



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

“MÉTODO ANALÍTICO PARA IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA MEDIANTE LA TÉCNICA GASES-MASAS EN EL LABORATORIO DEL INSTITUTO DE CIENCIAS FORENSES DEL ESTADO DE PUEBLA”

**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN FARMACIA**

PRESENTA:

VICTORINA RAMÍREZ BRAVO

**DIRECTOR DE TESIS.
M.C. ROGELIO MAXIL TIRSO
*Depto. de Farmacia. FCQ. BUAP***

**ASESOR DE TESIS.
Ph. D. JOSÉ ALBINO MORENO RODRIGUEZ
*Depto. de Quím. Gral. FCQ. BUAP***

Agosto 2018

DEDICATORIA:

A mis padres, Rosalía y Valentín, también a mi hermano Adolfo; que son mi ejemplo de perseverancia y rectitud. Aun estando lejos siempre tuve su apoyo incondicional para llegar a mi meta, ustedes son mi principal motivación y este logro también es suyo, gracias por sus consejos, sacrificios y por aportar luz y dirección a mi vida.

AGRADECIMIENTOS:

Le agradezco a Dios por haberme guiado a lo largo de mi carrera y por darme fortaleza en todo momento.

A mis hermanos: Adolfo, Lucia, Lorena, Carmen, Marcelino, por su confianza, por su apoyo moral y económico, los quiero.

A mis amigos, por las experiencias compartidas en la carrera y por su apoyo en todo momento, también agradezco a demás familiares que me acompañaron y ayudaron en este tiempo, a mis sobrinos; que siempre tuvieron una sonrisa y un abrazo para alentar mis días.

A los peritos del Instituto de Ciencias Forenses, por el apoyo y amistad brindada, principalmente a la Farmacéutica Brenda, por permitirme aprender de usted cada día y por la confianza en todo este tiempo, gracias por creer en mí.

MÉTODO ANALÍTICO PARA IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA DEL INSTITUTO DE CIENCIAS FORENSES DEL ESTADO DE PUEBLA

I. INTRODUCCIÓN.

El tráfico y consumo de drogas es uno de los grandes problemas de salud que enfrenta México y el mundo, estos problemas afectan a la sociedad en general, no solo a quienes las consumen, ya que en su producción y comercialización genera violencia y corrupción principalmente.

En cuanto a la estadística de consumo en México, la Encuesta Nacional del Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (ENCODAT) 2016-2017¹ en su informe de drogas reporta como las de mayor consumo las siguientes: 1. Marihuana, 2. Cocaína, 3. Inhalables 4. Tranquilizantes 5. Estimulantes tipo Anfetamínico; sumada a esta Información se encuentra la Encuesta Nacional de Adicciones (ENA) en la que también se menciona a la marihuana como la droga más consumida, reporta en el 2012 la tendencia del consumo de drogas por región, en la población total de 12 a 65 años como en seguida se describe²:

- Centrándose en el consumo de cocaína, en la figura 1 se muestra una tendencia desde 2002: el mayor índice de consumo de esta droga se da en la Región Sur, en cuanto a la región centro donde se encuentra Puebla se observa un pequeño decaimiento en el año 2011 con respecto al año 2008.

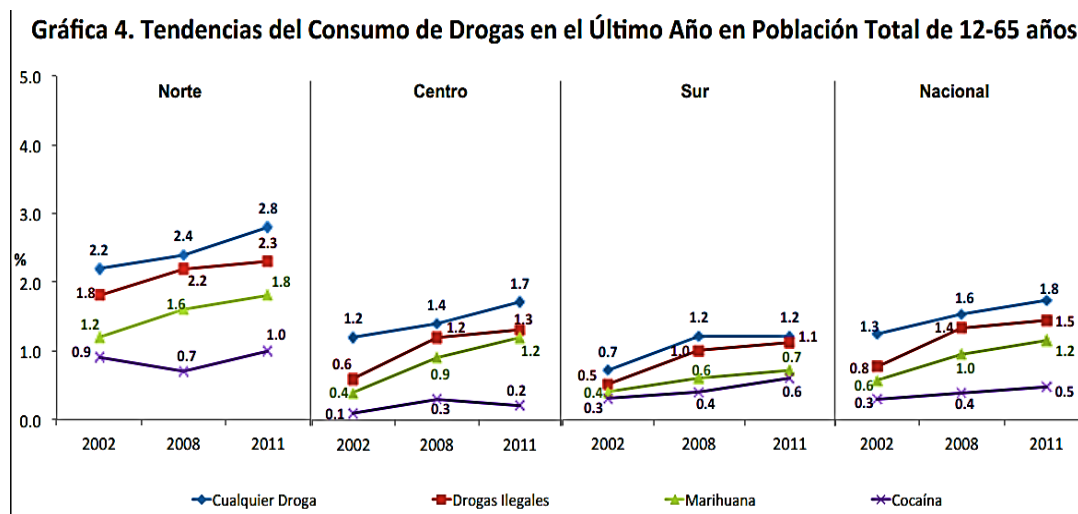


Figura 1. Tendencias del consumo de drogas en el último año en población total de 12-65 años².

Algunos datos que nos dan panorama de lo que sucede en el Estado de Puebla son las estadísticas de solicitudes recibidas para identificación de sustancias controladas reportadas en el laboratorio de química, tan solo en el año 2017 se recibió un total de 629 solicitudes, de las cuales la mayor parte de la droga asegurada corresponde a marihuana, cocaína y metanfetamina; Teniendo 442, 119 y 57 solicitudes respectivamente.

Por lo anterior y ante la demanda existente, se requiere de métodos analíticos eficaces para establecer la identidad de cualquier droga presente en material incautado, puesto que el método analítico existente en el laboratorio no es suficiente para el caso de muestras que presentan 2 ó 3 mezclas de sustancias psicotrópicas, estupefacientes y hasta algunos excipientes.

Generalmente, en los laboratorios Forenses cuando se trata de identificar alguna droga sometida a fiscalización contenida en una muestra, el enfoque analítico ha de ir dirigido a la determinación de al menos dos pruebas no correlacionadas, uno de las cuales debe proporcionar información sobre la estructura química de la sustancia analizada (por ejemplo, IR, MS; o métodos en tándem, como GC-MS)³ y la otra es una prueba que no proporciona resultados concluyentes.

En Puebla el laboratorio de Química Forense del Instituto de Ciencias Forenses (INCIFO) es el encargado de analizar las drogas incautadas en el Estado y por tanto es de vital importancia la selección del método analítico apropiado para realizar este análisis y así cumplir con la política de calidad del INCIFO.

Aunque el laboratorio cuenta con el equipo necesario para este tipo de análisis es muy importante determinar las condiciones experimentales necesarias.

II. ANTECEDENTES.

2.1. Cocaína.

En 1859 el Químico alemán Albert Niemann aisló el alcaloide principal de la hoja de coca, la cocaína, su consumo se diseminó con facilidad en varios planos como el terapéutico, el artístico y de la bohemia, por lo que su descubridor alcanzó prestigio social y científico³.

Cuando se comenzaba a utilizar las hojas de cocaína los consumidores la consideraba un regalo divino pues tenía diversas aplicaciones, por ejemplo, para disminuir el malestar de la montaña, el hambre, incluso era el ingrediente de

tónicos, elixires e incluso de vinos y de la Coca-Cola que llegó a tener 250 mg de cocaína por litro.

Para 1902 se logró sintetizar la cocaína, pudiendo así estudiar los efectos que producía en el organismo y aunque también se encontraron algunos beneficios (recién a su descubrimiento se utilizaba para tratar el dolor y los síntomas del cólera⁴) sobre su consumo la adicción es la parte contradictoria.

La cocaína es un estimulante extremadamente adictivo que afecta directamente al cerebro. La cocaína era extraída de la hoja del arbusto de la coca del género *Erythroxylum*, esta planta crecía principalmente en Perú. Actualmente se vende en forma de un polvo blanco con aspecto cristalino que se conoce popularmente como “coca”, “nieve” ó “dama blanca”. Para su venta se mezcla con otras “sustancias de corte”, que pueden ser maicena, talco o azúcar; o con algunos fármacos como la procaína y principalmente con benzocaína.

Hay dos formas químicas de la cocaína que suelen consumirse: la sal de clorhidrato (que es soluble en agua) y los cristales de cocaína o base, conocida en inglés como “freebase” (que no son solubles en agua)⁵.

2.1.1. Características físicas de la cocaína.

La cocaína se puede encontrar en el mercado de dos maneras principalmente, clorhidrato de cocaína y cocaína base.

a) Cocaína Clorhidrato.

Como se observa en la figura 4, la coca clorhidrato se presenta en forma de polvo blanco, más o menos adulterada y se administra por vía intranasal o esnifada, en algunos casos se inyecta por vía venosa (no se puede fumar pues se destruye por el calor). El esnifado es un modo muy común de usar la cocaína³.

La mayoría de los consumidores prefiere la administración intravenosa por la rapidez del efecto y la intensidad.



Figura 2. Clorhidrato de cocaína.⁶

b) Base libre o Free Base.

Se obtiene mezclando el clorhidrato de cocaína con amoníaco, hidróxido sódico o bicarbonato sódico, se filtra posteriormente el precipitado o se disuelve con éter, que al evaporarse con calor deja unos precipitados de cristales de cocaína muy puros, con un aspecto de polvo blanco-pardo como se aprecia en la figura 3. Se consume por vía respiratoria, fumada en papel de aluminio o en pipas de agua preparadas especialmente para esta práctica³.



Figura 3. Cocaína base⁶.

2.2. OTRAS SUSTANCIAS DE ABUSO

a) Cannabis sativa Indica

Mejor conocida como marihuana aunque también se le suele llamar coloquialmente como “hierba” o “cáñamo”; como ya se mencionó anteriormente la marihuana es la sustancia ilícita de mayor consumo en México y sus formas de consumo más comunes son tres: el aceite, la resina y la hierba de cannabis, siendo la última una de las más populares entre los consumidores; a las flores, hojas y semillas generalmente secas es lo que se conoce como marihuana, mostrada en la figura 4 y ésta es la que llega para análisis en el laboratorio, en cuanto a su consumo típico es fumada en forma de cigarrillos.

