



**UNIVERSIDAD VERACRUZANA**  
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA  
BIOLÓGICA



# **GUIA DE FITOQUÍMICA (LABORATORIO)**

## ***Realizadores:***

*Dra. Ma. del Rosario Hernández Medel*

*Dra. Abril de los Ángeles Aguilar Tirado*

*MC. Vicente Velásquez Melgarejo*

*Dra. Lilia Mireya Méndez Ventura*

## ***Revisores:***

*Aquí van los profesores de la academia que revisen el manual*

# Información general

El presente documento es una orientación para realizar la parte correspondiente al Laboratorio del curso de la experiencia educativa (EE) Fitoquímica, curso que se ubica en el Área Terminal de Química Orgánica de la Facultad de Química Farmacobiológica, Campus Xalapa, de la Universidad Veracruzana.

En el semestre agosto-enero, el horario de esta EE es: miércoles y jueves de 7-10 am

El conocimiento químico sobre el origen, organización, diversidad estructural, reactividad, síntesis y propiedades de los productos naturales nos ayuda a entender las complejas relaciones químico-biológicas en la naturaleza. (Guillermo Delgado)

La Fitoquímica se encarga del estudio de los compuestos químicos presentes en las plantas, particularmente de los llamados metabolitos secundarios o productos naturales, que son aquellos característicos de una especie, de un género y/o de una familia vegetal.

El estado de Veracruz ocupa un lugar privilegiado en el país ya que cuenta con un gran potencial para desarrollar la investigación básica y aplicada en la Química de los Productos Naturales, en especial de aquellos con aplicaciones medicinales, pues los habitantes de distintas regiones han venido explotando de manera empírica los recursos naturales con fines terapéuticos obteniendo resultados sorprendentes sin que haya, en muchos de los casos, un respaldo científico de su uso.

No obstante, a la extensa y variada vegetación que posee, tanto estado como el país, hay poca información en esta área, en cambio en otras naciones ésta ha aumentado considerablemente en los últimos años, ya que la obtención de metabolitos secundarios con una posible actividad terapéutica ha adquirido una enorme importancia debido a la necesidad de encontrar nuevas y más efectivas drogas para el tratamiento de las diversas enfermedades existentes, incluyendo las que han resurgido recientemente. Baste mirar un ejemplar de las revistas, entre otras muchas, *Phytochemistry* y *Journal of Natural Products* (revistas que publican artículos relacionados con la obtención, elucidación estructural y actividades farmacológicas de los metabolitos secundarios aislados de productos naturales como plantas, hongos, algas, etc.), para darse cuenta de la cantidad de artículos que se editan mensualmente, de los cuales casi todos, por no decir el 100%, no son de instituciones mexicanas.

En este sentido, este manuscrito pretende dar una idea de la metodología del estudio de un producto natural de origen vegetal, haciendo énfasis en el aprovechamiento racional de nuestros recursos naturales renovables, con la finalidad de que el estudiante tenga un

panorama general sobre el tema, pues es una de las EE que conforman el área Terminal de Química Orgánica, del Programa de estudios de la Facultad de QFB.

### **Reportes de laboratorio:**

Con la elaboración del reporte se busca preparar al estudiante para que en el ejercicio de su carrera profesional pueda presentar informes de actividades, elaborar propuestas, reportar y analizar resultados confiables. Además, para elaborar este reporte, debe documentarse por lo cual, también, se le estimula a investigar sobre literatura relacionada con el área.

### **Contenido del reporte:**

1. Nombre de la práctica.
2. Introducción.  
En él se indica la finalidad de la práctica, se presenta de forma general un resumen de la teoría que se pretende corroborar con una descripción de la terminología usada en la práctica.
3. Antecedentes.  
Esta sección contiene toda la información necesaria para comprender el tema que se está revisando en la práctica.
4. Objetivos.
5. Parte experimental.  
Corresponde a lo que realmente se hizo en el laboratorio, evitando que sea una copia textual de la guía de laboratorio, las observaciones deben ser escritas de manera concisa, pero claras y redactadas de forma impersonal.
6. Observaciones y Resultados.  
En esta parte se describe lo que ha llamado la atención a lo largo de la práctica, junto con los resultados propiamente dichos. Se pueden reportar en forma de gráficos o tablas.
7. Discusión de resultados.  
Se presentan los argumentos teóricos comparados con los resultados experimentales obtenidos, analizando las diferencias de los datos teóricos con los experimentales, si los hubiera, indicando las posibles causas.
8. Conclusiones.  
Se expresan en forma resumida los resultados del análisis efectuado, derivado del trabajo experimental y de las interrogantes planteadas.
9. Bibliografía.

Se enlista el material bibliográfico consultado para la realización del reporte. A continuación, se muestran algunos ejemplos de cómo se debe reportar la bibliografía dependiendo de las fuentes más comunes.

- Libros

Autor o editor, (año de publicación), título, (edición), lugar de publicación, casa editora. Páginas consultadas.

Ejemplo:

Chang, R. (2010). Química, 10ª edición, México, D. F. Mc Graw Hill. Pp. 210-226.

- Revistas

Autores, (fecha de publicación). Título del artículo. Título de la revista, número del volumen y del ejemplar, número de las páginas del artículo.

Ejemplo:

Aguilar y Pineda (2009). Cáñamo: Una alternativa textil ecológica. Revista de Química Textil, No. 195, noviembre-diciembre 2009, 334-337.

