PASO, SEGREGADAS PARA TRATAMIENTO DE OTROS PROCESOS O AGUAS DE ENFRIAMIENTO ACEITOSAS, LODOS Y NATAS GENERADOS EN UNIDADES DE TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS	(Tt)	E4/03
LODOS DEL SEPARADOR API Y CARCAMOS EN LA REFINACION DE PETROLEO Y ALMACENAMIENTO DE PRODUCTOS DERIVADOS	(Tt)	E4/04
LODOS DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE HIDROCARBUROS	(Tt)	E4/05
LODOS DE LA LIMPIEZA DE LOS HACES DE TUBOS DE LOS INTERCAMBIADORES DE CALOR, LADO HIDROCARBURO	(Tt)	E4/06
NATAS DEL SISTEMA DE FLOTACION CON AIRE DISUELTO (FAD) EN LA REFINACION DE PETROLEO Y ALMACENAMIENTO DE PRODUCTOS DERIVADOS	(Tt)	E4/07
SOLIDOS DE EMULSION DE ACEITES DE BAJA CALIDAD EN LA INDUSTRIA DE REFINACION DE PETROLEO	(Tt)	E4/08
FONDOS DE LA ETAPA DE DESTILACION EN LA PRODUCCION DE ACETALDEHIDO VIA OXIDACION DE ETILENO	(C,Tt,I)	E4/09
CORTES LATERALES DE LA ETAPA DE DESTILACION EN LA PRODUCCION DE ACETALDEHIDO VIA OXIDACION DE ETILENO	(C,Tt,I)	E4/10
RESIDUOS DE PROCESOS, INCLUYENDO PERO NO LIMITADO A RESIDUOS DE DESTILACION, FONDOS PESADOS, BREAS Y RESIDUOS DE LA LIMPIEZA DE REACTORES DE LA PRODUCCION DE HIDROCARBUROS ALIFATICOS CLORADOS POR PROCESOS DE CATALIZACION DE RADICALES LIBRES QUE TIENEN CADENAS DE HASTA 5 (CINCO) CARBONES CON DIVERSAS CANTIDADES Y POSICIONES DE SUSTITUCION DE CLORO	(Tt)	E4/11
GIRO 5: PINTURAS Y PRODUCTOS RELACIONADOS		
RESIDUOS DE PIGMENTOS BASE CROMO Y BASE PLOMO	(Tt)	E5/01
GIRO 6: PLAGUICIDAS Y HERBICIDAS		
LODOS DE LAS PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCION DE CARBAMATOS, HERBICIDAS CLORADOS; PLAGUICIDAS ORGANO-HALOGENADOS; ORGANO-ARSENICALES; ORGANO-METALICOS Y ORGANO-FOSFORADOS	(Tt)	E6/01
RESIDUOS DE LA PRODUCCION DE CARBAMATOS, HERBICIDAS CLORADOS; PLAGUICIDAS ORGANO-HALOGENADOS; ORGANO-ARSENICALES; ORGANO-METALICOS Y ORGANO-FOSFORADOS	(Tt)	E6/02



GIRO 7: PRESERVACION DE LA MADERA		
LODOS SEDIMENTADOS Y SOLUCIONES GASTADAS GENERADOS EN LOS PROCESOS DE PRESERVACION DE LA MADERA	(Tt)	E7/01
GIRO 8: QUIMICA FARMACEUTICA		
CARBON ACTIVADO GASTADO EN LA PRODUCCION DE FARMACEUTICOS VETERINARIOS DE COMPUESTOS CON ARSENICO Y ORGANO-ARSENICALES	(Tt)	E8/01
RESIDUOS DE BREAS DE LA DESTILACION DE COMPUESTOS A BASE DE ANILINA EN LA PRODUCCION DE PRODUCTOS VETERINARIOS DE COMPUESTOS DE ARSENICO Y ORGANO-ARSENICALES	(Tt)	E8/02
GIRO 9: QUIMICA INORGANICA		
FILTROS DE LAS CASAS DE BOLSAS EN LA PRODUCCION DE OXIDO DE ANTIMONIO, INCLUYENDO LOS FILTROS EN LA PRODUCCION DE PRODUCTOS INTERMEDIOS (ANTIMONIO METALICO Y OXIDO DE ANTIMONIO CRUDO)	(Te)	E9/01
ESCORIAS DE LA PRODUCCION DE OXIDO DE ANTIMONIO, INCLUYENDO AQUELLAS DE LOS PRODUCTOS INTERMEDIOS (ANTIMONIO METALICO Y OXIDO DE ANTIMONIO CRUDO)	(Tt)	E9/02
LODOS DE LA PURIFICACION DE SALMUERA, DONDE LA SALMUERA PURIFICADA SEPARADA NO SE UTILIZA, EN LA PRODUCCION DE CLORO (PROCESO DE CELDAS DE MERCURIO)	(Tt)	E9/03
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCION DE CLORO (PROCESO DE CELDAS DE MERCURIO)	(Tt)	E9/04
RESIDUOS DE HIDROCARBUROS CLORADOS DE LA ETAPA DE PURIFICACION EN LA PRODUCCION DE CLORO (PROCESO DE CELDAS DE DIAFRAGMA USANDO ANODOS DE GRAFITO)	(Tt)	E9/05
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PRODUCCION DE PIGMENTOS NARANJA Y AMARILLO DE CROMO	(Tt)	E9/06
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PRODUCCION DE PIGMENTOS VERDES DE CROMO	(Tt)	E9/07
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PRODUCCION DE PIGMENTOS VERDES DE OXIDO DE CROMO (ANHIDROS E HIDRATADOS)	(Tt)	E9/08
RESIDUOS DEL HORNO DE LA PRODUCCION DE PIGMENTOS VERDES DE OXIDO DE CROMO	(Tt)	E9/09
LODOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PRODUCCION DE PIGMENTOS AZULES DE HIERRO	(Tt)	E9/10
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PRODUCCION DE PIGMENTOS NARANJA DE MOLIBDATO	(Tt)	E9/11
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PRODUCCION DE PIGMENTOS AMARILLOS DE ZINC	(Tt)	E9/12
RESIDUOS DE LA MANUFACTURA Y DEL ALMACENAMIENTO EN PLANTA DE CLORURO FERRICO DERIVADO DE ACIDOS FORMADOS DURANTE LA PRODUCCION DE BIOXIDO DE TITANIO MEDIANTE EL PROCESO CLORURO-ILMENITA	(Tt)	E9/13
GIRO 10: QUIMICA ORGANICA		
LODOS DE LAS DESCARGAS DE AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCION DE ACRILONITRILO	(R, Tt)	E10/01
FONDOS DE LA COLUMNA DE ACETONITRILO EN LA PRODUCCION DE ACRILONITRILO	(R, Tt)	E10/02
FONDOS DE LA COLUMNA DE PURIFICACION DE ACETONITRILO EN LA PRODUCCION DE ACRILONITRILO	(Tt)	E10/03
DOMOS LIGEROS DE LA DESTILACION INICIAL EN LA PRODUCCION DE ANHIDRIDO FTALICO A PARTIR DE NAFTALENO	(Tt)	E10/04
FONDOS DE LA DESTILACION FINAL EN LA PRODUCCION DE ANHIDRIDO FTALICO A PARTIR DE NAFTALENO	(Tt)	E10/05
DOMOS LIGEROS DE LA DESTILACION INICIAL EN LA PRODUCCION DE ANHIDRIDO FTALICO A PARTIR DE ORTO-XILENO	(Tt)	E10/06
FONDOS DE LA DESTILACION FINAL EN LA PRODUCCION DE ANHIDRIDO FTALICO A PARTIR DE ORTO-XILENO	(Tt)	E10/07
FONDOS DE LA DESTILACION EN LA PRODUCCION DE ANILINA	(Tt)	E10/08



RESIDUOS DEL PROCESO DE EXTRACCION DE ANILINA	(Tt)	E10/09
RESIDUOS PROVENIENTES DEL LAVADO DE GASES, DE CONDENSACION, DE DEPURACION Y SEPARACION EN LA PRODUCCION DE CARBAMATOS Y CARBOMIL OXIMAS	(Tt)	E10/10
MATERIALES ORGANICOS DEL TRATAMIENTO DE RESIDUOS DE TIOCARBAMATO EN LA PRODUCCION DE CARBAMATOS Y CARBOMIL OXIMAS	(Tt)	E10/11
POLVOS DE CASAS DE BOLSAS Y SOLIDOS DE FILTRADO/SEPARACION DE LA PRODUCCION DE CARBAMATOS Y CARBOMIL OXIMAS	(Tt)	E10/12
RESIDUOS ORGANICOS (INCLUYENDO FONDOS PESADOS, ESTANCADOS, FONDOS LIGEROS, SOLVENTES GASTADOS, RESIDUOS DE LA FILTRACION Y LA DECANTACION) DE LA PRODUCCION DE CARBAMATOS Y CARBOMIL OXIMAS	(Tt)	E10/13
SOLIDOS DE PURIFICACION (INCLUYENDO SOLIDOS DE FILTRACION, EVAPORACION Y CENTRIFUGACION), POLVOS DE CASAS DE BOLSAS Y DE BARRIDO DE PISOS EN LA PRODUCCION DE ACIDOS DE TIOCARBAMATOS Y SUS SALES EN LA PRODUCCION DE CARBAMATOS Y CARBOMIL OXIMAS	(R,Tt)	E10/14
FONDOS DE LA COLUMNA DE DESTILACION O FRACCIONAMIENTO EN LA PRODUCCION DE CLOROBENCENOS	(Tt)	E10/15
CORRIENTES SEPARADAS DEL AGUA DEL REACTOR DE LAVADO DE CLOROBENCENOS	(Tt)	E10/16
FONDOS DE LA ETAPA DE DESTILACION EN LA PRODUCCION DE CLORURO DE BENCILO	(Tt)	E10/17
FONDOS PESADOS DE LA COLUMNA DE FRACCIONAMIENTO EN LA PRODUCCION DE CLORURO DE ETILO	(Tt)	E10/18
FONDOS PESADOS DE LA DESTILACION DE CLORURO DE VINILO EN LA PRODUCCION DE MONOMERO DE CLORURO DE VINILO	(Tt)	E10/19
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PRODUCCION DE DICLORURO DE ETILENO O DE MONOMERO DE CLORURO DE VINILO	(Tt)	E10/20
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PRODUCCION DE MONOMERO DE CLORURO DE VINILO EN LA QUE SE UTILICE CLORURO DE MERCURIO COMO CATALIZADOR EN UN PROCESO BASE ACETILENO	(Tt)	E10/21
RESIDUOS DEL LAVADOR DE GASES DE VENTEO DEL REACTOR EN LA PRODUCCION DE DIBROMURO DE ETILENO VIA BROMACION DEL ETILENO	(Tt)	E10/22
SOLIDOS ADSORBENTES GASTADOS DE LA ETAPA DE PURIFICACION DEL DIBROMURO DE ETILENO OBTENIDO A PARTIR DE LA BROMACION DEL ETILENO	(Tt)	E10/23
FONDOS DE LA ETAPA DE PURIFICACION DEL DIBROMURO DE ETILENO OBTENIDO A PARTIR DE LA BROMACION DEL ETILENO	(Tt)	E10/24
CONDENSADOS ORGANICOS DE LA COLUMNA DE RECUPERACION DE SOLVENTES EN LA PRODUCCION DE DIISOCIANATO DE TOLUENO VIA FOSGENACION DE LA TOLUENDIAMINA	(Tt)	E10/25
RESIDUOS DE CENTRIFUGACION Y DESTILACION EN LA PRODUCCION DE DIISOCIANATO DE TOLUENO VIA FOSGENACION DE LA TOLUENDIAMINA	(R,Tt)	E10/26
FONDOS DE LA TORRE DE SEPARACION DE PRODUCTOS EN LA PRODUCCION DE 1,1-DIMETIL HIDRACINA A PARTIR DE HIDRACINAS DE ACIDO CARBOXILICO	(C,Tt)	E10/27
CABEZAS CONDENSADAS DE LA COLUMNA DE SEPARACION DE PRODUCTOS Y GASES CONDENSADOS DEL VENTEO DEL REACTOR EN LA PRODUCCION DE 1,1-DIMETIL HIDRACINA A PARTIR DE HIDRACINAS DE ACIDO CARBOXILICO	(Tt,I)	E10/28
CARTUCHOS DE LOS FILTROS AGOTADOS DE LA PURIFICACION DE LA 1,1-DIMETIL HIDRACINA OBTENIDA A PARTIR DE HIDRACINAS DE ACIDO CARBOXILICO	(Tt)	E10/29
CABEZAS CONDENSADAS DE LA COLUMNA DE SEPARACION DE INTERMEDIOS EN LA PRODUCCION DE 1,1-DIMETIL HIDRACINA A PARTIR DE HIDRACINAS DE ACIDO CARBOXILICO	(Tt)	E10/30
RESIDUOS PROVENIENTES DEL LAVADO DE DINITROTOLUENO OBTENIDO A PARTIR DE LA NITRACION DE TOLUENO	(C,Tt)	E10/31
FONDOS PESADOS DE LA COLUMNA DE PURIFICACION DE LA EPICLORHIDRINA	(Tt)	E10/32
FONDOS PESADOS (BREA) DE LA ETAPA DE DESTILACION EN LA PRODUCCION DE FENOL/ACETONA A PARTIR DEL CUMENO	(Tt)	E10/33
RESIDUO DE CATALIZADOR AGOTADO DE ANTIMONIO EN SOLUCION ACUOSA EN LA PRODUCCION DE FLUOROMETANOS	(Tt)	E10/34
COLAS DE LAS DESCARGAS EN LA PRODUCCION DE METIL ETIL PIRIDINAS	(Tt)	E10/35