El tráfico ilícito de productos de cannabis es el más importante del mundo, y en 2006 constituyó el 65% de todas las incautaciones mundiales⁷.

Características Físicas de Cannabis sativa Indica

El cannabis es una hierba florida anual y dioica, por lo general, las plantas estaminadas (masculinas) son más altas que las pistiladas (femeninas), pero menos resistentes, los tallos son erectos y su altura oscila entre 0,2 y 6 m. Sin embargo, la mayoría de las plantas alcanzan una altura de 1 a 3 m. La longitud de las ramas, al igual que la altura de la planta, depende de factores ambientales y hereditarios, así como del cultivo⁷.

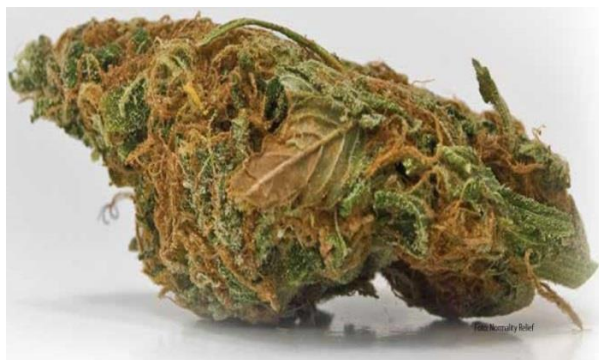


Figura 4. Marihuana.⁸

b) Metanfetamina

La Metanfetamina, que también es llamada hielo o cristal es otra de las sustancias ilícitas que frecuentemente ingresan para análisis al laboratorio de química forense, normalmente es un polvo blanco, fino y cristalino como se puede ver en la figura 5 y cuya forma principal de consumo es fumada.

La metanfetamina es un estimulante adictivo que afecta el sistema nervioso central. Aunque la mayoría de la metanfetamina que se usa en este país viene de laboratorios internacionales o nacionales, también se puede producir fácilmente en pequeños laboratorios clandestinos con ingredientes relativamente económicos que se pueden conseguir sin receta médica. Estos factores hacen de la metanfetamina una droga con un alto potencial para el abuso masivo.⁹



Figura 5. Metanfetamina.¹⁰

III. MÉTODOS ANALÍTICOS EXISTENTES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA.

En el laboratorio de Química Forense actualmente se utilizan dos tipos de análisis de ensayo para determinar la naturaleza de sustancias sospechosas, que son, presuntivas por desarrollo de color (prueba de Scott) y confirmatorias (espectroscopia infrarroja y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas).

Los análisis de ensayo basadas en el desarrollo de color son pruebas que no permiten obtener resultados concluyentes. En ellos, la muestra objeto de análisis se pone en contacto con una serie de reactivos; el color que se desarrolla (tono, intensidad y tiempo que tarda en aparecer) y la comparación, a continuación, con los colores de patrones existentes, permite tener una idea acerca de la sustancia de que se trata o del grupo al que pertenece¹¹.

Las pruebas presuntivas recomendadas por la scientific working group for the analysis of seized drugs (SWGDRUG) son:

3.1. Tiocianato de cobalto modificado (Scott's)

Reactivo 1 (reactivo de Scott): Disolver 1,0 g de tiocianato de cobalto($\text{Co}(\text{SCN})_2$) en 50 ml de ácido acético (CH_3COOH) al 10% y añadir 50 ml de glicerina($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$).

Reactivo 2: Ácido clorhídrico concentrado(HCl)

Reactivo 3: Cloroformo (CHCl_3)

Procedimiento:

1. Colocar aproximadamente 1 mg del material a identificar en un tubo de ensayo. Añadir cinco gotas del reactivo de Scott modificado y agitar el tubo de ensayo aproximadamente diez segundos.
2. Añadir una gota de ácido clorhídrico concentrado y agitar el tubo de ensayo aproximadamente 10 segundos.
3. Añadir cinco gotas de cloroformo y agitar.

Resultados:

Un resultado positivo consiste en obtener los cambios de coloración en las tres etapas.

1. Formación de una coloración azul o rosa con puntos azules.
2. En esta etapa desaparece el color azul.
3. La capa inferior de cloroformo se torna de color azul, mientras que la capa superior adquiere una tonalidad rosada.

Este ensayo es el que actualmente se utiliza en el laboratorio de química.

3.2. Técnica GC-MS (Cromatografía de gases-Espectrometría de masas)

La cromatografía de gases es una técnica de separación, está constituida por una fase móvil y una estacionaria, donde la fase móvil es llamada también gas acarreador, ya que se utiliza un gas inerte.

La GC-MS es una de las técnicas que se utilizan frecuentemente para la identificación de muestras de drogas con fines forenses. Como técnica combinada, se tiene el poder de discriminación y la sensibilidad que puede proporcionar datos espectrales altamente específicos de las distintas sustancias presentes en una mezcla compleja sin necesidad de aislarlos previamente.³

En cromatografía de gases se hace pasar el analito en forma gaseosa a través de la columna, arrastrado por una fase móvil gaseosa, llamada el gas portador. En cromatografía gas-líquido de reparto, la fase estacionaria es un líquido que recubre la pared interior de una columna o un soporte sólido. En cromatografía gas-sólido de adsorción, el analito se adsorbe directamente sobre las partículas sólidas de la fase estacionaria.¹²

Como se observa en figura 6, la muestra de un líquido volátil o de un gas se inyecta, a través de un septum (un disco de goma), en un portador caliente (liner), en el que se evapora rápidamente.¹³

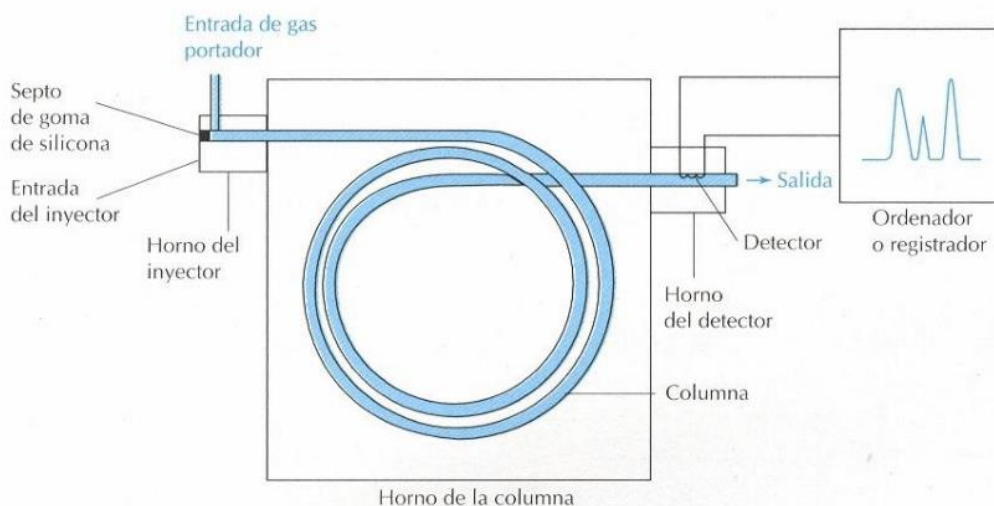


Figura 6. Diagrama esquemático de un cromatógrafo de gases.¹²

La muestra en fase de vapor es llevada por el gas portador (He , N_2 o H_2) a través de la columna, en donde son separados cada uno de los analitos que conforman

la muestra para después llegar al detector cuya respuesta aparece en un registrador.

Un cromatógrafo de gases consiste en:

3.2.1. Fase móvil:

Es un gas, llamado gas portador.

El gas portador debe reunir ciertas características:

- a) Ser inerte (helio, argón, nitrógeno o hidrogeno).
- b) Estar disponible con facilidad.
- c) Ser puro y económico.¹³

3.2.2. Sistema de inyección de la muestra:

La eficiencia de la columna requiere que la muestra sea de un tamaño adecuado y que sea introducida como un “tapón” de vapor.

El método más común de inyección de muestra implica el uso de una microjeringa para inyectar una muestra líquida o gaseosa a través de un diafragma o septa de goma de silicona, de una cámara de vaporización instantánea situada en la cabeza de la columna.¹⁴

3.2.3. Horno:

El cromatógrafo incluye una cámara calentada de volumen suficiente y fácil acceso para instalar la columna como se muestra en la figura 7. Debe tener una baja inercia térmica para permitir una subida controlada y rápida de temperatura (la rampa puede ir hasta 100 °C).¹⁵

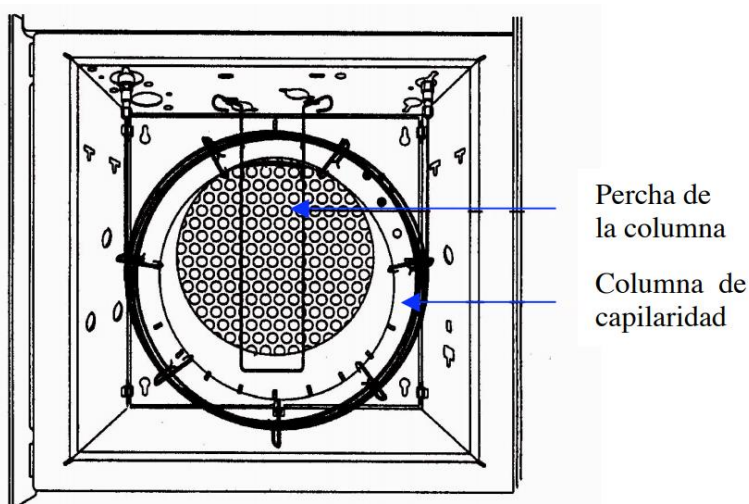


Figura 7. Horno con columna capilar.¹⁶

3.2.4. Fase estacionaria:

Como regla general, la fase estacionaria está contenida dentro de un tubo o columna. En la cromatografía de gases, la fase fija o estacionaria generalmente está constituida por un sólido granular recubierto por una fina película de un líquido no volátil, siendo esta película líquida la que disuelve los vapores de los sustratos en mayor o menor grado haciendo posible así la separación cromatográfica¹⁷.

Existen dos tipos de columnas: empaquetadas o de relleno y tubulares abiertas o capilares.