- Medios electrónicos

Autor, (fecha de publicación), título, identificación de la referencia para acceder a la información (URLo DOI), URL (UniformResourceLocator). Dirección de internet

Ejemplo:

<http://www.cmpr.edu/biblioteca/docs/resena.pdf>

<http://library.nmu.edu/guides/userguides/styleapa.html>

10. Medidas de seguridad.

Incluir la información de seguridad de reactivos manejados en la práctica.

11. Disposición de reactivos.

Indicar las medidas tomadas para la disposición de los desechos generados en la práctica.

### Mecanismo evaluación:

La evaluación se llevará a cabo como se muestra a continuación:

Evidencia de desempeño	Criterio de desempeño	Porcentaje (%)
Asistencia	Presentarse al laboratorio con el material de seguridad para trabajar.	0 (Requisito, 80% asistencia)
Tarea de investigación	Evaluación del conocimiento, aprobación.	10
Reporte	Entregar la práctica en tiempo y forma, bajo el formato establecido con limpieza y orden.	10
Examen	Evaluación del conocimiento, aprobación	80
	Total	100

# Aislamiento y caracterización de furanocumarinas de una especie vegetal

Tiempo de duración: 12 sesiones de 3h c/u

El trabajo de laboratorio de Fitoquímica comprende todos los pasos que se realizan para el aislamiento, purificación y dilucidación estructural de metabolitos secundarios de origen vegetal, conjuntado en una sola práctica, repartida en diversas sesiones.

## 1. Objetivo de la práctica.

- a) Obtención del extracto clorofórmico crudo de *Dorstenia contrajerba*.
- b) Aislar furanocumarinas, los metabolitos mayoritarios, del extracto clorofórmico de *D. contrajerba*.
- c) Dilucidar las estructuras de los metabolitos aislados y purificados del extracto crudo de *D. contrajerba*.

## 2. Introducción.

El aislamiento, purificación y caracterización de un metabolito secundario es un trabajo que, con frecuencia, consume mucho tiempo por lo cual se emplearan las sesiones de laboratorio para alcanzar la meta de esta práctica que es la purificación y dilucidación estructural de furanocumarinas de un extracto crudo. Todo ello, con la finalidad de dar un panorama general de cual es la metodología que se sigue para estudiar un producto natural, desde la localización, recolección, secado y molienda del material vegetal por estudiar, para obtener un extracto, por maceración, con el cual se va a trabajar por cromatografía, capa delgada y columna abierta, para separar y purificar un metabolito secundario. Al hacer su estudio espectroscópico por RMN de los productos aislados, se cumplirán los objetivos de esta práctica.

## 3. Antecedentes.

*Dorstenia contrajerba* es una planta herbácea de la familia Moraceae, que en Medicina tradicional es utilizada para contrarrestar la picadura de animales ponzoñosos. De especies del género *Dorstenia* se han aislado psoralenos (furanocumarinas), además de algunos flavonoides, triterpenos y esteroides.

## 4. Parte experimental.

### a) Reactivos y materiales

Material vegetal, raíz y hoja

Disolvente: Cloroformo, metanol, acetato de etilo, hexano, éter etílico, etanol.

Material de vidrio:

- Pipetas Pasteur con su respectivo bulbo de latex, mínimo 2 por equipo.
- Vasos de pp de 50-100 mL, 2 por equipo.

- Probetas de 10, 20, 50 mL
- Capilares o micropipetas de capilares.
- Frascos Gerber, de preferencia de 113 g (papilla para bebe),
- Embudos de filtración rápida
- Picetas
- Papel filtro, Detergente, limpia pipas, lápiz, papel, etc.

#### Insumos

- Cromatoplasmas de gel de sílice
- Gel de sílice de 100-200 mesh
- Sulfato de sodio anhidro
- Cloruro de cobalto
- Ácido sulfúrico al 10%
- Lámpara de luz ultravioleta

### **b) Descripción de la práctica**

De acuerdo con la información bibliográfica, se recolectará el material vegetal por estudiar. Se separará en raíz, hoja y flor (si se encuentra) y se pesará. Se dejará secar en una estufa a 50°C por 4-5 días.

Una vez seca, se molera la hoja y la raíz se picará finamente y se volverá a pesar, por separado. El material ya molido se colocará a macerar con cloroformo la raíz y con metanol la hoja, en un frasco seco y con tapa, de preferencia protegido de la luz por una semana. Pasada esta, se filtrará y el filtrado se concentrará en un rotaevaporador. El concentrado se colocará en un frasco seco, previamente pesado.

El material vegetal se vuelve a colocar con  $\text{CHCl}_3$  y MeOH, raíz y hoja respectivamente, para continuar con la extracción por una semana más. Al cabo de la cual se hace el mismo procedimiento.

Una vez que se tiene el extracto, se procede a realizar cromatografía en capa delgada (ccd) y, posteriormente, cromatografía en columna abierta (cca).

La ccd se hará con cromatoplasmas de gel de sílice y la cca con gel de sílice.

Una vez que se hayan separado y purificado los metabolitos secundarios se obtiene su espectroscopía de RMN- $^1\text{H}$ , enviándose al SARA-UV (Unidad de Servicios de Apoyo en Resolución Analítica)

Se discuten las señales para caracterizar los compuestos y se realiza el reporte de la practica con todas las observaciones de la práctica.