CORRIENTES COMBINADAS DE AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCION DE NITROBENCENO/ANILINA	(Tt)	E10/36
FONDOS DE LA DESTILACION EN LA PRODUCCION DE NITROBENCENO MEDIANTE LA NITRACION DEL BENCENO	(Tt)	E10/37
FONDOS PESADOS O PRODUCTOS RESIDUALES DE LA ETAPA DE DESTILACION EN LA PRODUCCION DE TETRACLORURO DE CARBONO	(Tt)	E10/38
AGUA DE REACCION (SUBPRODUCTO) DE LA COLUMNA DE SECADO EN LA PRODUCCION DE TOLUENDIAMINA VIA HIDROGENACION DE DINITROTOLUENO	(Tt)	E10/39
FONDOS LIGEROS LIQUIDOS CONDENSADOS DE LA ETAPA DE PURIFICACION DE LA TOLUENDIAMINA OBTENIDA A TRAVES DE LA HIDROGENACION DE DINITROTOLUENO	(Tt)	E10/40
VECINALES DE LA ETAPA DE PURIFICACION DE LA TOLUENDIAMINA OBTENIDA A TRAVES DE LA HIDROGENACION DE DINITROTOLUENO	(Tt)	E10/41
FONDOS PESADOS DE LA ETAPA DE PURIFICACION DE LA TOLUENDIAMINA OBTENIDA A TRAVES DE LA HIDROGENACION DE DINITROTOLUENO	(Tt)	E10/42
FONDOS DE LA DESTILACION EN LA PRODUCCION DE ALFA- (O METIL-) CLORO TOLUENOS, CLORO TOLUENOS CON RADICALES CICLICOS, CLORUROS DE BENZOILO Y MEZCLAS DE ESTOS GRUPOS FUNCIONALES. (ESTE RESIDUO NO INCLUYE FONDOS DE LA DESTILACION DE CLORURO DE BENZOILO)	(Tt)	E10/43
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES, EXCLUYENDO LODOS DE NEUTRALIZACION Y BIOLÓGICOS, GENERADOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCION DE TOLUENOS CLORADOS	(Tt)	E10/44
RESIDUOS ORGANICOS, EXCLUYENDO CARBON ADSORBENTE GASTADO, DEL CLORO GASEOSO GASTADO Y DEL PROCESO DE RECUPERACION DE ACIDO HIDROCLORICO ASOCIADO CON LA PRODUCCION DE ALFA- (O METIL-) CLORO TOLUENOS, CLORO TOLUENOS CON RADICALES CICLICOS, CLORUROS DE BENZOILO Y MEZCLAS DE ESTOS GRUPOS FUNCIONALES	(Tt)	E10/45
CATALIZADORES GASTADOS DEL REACTOR DE HIDROCLORACION EN LA PRODUCCION DE 1,1,1-TRICLOROETANO	(Tt)	E10/46
FONDOS DE LA ETAPA DE DESTILACION EN LA PRODUCCION DE 1,1,1-TRICLOROETANO	(Tt)	E10/47
FONDOS PESADOS DE LA COLUMNA DE DESTILACION DE PRODUCTOS PESADOS EN LA PRODUCCION DE 1,1,1-TRICLOROETANO	(Tt)	E10/48
RESIDUOS DEL LAVADOR CON VAPOR DEL PRODUCTO EN LA PRODUCCION DE 1,1,1-TRICLOROETANO	(Tt)	E10/49
FONDOS O RESIDUOS PESADOS DE LAS TORRES EN EL PROCESO DE PRODUCCION DE TRICLOROETILENO	(Tt)	E10/50

LISTADO 2

CLASIFICACION DE RESIDUOS PELIGROSOS POR FUENTE NO ESPECIFICA

Residuo	CPR	Clave
RESIDUOS DEL MANEJO DE LA FIBRA DE ASBESTO PURO, INCLUYENDO POLVO, FIBRAS Y PRODUCTOS FACILMENTE DESMENUZABLES CON LA PRESION DE LA MANO (TODOS LOS RESIDUOS QUE CONTENGAN ASBESTO EL CUAL NO ESTE SUMERGIDO O FIJO EN UN AGLUTINANTE NATURAL O ARTIFICIAL)	(Tt)	NE 01
TODAS LAS BOLSAS QUE HAYAN TENIDO CONTACTO CON LA FIBRA DE ASBESTO, ASI COMO LOS MATERIALES FILTRANTES PROVENIENTES DE LOS EQUIPOS DE CONTROL COMO SON: LOS FILTROS, MANGAS, RESPIRADORES PERSONALES Y OTROS, QUE NO HAYAN RECIBIDO UN TRATAMIENTO PARA ATRAPAR LA FIBRA EN UN AGLUTINANTE NATURAL O ARTIFICIAL	(Tt)	NE 02
TODOS LOS RESIDUOS PROVENIENTES DE LOS PROCESOS DE MANUFACTURA CUYA MATERIA PRIMA SEA EL ASBESTO Y LA FIBRA SE ENCUENTRE EN FORMA LIBRE, POLVO O FACILMENTE DESMENUZABLE CON LA PRESION DE LA MANO	(Tt)	NE 03
LODOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE APAGADO DE LAS OPERACIONES DE TRATAMIENTO TERMICO DE METALES DONDE LOS CIANUROS SON USADOS EN LOS PROCESOS	(Tt)	NE 04
LODOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE OPERACIONES DE GALVANOPLASTIA EXCEPTO DE LOS SIGUIENTES PROCESOS: (1) ANODIZACION DE ALUMINIO EN ACIDO SULFURICO; (2) ESTAÑADO EN ACERO AL CARBON; (3) ZINCADO EN ACERO AL CARBON; (4) DEPOSITACION DE ALUMINIO O ZINC-ALUMINIO EN ACERO AL CARBON; (5) LIMPIEZA ASOCIADA CON ESTAÑADO, ZINCADO O ALUMINADO EN ACERO AL CARBON; Y (6) GRABADO QUIMICO Y ACABADO DE ALUMINIO DEPOSITADO EN ACERO AL CARBON	(Tt)	NE 05
LODOS DE LOS BAÑOS DE ANODIZACION DEL ALUMINIO Y LODOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DEL REVESTIMIENTO DE ALUMINIO POR CONVERSION QUIMICA	(Tt)	NE 06
RESIDUOS DE LOS BAÑOS EN OPERACIONES DE GALVANOPLASTIA DONDE LOS CIANUROS SON USADOS EN LOS PROCESOS	(R,Tt)	NE 07
SOLUCIONES GASTADAS DE BAÑOS DE CIANURO DE LAS OPERACIONES DE GALVANOPLASTIA	(R,Tt)	NE 08



SOLUCIONES GASTADAS DE LOS BAÑOS DE LIMPIEZA Y EN OPERACIONES DE GALVANOPLASTIA DONDE LOS CIANUROS SON USADOS EN LOS PROCESOS	(R,Tt)	NE 09
RESIDUOS DE LOS BAÑOS DE ACEITE EN LAS OPERACIONES DE TRATAMIENTO TERMICO DE METALES	(R,Tt)	NE 10
SOLUCIONES GASTADAS DE CIANUROS DE LA LIMPIEZA DE TANQUES DE BAÑOS DE SAL EN LAS OPERACIONES DE TRATAMIENTO TERMICO DE METALES	(R,Tt)	NE 11
RESIDUOS GENERADOS EN LA PRODUCCION DE TRI-, TETRA- O PENTACLOROFENOL	(Th)	NE 12
RESIDUOS DE TETRA-, PENTA O HEXACLOROBENCENO PROVENIENTES DE SU USO COMO REACTANTE, PRODUCTO INTERMEDIO O COMPONENTE DE UNA FORMULACION, BAJO CONDICIONES ALCALINAS	(Th)	NE 13
RESIDUOS, EXCEPTO AGUAS RESIDUALES Y CARBON GASTADO DE LA PURIFICACION DE CLORURO DE HIDROGENO, DE LA PRODUCCION DE MATERIALES EN EQUIPOS PREVIAMENTE USADOS EN LA MANUFACTURA (COMO REACTIVO, PRODUCTO QUIMICO INTERMEDIO O COMPONENTE EN UN PROCESO DE FORMULACION) DE TRI- Y TETRACLOROFENOLES. ESTE RESIDUO NO INCLUYE DESECHOS DE EQUIPOS UTILIZADOS EN LA PRODUCCION O USO DE HEXACLOROFENO A PARTIR DEL 2,4,5-TRICLOROFENOL ALTAMENTE PURIFICADO	(Th)	NE 14
FONDOS LIGEROS CONDENSADOS, FILTROS GASTADOS Y FILTROS AYUDA Y RESIDUOS DE DESECANTE GASTADO DE LA PRODUCCION DE CIERTOS HIDROCARBUROS ALIFATICOS CLORADOS A TRAVES DE LOS PROCESOS CATALITICOS DE RADICALES LIBRES. ESTOS HIDROCARBUROS ALIFATICOS CLORADOS SON AQUELLOS CON CADENAS DE UNO HASTA CINCO CARBONOS Y QUE CONTIENEN CLORO EN CANTIDADES Y SUSTITUCIONES VARIADAS	(Tt)	NE 15
RESIDUOS DE LA PRODUCCION DE MATERIALES EN EQUIPOS PREVIAMENTE USADOS EN LA PRODUCCION O MANUFACTURA DE TETRA-, PENTA- O HEXACLOROBENCENOS (COMO REACTIVO, PRODUCTO QUIMICO INTERMEDIO O COMPONENTE EN UN PROCESO DE FORMULACION) BAJO CONDICIONES ALCALINAS, EXCEPTO AGUAS RESIDUALES Y CARBON GASTADO DE LA PURIFICACION DE CLORURO DE HIDROGENO	(Th)	NE 16
RESIDUALES DE PROCESO, FORMULACIONES GASTADAS DE PROCESOS DE PRESERVACION DE LA MADERA EN PLANTAS QUE UTILIZAN ACTUALMENTE O HAYAN UTILIZADO FORMULACIONES DE CLOROFENOL, EXCEPTO AQUELLOS QUE NO HAYAN ESTADO EN CONTACTO CON CONTAMINANTES DE PROCESO	(Tt)	NE 17
RESIDUALES DE PROCESO Y FORMULACIONES GASTADAS DE PROCESOS DE PRESERVACION DE LA MADERA EN PLANTAS QUE UTILICEN FORMULACIONES DE CREOSOTA, EXCEPTO AQUELLOS QUE NO HAYAN ESTADO EN CONTACTO CON CONTAMINANTES DE PROCESO	(Tt)	NE 18
RESIDUALES DE PROCESO Y FORMULACIONES GASTADAS DE PROCESOS DE PRESERVACION DE LA MADERA EN PLANTAS QUE UTILICEN FORMULACIONES INORGANICAS QUE CONTENGAN ARSENICO O CROMO PARA PRESERVAR LA MADERA, EXCEPTO AQUELLOS QUE NO HAYAN ESTADO EN CONTACTO CON CONTAMINANTES DE PROCESO	(Tt)	NE 19
LIXIVIADOS (LIQUIDOS QUE HAN PERCOLADO A TRAVES DE RESIDUOS DISPUESTOS EN TIERRA) RESULTANTES DE LA DISPOSICION DE UNO O MAS DE LOS RESIDUOS PELIGROSOS SEÑALADOS EN ESTA NORMA	(Tt)	NE 20
RESIDUOS RESULTANTES DE LA INCINERACION O DE TRATAMIENTO TERMICO DE SUELOS CONTAMINADOS CON LOS RESIDUOS PELIGROSOS CON CLAVES NE 12, NE 13, NE 14 Y NE 16	(Tt)	NE 21