Columnas de relleno: son tubos de vidrio, metal inerte o teflón de dos o tres metros de longitud y 2 a 4 mm de diámetro interno, el material de relleno del interior consiste en partículas esféricas para interaccionar con el analito¹⁸.

Columnas capilares: como se puede observar en la figura 8, están constituidas por un tubo capilar y la fase estacionaria va depositada en la pared interior del tubo, que actúa como soporte. Se utilizan principalmente para la separación de mezclas complejas, por su elevada resolución.

Los tipos de columnas capilares más utilizados son las columnas tubulares abiertas de paredes recubiertas, que se caracterizan porque la fase líquida se deposita sobre la pared interior del tubo y se utilizan principalmente para el análisis de trazas.¹⁸



Figura 8. Columna capilar.¹⁹

3.2.5. Detector:

Existen diferentes tipos de detectores, para el presente trabajo el detector utilizado es un espectrómetro de masas (MS) que básicamente consiste en tres partes, como se muestra en la figura 9.

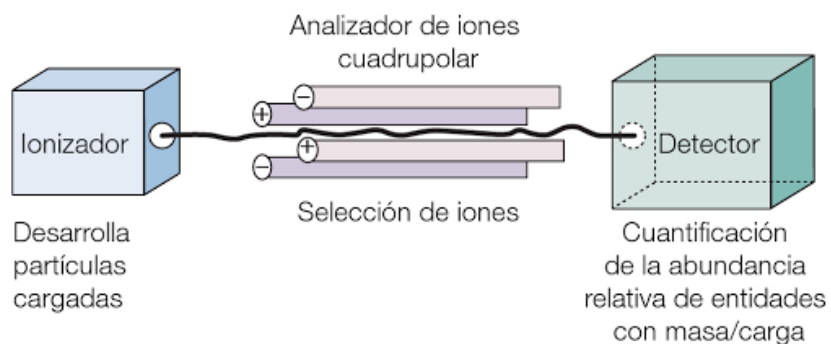


Figura 9. Componentes más importantes un espectrómetro de masas cuadrupolar²⁰.

La espectrometría de masas es una técnica utilizada para establecer las masas moleculares y la estructura química de determinadas sustancias. La importancia de esta técnica reside en la información de iones que nos proporciona su espectro de masas, a partir del cual se puede obtener de forma precisa la masa y fórmula molecular de la muestra problema. El espectro de masas de una sustancia es una representación X-Y en la que las abscisas se representa la relación masa/número de carga (m/z) de los fragmentos iónicos producidos y en ordenadas su abundancia relativa.²¹ En general, la mayor parte de los iones producidos tiene una sola carga ($z=1$), por lo que en práctica el término m/z es igual a la masa molecular del fragmento iónico.

En idénticas condiciones experimentales, una sustancia producirá siempre los mismos fragmentos iónicos y con idéntica abundancia. Ello equivale a decir que el espectro de masas siempre es el mismo y, por lo tanto, la identificación de un componente se facilita enormemente, sobre todo si se dispone de patrones o de un archivo de espectros de masas.²¹

La instrumentación de un espectrómetro de masas consiste básicamente en los siguientes componentes.²²

1. Sistema de introducción de la muestra.
2. Sistema de vacío.
3. Sistema de ionización de la muestra.
4. Analizador de masas.

5. Detector.
6. Analizador de datos (registrador).

En la figura 9 se muestra de manera secuencial los pasos para el análisis de una muestra en un espectrómetro de masas, en el cual sus componentes más importantes (fuente de ionización, analizador de masas, detector) se pueden adecuar a las necesidades en los diferentes análisis.



Figura 10. Esquema de análisis por espectrometría de masas²³.

3.2.5.1 Sistema de ionización de la muestra: impacto electrónico.

En la fuente de iones, se bombardea la muestra con un flujo de electrones acelerados de alta energía. Cuando incide un electrón sobre una molécula neutra, la molécula se puede ionizar desprendiendo un electrón adicional.



Cuando una molécula pierde un electrón, adquiere carga positiva y un electrón sin aparear, por lo tanto, el ión es un catión radical.

Además de ionizar las moléculas, el impacto de un electrón de alta energía puede romperlas. Este proceso de fragmentación da lugar a una mezcla de iones característicos. El catión-radical corresponde a la masa de la molécula original se conoce como ión molecular, M^{+} de forma abreviada, los iones de masas moleculares más pequeñas se denominan fragmentos.²⁴

3.2.5.2 Analizador de masas:

El analizador de masas con el que cuenta el equipo del laboratorio de química forense es un analizador cuadrupolar, el cual consiste en cuatro barras paralelas de sección hiperbólica en la cara interna, generalmente de unos 15-20 cm de largo y 0.5 cm de radio, separadas entre sí unos 2 cm, a las que se aplica un potencial combinado de corriente continua y de radiofrecuencia que crean en su interior un campo denominado cuadrupolar. Los iones generados en la fuente deben

atravesar longitudinalmente el recinto limitado por estas barras para incidir en el detector. Estos iones, que entran en el analizador a una energía de unos pocos electronvoltios, son sometidos al efecto del campo cuadrupolar que los hace oscilar y los desvía en función de su valor m/z (masa por unidad de carga) de forma que para una combinación de potenciales sólo los iones en un estrecho rango de valores m/z llega a incidir en el detector. Los analizadores de cuadrupolo actúan por tanto como filtros de iones y los espectros de masas en estos sistemas se obtienen mediante un barrido del potencial aplicado a las barras.²⁵

3.2.5.1 Detector:

El detector registra y amplifica la señal proveniente del analizador de masas, posteriormente la envía al procesador de datos en donde esta información se registra en forma de espectro de masas, que es una representación gráfica de los iones separados por su valor de m/z y ajustados de acuerdo al porcentaje de las especies más abundantes en la muestra, como en la figura 11, en la cual se observa el espectro obtenido del análisis de la cocaína. Los detectores pueden ser de varios tipos; los más utilizados son el electromultiplicador y el fotomultiplicador²⁶.

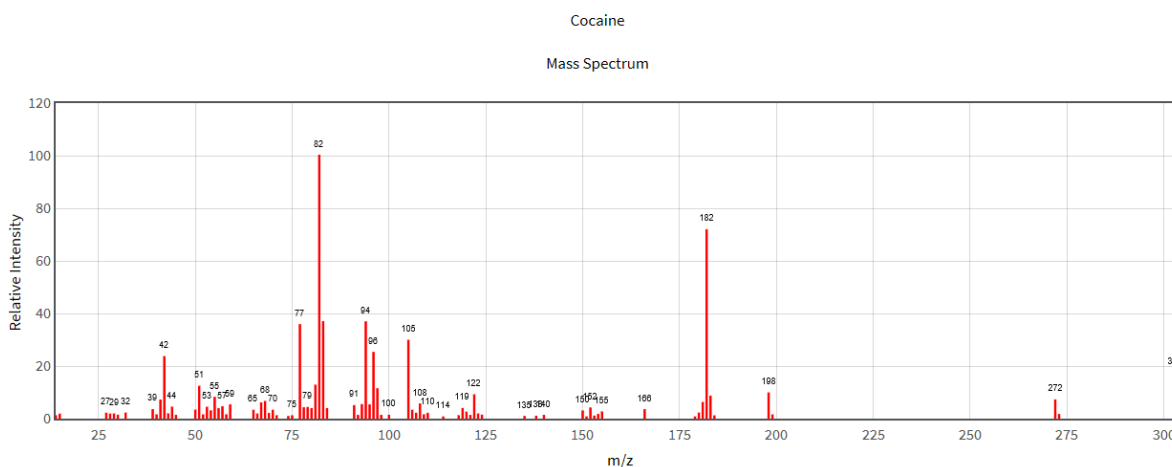


Figura 11. Espectro de masas de cocaína.²⁷

En donde: los picos característicos en un espectro de masas son los siguientes³:
 82: Pico base, 182: Pico 1; 94: Pico 2; 303M⁺: Ión molecular.

3.3 Espectroscopía infrarroja

La espectroscopia en el infrarrojo permite la localización e identificación de, virtualmente, todos los grupos funcionales, pues muestran absorciones específicas y características en la región del infrarrojo. De los métodos espectrales estudiados el IR es el único que permite la determinación directa del grupo funcional.

Un espectro IR es único para un compuesto dado, de manera que la espectroscopia IR es un método excelente para confirmar la estructura de un compuesto desconocido, siempre que se conozca el mismo compuesto a partir de otras fuentes.²⁸

Como se puede observar en la figura 12, un espectrómetro infrarrojo consta de una fuente de emisión de luz infrarroja, esta luz pasa a través de la muestra, la cual, en función de los grupos funcionales que presenta, absorbe radiación de determinada longitud de onda para hacer vibrar sus enlaces. Mediante un monocromador se va variando la longitud de onda seleccionada y finalmente, mediante un detector, se registra la intensidad de la luz después de haber atravesado la muestra. El registro produce un espectro con el trazado de la cantidad de luz transmitida en el eje vertical comparado con la longitud de onda de la radiación infrarroja en el eje horizontal.²⁹

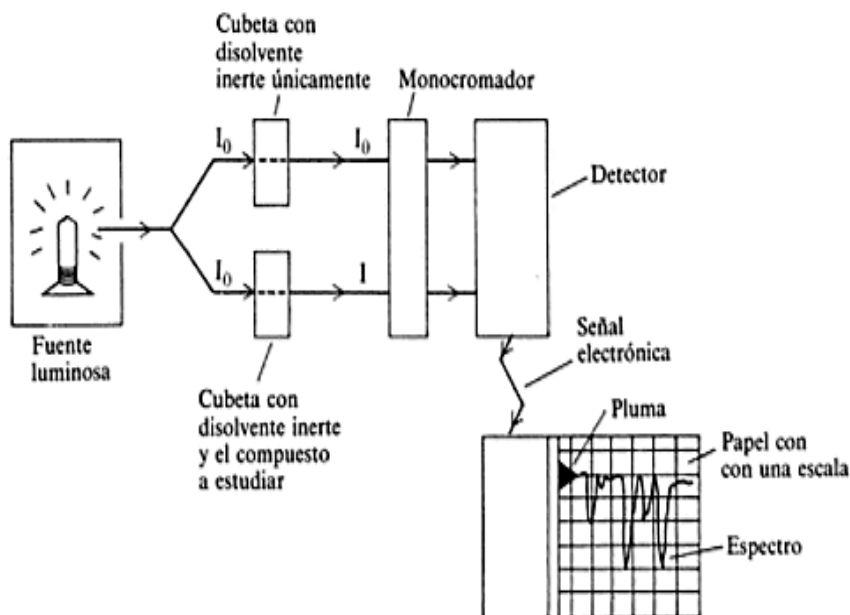


Figura 12. Esquema de un espectrómetro de FTIR.¹⁴

IV. TOXICODINAMIA Y TOXICOCINÉTICA

4.1 Toxicodinamia de la cocaína:

La cocaína es un estimulante altamente adictivo presente en la naturaleza como un alcaloide de la planta de coca (*Erythroxylon* *cacao* *Erythroxylon* *novogranatense*). La cocaína o Benzoato del éster metílico de ecgonina presenta la siguiente estructura³, mostrada en la figura 13.