### **6. Resultados.**

Se deben de obtener dos furanocumarinas del extracto clorofórmico de raíz de *D. contrajerva*

### **7. Discusión de resultados.**

La discusión se hará a lo largo de las sesiones

### **8. Conclusiones.**

Corresponde a la separación, purificación y elucidación de los metabolitos secundarios.

## 9. Bibliografía.

1. Dewick PM. 2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. Wiley & Sons
2. Biologically Active Natural Products: Ed. Cuttler and Cuttler. CRC Press. USA, 2000.
3. Cseke LJ, Kirakosyan A, Kaufman PB, Warber SL, Duke JA, Briemann HL. 2006. Natural Products from Plants. CRC Press, Taylor & Francis.
4. Domínguez XA. 1979. Métodos de Investigación Fitoquímica, Limusa, México. <https://es.scribd.com/document/120712585/metodos-de-investigacion-fitoquimica>
5. Peniche-Pavía HA, Vera-Ku M, Peraza-Sánchez SR. Phytochemical and Pharmacological Studies on Species of *Dorstenia* Genus (2000-2016). J. Mex. Chem. Soc. 2018, 62(3), 9-23.
6. Abegaza BM, Ngadjuib BT, Dongob E, Bezabiha M-T. Chemistry of the Genus *Dorstenia*. Current Organic Chemistry 2000, 4, 1079-1090
7. De Oliveira Boeni B, Bustos Singer R. Synopsis of *Dorstenia* (Moraceae) in Rio Grande do Sul, Southern Brazil. Annals of the Brazilian Academy of Sciences 2015, 87(2): 925-942
8. Peniche-Pavía HA, Medrano-Nahuat D, Torres-Tapia LW, Mut-Martín M, García-Miss R, Peraza-Sánchez SR. Metabolites isolated from the rhizomes of *Dorstenia contrajerva* with anti-leishmanial activity. Phytochemistry Letters 2016, 18, 140-143.
9. Revistas Digitales del área, como Phytochemistry, Journal of Natural Products, Fitoterapia, etc.

## 10. Medidas de seguridad.

Seguir las recomendaciones en el manejo de reactivos de acuerdo con su clasificación química y las recomendaciones del profesor. Revisar las hojas de seguridad para el manejo de los reactivos (ver Anexo).

## 11. Disposición de residuos.

Disponer de los residuos de acuerdo con la norma NOM-052-Semarnat-1993

# 1a. Sesión

Tiempo de duración: 3h

**Visión general del curso.**

**Metodología para el estudio de un producto natural.**

El aislamiento y caracterización de un metabolito secundario es un trabajo que consume mucho tiempo, por lo cual se emplearan las sesiones de laboratorio para alcanzar la meta de la practica que es la purificación y dilucidación estructural de furanocumarinas de un extracto crudo, que también se va a obtener de material vegetal.

1. Selección del material vegetal por estudiar.
  - a) Información empírica
  - b) Información bibliográfica
2. Recolección y Clasificación botánica del material vegetal por estudiar
  - a) Ubicación del material vegetal
  - b) Recolección, separación, secado y molienda del material vegetal
  - c) Preparar un ejemplar para la clasificación botánica
3. Extracción del material vegetal
  - a) Disolventes Apolares
  - b) Disolventes medianamente polares
  - c) Disolventes polares
4. Separación y Purificación de los extractos obtenidos
  - a) Cromatografía en capa delgada (ccd)
  - b) Cromatografía en columna abierta (cca)
  - c) Cristalización
5. Análisis Espectroscópico del(os) metabolitos aislados.
  - a) RMN-<sup>1</sup>H
  - b) RMN-<sup>13</sup>C
6. Recopilación de resultados. A lo largo de las sesiones de la práctica
7. Examen final

Material vegetal, raíz y hoja

Disolvente: Cloroformo, metanol, acetato de etilo, hexano, éter etílico, etanol.

Material de vidrio:

- Pipetas Pasteur con su respectivo bulbo de latex, mínimo 2 por equipo.
- Vasos de pp de 50-100 mL, 2 por equipo.
- Probetas de 10, 20, 50 mL
- Capilares o micropipetas de capilares.



- Frascos Gerber, de preferencia de 113 g (papilla para bebe),
- Embudos de filtración rápida
- Picetas
- Papel filtro, Detergente, limpia pipas, lápiz, papel, etc.

#### Insumos

- Cromatoplasmas de gel de sílice
- Gel de sílice de 100-200 mesh
- Sulfato de sodio anhidro
- Cloruro de cobalto
- Ácido sulfúrico al 10%
- Lámpara de luz ultravioleta

Siendo una práctica de laboratorio, se requiere del uso de una bata.

Debido a la falta de insumos (cromatoplasmas, disolventes, material, etc), se trabaja por equipo, pues el material y reactivos no son suficientes. Dependiendo del número de alumnos inscritos será el número de integrantes de cada equipo.

Para realizar la práctica es necesario material de vidrio como son: Pipetas Pasteur con su respectivo bulbo de latex, mínimo 2 por equipo; vasos de pp de 50-100 mL, 2 por equipo; probetas de 10, 20, 50 mL; capilares o micropipetas de capilares; frascos Gerber, de preferencia de 113 g (papilla para bebe), embudos, papel filtro, detergente, limpia pipas, lápiz, papel, etc.