LISTADO 3

CLASIFICACION DE RESIDUOS PELIGROSOS RESULTADO DEL DESECHO DE PRODUCTOS QUIMICOS FUERA DE ESPECIFICACIONES O CADUCOS (TOXICOS AGUDOS)

No. CAS	Nombre	CPR	Clave
5344□82□1	1-(o-Clorofenil)tiourea/2-Clorofeniltiourea	(Th)	H026
58-90-2	2,3,4,6-Tetraclorofenol	(Th)	H1000
95-95-4	2,4,5-Triclorofenol	(Th)	H1001
93-76-5	2,4,5-Triclorofenoxiacético, ácido/2,4,5-T	(Th)	H1002
88-06-2	2,4,6-Triclorofenol	(Th)	H1003
51□28□5	2,4-Dinitrofenol	(Th)	H048
131□89□5	2-Ciclohexil-4,6-dinitrofenol	(Th)	H034
542□76□7	3-Cloropropionitrilo	(Th)	H027
(1) 534□52□1	4,6-Dinitro-o-cresol, y sales	(Th)	H047
504□24□5	4-Aminopiridina	(Th)	H008
2763□96□4	5-(Aminometil)-3-isoxazolol	(Th)	H007
591□08□2	Acetamida, G1159N-(aminotioxometil)-/1-Acetil-2-tiourea	(Th)	H002
107□02□8	Acroleína/2-Propenal	(Th)	H003
116□06□3	Aldicarb	(Th)	H070
1646□88□4	Aldicarb sulfona	(Th)	H203



309□00□2	Aldrín	(Th)	H004
122□09□8	alfa, alfa-Dimetilfenetilamina/Bencenoetanamina, alfa, alfa-dimetil	(Th)	H046
86□88□4	alfa-Naftiltiourea/Tiourea, 1-naftalenil	(Th)	H072
107□18□6	Alílico, alcohol/2-Propen-1-ol	(Th)	H005
20859□73□8	Aluminio, fosfuro de	(R,Th)	H006
131□74□8	Amonio, picrato de/Fenol, 2,4,6-trinitro-, amonio sal	(R,Th)	H009
7803□55□6	Amonio, vanadato de	(Th)	H119
7778□39□4	Arsénico, ácido H ₃ AsO ₄	(Th)	H010
1327□53□3	Arsénico, óxido As ₂ O ₃	(Th)	H012
1303□28□2	Arsénico, óxido As ₂ O ₅	(Th)	H011
75□55□8	Aziridina, 2-Metil-/1,2-Propilenimina	(Th)	H067
151□56□4	Aziridina/Etilenoimina	(Th)	H054
542□62□1	Bario, cianuro de	(Th)	H013
108□98□5	Bencenotiol/Tiofenol	(Th)	H014
100□44□7	Benzilo, cloruro de/Clorometilbenceno	(Th)	H028
7440□41□7	Berilio, polvo de (todas las formas)	(Th)	H015
598□31□2	Bromoacetona/2-Propanona, 1-bromo-	(Th)	H017
357□57□3	Brucina	(Th)	H018
592□01□8	Calcio, cianuro de Ca(CN) ₂	(Th)	H021
1563□66□2	Carbofurano	(Th)	H127
75□15□0	Carbono, disulfuro de	(Th)	H022
55285□14□8	Carbosulfan	(Th)	H189
74□90□8	Cianhídrico, ácido	(Th)	H063
506□77□4	Cianógeno, cloruro de (CN)Cl	(Th)	H033
460□19□5	Cianógeno/Etanodinitrilo	(Th)	H031
----	Cianuro, sales solubles de (no especificadas de otra manera)	(Th)	H030
107□20□0	Cloracetaldehído	(Th)	H023
544□92□3	Cobre, cianuro de Cu(CN)	(Th)	H029
696□28□6	Diclorofenilarsina	(Th)	H036
542□88□1	Diclorometil éter/Metano, oxibis[cloro	(Th)	H016
60□57□1	Dieldrin	(Th)	H037
692□42□2	Dietilarsina	(Th)	H038
309□00□2	Aldrín	(Th)	H004
122□09□8	alfa, alfa-Dimetilfenetilamina/Bencenoetanamina, alfa, alfa-dimetil	(Th)	H046
86□88□4	alfa-Naftiltiourea/Tiourea, 1-naftalenil	(Th)	H072
107□18□6	Alílico, alcohol/2-Propen-1-ol	(Th)	H005
20859□73□8	Aluminio, fosfuro de	(R,Th)	H006
131□74□8	Amonio, picrato de/Fenol, 2,4,6-trinitro-, amonio sal	(R,Th)	H009
7803□55□6	Amonio, vanadato de	(Th)	H119
7778□39□4	Arsénico, ácido H ₃ AsO ₄	(Th)	H010
1327□53□3	Arsénico, óxido As ₂ O ₃	(Th)	H012
1303□28□2	Arsénico, óxido As ₂ O ₅	(Th)	H011
75□55□8	Aziridina, 2-Metil-/1,2-Propilenimina	(Th)	H067
151□56□4	Aziridina/Etilenoimina	(Th)	H054
542□62□1	Bario, cianuro de	(Th)	H013
108□98□5	Bencenotiol/Tiofenol	(Th)	H014
100□44□7	Benzilo, cloruro de/Clorometilbenceno	(Th)	H028
7440□41□7	Berilio, polvo de (todas las formas)	(Th)	H015
598□31□2	Bromoacetona/2-Propanona, 1-bromo-	(Th)	H017



357□57□3	Brucina	(Th)	H018
592□01□8	Calcio, cianuro de Ca(CN) ₂	(Th)	H021
1563□66□2	Carbofurano	(Th)	H127
75□15□0	Carbono, disulfuro de	(Th)	H022
55285□14□8	Carbosulfan	(Th)	H189
74□90□8	Cianhídrico, ácido	(Th)	H063
506□77□4	Cianógeno, cloruro de (CN)Cl	(Th)	H033
460□19□5	Cianógeno/Etanodinitrilo	(Th)	H031
----	Cianuro, sales solubles de (no especificadas de otra manera)	(Th)	H030
107□20□0	Cloracetaldehído	(Th)	H023
544□92□3	Cobre, cianuro de Cu(CN)	(Th)	H029
696□28□6	Diclorofenilarsina	(Th)	H036
542□88□1	Diclorometil éter/Metano, oxibis[cloro	(Th)	H016
60□57□1	Dieldrín	(Th)	H037
692□42□2	Dietilarsina	(Th)	H038
311□45□5	Dietil-p-nitrofenil fosfato/Fosfórico ácido, dietil 4-nitrofenil éster	(Th)	H041
55□91□4	Diisopropilfluorofosfato (DFP)/Fosforofluorhídrico ácido, bis(1-metiletil) éster	(Th)	H043
644□64□4	Dimetilán	(Th)	H191
60□51□5	Dimetoato	(Th)	H044
88-85-7	Dinoseb/Fenol, 2-(1-metilpropil)-4,6-dinitro	(Th)	H020
298□04□4	Disulfotón	(Th)	H039
541□53□7	Ditiobiuret	(Th)	H049
115□29□7	Endosulfan	(Th)	H050
145□73□3	Endotal	(Th)	H088
(1) 72□20□8	Endrín, y sus metabolitos	(Th)	H051
51□43□4	Epinefrina	(Th)	H042
(1) 57□24□9	Estricnín-10-ona, y sales/Estricnina, y sales	(Th)	H108
52□85□7	Famfur	(Th)	H097
62□38□4	Fenilmercurio, acetato de/Mercurio, (acetato-o)fenil-	(Th)	H092
103□85□5	Feniltiurea	(Th)	H093
57□47□6	Fisostigmina	(Th)	H204
57□64□7	Fisostigmina, salicilato de	(Th)	H188
7782□41□4	Fluorina	(Th)	H056
640□19□7	Fluoroacetamida/2-Fluoroacetamida	(Th)	H057
62□74□8	Fluoroacético, ácido, sal de sodio	(Th)	H058
298□02□2	Forato	(Th)	H094
23422□53□9	Formetanato, hidrocloreuro de	(Th)	H198
17702□57□7	Formparanato	(Th)	H197
7803□51□2	Fosfina/Fosfídrico, ácido	(Th)	H096
75□44□5	Fosgeno	(Th)	H095
76□44□8	Heptacloro	(Th)	H059
757□58□4	Hexaetil tetrafosfato/Tetrafosfórico, ácido, hexaetil éster	(Th)	H062
465□73□6	Isodrín	(Th)	H060
119□38□0	Isolan	(Th)	H192
15339□36□3	Manganeso dimetilditiocarbamato	(Th)	H196
64□00□6	M-cumenil metilcarbamato/3-Isopropilfenil n-metilcarbamato	(Th)	H202
628-86-4	Mercurio fulminato	(R,Th)	H065
60□34□4	Metil hidrazina	(Th)	H068
624□83□9	Metil isocianato/Metano, isocianato-	(Th)	H064
298□00□0	Metil paration/Fosforotioico ácido, o,o-dimetil o-(4-nitrofenil) éster	(Th)	H071
75□86□5	Metilactonitrilo/Propanonitrilo, 2-hidroxi-2-metil-	(Th)	H069
2032□65□7	Metiocarb.	(Th)	H199
1129□41□5	Metolcarb/Carbámico ácido, metil-, 3-metilfenil éster	(Th)	H190