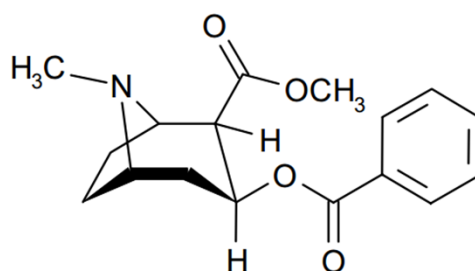


Figura 13. Fórmula química de la cocaína. ³

La cocaína inhibe la recaptación de catecolaminas (dopamina y noradrenalina) y serotonina por actuar específicamente sobre el recaptador; como se puede observar en la figura 14; de hecho, lo que a veces se denomina «receptor de la cocaína» es el recaptador de dopamina. ³

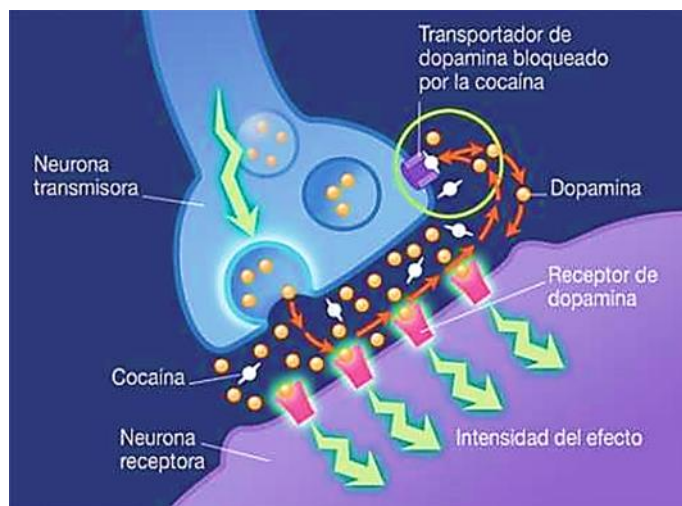


Figura14. Mecanismo de acción de la cocaína. Fuente: Tomada del NationalInstitute of Drug Abuse (NIDA), Estados Unidos.⁵

4.2 Toxicocinética de la cocaína:

Las características toxicocinéticas que se muestran a continuación varían dependiendo del tipo de cocaína y de la vía de administración.

4.2.1. Absorción:

Las hojas de coca se pueden masticar, y la cocaína alcaloide se absorbe con lentitud por la mucosa bucal. Este método produce concentraciones sanguíneas bajas de cocaína y cifras correspondientemente bajas en el encéfalo. Por vía oral (absorción gastrointestinal) o por absorción a través de la mucosa nasal, lo cual producía concentraciones más altas del fármaco en la sangre e inicio más rápido de la estimulación.

La cocaína se ha consumido habitualmente en forma de clorhidrato, inhalada por vía intranasal o fumada en cigarrillos con tabaco. Los efectos de la cocaína intranasal se empiezan a percibir al cabo de 3-5 min y alcanzan su máximo a los 10-20 min.³⁰ Fumada o por vía IV, los efectos se producen en unos 10 segundos y desaparecen en unos pocos minutos. La rapidez de inicio y término de los efectos dota a estas vías de gran capacidad reforzadora.³¹

En la figura 15, se observa una gráfica de concentración plasmática dependiente de la vía de administración de cocaína

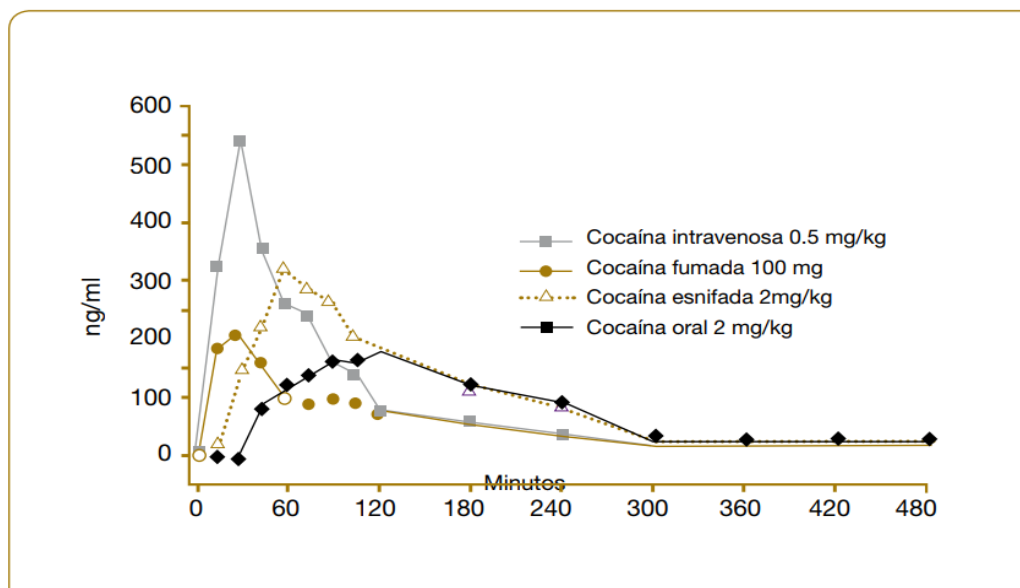


FIGURA 15. Gráfica diferencias temporales de los picos plasmáticos que se producen después de la administración de dosis equipotentes de cocaína por diferentes vías de administración, en voluntarios sanos.³²

4.2.1. Distribución

La cocaína, después de ser administrada, se distribuye ampliamente por todo el organismo. El volumen de distribución varía entre 1.5 y 2 L/kg (57% por vía oral y aproximadamente, 70% fumada).³³

4.2.2. Metabolismo

La cocaína se metaboliza rápidamente, generalmente, por hidrólisis enzimática para producir benzoilecgonina (BE), ecgoninametilester y posteriormente, ecgonina. En un 1-5% se excreta por la orina sin cambios.³³

4.2.3. Eliminación:

El aclaramiento de cocaína es muy rápido, variando entre 20 a 30 ml/min/kg.³³

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El abuso y consumo de drogas ilícitas es uno de los problemas más serios de salud pública de la actualidad; es por esto que ante la demanda existente se requiere implementar un método analítico con mayor sensibilidad para dictaminar si se trata de alguna droga ilícita aportando pruebas sobre la naturaleza de dicha sustancia para la penalización del sujeto implicado en el delito.

VI. JUSTIFICACIÓN

El tráfico de cocaína es un comercio ilícito que prevalece en México en los últimos años y cuya actividad tiene consecuencias legales, es por ello, que las autoridades remiten la investigación correspondiente para determinar el status jurídico del presunto culpable y es el laboratorio del INCIFO el encargado de aportar la prueba a dicha determinación jurídica, por lo que se requiere implementar un método confirmatorio para complementar los ya existentes, que permita identificar el analito de interés en muestras complejas con cantidades de muestras pequeñas, aportando resultados fiables para determinar la inocencia o culpabilidad del involucrado.

VII. OBJETIVOS.

7.1. Objetivo General.

Estandarizar un método analítico para identificación de cocaína por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

7.1.1 Objetivos particulares.

- a) Establecer las condiciones analíticas para la identificación de cocaína por cromatografía de gases- espectrometría de masas.
- b) Implementar un método de identificación de cocaína por cromatografía de gases-espectrometría de masas.

VIII. PARTE EXPERIMENTAL.

8.1. Metodología a desarrollar.

Para la estandarización del método analítico para identificación de cocaína por cromatografía de gases-espectrometría de masas, el material a utilizar será el siguiente:

- a) Vidrio de reloj, el cual se utilizará para pesar la muestra.
- b) Espátula, se utiliza para tomar las cantidades de muestra a pesar.
- c) Balanza analítica en la determinación de la masa de 1 mg de muestra.
- d) Matraces de aforación de 10mL que se utilizará para preparar las soluciones a analizar.
- e) Vortex, para homogeneizar las soluciones.
- f) Campana de extracción en la cual se prepararán las muestras.
- g) Vaso de precipitados de 50 mL, que contendrán el disolvente a utilizar.
- h) Perilla que facilitará la toma de alícuotas.
- i) Pipeta volumétrica de 10 mL, que servirán para adicionar el disolvente a los matraces.
- j) Pipeta volumétrica de 1 mL, para poder tomar alícuotas a este volumen.
- k) Viales de 2 mL para cromatógrafo de gases con rosca de plástico que contendrán la solución preparada y que será analizada.
- l) Cromatógrafo de gasestrace1310 acoplado a masas ISQ 8000 que será el equipo utilizado para analizar las soluciones preparadas.

- m) Software Xcalibur el cual se utilizará para programar las muestras a analizar.
- n) Sistema de gases: helio, nitrógeno, hidrógeno y aire para el funcionamiento del cromatógrafo de gases.
- o) Equipo de cómputo que se utilizará para tratar los datos obtenidos durante el análisis.

El solvente que se utilizará para la identificación de cocaína por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas es el cloroformo.

8.2. Desarrollo

Para determinar la presencia de un analito en una muestra; es decir, la realización de un análisis cualitativo se puede comparar los parámetros de retención del compuesto desconocido con el compuesto conocido.

En laboratorio de Química Forense no se cuenta con el estándar, por lo que se realizará una extracción a una muestra que contenga cocaína y se identificará a través de IR para así tener un compuesto de referencia.