- Disolventes: Hexano, cloroformo, etanol, metanol, acetato de etilo, éter etílico.
- Insumos y reactivos: Gel de sílice, sulfato de sodio anhidro, cloruro de cobalto, ácido sulfúrico.

**Checar las especificaciones de los disolventes mencionados, así como sus puntos de ebullición.**

## 2a-6a Sesión

**Tiempo de duración: 18 h**

### **Uso del rotaevaporador**

Para realizar la práctica de Laboratorio es necesario la purificación de los disolventes por utilizar (cloroformo, acetato de etilo y metanol) con ayuda de un rotaevaporador. Teniendo cuidado de no sobrecalentar el baño y que el agua de enfriamiento tampoco se caliente, utilizando hielo o cambiando el agua con frecuencia, cuando sea necesario. Todos los disolventes se deben de manejar con las debidas precauciones, pues son volátiles, y tóxicos. Si bien, este sistema no es el mejor, si el único que se puede implementar en la Facultad debido a la falta de tiempo para el desarrollo de la práctica.

La purificación de disolvente se debe hacer lo largo de las primeras sesiones, para poder empezar a trabajar, y dependiendo del número de estudiantes inscritos a la EE.

- Desechos. Los desechos de disolventes, cuando los haya, generalmente se colocan en los contenedores que se encuentran habitualmente en la campana de extracción, y que se tratan según la Norma. Anexo.

## 3a Sesión

Tiempo de duración: 3 h

### Manejo del material vegetal y obtención de extractos

Generalmente, el material vegetal se separa en sus diversas partes, en el caso particular de esta práctica que se usa una hierba, se separa en raíz, hoja y flor, cuando la hay; este material vegetal se seca en una estufa alrededor de 50°C. El tiempo de secado depende de la cantidad de hierba que se tenga. Regularmente, se emplean 20-30 g, lo cual se seca en 3-4 días, la hoja en un día.

Una vez que ya está seco el material, se procede a picar. El picado se debe de hacer finamente con ayuda de un exacto (cutter), cuchillo filoso o pinzas fuertes, para que la extracción sea exhaustiva. El material fresco y seco se debe pesar para tener estos datos, pues da detalles sobre la pérdida de agua, etc.

La extracción se hace por maceración, por lo general, dos semanas. La raíz con  $\text{CHCl}_3$  y la hoja con  $\text{MeOH}$ .

- Manejo de la polaridad de los diferentes disolventes con los que se cuenta.

Se dispone, generalmente, de hexano (Hx), cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ), acetato de etilo (AE), etanol ( $\text{EtOH}$ ) y metanol ( $\text{MeOH}$ ).

Los disolventes que se usan para la extracción del material vegetal son el  $\text{CHCl}_3$  y el  $\text{MeOH}$ .

- El Hx es el disolvente de menor polaridad con que se trabaja, sin embargo, esta muy contaminado, por lo cual se usa únicamente para realizar la cromatografía en capa delgada (ccd).

- El  $\text{CHCl}_3$  es el disolvente de mediana polaridad, junto con el AE, que se maneja. Su punto de ebullición permite manipularlo mejor que el AE, y por una destilación simple en rotaevaporador, funciona muy bien para la extracción del material vegetal.

- El  $\text{MeOH}$  es el disolvente de mayor polaridad, sin considerar al agua, con el que también trabaja. Este disolvente es el que utiliza para extraer la hoja del material vegetal.

**Se deben tener las precauciones para el manejo de los disolventes.**

## 4a Sesión

Tiempo de duración: 3h

### Reconocimiento de extractos por cromatografía en capa delgada (ccd)

Una vez que pasa una semana de la maceración del material, se procede a filtrar el disolvente, procurando que no se pierda o desperdicie el filtrado, lavando repetidas veces con  $\text{CHCl}_3$ , la raíz, y con MeOH, la hoja, y concentrando el(os) filtrado(s) por rotaevaporador. El(os) concentrado(s) se pasa(n) a un frasco Gerber enjuagando perfectamente con el disolvente respectivo, permitiendo que se evapore el disolvente, y obtener el rendimiento de extracto una vez seco. El material vegetal se vuelve a colocar con  $\text{CHCl}_3$  y MeOH, raíz y hoja respectivamente, para continuar con la extracción por una semana más. Al cabo de la cual se hace el mismo procedimiento.

- Manejo de la cromatografía, tanto en columna abierta como en capa delgada.

Para conocer el comportamiento y/o contenido de metabolitos secundarios en los extractos conseguidos, se procede a obtener la ccd de cada uno de ellos, utilizando diferentes polaridades, bien con disolventes puros, o bien con mezclas de éstos.

Como ya se mencionó, debido a la falta de insumos, se trabaja con cantidades pequeñas, por lo cual se emplean micropipetas de capilares para tomar las muestras de los extractos. El tamaño de las placas de ccd son de 2-2.5 cm X 5 cm, por lo cual las cámaras para correr estas placas también son pequeñas.