16752□77□5	Metomil	(Th)	H066
315□8□4	Mexacarbato	(Th)	H128
(1) 54□11□5	Nicotina, y sales/Piridina, 3-(1-metil-2-pirrolidinil)-, (s)-, y sales	(Th)	H075
13463□39□3	Níquel carbonil Ni(CO) ₄ , (t-4)-	(Th)	H073
557□19□7	Níquel, cianuro de Ni(CN) ₂	(Th)	H074
10102□43□9	Nitrógeno, óxido de/Nítrico, óxido (NO)	(Th)	H076
10102□44□0	Nitrógeno, dióxido de	(Th)	H078
55□63□0	Nitroglicerina/1,2,3-Propanotriol, trinitrato de	(E,Th)	H081
62□75□9	n-Nitrosodimetilamina	(Th)	H082
4549□40□0	n-Nitrosometilvinilamina	(Th)	H084
297□97□2	o,o-dietil o-pirazinil fosforotioato	(Th)	H040
152□16□9	Octametilpirofosforamida/Difosforamida, octametil	(Th)	H085
20816□12□0	Osmio óxido OsO ₄ , (T-4)-	(Th)	H087
23135□22□0	Oxamil	(Th)	H194
56□38□2	Paration	(Th)	H089
106□47□8	p-Cloroanilina/Bencenamina, 4-cloro-	(Th)	H024
87-86-5	Pentaclorofenol	(Th)	H1004
506□64□9	Plata, cianuro de Ag(CN)	(Th)	H104
78□00□2	Plumbano, tetraetil-/Tetraetilo de plomo	(Th)	H110
100□01□6	p-Nitroanilina/Bencenamina, 4-nitro-	(Th)	H077
151□50□8	Potasio, cianuro de K(CN)	(Th)	H098
506□61□6	Potasio plata, cianuro de/Argentato(1-), bis(ciano-c)-, potasio	(Th)	H099
2631□37□0	Promecarb/Fenol, 3-metil-5-(1-metiletil)-, metil carbamato	(Th)	H201
107□12□0	Propanonitrilo	(Th)	H101
107□19□7	Propargil alcohol/2-Propin-1-ol	(Th)	H102
630□10□4	Selenourea	(Th)	H103
93-72-1	Silvex (2,4,5-TP)/Propanoico ácido, 2-(2,4,5-triclorofenoxi)-	(Th)	H1005
26628□22□8	Sodio, azida de	(Th)	H105
143□33□9	Sodio, cianuro de Na(CN)	(Th)	H106
1314□32□5	Talio, óxido de/Tálico, óxido Tl ₂ O ₃	(Th)	H113
12039□52□0	Talio, selenita de	(I,Th)	H114
7446□18□6	Talio, sulfato de	(I,Th)	H115
107□49□3	Tetraetilpirofosfato/Difosfórico ácido, tetraetil éster	(Th)	H111
3689□24□5	Tetraetilditiopirofosfato/Tiodifosfórico ácido, tetraetil éster	(Th)	H109
509□14□8	Tetranitrometano	(R,Th)	H112
39196□18□4	Tiofanax	(Th)	H045
79□19□6	Tiosemicarbazida/Hidrazinacarbotoioamida	(Th)	H116
26419□73□8	Tirpato	(Th)	H185
8001□35□2	Toxafeno	(Th)	H123
75□70□7	Triclorometanotiol	(Th)	H118
1314□62□1	Vanadio, óxido de V ₂ O ₅	(Th)	H120
(1) 81□81□2	Warfarina, y sales, cuando están presentes en concentraciones mayores que 0.3%	(Th)	H001
557□21□1	Zinc, cianuro de Zn(CN) ₂	(Th)	H121
1314□84□7	Zinc, fosfuro de Zn ₃ P ₂ , cuando está presente en concentraciones mayores que 10%	(R,Th)	H122
137-30-4	Ziram	(Th)	H205

1.- En el caso de familias de isómeros de compuestos orgánicos, sólo se menciona el nombre del grupo, todos los isómeros se deben considerar constituyentes tóxicos (p.e. diclorobencenos, incluye al 1,2 1,3 y 1,4 diclorobencenos).

2.- La llamada (1) indica el número CAS de un compuesto equivalente.

LISTADO 4



CLASIFICACION DE RESIDUOS PELIGROSOS RESULTADO DEL DESECHO DE PRODUCTOS QUIMICOS FUERA DE ESPECIFICACIONES O CADUCOS (TOXICOS CRONICOS)

57□97□6	7,12-Dimetilbenzo[a]antraceno	(Tt)	T094
30558-43-1	A2213/Etanimidotioico ácido, 2-(Dimetilamino)-n-hidroxi-2-oxo-, metil éster	(Tt)	T394
75-36-5	Acetilo, cloruro de	(C,R,Tt)	T006
98-86-2	Acetofenona/1-Fenil-etanona	(Tt)	T004
67-64-1	Acetona	(I,Tt)	T002
75-05-8	Acetonitrilo/2-Propanona	(I,Tt)	T003
79-06-1	Acilamida/2-Propanamida	(Tt)	T007
79□10□7	Acrílico ácido/2-Propenoico ácido	(I,Tt)	T008
107-13-1	Acilonitrilo/2-Propennitrilo	(Tt)	T009
80□15□9	alfa,alfa-Dimetil bencilhidroperóxido	(R,Tt)	T096
134□32□7	alfa-Naftilamina/1-Naftalenamina	(Tt)	T167
61□82□5	Amitrol/1H-1,2,4-Triazol-3-amina	(Tt)	T011
62-53-3	Anilina/Bencenamina	(I,Tt)	T012
492-80-8	Auramina	(Tt)	T014
115□02□6	Azaserina/L-serina, diazoacetato(éster)	(Tt)	T015
101-27-9	Barban	(Tt)	T280
71-43-2	Benceno	(I,Tt)	T019
72-43-5	Benceno, 1,1□-(2,2,2-tricloroetiliden)bis[4-metoxi-	(Tt)	T247
98-09-9	Bencensulfonilo, cloruro de	(C,R,Tt)	T020
22781-23-3	Bendiocarb	(Tt)	T278
22961-82-6	Bendiocarb fenol	(Tt)	T364
17804-35-2	Benomil	(Tt)	T271
98-87-3	Benzal, cloruro de/Diclorometilbenceno	(Tt)	T017
92-87-5	Benzidina/[1,1'-Bifenil]-4,4'-diamina	(Tt)	T021
56-55-3	Benzo(a)antraceno	(Tt)	T018
50-32-8	Benzo(a)pireno	(Tt)	T022
225-51-4	Benzo(c)acridina	(Tt)	T016
98-07-7	Benzotricloro/Triclorometilbenceno	(C,R,Tt)	T023
91□59□8	Beta-Naftilamina/2-Naftalenamina/2-Naftilamina	(Tt)	T168
101-55-3	Bromofenil fenil éter	(Tt)	T030
74-83-9	Bromometano/Bromuro de metilo	(Tt)	T029
75□60□5	Cacodílico, ácido	(Tt)	T136
13765□19□0	Calcio, cromato de	(Tt)	T032
111□54□6	Carbamoditioico, ácido, 1,2-etanodiilbis, sales y ésteres/Etilenbisditiocarbámico, ácido, sales y ésteres	(Tt)	T114
63□25□2	Carbaril	(Tt)	T279
10605□21□7	Carbendazim	(Tt)	T372
1563□38□8	Carbofurano fenol	(Tt)	T367
56□23□5	Carbono, tetracloruro de/Tetraclorometano	(Tt)	T211
353□50□4	Carbono, oxifluoruro de	(R,Tt)	T033
506□68□3	Cianógeno, bromuro de (CN)Br	(Tt)	T246
50□18□0	Ciclofosfamida	(Tt)	T058
110□82□7	Ciclohexano	(I,Tt)	T056
108□94□1	Ciclohexanona	(I,Tt)	T057
75□87□6	Cloral/Acetaldehído, tricloro	(Tt)	T034
305□03□3	Clorambucil	(Tt)	T035
57□74□9	Clordano, alfa y gamma isómeros	(Tt)	T036



13765□19□0	Calcio, cromato de	(Tt)	T032
111□54□6	Carbamoditioco, ácido, 1,2-etanodilbis, sales y ésteres/Etilenbisditiocarbámico, ácido, sales y ésteres	(Tt)	T114
63□25□2	Carbaril	(Tt)	T279
10605□21□7	Carbendazim	(Tt)	T372
1563□38□8	Carbofurano fenol	(Tt)	T367
56□23□5	Carbono, tetracloruro de/Tetraclorometano	(Tt)	T211
353□50□4	Carbono, oxifluoruro de	(R,Tt)	T033
506□68□3	Cianógeno, bromuro de (CN)Br	(Tt)	T246
50□18□0	Ciclofosfamida	(Tt)	T058
110□82□7	Ciclohexano	(l,Tt)	T056
108□94□1	Ciclohexanona	(l,Tt)	T057
75□87□6	Cloral/Acetaldehído, tricloro	(Tt)	T034
305□03□3	Clorambucil	(Tt)	T035
57□74□9	Clordano, alfa y gamma isómeros	(Tt)	T036
494□03□1	Clornafacina/Naftalenamina, n,n'-bis(2-Cloroetil)-	(Tt)	T026
108□90□7	Clorobenceno	(Tt)	T037
510□15□6	Clorobenzilato	(Tt)	T038
67□66□3	Cloroformo/Triclorometano	(Tt)	T044
107□30□2	Clorometil metil éter/Clorometoximetano	(Tt)	T046
8001-58-9	Creosota	(Tt)	T051
1319□77□3	Cresol (cresílico ácido)/Metilfenol	(Tt)	T052
218□01□9	Criseno	(Tt)	T050
4170□30□3	Crotonaldehído/2-Butenal	(Tt)	T053
98□82□8	Cumeno/Benceno, (1-metiletil)-	(Tt)	T055
20830□81□3	Daunomicina	(Tt)	T059
72-54-8	DDD	(Tt)	T060
50-29-3	DDT	(Tt)	T061
2303□16□4	Dialato	(Tt)	T062
53□70□3	Dibenz[a,h]antraceno	(Tt)	T063
189□55□9	Dibenzo[a,i]pireno	(Tt)	T064
84-74-2	Dibutil ftalato	(Tt)	T069
75□71□8	Diclorodifluorometano	(Tt)	T075
111-44-4	Dicloroetil éter/Etano, 1,1□-oxibis[2-cloro-	(Tt)	T025
108□60□1	Dicloroisopropil éter/Propano, 2,2'-oxibis[2-cloro-	(Tt)	T027
111□91□1	Diclorometoxi etano	(Tt)	T024
84□66□2	Dietil ftalato	(Tt)	T088
5952□26□1	Dietilen glicol, dicarbamato/Etanol, 2,2□-oxibis-, dicarbamato	(Tt)	T395
117-81-7	Dietilhexil ftalato	(Tt)	T028
56□53□1	Dietilstilbestero/Fenol, 4,4□-(1,2-dietil- 1,2-etenedil)bis-	(Tt)	T089
94□58□6	Dihidrosafrole	(Tt)	T090
131□11□3	Dimetil ftalato	(Tt)	T102
77□78□1	Dimetil sulfato/Sulfúrico ácido, Dimetil éster	(Tt)	T103
124□40□3	Dimetilamina/Metanamina, n-metil	(l,Tt)	T092
79□44□7	Dimetilcarbamil, cloruro de/Carbámico cloruro de, dimetil	(Tt)	T097
117□84□0	Di-n-octil ftalato	(Tt)	T107
621□64□7	Di-n-propilnitrosamina/1-Propanamina, n-nitroso-n-propil-	(Tt)	T111
142□84□7	Dipropilamina/1-Propanamina, n-propil-	(l,Tt)	T110
106□89□8	Epiclorohidrin/Oxirano, (clorometil)-2-	(Tt)	T041
18883□66□4	Estreptozotocina/D-glucosa, 2-deoxi-2-[[[(metilnitrosoamino)-carbonoil]amino]	(Tt)	T206
75□07□0	Etanal/Acetaldehído	(l,Tt)	T001
127□18□4	Eteno, tetracloro-	(Tt)	T210
51-79-6	Etil carbamato (uretano)/Carbámico ácido, etil éster	(Tt)	T238
60-29-7	Etil éter	(l,Tt)	T117
97-63-2	Etil metacrilato/2-Propenoico ácido, 2-metil-, etil éster	(Tt)	T118
62-50-0	Etil metanosulfonato/Metanosulfónico ácido, etil éster	(Tt)	T119