Tiempo de retención (t_R): el tiempo que transcurre después de la inyección de la muestra hasta que el pico de concentración del analito alcanza el detector¹¹.

En el diagrama 1, se muestra de manera general los pasos a seguir para lograr que el método analítico sea adecuado o si es necesario realizar algunos ajustes para que el método elegido cumpla con los parámetros requeridos.

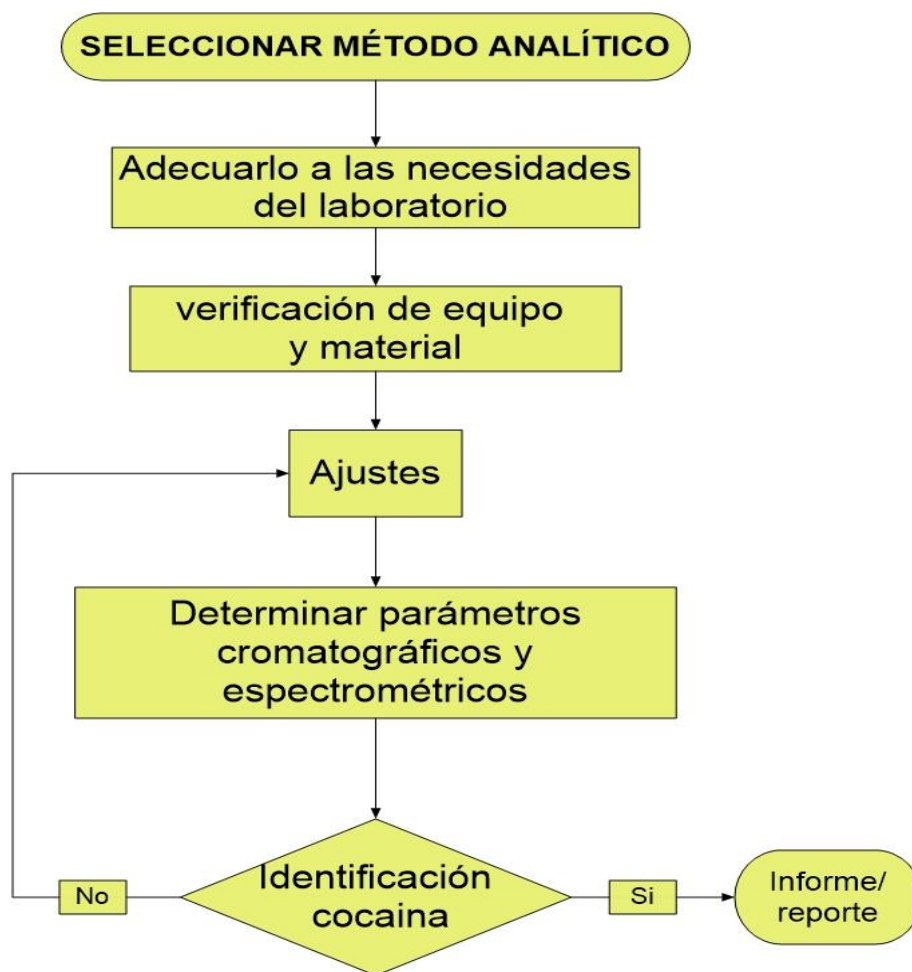


Diagrama1. Planeación general de trabajo.

En el Diagrama No. 2 se muestra el trabajo experimental que se realizará, desde la preparación de las muestras utilizadas en el experimento, así como los parámetros cromatográficos a calcular partir del cromatograma obtenido.

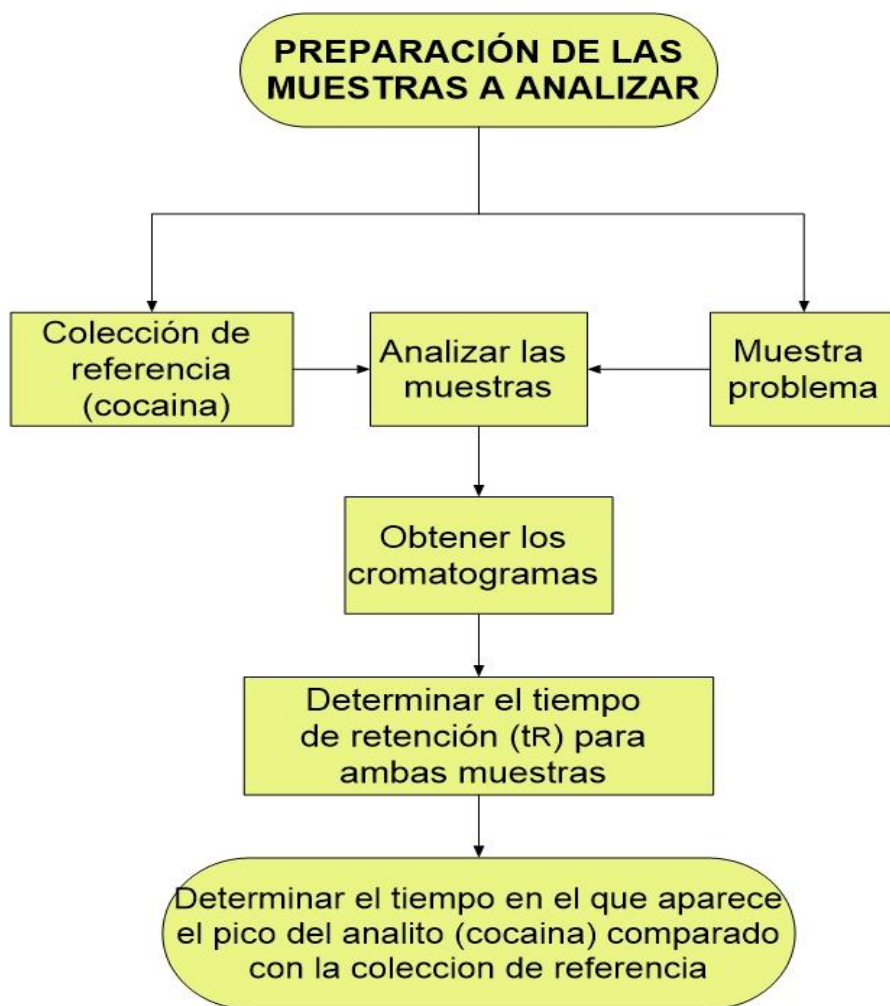


Diagrama 2. Parte experimental que se realizará en dicho trabajo de investigación.

8.3. Preparación de las muestras.

Se describe el siguiente procedimiento para preparar las muestras.

1. Poner en la campana de extracción con los reactivos y el material a utilizar.
2. Rotular los matraces de aforación con el nombre correspondiente de la muestra a preparar.
3. En la balanza analítica pesar 1 mg de muestra con ayuda del reloj de vidrio.
4. Colocar la muestra en el matraz correspondiente.
5. Encender la campana de extracción.
6. Con la pipeta volumétrica colocar 5 mL de cloroformo en el matraz con la muestra.
7. Poner en agitación para disolver la muestra (hasta que la muestra se disuelva) y aforar con cloroformo.

8. Tomar una alícuota de 1mL con la pipeta volumétrica.
9. Colocar la alícuota en el vial de 2 mL y tapar.
10. Llevar al cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas para que sean analizados.
11. Programar en el equipo y analizar (las condiciones cromatográficas se describen más adelante).

IX. CARACTERÍSTICAS DE CG-MS UTILIZADO EN ESTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.

El equipo utilizado es un cromatógrafo de gases (modelo trace 1310) acoplado a espectrómetro de masas de la marca THERMO SCIENTIFIC, con inyector automático ThermoTriplus. Las características del equipo se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Características del cromatógrafo de gases

Columna	Columna capilar TG-5MS 30m x 0.25 mm x 0.25 μ m
Fase estacionaria	Fase de polaridad baja, 5% de difenil/95% de dimetilpolisiloxolano
Temperatura máxima de la columna	330/350°C
Detector	Espectrómetro de masas (ionización por impacto electrónico, analizador simple cuadrupolo).
Muestra inyectada	1 μ L
Tiempo de análisis	12 min

En la tabla 2 se muestran las condiciones de trabajo, tanto en el cromatógrafo de gases como en el espectrómetro de masas.

Tabla 2. Condiciones cromatográficas

CG	Sistema de inyección	Split																	
	Split flow	30.0 mL/min																	
	Volumen de inyección	1.0 µL																	
	Temperatura del inyector	270 °C																	
	Flujo gas portador (He)	1.500 mL/min																	
	Flujo gas de purga	5.0 mL/min																	
	Programación de las Rampas de temperaturas del horno	<table><tr><td>#</td><td>Velocidad (°C/min)</td><td>Temperatura (°C)</td><td>Tiempo de espera (min)</td></tr><tr><td>Inicial</td><td></td><td>120.0</td><td>3.00</td></tr><tr><td>1</td><td>40.0</td><td>250.0</td><td>1.00</td></tr><tr><td>2</td><td>50.0</td><td>280.0</td><td>4.15</td></tr></table>	#	Velocidad (°C/min)	Temperatura (°C)	Tiempo de espera (min)	Inicial		120.0	3.00	1	40.0	250.0	1.00	2	50.0	280.0	4.15	
#	Velocidad (°C/min)	Temperatura (°C)	Tiempo de espera (min)																
Inicial		120.0	3.00																
1	40.0	250.0	1.00																
2	50.0	280.0	4.15																
MS	Temperatura de la línea de transferencia	280 °C																	
	Temperatura de la fuente de iones	240 °C																	
	Rango de masas	50-450U																	

X. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó primero el análisis de la muestra de colección de referencia por la prueba de Scott, después se identificó mediante espectroscopia IR y finalmente se confirmó la identificación por la técnica CG-MS:

Prueba presuntiva:

Se realiza la prueba de Scott resultando positivo en sus tres etapas como se menciona en su procedimiento descrito anteriormente, en la figura 16 se muestra la prueba positiva en su última etapa.



Figura 16. Prueba de Scott

Espectroscopia IR

En la figura 17 se observa el espectro corresponde a la muestra de colección de referencia en color rojo, el espectro de IR en color morado corresponde al espectro brindado por la biblioteca del equipo con el que se compran los números de onda correspondientes a los picos principales (mostrados en la tabla 3) entre ambos espectros cuya comparación es del 99.38 resultando una excelente combinación para cocaína clorhidrato brindado por la librería contenida en el equipo denominada "Forensic Chemistry Laboratory, Library".