Las polaridades por utilizar para las ccd, empleando diferentes disolventes y observar el comportamiento del extracto con estos, pueden ser:

Hx

Hx- $\text{CHCl}_3$  8:2, 1:1 y 2:8 v/v

Hx-AE 8:2, 1:1 y 2:8 v/v

AE

$\text{CHCl}_3$ -MeOH 9:1 y 8:2 v/v

Para observar los compuestos en las placas se emplean, generalmente, reactivos cromógenicos, que producen color al reaccionar con los compuestos produciendo manchas en la ccd, algunas veces de colores otras de un solo color, todo depende del reactivo y de la estructura de los compuestos, incluso en ocasiones, pueden ser visibles.

En el caso de esta práctica se emplean  $\text{CoCl}_2$  en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y, principalmente, luz ultravioleta (UV) de 365 nm, pues la estructura de las cumarinas permite observar en UV.

Una vez que ya se tenga cual es la polaridad en la que se ve un mayor número de compuestos, se procede a empacar la columna de vidrio que sirve como columna de cromatografía.

## 5a-11a Sesión

Tiempo de duración: 21 h

### Separación y Purificación de los extractos obtenidos por cromatografía en columna abierta

Para empacar la columna se puede hacer en seco o en húmedo. En esta práctica se hace en húmedo.

Se pueden utilizar una variedad de soportes y mallas para la cca, sin embargo, en la Facultad únicamente se cuenta con sílica de 100-200 mesh, que si funciona. Se emplean 50-70 g de sílica por 1 g de extracto por separar.

Una vez empacada la columna en húmedo, se procede a colocar la muestra disuelta en lo mínimo de disolvente con ayuda de una pipeta Pasteur, cuando se hace en líquido como es el caso. Aunque también se puede hacer en seco, colocando la muestra disuelta en un poco de sílica, dejando evaporar el disolvente, y entonces colocarla en la columna.

Una vez colocada la muestra, se comienza a eluir con  $\text{CHCl}_3$  como disolvente, tomando fracciones de 10-15 mL en frascos Gerber, procurando que la columna no se seque, es decir, que no le falte  $\text{CHCl}_3$ . Las fracciones así obtenidas se evaporan, generalmente en la campana de extracción, y una vez secas o concentradas se toman muestras para ccd y observar cómo va eluyendo el extracto. Se continúa eluyendo con  $\text{CHCl}_3$  hasta que en la ccd se observe, o que no salga ya nada o que está saliendo una mezcla diferente. Entonces se aumenta la polaridad de  $\text{CHCl}_3$  con AE, una mezcla de 9:1, 8:2 y 1:1 v/v, para después agregar puro AE y posteriormente MeOH. A todas las fracciones que se obtengan se les debe hacer la ccd. Las fracciones, que por ccd muestren lo mismo, se juntan.

Finalmente, se deben obtener, en las primeras fracciones, una furanocumarina, el bergapteno, y después, otra furanocumarina, el contrayerbano. Ambas cumarinas se observan con luz UV de color verde, obviamente son diferentes  $r_f$ , su cristalización también es diferente, la primera son agujas finas y la segunda son prismas. La purificación se puede hacer con un poco de éter etílico, todo con el debido cuidado, aprovechando que ambos compuestos son parcialmente solubles en este disolvente.

Se obtiene rendimiento y punto de fusión (pf) de ambos metabolitos. Siendo el pf de bergapteno de 195-197°C, y del contrayerbano de 145-147°C.

## **12a Sesión**

**Tiempo de duración: 3 h**

### **Elucidación de las estructuras de los metabolitos secundarios aislados**

Las muestras se envían, cuando es posible, a estudios espectroscópicos de RMN-<sup>1</sup>H, para caracterizarlos sin ninguna duda, dando una explicación de las señales que se observan en los espectros.

Concluida la práctica se elabora el informe final.

A lo largo de las sesiones de laboratorio de hacen preguntas y, además, como se está llevando a la par la parte teórica se mencionan ejemplos de lo que están realizando practico-teórico.

## **ANEXO.**

### **Medidas de seguridad generales en el uso de reactivos:**

#### **RESIDUOS PELIGROSOS QUÍMICOS (RPQ)**

La ley general del equilibrio ecológico y la protección al medio ambiente Artículo XXXII, residuos peligrosos a los elementos, sustancias, compuestos, Residuos o mezclas de ellos que, independientemente de su estado físico, Representen un riesgo para el ambiente, la salud o los recursos naturales, Por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables o biológico infecciosas.

#### **Disposición general de residuos:**

La norma oficial mexicana NOM 052 SEMARNAT 2005 establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.

La caracterización de los RPQ, ha permitido definir como:

- Constituyentes tóxicos ambientales
- Agudos
- Crónicos

Aquellas sustancias químicas capaces de producir efectos adversos a la salud o al ambiente.

#### **Códigos de peligrosidad de los residuos**

##### **NOM-052-SEMARNAT-1993**

Características	Código
Corrosividad	C
Reactividad	R
Explosividad	E
Toxicidad	T
Ambiental	Te
Aguda	Th
Crónica	Tt
Inflamabilidad	I
Biológico-infeccioso	B

Fuente: Semarnat (2005:8)

#### **Normas Mexicanas de peligrosidad de los residuos**

**NOM-053-SEMARNAT-1993**, establece el procedimiento para llevar a cabo la prueba de extracción para determinarlos constituyentes que hacen aun residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.

**NOM-054-SEMARNAT-1993**, establece el procedimiento para determinar la incompatibilidad entre dos o más residuos considerados como peligrosos.