110□80□5	Etilen glicol monoetil éter/Etanol, 2-etoxi-	(Tt)	T359
107-06-2	Etileno dicloruro de/1,2-Dicloroetano	(Tt)	T077
96□45□7	Etilentiourea/2-imidazolidintiona	(Tt)	T116
75□34□3	Etilideno, dicloruro de/Etano 1,1-dicloro-	(Tt)	T076
141□78□6	Etilo, acetato de/Acético ácido, etil éster	(I,Tt)	T112
140□88□5	Etilo, acrilato de/2-Propenoico ácido, etil éster	(I,Tt)	T113
62□44□2	Fenacetina	(Tt)	T187
108□95□2	Fenol	(Tt)	T188
206□44□0	Fluoranteno	(Tt)	T120
7664□39□3	Fluorhídrico, ácido	(C,Tt)	T134
50□00□0	Formaldehído	(Tt)	T122
64□18□6	Fórmico, ácido	(C,Tt)	T123
1314□80□3	Fósforo, sulfuro de	(R,Tt)	T189
85□44□9	Ftálico anhídrido/1,3-Isobenzofurandiona	(Tt)	T190
98□01□1	Furfural	(I,Tt)	T125
110□00□9	Furfurano/Furan	(I,Tt)	T124
58-89-9	Gamma-BHC/Lindano	(Tt)	T129
118□74□1	Hexaclorobenceno	(Tt)	T127
87□68□3	Hexaclorobutadieno/1,3-Butadieno, 1,1,2,3,4,4-hexacloro	(Tt)	T128
77□47□4	Hexaclorociclopentadieno/1,3-Ciclopentadieno, 1,2,3,4,5,5-hexacloro-	(Tt)	T130
67□72□1	Hexacloroetano	(Tt)	T131
70□30□4	Hexaclorofeno/2,2□-Metilenobis[3,4,6-triclorofenol	(Tt)	T132
1888□71□7	Hexacloropropeno/1-Propeno, 1,1,2,3,3,3-hexacloro-	(Tt)	T243
302□01□2	Hidrazina	(R,Tt)	T133
1615□80□1	Hidrazina, 1,2-dietil-	(Tt)	T086
193□39□5	Indeno[1,2,3-cd]pireno	(Tt)	T137
78□83□1	Isobutil alcohol/1-Propanol, 2-metil-	(I,Tt)	T140
120□58□1	Isosafrola	(Tt)	T141
143□50□0	Kepona	(Tt)	T142
303□34□1	Lasiocarpina	(Tt)	T143
123□33□1	Maleica, hidracida/3,6-Piridazinediona, 1,2-dihidro-,	(Tt)	T148
108□31□6	Maleico, anhídrido/2,5-Furandiona	(Tt)	T147
109□77□3	Malononitrilo/Propanodinitrilo	(Tt)	T149
541□73□1	M-diclorobenceno/Benceno, 1,3-dicloro-	(Tt)	T071
148□82□3	Melfalan/L-fenilalanina, 4-[bis(2-Cloroetil)amino]	(Tt)	T150
7439-97-6	Mercurio (todas las formas)	(Tt)	T151
126□98□7	Metacrilonitrilo/2-Propenenitrilo, 2-metil	(I,Tt)	T152
67□56□1	Metanol	(I,Tt)	T154
91□80□5	Metapirileno	(Tt)	T155
79□22□1	Metil clorocarbonato/carbonoclorídico ácido, metil éster	(I,Tt)	T156
71-55-6	Metil cloroformo/1,1,1-tricloroetano	(Tt)	T226
78□93□3	Metil etil cetona (MEK)/2-butanona	(I,Tt)	T159
1338□23□4	Metil etil cetona peróxido/2-butanona, peróxido	(R,Tt)	T160
108□10□1	Metil isobutil cetona/4-Metil-2-pentanona/4-Metilpentanol	(I,Tt)	T161
80□62□6	Metil metacrilato/2-Propenoico ácido, 2-metil-, metil éster	(I,Tt)	T162
74-95-3	Metileno bromuro de	(Tt)	T068
75□09□2	Metileno cloruro de/Metano, dicloro-	(Tt)	T080



7500902	Metileno cloruro de/Metano, dicloro-	(Tt)	T080
74-87-3	Metilo cloruro de	(I,Tt)	T045
74-88-4	Metilo, yoduro de	(Tt)	T138
5600402	Metiltiouracilo	(Tt)	T164
2385-85-5	Mirex	(Tt)	T1000
5000707	Mitomicín C	(Tt)	T010
7002507	MNNG/Guanidina, n-metil-n'-nitro-n-nitroso-	(Tt)	T163
9102003	Naftaleno	(Tt)	T165
7103603	n-Butil alcohol/1-Butanol	(I,Tt)	T031
9809503	Nitrobenzeno	(I,Tt)	T169
111605407	n-Nitrosodietanolamina	(Tt)	T173
5501805	n-Nitrosodietilamina	(Tt)	T174
92401603	n-Nitrosodi-n-butilamina	(Tt)	T172
75907309	n-Nitroso-n-etilurea	(Tt)	T176
68409305	n-Nitroso-n-metilurea	(Tt)	T177
61505302	n-Nitroso-n-metiluretano/Carbámico ácido, metilnitroso-, etil éster	(Tt)	T178
10007504	n-Nitrosopiperidina/Piperidina, 1-nitroso	(Tt)	T179
93005502	n-Nitrosopirrolidina/Pirrolidina, 1-nitroso	(Tt)	T180
10701008	n-Propilamina/1-Propanamina	(I,Tt)	T194
328805802	o,o-dietil s-metil ditiofosfato	(Tt)	T087
95-57-8	o-Clorofenol/2-Clorofenol	(Tt)	T048
9505001	o-Diclorobenceno	(Tt)	T070
9505304	o-Toluidina	(Tt)	T328
636-21-5	o-Toluidina, hidrocloreuro de	(Tt)	T222
7502108	Oxirano/Etileno, óxido de	(I,Tt)	T115
76503404	Oxiranocarboxialdehído/Glicidilaldehído	(Tt)	T126
12306307	Paraldehído/1,3,5-Trioxano, 2,4,6-trimetil-	(Tt)	T182
5905007	p-Cloro-m-cresol/4-Cloro-3-metilfenol	(Tt)	T039
10604607	p-Diclorobenceno	(Tt)	T072
6001107	p-Dimetilaminoazobenceno	(Tt)	T093
60809305	Pentaclorobenceno	(Tt)	T183
7600107	Pentacloroetano	(Tt)	T184
8206808	Pentacloronitrobenzeno (PCNB)	(Tt)	T185
11008601	Piridina	(Tt)	T196
133503206	Plomo, subacetato/Plomo, bis(acetato-o)tetrahidroxitri-	(Tt)	T146
30100402	Plomo, acetato de	(Tt)	T144
744602707	Plomo, fosfato de	(Tt)	T145
10000207	p-Nitrofenol/4-Nitrofenol	(Tt)	T170
12204209	Profam/Carbámico ácido, fenil-, 1-metiletil éster	(Tt)	T373
2395005805	Pronamida	(Tt)	T192
78-87-5	Propileno, dicloruro de/1,2-Dicloropropano	(Tt)	T083
11402601	Propoxur/Fenol, 2-(1-metiletoxi)-, metilcarbamato	(Tt)	T411
5288808009	Prosulfocarb/Carbamotioico ácido, dipropil-, s-(fenilmetil) éster	(Tt)	T387
10604900	p-Toluidina	(Tt)	T353
5005505	Reserpina	(Tt)	T200
10804603	Resorcinol	(Tt)	T201
(1)8100702	Sacarina, y sales/1,2-Benzisotiazol-3(2h)-ona, 1,1-dióxido, y sales	(Tt)	T202
9405907	Safrole	(Tt)	T203



7783□00□8	Selenio, dióxido de	(Tt)	T204
7488□56□4	Selenio, sulfuro de SeS_2	(R,Tt)	T205
7783□06□4	Sulfhídrico, ácido	(Tt)	T135
563□68□8	Talio, acetato de	(I,Tt)	T214
6533□73□9	Talio, carbonato de/Carbonoico ácido, ditilio(1+) sal	(I,Tt)	T215
7791□12□0	Talio, cloruro de	(Tt)	T216
10102□45□1	Talio, nitrato de/Nítrico ácido, sal de talio (1+)	(I,Tt)	T217
127□18□4	Tetracloroetileno	(Tt)	T210
109□99□9	Tetrahidrofurano	(I,Tt)	T213
62□55□5	Tioacetamida/Etanotioamida	(Tt)	T218
59669□26□0	Tiodicarb	(Tt)	T410
23564□05□8	Tiofanato-metil	(Tt)	T409
74□93□1	Tiometano/Metanotiol	(I,Tt)	T153
62□56□6	Tiourea	(Tt)	T219
137□26□8	Tiram	(Tt)	T244
25376□45□8	Toluendiamina	(Tt)	T221
26471□62□5	Tolueno, diisocianato de	(R,Tt)	T223
108□88□3	Tolueno/Metilbenceno	(Tt)	T220
156-60-5	Trans-1,2-dicloroetileno/1,2-dicloroetileno	(Tt)	T079
2303□17□5	Trialato	(Tt)	T389
75-25-2	Tribromometano/Bromoformo	(Tt)	T225
79□01□6	Tricloroetileno	(Tt)	T228
75□69□4	Tricloromonofluorometano	(Tt)	T121
121□44□8	Trietilamina/Etanamina, n,n-dietil-	(I,Tt)	T404
72□57□1	Tripan, azul de	(Tt)	T236
126□72□7	Tris (2,3-dibromopropil) fosfato/1-propanol, 2,3-dibromo-, fosfato (3:1)	(Tt)	T235
66□75□1	Uracilo, mostaza de	(Tt)	T237
75□01□4	Vinilo, cloruro de/Cloroeteno	(Tt)	T043
(1) 81□81□2	Warfarina, y sales, cuando están presentes en concentraciones menores que 0.3%	(Tt)	T248
1330□20□7	Xileno, isómeros	(Tt)	T239
1314□84□7	Zinc, fosfuro de Zn_3P_2 , cuando está presente en concentraciones menores o iguales a 10%	(Tt)	T249

NOTAS:

- 1.- En el caso de familias de isómeros de compuestos orgánicos, sólo se menciona el nombre del grupo, todos los isómeros se deben considerar constituyentes tóxicos (p.e. diclorobencenos, incluye al 1,2 1,3 y 1,4 diclorobencenos).
- 2.- La llamada (1) indica el número CAS de un compuesto equivalente.