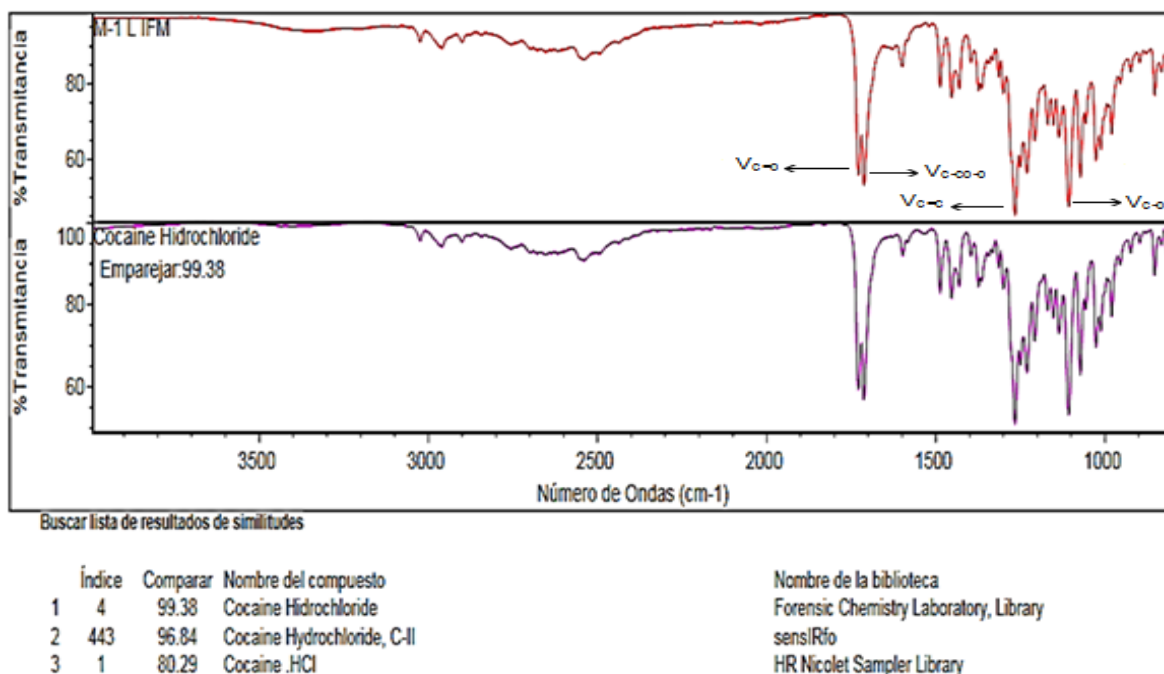


Figura 17. Espectro de IR obtenido del análisis de la colección de referencia.

Cromatografía de gases-espectrometría de masas.

La figura 18, se muestra el cromatograma de colección de referencia (Es la colección de materiales estables, sustancias, objetos o artefactos de propiedades u origen conocido que pueden ser utilizados en la determinación de las propiedades u origen de un material desconocido³⁴), observando el pico de retención en un tiempo de 8.39 min. Correspondiendo a cocaína.

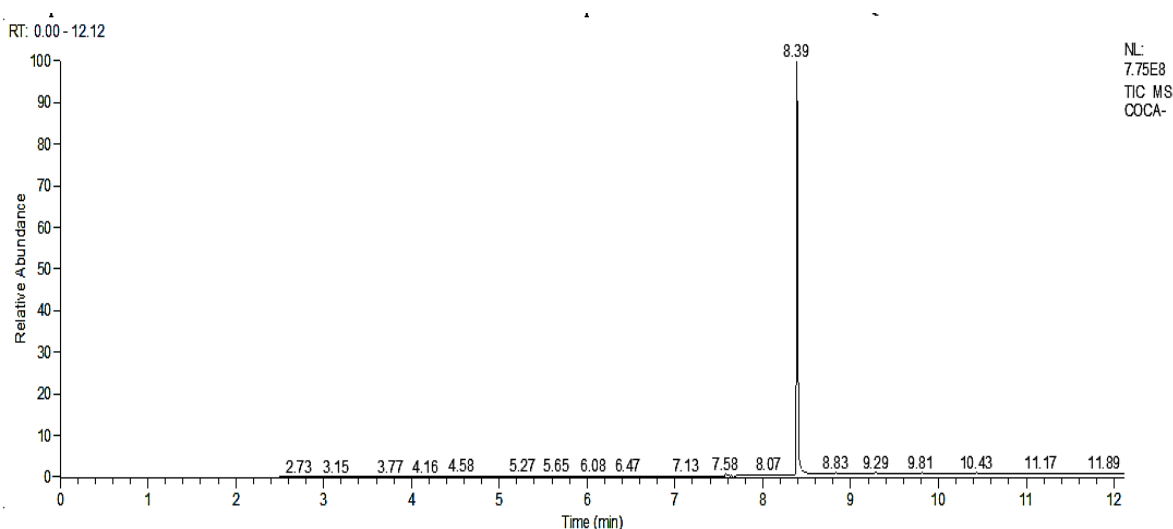


Figura 18. Cromatograma obtenido del análisis de la colección de referencia.

A continuación, se presentan tres repeticiones del análisis de muestras por cocaína que ingresan al laboratorio de química forense de rutina, para comparar el tiempo de retención obtenido en el primer cromatograma, así como obtener los espectros de masas correspondientes como se muestra en la tabla 5.

CROMATOGRAMAS:

La figura 19 muestra el cromatograma obtenido en el análisis de cocaína que ingresa al laboratorio de manera rutinaria, cuya muestra se ha denominado "muestra 1"

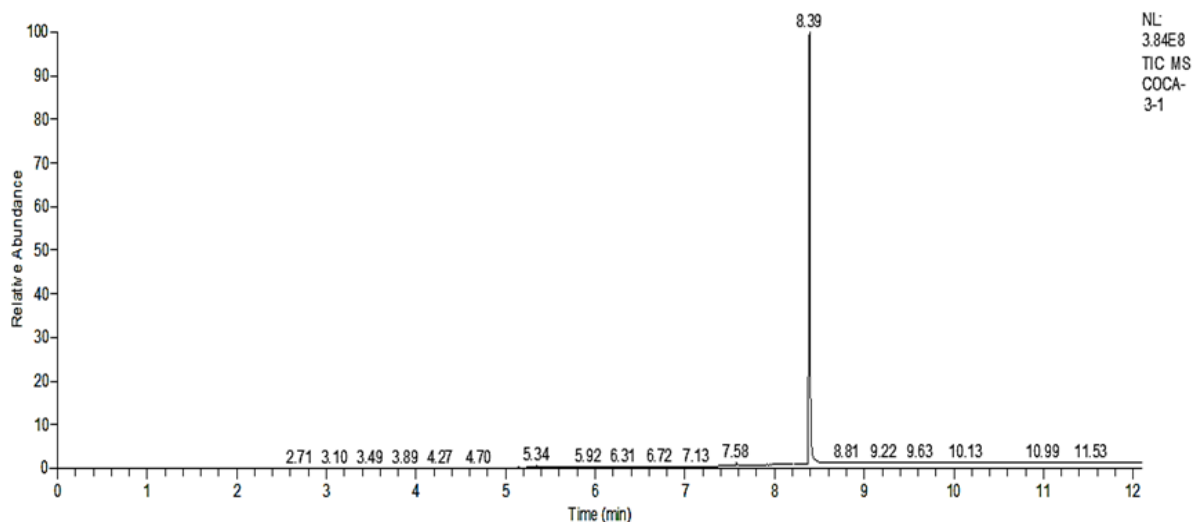


Figura 19. Cromatograma obtenido del análisis de la muestra “1” de cocaína.

En la figura 20 se muestra el espectro de masas obtenido por la muestra 2

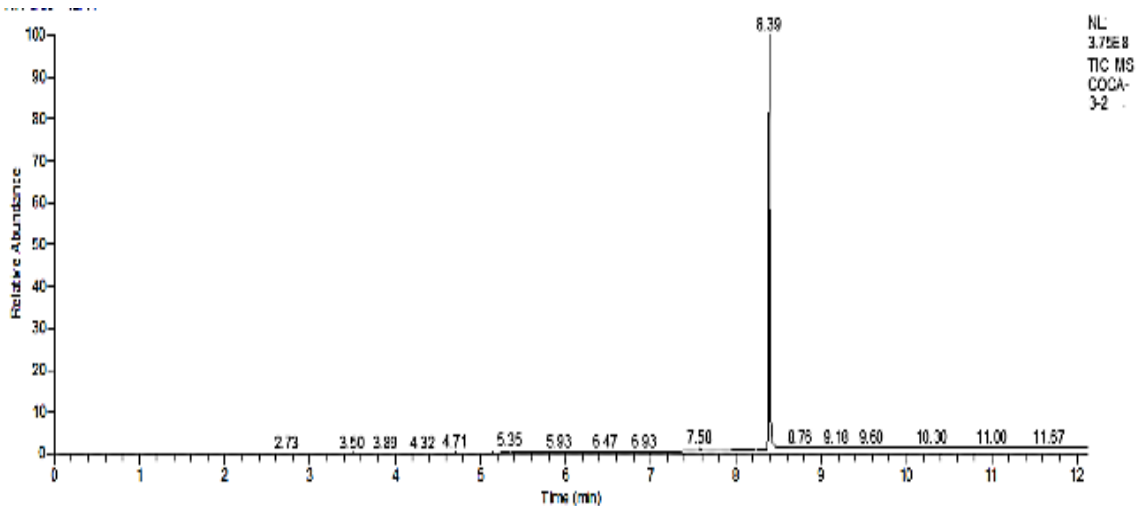


Figura 20. Cromatograma obtenido del análisis de la muestra “2” de cocaína.