La incompatibilidad la define la norma como reacciones violentas y negativas para el equilibrio ecológico y el ambiente, que se producen con motivo de la mezcla de dos o más residuos peligrosos.

## **RESIDUOS PELIGROSOS QUÍMICOS**

Consideraciones generales:

- Cada departamento o área de trabajo designará a un responsable de residuos, para efectos de control y enlace con las autoridades.
- Cada departamento deberá tener las hojas de seguridad de cada uno de los reactivos utilizados en el mismo.
- El generador de los residuos es quien tiene la máxima responsabilidad sobre ellos, no el responsable del área
- Todo generador debe conocer el Reglamento, no sólo el responsable de residuos.
- La administración, dará a conocer a la comunidad de esta Facultad, el calendario de acopio de residuos, el cual deberá ser al menos de seis (6) fechas, dos de las cuales deberán ser antes de los periodos vacacionales largos verano y fin de año.

## **RESIDUOS PELIGROSOS DEFINICIONES**

**Corrosivo**, cuando una muestra representativa presenta cualquiera de las siguientes propiedades

**Líquido acuoso**, presenta un pH menor o igual a 2.0 o mayor o igual a 12.5 de conformidad con el procedimiento que establece la Norma vigente correspondiente.

**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 vigente correspondiente.

**Líquido no acuoso**, capaz de corroer el acero al carbón, tipo SAE 1020 a una velocidad de 6.35 milímetros o más por cada año a una temperatura de 55 °C, según el procedimiento que se establece en la Norma vigente correspondiente.

**Reactivo**, cuando una muestra representativa presenta cualquiera de las siguientes propiedades:

**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 vigente correspondiente

Cuando se pone en contacto con agua reacciona espontáneamente y genera gases inflamables en una cantidad mayor de 1 Lt x Kg del residuo por hora, según el procedimiento que se establece en la Norma vigente correspondiente

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 vigente correspondiente.

**Reactivo**, posee en su constitución cianuros o sulfuros liberales, 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 vigente correspondiente

**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.

**Inflamable**, líquido o mezcla de líquidos que contienen sólidos en solución o suspensión que tiene un punto de inflamación inferior a 60.5 °C, establece la Norma vigente, quedando excluidas soluciones acuosas que contengan un porcentaje de alcohol, en volumen, menor a 24 %.

No es líquido y es capaz de provocar fuego por fricción, absorción de humedad o cambios químicos espontáneos a 25 °C.

**Gas**, que a 20 °C y una presión de 101.3 kPa, arde si se encuentra en una mezcla de 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.

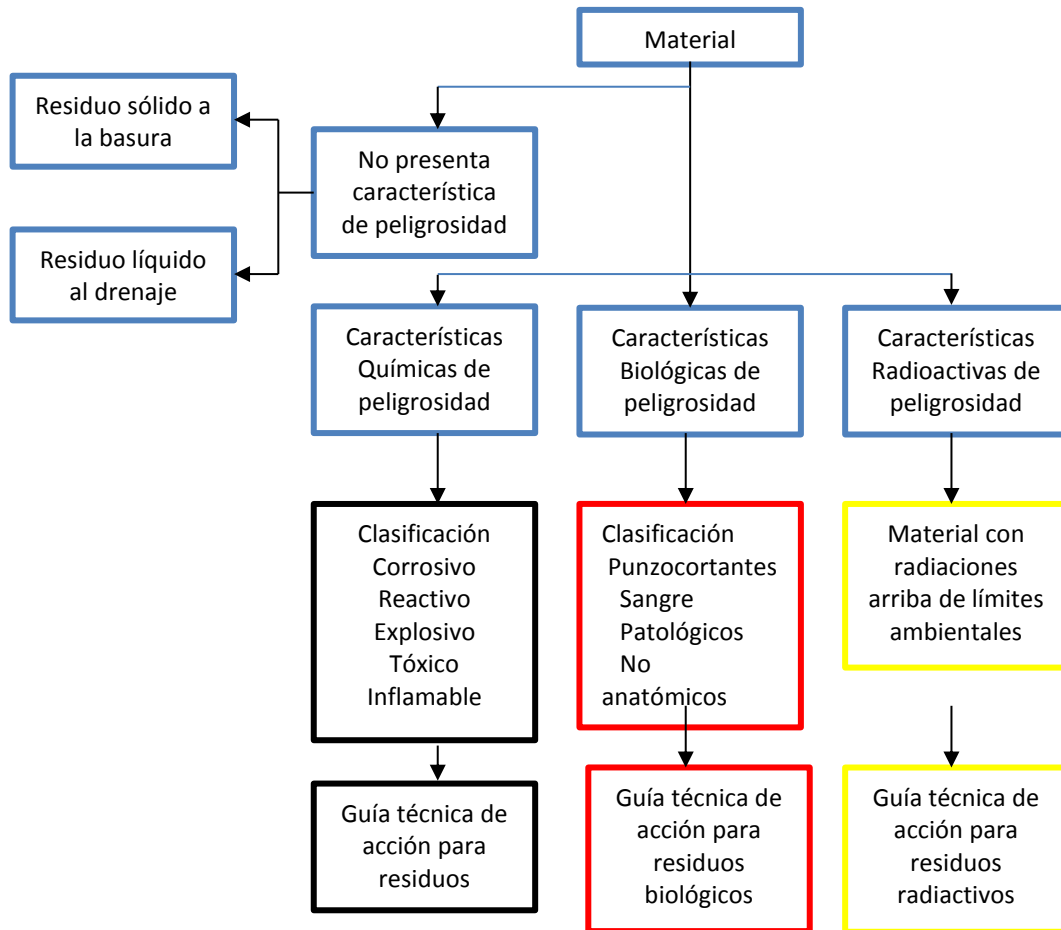
**Gas oxidante**, que puede causar o contribuir más que el aire, a la combustión de otro material.