LISTADO 5

CLASIFICACION POR TIPO DE RESIDUOS, SUJETOS A CONDICIONES PARTICULARES DE MANEJO



Residuo	CPR	Clave
BATERIAS, CELDAS Y PILAS		
CELDAS DE DESECHO EN LA PRODUCCION DE BATERIAS NIQUEL-CADMIO	(T)	RP 1/01
PILAS O BATERIAS ZINC-OXIDO DE PLATA USADAS O DESECHADAS	(T)	RP 1/02
CATALIZADORES GASTADOS		
CATALIZADOR GASTADO CON OXIDOS DE FIERRO, CROMO Y POTASIO PROVENIENTES DEL REACTOR DE DESHIDROGENACION EN LA PRODUCCION DE ESTIRENO	(T)	RP 2/01
CATALIZADOR GASTADO DE CLORURO DE MERCURIO EN LA PRODUCCION DE CLORO	(T)	RP 2/02
CATALIZADOR GASTADO DE LA PURGA DE LA TORRE DE APAGADO EN LA PRODUCCION DE ACRILONITRILLO	(T)	RP 2/03
CATALIZADORES GASTADOS EN LA PRODUCCION DE MATERIALES PLASTICOS Y RESINAS SINTETICAS	(T)	RP 2/04
CATALIZADORES GASTADOS DE VEHICULOS AUTOMOTORES	(T,C)	RP 2/05
ESCORIAS		
ESCORIAS PROVENIENTES DEL HORNO DE FUNDICION DE CHATARRA EN LA PRODUCCION DE ALUMINIO	(T)	RP 3/01
ESCORIAS PROVENIENTES DEL HORNO ELECTRICO EN LA PRODUCCION DE FOSFORO	(T)	RP 3/02
ESCORIAS PROVENIENTES DEL HORNO EN LA PRODUCCION SECUNDARIA DE COBRE	(T)	RP 3/03
ESCORIAS PROVENIENTES DEL HORNO EN LA PRODUCCION SECUNDARIA DE PLOMO	(T)	RP 3/04
LODOS		
ACABADO DE METALES Y GALVANOPLASTIA		
LODOS DE LOS TANQUES DE ENFRIAMIENTO CON ACEITES UTILIZADOS EN LAS OPERACIONES DE TRATAMIENTO EN CALIENTE DE METALES	(T)	RP 4/01
LODOS PROVENIENTES DE LAS OPERACIONES DE DECAPADO O DEL DESENGRASADO	(T)	RP 4/02
LODOS PROVENIENTES DE LOS BAÑOS DE CADMIZADO, COBRIZADO, CROMADO, ESTAÑADO, FOSFATIZADO, LATONADO, NIQUELADO, PLATEADO, TROPICALIZADO O ZINCADO DE PIEZAS METALICAS	(T,C)	RP 4/03
BENEFICIO DE METALES		
LODOS DEL ANODO ELECTROLITICO EN LA PRODUCCION PRIMARIA DE ZINC	(T)	RP 4/04
LODOS DEL EQUIPO DE CONTROL DE EMISIONES DE HORNOS ELECTRICOS EN LA PRODUCCION DE HIERRO Y ACERO	(T)	RP 4/05
LODOS DEL LAVADOR DE GASES EN LA FUNDICION Y REFINADO DE ALUMINIO	(T)	RP 4/06
LODOS DE LA MANUFACTURA DE ALEACIONES DE NIQUEL	(T)	RP 4/07
LODOS DE LAS PURGAS DE LAS PLANTAS DE ACIDO EN LA PRODUCCION PRIMARIA DE COBRE	(T)	RP 4/08
LODOS DEL EQUIPO DE CONTROL DE EMISIONES DE LA PRODUCCION DE FERROALEACIONES DE HIERRO-CROMO-SILICIO	(T)	RP 4/09
LODOS PROVENIENTES DE LA LAGUNA DE EVAPORACION EN LA PRODUCCION PRIMARIA DE PLOMO	(T)	RP 4/10
LODOS DEL EQUIPO DE CONTROL DE EMISIONES DEL AFINADO EN LA PRODUCCION PRIMARIA DE PLOMO	(T)	RP 4/11
CURTIDURIA		
LODOS GENERADOS EN EL PROCESO DE DESENCALADO Y DEPILADO	(C,R)	RP 4/12
LODOS GENERADOS EN EL PROCESO DE PELAMBRE O DEPILADO (ENCALADO)	(C,R)	RP 4/13
LODOS GENERADOS EN LA ETAPA DE CURTIDO AL CROMO	(C)	RP 4/14
MATERIALES PLASTICOS Y RESINAS SINTETICAS		
LODOS DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LOS SISTEMAS DE LAVADO DE EMISIONES ATMOSFERICAS	(T)	RP 4/15
LODOS DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE MONOMEROS	(T,I)	RP 4/16
METALMECANICA		
LODOS GENERADOS EN LAS CASETAS DE APLICACION DE PINTURA	(T)	RP 4/17
LODOS PRODUCTO DE LA REGENERACION DE ACEITES DE ENFRIAMIENTO GASTADOS	(T)	RP 4/18
PETROLEO, GAS Y PETROQUIMICA		
LODOS DE LOS SEPARADORES API Y CARCAMOS EN LA PRODUCCION DE PETROQUIMICOS	(T,I)	RP 4/19
PINTURAS Y PRODUCTOS RELACIONADOS		
LODOS DE DESTILACION DE SOLVENTES	(T)	RP 4/20



LODOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES		
ACABADO DE METALES Y GALVANOPLASTIA		
LODOS DE TRATAMIENTO DE LAS AGUAS RESIDUALES PROVENIENTES DE LAS OPERACIONES DE ENJUAGUE DE PIEZAS METÁLICAS PARA REMOVER SOLUCIONES CONCENTRADAS	(T)	RP 5/01
PILAS Y BATERIAS		
LODOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCION DE BATERIAS PLOMO-ACIDO	(T)	RP 5/02
LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCION DE BATERIAS NIQUEL-CADMIO	(T)	RP 5/03
QUIMICA INORGANICA		
LODOS DEL TRATAMIENTO DE LAS AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCION DE ACIDO FLUORHIDRICO	(T)	RP 5/04
POLVOS		
BENEFICIO DE METALES		
POLVOS DEL EQUIPO DE CONTROL DE EMISIONES DE HORNOS ELECTRICOS EN LA PRODUCCION DE HIERRO Y ACERO	(T)	RP 6/01
POLVOS DEL EQUIPO DE CONTROL DE EMISIONES DEL AFINADO EN LA PRODUCCION PRIMARIA DE PLOMO	(T)	RP 6/02
POLVOS DEL EQUIPO DE CONTROL DE EMISIONES DE LA PRODUCCION DE FERROALEACIONES DE HIERRO-CROMO	(T)	RP 6/03
POLVOS DEL EQUIPO DE CONTROL DE EMISIONES DE LA PRODUCCION DE FERROALEACIONES DE HIERRO-CROMO-SILICIO	(T)	RP 6/04
QUIMICA INORGANICA		
POLVOS RECUPERADOS EN EL PRECIPITADOR ELECTROSTATICO O CASA DE BOLSA EN LA PRODUCCION DE FOSFORO	(T)	RP 6/05
OTROS RESIDUOS		
ACABADO DE METALES Y GALVANOPLASTIA		
ACEITES GASTADOS EN LAS OPERACIONES DE TRATAMIENTO EN CALIENTE DE METALES	(T)	RP 7/01
SALES PRECIPITADAS DE LOS BAÑOS DE REGENERACION DE NIQUEL	(T)	RP 7/02
RESIDUOS CONTENIENDO MERCURIO DE LOS PROCESOS ELECTROLITICOS	(T)	RP 7/03
RESIDUOS DE CATALIZADORES AGOTADOS	(T,C)	RP 7/04
BENEFICIO DE METALES		
COLAS EN LAS PLANTAS DE MANUFACTURA DE FERROALEACIONES DE HIERRO-NIQUEL	(T)	RP 7/05
PURGAS DE LA PLANTA DE ACIDO EN LA PRODUCCION PRIMARIA DE ZINC	(T)	RP 7/06
RESIDUO DE LIXIVIADO DE LA PLANTA DE CADMIO EN LA PRODUCCION PRIMARIA DE ZINC	(T)	RP 7/07
COMPONENTES ELECTRONICOS		
RESIDUOS DE SOLDADURA EN LA PRODUCCION DE CIRCUITOS ELECTRONICOS QUE CONTENGAN PLOMO U OTROS METALES DE LA TABLA 2 DE ESTA NOM	(T)	RP 7/08
RESIDUOS DE SOLVENTES EMPLEADOS EN LA LIMPIEZA DE LAS PLACAS EN LA PRODUCCION DE CIRCUITOS ELECTRONICOS	(T)	RP 7/09
RESIDUOS GENERADOS EN LA PREPARACION DE PIGMENTOS MAGNETICOS Y EN LA PREPARACION DE LA MEZCLA DE COBERTURA EN LA PRODUCCION DE CINTAS MAGNETICAS	(T)	RP 7/10
RESIDUOS PROVENIENTES DEL RECUBRIMIENTO DE TUBOS ELECTRONICOS DURANTE LA PRODUCCION DE LOS MISMOS	(T)	RP 7/11
CURTIDURIA		
RESIDUOS QUE CONTIENEN CROMO POR ENCIMA DE LOS LMP DE LA TABLA 2 EXCEPTO SI: TODAS LAS SALES O SOLUCIONES UTILIZADAS EN EL PROCESO PRODUCTOR SEAN DE CROMO TRIVALENTE Y LOS RESIDUOS SE MANEJEN DURANTE TODO SU CICLO DE VIDA EN CONDICIONES NO OXIDANTES	(T)	RP 7/12