En la figura 21 se muestra el espectro de masas obtenido por la muestra 2

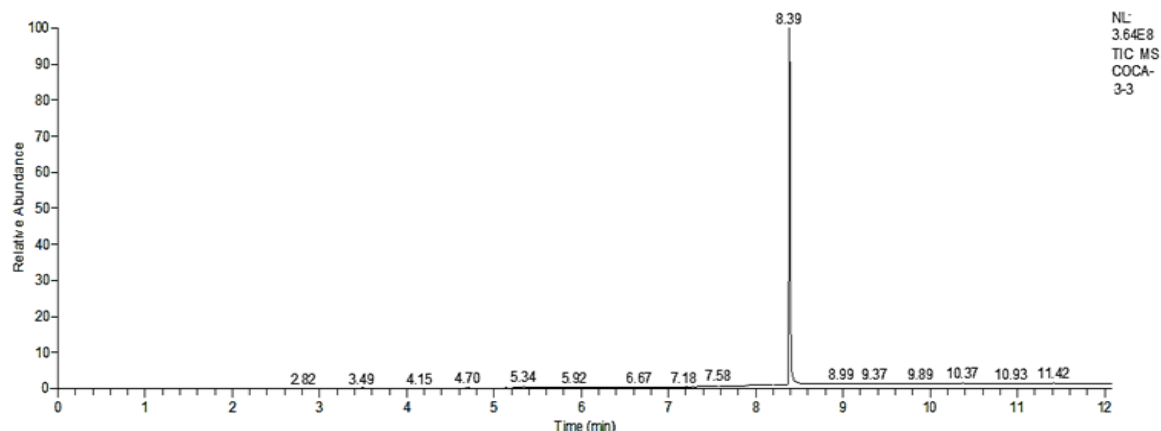


Figura 21. Cromatograma obtenido del análisis de la muestra “3” de cocaína.

En la figura 22, se muestra el espectro de masa obtenido de la muestra de colección de referencia (espectro superior) comparado con el espectro de masas de la biblioteca del equipo (espectro inferior) cuya comparación es excelente con un 920 de SI y de acuerdo a la fragmentación característica de la molécula de cocaína que se observa en la tabla 4 se confirma que la sustancia es cocaína.

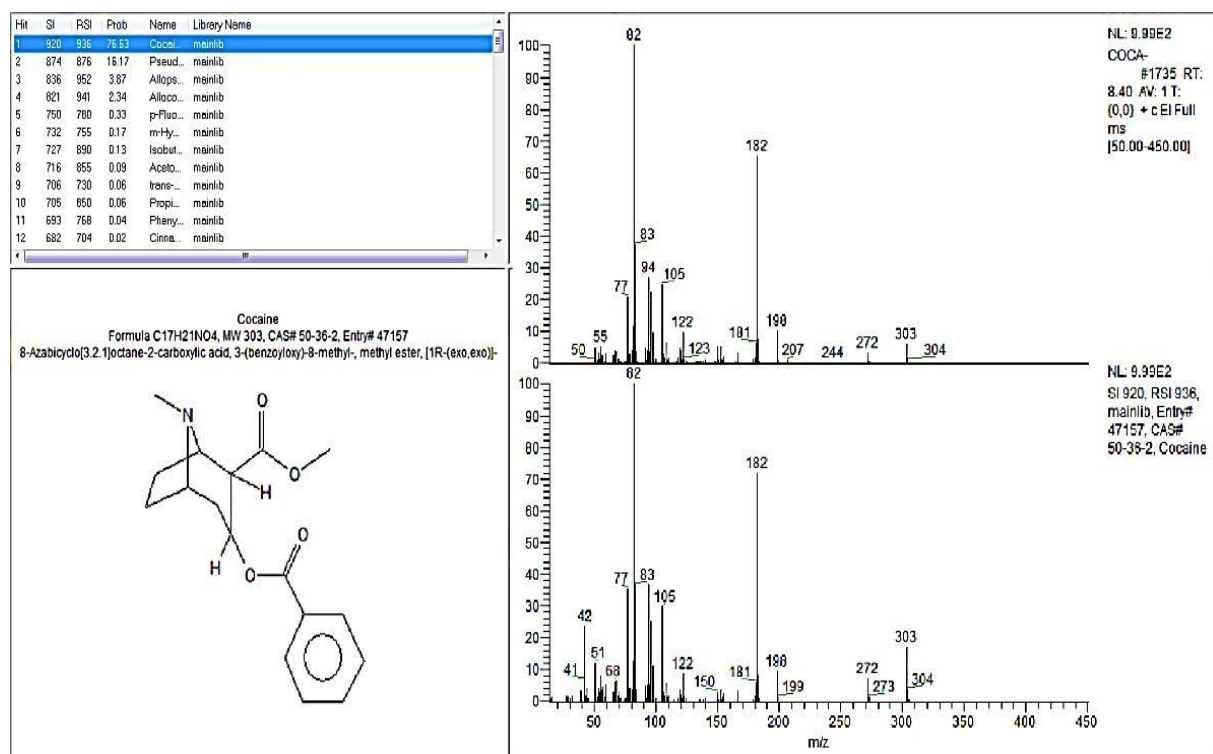


Figura 22. Espectro de masas obtenido del análisis de la muestra de cocaína obtenida de la colección de referencia.

Muestra	iones característicos de fragmentación (referencia)
Cocaína	82,182,83,77,94,105, 303

Tabla 4. Fragmentación característica de la cocaína.³⁵

ESPECTROS DE MASAS OBTENIDOS

En la figura 23 se muestra el espectro de masas obtenido por la muestra 1

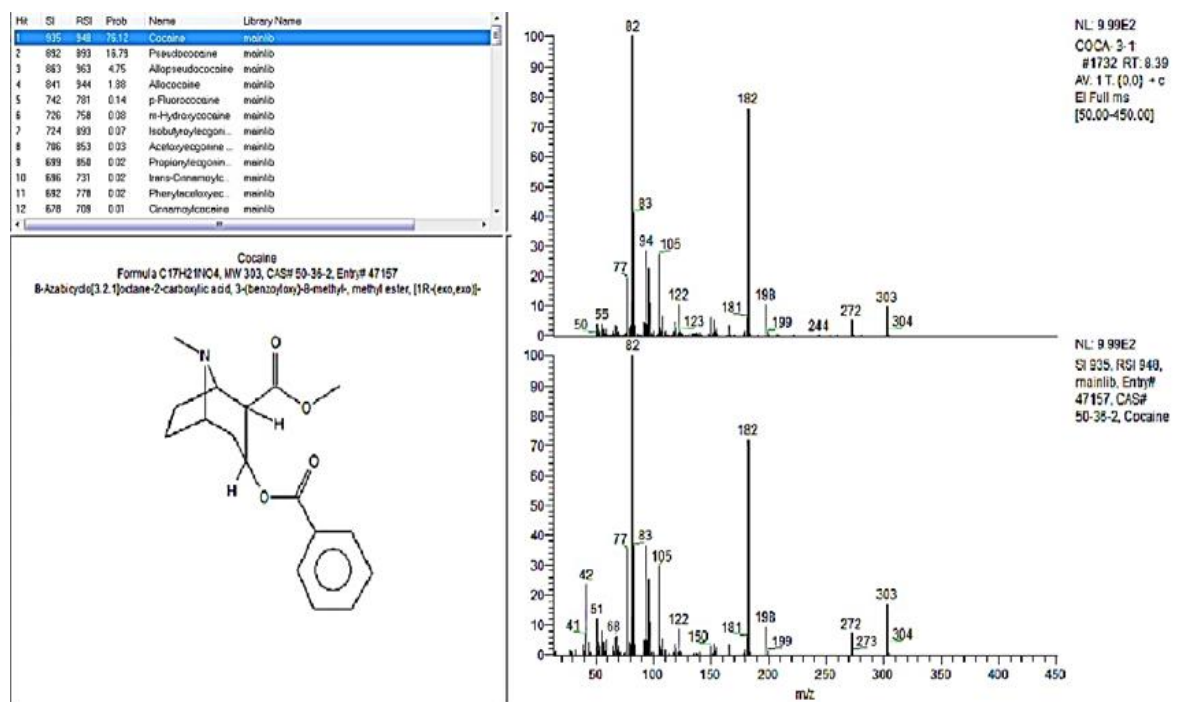


Figura 23. Espectro de masas obtenido del análisis de la muestra “1” de cocaína.

Muestra 2

En la figura 24 se muestra el espectro de masas obtenido por la muestra 2

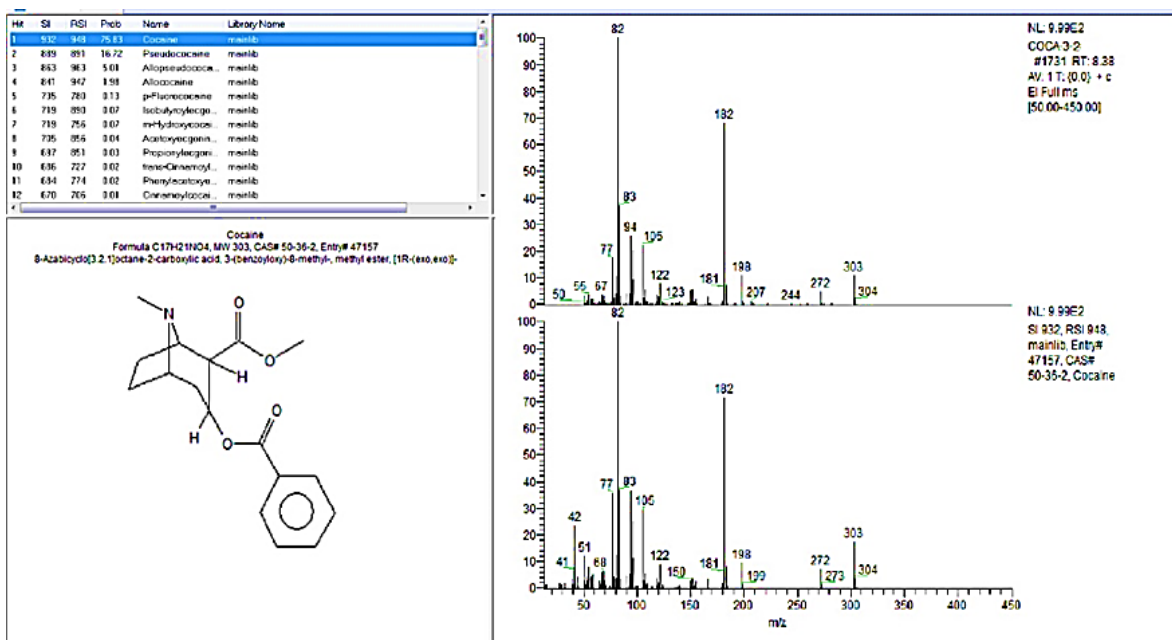


Figura 24. Espectro de masas obtenido del análisis de la muestra “2” de cocaína.