### **MANEJO RESIDUOS LABORATORIO**

El generador de un residuo es responsable de:



- Clasificar el residuo, que generó de acuerdo con su naturaleza, grado de peligrosidad según la Norma Oficial vigente correspondiente, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de residuos peligrosos.
- Si es necesario, consultar al responsable de residuos de su departamento o al personal de la dependencia.
- Cuando el residuo del análisis pueda tratarse o disponerse en el laboratorio, el generador de este debe realizar esta operación. Ningún residuo podrá ser desechado si no ha sido neutralizado o tratado adecuadamente.
- Cuando el residuo no pueda ser tratado en el laboratorio, el generador debe colocar el residuo en el envase indicado e identificarlo con la etiqueta oficial.



## DIAGRAMA IDENTIFICACIÓN RESIDUOS PELIGROSOS






Fuente: Guía técnica acción residuos químicos-UNAM-2012

# ANEXO 1

Cloruro de cobalto	CAS	Proveedor	Descripción
$\text{CoCl}_2$ Masa molar 129,83 g/mol	7646-79-9	Merck S.A. de C.V.	Pictograma de peligro  <p>Indicaciones de peligro Puede provocar cáncer por inhalación. Puede perjudicar a la fertilidad. Nocivo en caso de ingestión. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Provoca lesiones oculares graves. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. Se sospecha que provoca defectos genéticos. Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos</p>
Etanol	CAS	Proveedor	Descripción
$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ Masa molar 46,07 g/mol	64-17-5	Merck S.A. de C.V.	Pictograma de peligro  <p>Indicaciones de peligro. Líquido y vapores muy inflamables. Provoca irritación ocular grave. Consejos de prudencia Prevención Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. Conectar a tierra/enlace equipotencial del recipiente y del equipo de recepción. Intervención EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado. Almacenamiento: En un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente.</p>

Hexano	CAS	Proveedor	Descripción
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ Masa molar 86,18 g/mol	110-54-3	Merck S.A. de C.V.	Pictograma de peligro  Palabra de advertencia Peligro Indicaciones de peligro Líquido y vapores muy inflamables. Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias. Provoca irritación cutánea. Puede provocar somnolencia o vértigo. Se sospecha que perjudica a la fertilidad. Se sospecha que daña al feto. Puede provocar daños en los órganos (Sistema nervioso) tras exposiciones prolongadas o repetidas si se inhala. Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Consejos de prudencia Prevención Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. Conectar a tierra/enlace equipotencial del recipiente y del equipo de recepción. Evitar su liberación al medio ambiente. Intervención EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. Consultar a un médico en caso de malestar. Almacenamiento: Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente.
Metanol	CAS	Proveedor	Descripción
$\text{CH}_3\text{OH}$ Masa molar 32,04 g/mol	67-56-1	Merck S.A. de C.V.	Pictograma de peligro  Líquido y vapores muy inflamables. Tóxico en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación. Provoca daños en los


ojos. Almacenar en lugares bien ventilados. Mantener el recipiente cerrado herméticamente.

<b>Cloroformo</b>	<b>CAS</b>	<b>Proveedor</b>	<b>Descripción</b>
$\text{CHCl}_3$ Masa molar 119,38 g/mol	67-66-3	Merck S.A. de C.V.	Pictograma de peligro   Líquido inflamable. Tóxico en caso de inhalación. Se sospecha que provoca cáncer y puede dañar al feto. Perjudica determinados órganos (hígado y riñón) por exposición prolongada y repetitiva. Almacenar en un lugar bien ventilado y protegido de la luz. Mantener el recipiente cerrado.
<b>Acetato de etilo</b>	<b>CAS</b>	<b>Proveedor</b>	<b>Descripción</b>
$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ Masa molar 88,11 g/mol	141-78-6	Merck S.A. de C.V.	Pictograma de peligro   Líquido y vapores muy inflamables. Provoca irritación ocular grave. Puede provocar somnolencia o vértigo. La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel. Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta. Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente.
<b>Éter dietílico</b>	<b>CAS</b>	<b>Proveedor</b>	<b>Descripción</b>
$(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ Masa molar 74,12 g/mol	60-29-7	Merck S.A. de C.V.	Pictograma de peligro   Líquido y vapores extremadamente inflamables. Nocivo en caso de ingestión. Puede provocar somnolencia o vértigo. Puede formar peróxidos explosivos. La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la

---

piel. Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta. Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente.

---

<b>Ácido sulfúrico</b>	<b>CAS</b>	<b>Proveedor</b>	<b>Descripción</b>
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Masa molar 98,08 g/mol	7664-93-9		Pictograma de peligro  Provoca quemaduras graves en la piel, así como lesiones oculares graves. Almacenar en un lugar seco y bien cerrado.
<b>Gel de sílice</b>	<b>CAS</b>	<b>Proveedor</b>	<b>Descripción</b>
SiO <sub>2</sub> Masa molar 68,08 g/mol	7631-86-9	Merck S.A. de C.V.	Polvo blanco, tamaño variable. Puede ser nocivo en caso de ingestión. No respirar el polvo. Almacenar a temperatura ambiente en lugar seco.