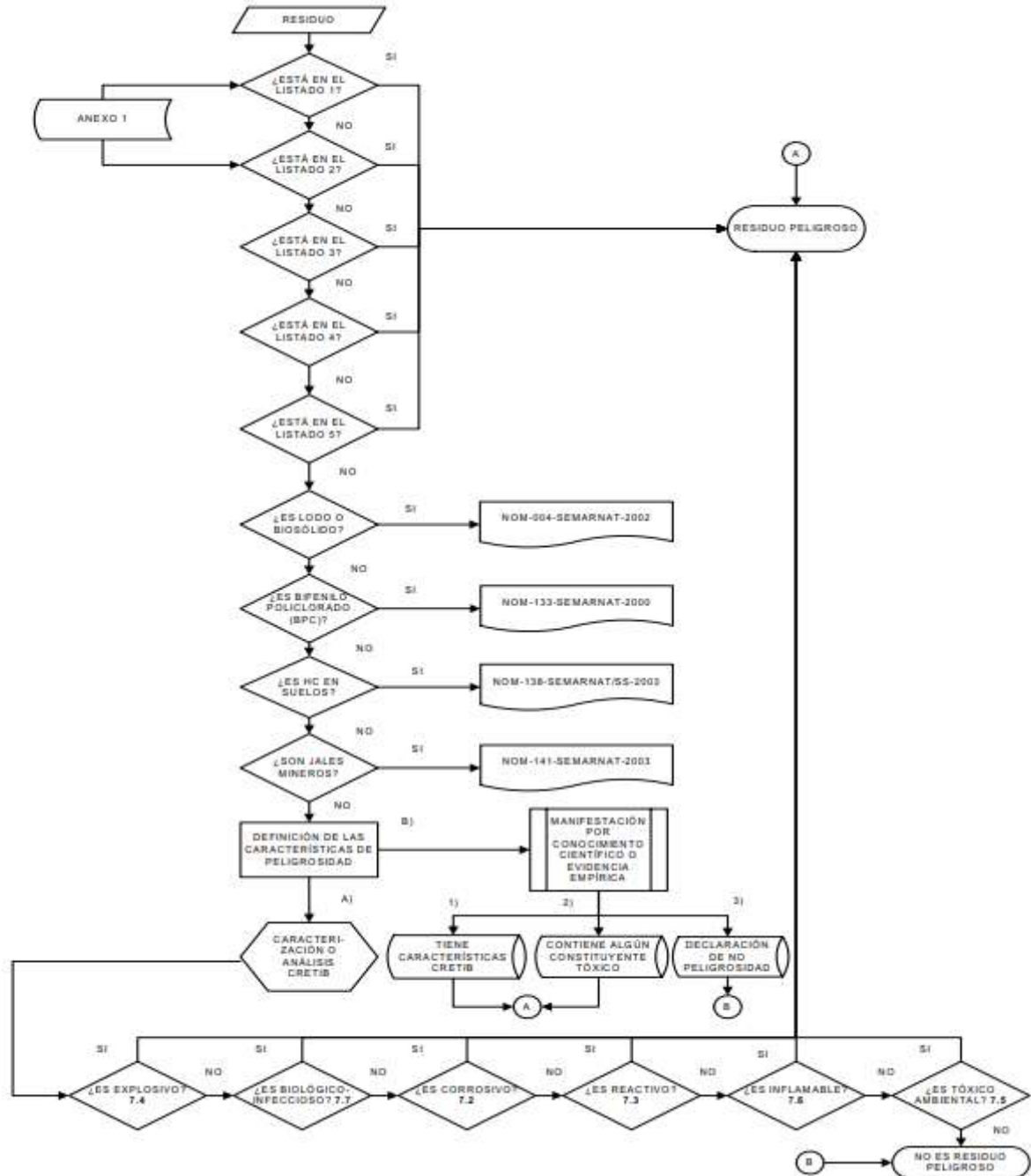
EXPLOSIVOS		
RESIDUOS DE ACIDOS GASTADOS DE LA MANUFACTURA DE DINAMITA Y POLVORA	(R,E)	RP 7/13
RESIDUOS DE LA MANUFACTURA DE CERILLOS Y PRODUCTOS PIROTECNICOS	(R,E)	RP 7/14
RESIDUOS DE LA MANUFACTURA DEL PROPELENTE SOLIDO	(R,E)	RP 7/15
MATERIALES PLASTICOS Y RESINAS SINTETICAS		
FONDOS DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE MONOMEROS EN LA PRODUCCION DE MATERIALES PLASTICOS Y RESINAS SINTETICAS	(T,I)	RP 7/16
METALMECANICA		
ACEITES GASTADOS DE CORTE Y ENFRIAMIENTO EN LAS OPERACIONES DE TROQUELADO, FRESADO, TALADRADO Y ESMERILADO	(T)	RP 7/17
CARBON ACTIVADO AGOTADO PROVENIENTE DEL SISTEMA DE EMISIONES DE LA CASETA DE PINTADO	(T)	RP 7/18
RESIDUOS DEL PROCESO DE EXTRUSION DE TUBERIA DE COBRE	(T)	RP 7/19
RESIDUOS DE LAS OPERACIONES DE LIMPIEZA ALCALINA O ACIDA	(C,T)	RP 7/20
PETROLEO, GAS Y PETROQUIMICA		
ACEITES SOLUBLES EN ACIDO (ASAS) PROVENIENTES DE LOS PROCESOS DE ALQUILACION DE HIDROCARBUROS	(I)	RP 7/21
AMINAS GASTADAS, FILTROS DE AMINA CONTAMINADA, LODOS DE AMINA, SOLUCION ACUOSA DE AMINA CONTAMINADA, PRODUCTOS DE LA DEGRADACION DE LA AMINA, ASI COMO SOLIDOS RECUPERADOS (FONDOS) PROVENIENTES DEL PROCESO DE ENDULZAMIENTO DEL GAS Y CONDENSADOS AMARGOS. OTROS PRODUCTOS DE LA DEGRADACION DE AMINAS DEL PROCESO DE ENDULZAMIENTO, CRACKING Y FRACCIONAMIENTO DE AZUFRE	(T)	RP 7/22
CLORADOS INTERMEDIOS PROVENIENTES DEL FONDO DE LA COLUMNA REDESTILADORA DE MONOMERO DE VINILO	(C,T,I)	RP 7/23
CLORADOS PESADOS PROVENIENTES DE LOS FONDOS DE LA COLUMNA DE PURIFICACION DE DICLOROETANO	(C,T,I)	RP 7/24
DERIVADOS HEXACLORADOS PROVENIENTES DE LOS FONDOS DE LA COLUMNA DE RECUPERACION DE PERCLOROETILENO	(T)	RP 7/25
POLIMERO DE LA PURGA DE LA TORRE DE APAGADO EN LA PRODUCCION DE ACRILONITRILLO	(T)	RP 7/26
RESIDUOS DE LA DESHIDROGENACION DEL N-BUTANO EN LA PRODUCCION DE BUTADIENO	(T)	RP 7/27
SEDIMENTO IMPREGNADO DE HIDROCARBUROS PROVENIENTES DE LAS CORRIDAS DE DIABLO	(T)	RP 7/28
SOSAS GASTADAS Y SOSAS FENOLICAS PROVENIENTES DE LOS PROCESOS DE ENDULZAMIENTO DE HIDROCARBUROS	(C,T)	RP 7/29
PILAS Y BATERIAS		
PASTA DE DESECHO EN LA PRODUCCION DE PILAS SECAS (CELDA PRIMARIAS-ALCALINAS Y ACIDAS)	(T)	RP 7/30
RESIDUOS DE LOS HORNOS DE LA PRODUCCION DE BATERIAS DE MERCURIO	(T)	RP 7/31
PINTURAS Y PRODUCTOS RELACIONADOS		
FELPAS IMPREGNADAS DE PIGMENTOS DE CROMO Y PLOMO	(T)	RP 7/32
RESIDUOS DE AGENTES SECANTES PARA PINTURAS, LACAS, BARNICES, MASILLAS PARA RESANAR Y PRODUCTOS DERIVADOS	(T)	RP 7/33
RESIDUOS DE DISOLVENTES EMPLEADOS EN EL LAVADO DE LOS EQUIPOS DE PROCESO	(T,C)	RP 7/34
RESIDUOS DE MONOMEROS AUTOPOLIMERIZABLES	(T,R)	RP 7/35
RESIDUOS DE RETARDADORES DE FLAMA	(T)	RP 7/36
RESIDUOS DEL EQUIPO DE CONTROL DE LA CONTAMINACION DELAIRE	(T)	RP 7/37
QUIMICA FARMACEUTICA		
CARBON ACTIVADO GASTADO DE LA PRODUCCION DE FARMOQUIMICOS Y MEDICAMENTOS QUE HAYA TENIDO CONTACTO CON PRODUCTOS QUE CONTENGAN CONSTITUYENTES TOXICOS DE LOS LISTADOS 3 Y 4 DE ESTA NORMA	(T)	RP 7/38



LOS MEDICAMENTOS FUERA DE ESPECIFICACIONES O CADUCOS QUE NO APAREZCAN EN LOS LISTADOS 3 Y 4 DE ESTA NORMA OFICIAL MEXICANA	(T)	RP 7/39
RESIDUOS BIOLÓGICOS NO INACTIVADOS DE LA PRODUCCIÓN DE BIOLÓGICOS Y HEMODERIVADOS	(B)	RP 7/40
RESIDUOS DE LA PRODUCCIÓN DE BIOLÓGICOS Y HEMODERIVADOS QUE CONTENGAN CONSTITUYENTES TÓXICOS DE LOS LISTADOS 3 Y 4 DE ESTA NORMA	(B)	RP 7/41
RESIDUOS DE LA PRODUCCIÓN DE FARMOQUÍMICOS Y MEDICAMENTOS QUE CONTENGAN CONSTITUYENTES TÓXICOS DE LOS LISTADOS 3 Y 4 DE ESTA NORMA	(T)	RP 7/42
QUÍMICA INORGÁNICA		
FILTRO AYUDA GASTADO (TORTAS DE FILTROS) EN LA PRODUCCIÓN DE FOSFORO Y PIGMENTOS DE CROMO Y DERIVADOS	(T)	RP 7/43
RESIDUOS DE LA PRODUCCIÓN DE CARBONIL DE NIQUEL	(T)	RP 7/44
QUÍMICA ORGÁNICA		
MEDIOS FILTRANTES GASTADOS DE LA PRODUCCIÓN DE 2,4,6-TRIBROMOFENOL	(T)	RP 7/45
RESIDUOS Y SUBPRODUCTOS DEL REACTOR EN LA PRODUCCIÓN DEL NITROBENCENO	(T)	RP 7/46
RESIDUOS DE LA DESTILACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE ANHÍDRIDO MALEICO	(T, C)	RP 7/47
RESIDUOS DE LA PRODUCCIÓN DE 2,4,6-TRIBROMOFENOL	(T)	RP 7/48
RESIDUOS DE LAS TORRES DE LAVADO DE GASES EN LA PRODUCCIÓN DE METIL ETIL PIRIDINA	(T)	RP 7/49
TEXTILES		
AGENTES MORDIENTES GASTADOS RESIDUALES	(T)	RP 7/50
RESIDUOS ÁCIDOS O ALCALINOS	(C)	RP 7/51
RESIDUOS DE ADHESIVOS Y POLÍMEROS	(T)	RP 7/52
RESIDUOS DE AGENTES ENLAZANTES Y DE CARBONIZACIÓN	(T)	RP 7/53
RESIDUOS PROVENIENTES DEL BLANQUEADO	(C,T)	RP 7/54
VARIOS		
CENIZAS DE INCINERACIÓN DE RESIDUOS	(T)	RP 7/55
GASOLINA, DIESEL Y NAFTAS GASTADOS O SUCIOS PROVENIENTES DE ESTACIONES DE SERVICIO Y TALLERES AUTOMOTRICES	(T)	RP 7/56
RESIDUOS DE LÍQUIDO BLANQUEADOR, FIJADOR, ESTABILIZADOR Y AGUAS DE ENJUAGUE PROVENIENTES DEL REVELADO DE PAPEL FOTOGRÁFICO, PLACAS RADIOGRÁFICAS O DE RAYOS X Y FOTOLITOS	(T)	RP 7/57
SOLUCIONES GASTADAS		
ACABADO DE METALES Y GALVANOPLASTIA		
SOLUCIONES GASTADAS DE LOS BAÑOS DE ANODIZACIÓN DEL ALUMINIO	(T)	RP 8/01
SOLUCIONES GASTADAS DE CIANURO DE LOS CRISOLES DE LIMPIEZA CON BAÑOS DE SALES EN LAS OPERACIONES DE TRATAMIENTO EN CALIENTE DE METALES	(R,T)	RP 8/02
SOLUCIONES GASTADAS PROVENIENTES DE LAS OPERACIONES DE DECAPADO	(T)	RP 8/03
SOLUCIONES GASTADAS PROVENIENTES DE LOS BAÑOS DE CADMIZADO, COBRIZADO, CROMADO, ESTAÑADO, FOSFATIZADO, LATONADO, NIQUELADO, PLATEADO, TROPICALIZADO O ZINCADO DE PIEZAS METÁLICAS	(T,C)	RP 8/04
BENEFICIO DE METALES		
SOLUCIÓN GASTADA DEL LAVADOR DE GASES QUE PROVIENE DEL PROCESO DEL AFINADO EN LA PRODUCCIÓN PRIMARIA DE PLOMO	(T)	RP 8/05
COMPONENTES ELECTRÓNICOS		
SOLUCIONES ÁCIDAS GASTADAS PROVENIENTES DE LA LIMPIEZA EN LA PRODUCCIÓN DE SEMICONDUCTORES	(T)	RP 8/06
SOLUCIONES GASTADAS PROVENIENTES DEL BAÑO DE PLAQUEADO EN LA PRODUCCIÓN DE CIRCUITOS ELECTRÓNICOS	(T)	RP 8/07
METALMECÁNICA		
SOLUCIONES GASTADAS DE LOS BAÑOS DE TEMPLADO PROVENIENTES DE LAS OPERACIONES DE ENFRIAMIENTO	(T)	RP 8/08
SOLUCIONES GASTADAS PROVENIENTES DE LA EXTRUSIÓN	(C,T)	RP 8/09
PRESERVACIÓN DE LA MADERA		
SOLUCIONES GASTADAS GENERADAS EN LOS PROCESOS DE PRESERVACIÓN DE LA MADERA	(T)	RP 8/10

FIGURA 1.

DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCEDIMIENTO PARA IDENTIFICAR LA PELIGROSIDAD DE UN RESIDUO (LISTADOS Y CARACTERIZACIÓN)



Para los residuos peligrosos de los Listados 1 y 2 se podrán solicitar Condiciones Particulares de Manejo, según lo establecido en el Reglamento.