En la figura 25 se muestra el espectro de masas obtenido por la muestra 3

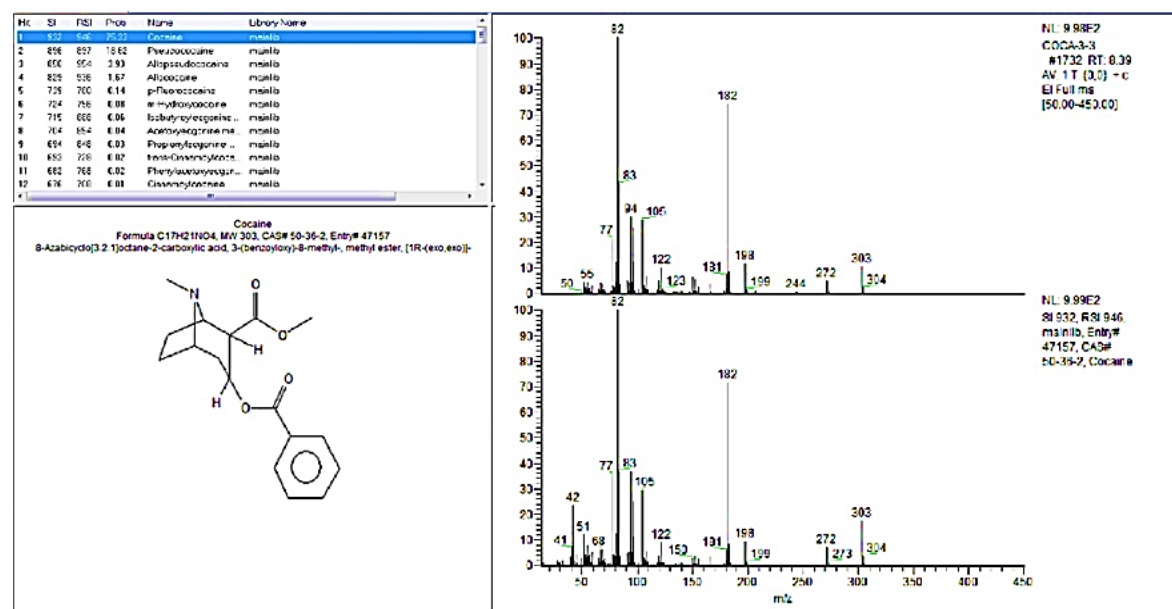


Figura 25. Espectro de masas obtenido del análisis de la muestra “3” de cocaína.

En la tabla 5 se muestran los tiempos de retención mostrados en los cromatogramas obtenidos en el análisis de tres muestras, así como el factor de coincidencia **SI** obtenido del espectro de masas, el cuál es un factor de coincidencia directa para la muestra desconocida y el espectro de la biblioteca.

Tabla 5. Resultados obtenidos

Muestra	Tiempo de retención	SI
1	8.39	935
2	8.39	932
3	8.39	932
	$\bar{X}=8.39$ Desvest=0 C.V.=0%	$\bar{X}=933$ Desvest=1.41 C.V.=0.15%

Como se puede apreciar en la tabla anterior el tiempo de retención registrado en los cromatogramas es el mismo, tanto en las tres muestras problema como en la colección de referencia, confirmando esto mediante espectroscopia IR y la prueba de Scott, por lo que se puede concluir que se trata de la misma sustancia en las 4 muestras, teniendo como coeficiente de variación el 0%.

De la misma forma el factor de coincidencia SI obtenido del análisis con el espectrómetro de masa es mayor de 900, por lo que el espectro obtenido del análisis de las muestras comparado con el espectro de cocaína estándar guardado en la biblioteca del equipo otorga una comparación excelente, confirmando así la identificación de cocaína en todas las muestras.

XI. CONCLUSIONES:

1. Se determinaron las condiciones cromatográficos, (como temperatura, flujo, volumen de inyección, etc.) para realizar la identificación de cocaína.
2. Se determinaron condiciones espectrométricos (como temperatura y rango de masas) que permiten la identificación de cocaína.
3. El método analítico establecido es apto para identificación de cocaína mediante la técnica cromatografía de gases- espectrometría de masas, dejando el método implementado y así la base para su validación.
4. Se logra complementar el método de identificación por espectroscopia infrarroja ya existente en el laboratorio de química forense.

XII. PERSPECTIVAS.

Como complemento de otras técnicas se pueden utilizar cromatografía de líquidos (HPLC) o difracción de rayos X, que combinando con las técnicas actualmente utilizadas que son IR y cromatografía de gases- espectrometría de masas serían utilizadas para tener un método analítico más completo para para que laboratorio de química brinde mejores resultados de los anteriormente descritos, teniendo así un mejor método analítico para la identificación de cocaína.

BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz; Secretaría de Salud. (2017). Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco 2016-2017: Reporte de Drogas.
2. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz; Instituto Nacional de Salud Pública; Secretaría de Salud. (2012). Encuesta Nacional de Adicciones 2011: Reporte de Drogas ilícitas
3. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC). (2013). Pasta básica de cocaína. Lima, Perú.
4. Gootengerg, P. (2016). Cocaína Andina. El proceso de una droga global. Buenos Aires: EPUB.
5. National Institute on Drug Abuse (NIDA). (2010). Cocaína: abuso y adicción.
6. HPsis (2018). Cocaína: recuperado de: <http://www.cocaina.es/coca-y-cocaina.php>
7. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC). (2010). Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis. Nueva York.
8. Loredó, A., Casas, A. Monroy, D. (2014). La marihuana. México: Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM.
9. La metanfetamina: recuperado de NARCONON.
10. MedlinePlus. (2017). Metanfetamina: recuperado de: <https://medlineplus.gov/spanish/methamphetamine.html>
11. Ramírez, S. (2016). Química Forense. Universidad Nacional de Educación a distancia.
12. Harris, D. (2006). Análisis Químico cuantitativo. Barcelona, España: Reverté.
13. Calvo, M. (2012). Toxicología de los alimentos. México: McGRAW-WHILL interamericana editores.
14. Skoog, D., Holler, J. & Nieman, T. (2001). Principios de análisis instrumental. España : McGRAW-WHILL interamericana editores
15. Rouessac, R. (2013). Análisis Químico. España: interamericana.
16. Olguín, Rodríguez. (2004). Cromatografía de gases. Recuperado de: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia_de_gases.pdf
17. Walton, R. (2013). Análisis Químico e instrumental moderno. Barcelona, España. Reverté.
18. González, A. principios de bioquímica clínica y patología molecular. (2010). Barcelona, España: Gráficas Muriel.

19. EuroLab. Argentina. Recuperado de:
https://www.eurolabsa.com.ar/insumos_cromatografia_filtracion_microbiologia_quadrex.html
20. Kronenberg, S. (2009). Williams Tratado de endocrinología. Barcelona, España: Elsevier.
21. Gonzáles, A. principios de bioquímica clínica y patología molecular. (2010). Barcelona, España: Gráficas Muriel.
22. EuroLab. Argentina. Recuperado de:
https://www.eurolabsa.com.ar/insumos_cromatografia_filtracion_microbiologia_quadrex.html
23. McMurry, J. (2012). Química orgánica. México: CengageLearning.
24. Wade, L. (2004). Química orgánica. Madrid, España: Pearson Educación.
25. Abián, J. (2008). Introducción a la Espectrometría de Masas para la caracterización de péptidos y proteínas en Proteómica.
26. Fernández, V. (2009). Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría.
27. National Institute of Standards and Technology (NIST). (2017). Libro del Web de Química del NIST, SRD 69. Estados Unidos de América. Recuperado de
<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C50362&Mask=200#Mass-Spec>
28. Wingrove (1999). Química Orgánica. México: Castillo Hnos.
29. Rodríguez, G. (2006). Los residuos minero-metalúrgicos en el medio ambiente. Madrid, España: Ibergraphi.
30. Flores, J. (2008). Farmacología Humana. España: ElsevierMasson.
31. Goodman & Gilman. (2006). Las bases Farmacológicas de la terapéutica. Colombia: McGRAW-WHILL interamericana editores.
32. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC). (2012). Métodos recomendados para la identificación y análisis de cocaína en materiales incautados. Nueva York.
33. Fernandez P. (2009) drogodependencias. Buenos Aires, Madrid: panamericana.
34. Manual de procedimiento para laboratorios de Ciencia Forense. Recuperado de:
http://200.57.73.228:75/pqtinformativo/GENERAL/Forenses/Carpeta_1_Procedimientos_y_Politicas/MP-FE011_Criterios_Aplicacion_17025-Forenses.pdf
35. Therry Mills, (2006). Instrumental data for drug analysis, 3ra edición, vol. 6.

XI. PROGRAMA DE ACTIVIDADES.

La realización del proyecto de investigación “MÉTODO ANALÍTICO PARA IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA MEDIANTE LA TÉCNICA GASES-MASAS EN EL LABORATORIO DEL INSTITUTO DE CIENCIAS FORENSES DEL ESTADO DE PUEBLA” se piensa desarrollar en 6 meses:

ACTIVIDAD REALIZADA.	MES					
	1	2	3	4	5	6
1) Revisión Bibliográfica.	X	X	X	X	X	X
2) Investigación de métodos existentes para identificación de cocaína en el área forense	X	X				
3) Verificación del equipo	X	X	X			
4) Adaptación del método analítico a) Condiciones cromatográficas b) Condiciones espectrométricas			X	X X	XX	
5) Extracción de cocaína a partir de una muestra de material incautado a) Identificación por IR				X X		
6) Determinación de los parámetros de desempeño: b) Tiempo de retención (t_R) c) Factor de capacidad (k') d) Selectividad (α)				X X X	X X X	
7) Informes						X
8) Resultados y Conclusiones del proyecto.			X			X