---

# ANEXO 2.

## Programa de la Experiencia Educativa

### FITOQUÍMICA

<b>Nombre</b>	Fitoquímica. Teórico-Practico		
<b>Actualización</b>	X	Nueva creación	
<b>Horas Teóricas (HT)</b>	Horas Prácticas (HP)	Horas Otras (HO)	Créditos (C)
	6		6
<b>Área de formación</b>	Terminal, Química		
<b>Saberes</b>			
<b>Teóricos</b>	<b>Heurísticos</b>	<b>Axiológicos</b>	
1. Introducción. 2. Rutas Biosintéticas 2.1 Derivados del Acetato 2.1.1 Lípidos 2.1.2 Quinonas, naftoquinonas, antraquinonas 2.2 Derivados del Ácido Shikímico 2.2.1 Fenilpropanoides, derivados de ácido cinámico 2.2.2 Flavonoides 2.2.3 Cumarinas 2.2.4 Lignanós 2.2.5 Derivados del ácido benzoico 2.3 Derivados del Ácido Mevalónico 2.3.1 Terpenos 2.3.1.1 Monoterpenos e iridoides 2.3.1.2 Sesquiterpenos 2.3.1.3 Diterpenos 2.3.1.4 Sesterterpenos 2.3.1.5 Triterpenos 2.3.1.5.1 Esteroles 2.3.1.5.2 Quasinoides 2.3.1.5.3 Limonoides 2.4 Derivados de Rutas mixtas. 2.4.1 Alcaloides	- Manejo de las bases de datos con las que cuenta la UV, además de libros y revistas digitales.  - Manejar los conceptos relacionados con la fitoquímica.  - Buscar, analizar y sintetizar información científica relacionada con los diferentes metabolitos secundarios.  - Identificar las principales rutas biosintéticas que expliquen la formación de los distintos metabolitos secundarios.  - Manejar el material vegetal.  - Manejar la polaridad de los diferentes disolventes con los que se cuenta.  - Manejar el rotaevaporador.	Honestidad Apertura Colaboración Autocrítica Compromiso Constancia Disposición Respeto Responsabilidad	

<p>3.1 Secuencia de Trabajo para el estudio de un Producto Natural</p> <p>3.1 Selección del material vegetal por estudiar.</p> <p>a) Información empírica</p> <p>b) Información bibliográfica</p> <p>3.2 Recolección y Clasificación botánica del material vegetal por estudiar.</p> <p>a) Ubicación del material vegetal</p> <p>b) Recolección, separación, secado y molienda del material vegetal</p> <p>c) Preparar un ejemplar para la clasificación botánica</p> <p>3.3 Extracción del material vegetal</p> <p>a) Disolventes Apolares</p> <p>b) Disolventes medianamente polares</p> <p>c) Disolventes polares</p> <p>3.4 Separación y Purificación de los extractos obtenidos</p> <p>a) Cromatografía en capa delgada</p> <p>b) Cromatografía en columna abierta</p> <p>c) Cristalización</p> <p>3.5 Análisis Espectroscópico del(os) metabolitos aislados.</p> <p>a) RMN-<sup>1</sup>H</p> <p>b) RMN-<sup>13</sup>C</p> <p>3.6 Recopilación de resultados</p>	<p>- Manejar la cromatografía, tanto en columna abierta como en capa delgada.</p> <p>- Interpretación de los resultados espectroscópicos con los que se cuente.</p> <p>- Elaboración del informe final</p>	



<b>Evaluación del desempeño</b>			
<b>Evidencia (s) de desempeño</b>	<b>Criterios de desempeño</b>	<b>Ámbito(s) de aplicación</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Exámenes parciales	Evaluación del conocimiento	Aula, laboratorio	90
Presentación de una tarea de investigación	Aplicación del conocimiento	Aula, laboratorio	5
Defensa oral de la tarea de investigación	Aplicación del conocimiento	Aula, laboratorio	5
Total			100

### **Bibliografía**

#### **Básica**

1. Dewick PM. 2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. Wiley & Sons
2. Biologically Active Natural Products: Ed. Cuttler and Cuttler. CRC Press. USA, 2000.
3. Cseke LJ, Kirakosyan A, Kaufman PB, Warber SL, Duke JA, Brielmann HL. 2006. Natural Products from Plants. CRC Press, Taylor & Francis.
4. Revistas Digitales del área, como Phytochemistry, Journal of Natural Products, Fitoterapia, etc.

#### **Complementarias**

1. Bioactive Molecules and Medicinal Plants. Eds Ramawat and Mérillon, Springer 2007.
2. Natural Products isolations. Eds Sarker, Latif y Gray, Humana Press, 2006
3. Phytochemistry of Medicinal Plants. Eds Arnason, Mata y Romeo, Springer Science 1995
4. Modern Phytomedicine. Eds Ahmad, Aqil y Owais. Wiley-VCH Verlag, 2006
5. Biochemistry of Plants Secondary Metabolism. Ed Wink M. Wiley-Blackwell, 2010