BASES PARA LISTAR RESIDUOS PELIGROSOS POR “FUENTE ESPECIFICA” Y “FUENTE NO ESPECIFICA”, EN FUNCION DE SUS TOXICIDADES AMBIENTAL, AGUDA O CRONICA

Clave	Constituyentes por los que se listaron los residuos
E1/01	Cianuro (complejos)
E1/02	Cromo hexavalente, plomo
E1/03	Cromo hexavalente, plomo, cadmio
E1/04	Plomo, benceno, benzo(a)pireno, dibenz(a,h)antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, 3-metilclorantreno, 7,12-dimetilbenz(a)antraceno
E2/01	Arsénico, benceno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, cianuro, compuestos fenólicos, dibenz(a,h)antraceno, fenol, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno
E3/01	N.A.
E3/02	Plomo
E3/03	N.A.
E4/01	Benceno y arsénico
E4/02	Benceno, benzo(a)pireno, criseno, plomo, cromo
E4/03	Benceno, benzo(a)pireno, criseno, plomo, cromo
E4/04	Cromo hexavalente, plomo
E4/05	Plomo, benceno, benzo(a)pireno, dibenz(a,h)antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, 3-metilclorantreno, 7,12-dimetilbenz(a)antraceno.
E4/06	Cromo hexavalente
E4/07	Cromo hexavalente, plomo
E4/08	Cromo hexavalente, plomo
E4/09	Cloroformo, formaldehído, cloruro de metileno, cloruro de metilo, paraldehído, ácido fórmico
E4/10	Cloroformo, formaldehído, cloruro de metileno, cloruro de metilo, paraldehído, ácido fórmico, cloracetaldéhidó
E4/11	Clorometano, diclorometano, triclorometano, tetracloruro de carbono, cloroetileno, 1,1-dicloroetano, 1,2-dicloroetano, trans-1-1-dicloroetileno, 1,1-dicloroetileno, 1,1,1-tricloroetano, 1,1,2-tricloroetano, tricloroetileno, 1,1,1,2-tetracloroetano, 1,1,2,2-tetracloroetano, tetracloroetileno, pentacloroetano, hexacloroetano, cloruro de alilo (3-cloropropano), dicloropropano, dicloropropeno, 2-cloro-1,3-butadieno, hexacloro-1,3-butadieno, hexaclorociclopentadieno, hexaclorociclohexano, benceno, clorobenceno, diclorobencenos, 1,2,4-triclorobenceno, tetraclorobenceno, pentaclorobenceno, hexaclorobenceno, tolueno, naftaleno
E5/01	Plomo, cromo hexavalente
E6/01	Arsénico, hexaclorociclopentadieno, creosota, criseno, naftaleno, fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, benzo(a)antraceno, dibenz(a)antraceno, acenaftaleno tolueno, ésteres de ácidos fósforoditioico y fósforotioico, forato, formaldehído, toxafeno
E6/02	Arsénico, hexaclorociclopentadieno, clordano, heptacloro, tolueno, ésteres de ácidos fósforoditioico y fósforotioico, forato, formaldehído, 2,4-diclorofenol, 2,6-diclorofenol, 2,4,6-triclorofenol, toxafeno, etilentiourea, dimetil sulfato y bromuro de metilo
E7/01	Pentaclorofenol, fenol, 2-clorofenol, p-cloro-m-cresol, 2,4-dimetilfenil, 2,4-dinitrofenol, triclorofenoles, tetraclorofenoles, 2,4-dinitrofenol, creosota, criseno, naftaleno, fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, benzo(a)antraceno, dibenz(a)antraceno, acenaftaleno
E8/01	Arsénico
E8/02	Arsénico
E9/01	Arsénico, plomo
E9/02	Antimonio
E9/03	Mercurio
E9/04	Mercurio



E9/05	Cloroformo, tetracloruro de carbono, hexacloroetano, tricloroetano, tetracloroetileno, dicloroetileno, 1,1,2,2-tetracloroetano
E9/06	Cromo hexavalente, plomo
E9/07	Cromo hexavalente, plomo
E9/08	Cromo hexavalente
E9/09	Cromo hexavalente
E9/10	Cianuro (complejos), cromo hexavalente
E9/11	Cromo hexavalente, plomo
E9/12	Cromo hexavalente
E9/13	Talio
E10/01	Acilonitrilo, acetónitrilo, ácido cianhídrico
E10/02	Acilonitrilo, acetónitrilo, ácido cianhídrico
E10/03	Acetonitrilo, acrilamida
E10/04	Anhídrido ftálico, anhídrido maléico
E10/05	Anhídrido ftálico, 1,4-naftoquinona
E10/06	Anhídrido ftálico, anhídrido maléico
E10/07	Anhídrido ftálico
E10/08	Anilina, difenilamina, nitrobenzoceno, fenilenediamina
E10/09	Anilina, nitrobenzoceno, fenilenediamina
E10/10	Tetracloruro de carbono, formaldehído, cloruro de metilo, cloruro de metileno, piridina, trietilamina
E10/11	Benceno, butilato, eptc, molinato, pebulato, vernolato
E10/12	Benomil, carbendazim, carbofurán, carbosulfán, cloroformo, cloruro de metileno
E10/13	Benomil, carbaril, carbendazim, carbofurán, carbosulfán, formaldehído, cloruro de metileno, trietilamina
E10/14	Antimonio, arsénico, metam-sodio, ziram
E10/15	Benceno, diclorobencenos, triclorobencenos, tetraclorobencenos, pentaclorobenceno, hexaclorobenceno, cloruro de bencilo
E10/16	Benceno, monoclorobenceno, diclorobencenos, 2,4,6-triclorofenol
E10/17	Cloruro de bencilo, clorobenceno, tolueno, triclorobenceno
E10/18	1,2-dicloroetano, tricloroetileno, hexaclorobutadieno, hexaclorobenceno
E10/19	Dicloroetileno, 1,1,1-tricloroetano, 1,1,2-tricloroetano, tetracloroetanos (1,1,2,2-tetracloroetano y 1,1,1,2-tetracloroetano), tricloroetileno, tetracloroetileno, tetracloruro de carbono, cloroformo, cloruro de vinilo, cloruro de vinilideno
E10/20	1,2,3,4,6,7,8-Heptaclorodibenzo-p-dioxina (1,2,3,4,6,7,8-HpCDD), 1,2,3,4,6,7,8-Heptaclorodibenzofurano (1,2,3,4,6,7,8-HpCDF), 1,2,3,4,6,7,8,9-Heptaclorodibenzofurano (1,2,3,4,6,7,8,9-HpCDF, HxCDDs (todas las Hexaclorodibenzo-p-dioxinas), HxCDFs (todos los Hexaclorodibenzofuranos), PeCDDs (todas las pentaclorodibenzo-p-dioxinas), OCDD (1,2,3,4,6,7,8,9-Octaclorodibenzo-p-dioxina), OCDF (1,2,3,4,6,7,8,9-Octaclorodibenzofurano), PeCDFs (todos los pentaclorodibenzofuranos), TCDDs (todas las Tetraclorodibenzo-p-dioxinas), TCDFs (todos los tetraclorodibenzofuranos)
E10/21	Mercurio
E10/22	Dibromuro de etileno
E10/23	Dibromuro de etileno
E10/24	Dibromuro de etileno
E10/25	Tetracloruro de carbono, tetracloroetileno, cloroformo, fosgeno
E10/26	Diisocianato de tolueno, toluen-2,4-diamina
E10/27	1,1-Dimetilhidracina
E10/28	1,1-Dimetilhidracina
E10/29	1,1-Dimetilhidracina



E10/31	2,4 Dinitrotolueno
E10/32	Epiclorohidrina, cloroéteres [bis(clorometil)éter y bis(2-cloroetil)éteres], tricloropropano, dicloropropanoles
E10/33	Breas de fenol (hidrocarburos poliaromáticos)
E10/34	Antimonio, tetracloruro de carbono, cloroformo
E10/35	Paraldehído, piridinas, 2-picolina
E10/36	Anilina, benceno, difenilamina, nitrobenzoceno, fenilendiamina
E10/37	meta-Dinitrobenzoceno, 2,4-dinitrotolueno
E10/38	Hexaclorobenceno, hexaclorobutadieno, tetracloruro de carbono, hexacloroetano, percloroetileno
E10/39	2,4-Toluendiamina, o-toluidina, p-toluidina, anilina
E10/40	2,4-Toluendiamina, o-toluidina, p-toluidina, anilina
E10/41	2,4-Toluendiamina, o-toluidina, p-toluidina
E10/42	2,4-Toluendiamina
E10/43	Triclorobenceno, cloruro de bencilo, cloroformo, clorometano, clorobenceno, 1,4-diclorobenceno, hexaclorobenceno, pentaclorobenceno, 1,2,4,5-tetraclorobenceno, tolueno
E10/44	Benceno, tetracloruro de carbono, cloroformo, hexaclorobenceno, pentaclorobenceno, tolueno, 1,2,4,5-tetraclorobenceno, tetracloroetileno
E10/45	Tetracloruro de carbono, cloroformo, clorometano, 1,4-diclorobenceno, hexaclorobenceno, pentaclorobenceno, 1,2,4,5-tetraclorobenceno, 1,1,2,2-tetracloroetano, tetracloroetileno, 1,2,4-triclorobenceno
E10/46	1,1,1-tricloroetano, cloruro de vinilo
E10/47	1,1,2-tricloroetano, 1,1,1,2-tetracloroetano, 1,1,2,2-tetracloroetano
E10/48	1,2-dicloroetano, 1,1,1-tricloroetano, 1,1,2-tricloroetano
E10/49	1,2-dicloroetano, 1,1,1-tricloroetano, cloruro de vinilo, cloruro de vinilideno, cloroformo
E10/50	Hexaclorobenceno, hexaclorobutadieno, hexacloroetano, 1,1,1,2-tetracloroetano, 1,1,2,2-tetracloroetano, dicloruro de etileno
NE 01	Asbestos
NE 02	Asbestos
NE 03	Asbestos
NE 04	Cianuro (complejos)
NE 05	Cadmio, cromo hexavalente, níquel, cianuro (complejos)
NE 06	Cromo hexavalente, cianuro (complejos)
NE 07	Cianuro (sales)
NE 08	Cianuro (sales)
NE 09	Cianuro (sales)
NE 10	Cianuro (sales)
NE 11	Cianuro (sales)
NE 12	Pentaclorodibenzo-p-dioxinas, hexaclorodibenzo-p-dioxinas, pentaclorodibenzofuranos, hexaclorodibenzofuranos, pentaclorofenol y sus derivados
NE 13	Tetraclorodibenzo-p-dioxinas, pentaclorodibenzo-p-dioxinas, hexaclorodibenzo-p-dioxinas, tetraclorodibenzofuranos, pentaclorodibenzofuranos, hexaclorodibenzofuranos
NE 14	Tetraclorodibenzo-p-dioxinas, pentaclorodibenzo-p-dioxinas, tetraclorodibenzofuranos, pentaclorodibenzofuranos, triclorofenoles, tetraclorofenoles y sus derivados ácidos, ésteres, éteres, aminas y otras sales clorofenóxicas
NE 15	Clorometano, diclorometano, triclorometano, tetracloruro de carbono, cloroetileno, 1,1 dicloroetano, 1,2-dicloroetano, trans-1,2-dicloroetileno, 1,1-dicloroetileno, 1,1,1-tricloroetano, 1,1,2-tricloroetano, tricloroetileno, 1,1,1,2-tetracloroetano, 1,1,2,2-tetracloroetano, tetracloroetileno, pentacloroetano, hexacloroetano, cloruro de alilo (3-cloropropeno), dicloropropano, dicloropropeno, 2-cloro-1,3-butadieno, hexacloro-1,3-butadieno, hexaclorociclopentadieno, benceno, clorobenceno, diclorobenceno, 1,2,4-triclorobenceno, tetraclorobenceno, pentaclorobenceno, hexaclorobenceno, tolueno, naftaleno



NE 16	Tetraclorodibenzo-p-dioxinas, pentaclorodibenzo-p-dioxinas, hexaclorodibenzo-p-dioxinas, tetraclorodibenzofuranos, pentaclorodibenzofuranos, hexaclorodibenzofuranos
NE 17	Benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, dibenz(a,h)antraceno, indeno(1,2,3-cd)pireno, pentaclorofenol, arsénico, cromo, tetraclorodibenzo-p-dioxinas, pentaclorodibenzo-p-dioxinas, hexaclorodibenzo-p-dioxinas, heptaclorodibenzo-p-dioxinas, tetraclorodibenzofuranos, pentaclorodibenzofuranos, hexaclorodibenzofuranos, heptaclorodibenzofuranos
NE 18	Benzo(a)antraceno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenz(a,h)antraceno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno, arsénico, cromo
NE 19	Arsénico, cromo, plomo
NE 20	Todos los constituyentes que aparezcan en esta Norma Oficial Mexicana
NE 21	Tetraclorodibenzo-p-dioxinas, pentaclorodibenzo-p-dioxinas, hexaclorodibenzo-p-dioxinas, tetraclorodibenzofuranos, pentaclorodibenzofuranos, hexaclorodibenzofuranos, triclorofenoles, tetraclorofenoles, pentaclorofenoles y sus derivados ácidos, ésteres, éteres, aminas y otras sales clorofenóxicas

N.A.: No Aplica. Los residuos son peligrosos porque presentan características de Corrosividad, Reactividad, Explosividad y/o Inflamabilidad.