

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPUBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

INFORME DE INVESTIGACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGISTER EN QUÍMICA APLICADA

TEMA:

EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE COCAÍNA
MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE GASES ACOPLADO A
ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN MUESTRAS DE CONSUMO
DIRECTO.

AUTOR

Q.F. JOSHIA ALEXANDER MACÍAS NÚÑEZ

DIRECTORA

DRA. CARMEN SAGRARIO HERNANDEZ DOMINGUEZ

MILAGRO, 2024

ECUADOR

Derechos de autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Joshia Alexander Macías Núñez** en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Química Aplicada** como aporte a la Línea de Investigación **Desarrollo Productivo** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 31 de julio de 2024

Joshia Alexander Macías Núñez

0930890181

Aprobación del tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **Carmen Sagrario Hernández Domínguez** en mi calidad de directora del trabajo de titulación, elaborado por Joshia Alexander Macías Núñez, cuyo tema es **Evaluación De La Concentración De Cocaína Mediante Cromatografía De Gases Acoplado A Espectrometría De Masas En Muestras De Consumo Directo**, que aporta a la Línea de Investigación **Desarrollo Productivo** previo a la obtención del Grado **Magister en Química Aplicada** Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro



Firmado electrónicamente por:

CARMEN
SAGRARIO
HERNANDEZ
DOMINGUEZ

Dra. Carmen Sagrario Hernández Domínguez, Ph.D

C.I.: 0958178337

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
DIRECCIÓN DE POSGRADO
ACTA DE SUSTENTACIÓN
MAESTRÍA PROFESIONAL EN QUÍMICA APLICADA

En la Dirección de Posgrado de la Universidad Estatal de Milagro, a los siete días del mes de junio del dos mil veinticuatro, siendo las 14:30 horas, de forma VIRTUAL comparece el/la maestrante, Q.F MACIAS NUÑEZ JOSHIA ALEXANDER, a defender el Trabajo de Titulación denominado " **TEMA: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE COCAÍNA MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN MUESTRAS DE CONSUMO DIRECTO.**", ante el Tribunal de Calificación integrado por: MARTINEZ VALENZUELA GUSTAVO ELIAS, Presidente(a), Mgtr. FALCONI NOVILLO JOSE FRANCISCO en calidad de Vocal; y, Mgs CANTILLO HOLGUIN GENESIS NATHALY que actúa como Secretario/a.

Una vez defendido el trabajo de titulación; examinado por los integrantes del Tribunal de Calificación, escuchada la defensa y las preguntas formuladas sobre el contenido del mismo al maestrante compareciente, durante el tiempo reglamentario, obtuvo la calificación de: **98.67** equivalente a: **EXCELENTE**.

Para constancia de lo actuado firman en unidad de acto el Tribunal de Calificación, siendo las 15:30 horas.



GUSTAVO ELIAS
MARTINEZ VALENZUELA

MARTINEZ VALENZUELA GUSTAVO ELIAS
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



JOSE FRANCISCO
FALCONI NOVILLO

Mgtr. FALCONI NOVILLO JOSE FRANCISCO
VOCAL



GENESIS NATHALY
CANTILLO HOLGUIN

Mgs CANTILLO HOLGUIN GENESIS NATHALY
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL



JOSHIA ALEXANDER
MACIAS NUÑEZ

Q.F MACIAS NUÑEZ JOSHIA ALEXANDER
MAGISTER

DEDICATORIA

A mi padre, aunque no está más en mi vida, le dedicare todos mis éxitos.

A mi madre, hermano y hermana.

A la nueva integrante de la familia Alice.

A mis pequeñas mascotas.

Les agradezco por estar presente en todo este trayecto que ha sido de mucho esfuerzo, pero nunca imposible.

AGRADECIMIENTO

Agradezco profundamente a mi tutora de tesis, Dra. Carmen Domínguez, por inculcarme sus bastos conocimientos y por direccionarme en el desarrollo de la presente tesis.

A mi amiga y compañera de trabajo Q.F. Kenia Baque que me ayudo profesionalmente en la realización de la tesis, gracias infinitas.

RESUMEN

La cocaína es una de las drogas de abuso que más se ha extendido mundialmente, consumiéndose principalmente en su forma de clorhidrato de cocaína soluble en agua y base de cocaína. En Ecuador, existen pocos estudios sobre la caracterización química y pureza de la cocaína consumida localmente. Por esta razón, se ha realizado la optimización de un método analítico para la cuantificación de cocaína mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, partiendo de normativas oficiales. Este método optimizado fue validado rigurosamente, evaluando parámetros de desempeño como linealidad, precisión, veracidad, entre otros, obteniendo resultados óptimos que permitieron contar con un método correctamente validado. Utilizando esta metodología, se analizaron un total de 50 muestras de diferentes incautaciones recibidas en el laboratorio de química forense. De estas 50 muestras, 30 correspondían a base de cocaína, presentando concentraciones de cocaína que oscilaban entre el 20% y el 60%. Las 20 muestras restantes eran de clorhidrato de cocaína, con niveles de pureza aproximadamente al 80%. Estos resultados permiten caracterizar la pureza y tipo de cocaína la cual es información valiosa para las autoridades a cargo del control de sustancias catalogadas sujetas a fiscalización. Este estudio proporciona una base sólida para el análisis forense de cocaína en Ecuador, contribuyendo a la comprensión de su composición y pureza en el mercado local.

Palabras Clave: Cocaína, Validación de método, Cromatografía de gases, Espectrometría de masas, droga de abuso

ABSTRACT

Cocaine is one of the most widespread drugs of abuse worldwide, mainly consumed in its form of water-soluble cocaine hydrochloride and insoluble cocaine base. In Ecuador, there are few studies on the chemical characterization and purity of locally consumed cocaine. For this reason, the optimization of an analytical method for the quantification of cocaine by gas chromatography coupled to mass spectrometry has been carried out, based on official regulations. This optimized method was rigorously validated, evaluating performance parameters such as linearity, precision, accuracy, among others, obtaining optimal results that allowed having a properly validated method. Using this methodology, a total of 50 samples from different seizures received at the forensic chemistry laboratory were analyzed. Of these 50 samples, 30 corresponded to cocaine base, presenting cocaine concentrations ranging between 20% and 60%. The remaining 20 samples were cocaine hydrochloride, with purity levels of approximately 80%. These results allow characterizing the purity and type of cocaine, which is valuable information for the authorities in charge that regulate overseeing controlled substances subject to inspection. This study provides a solid basis for the forensic analysis of cocaine in Ecuador, contributing to the understanding of its composition and purity in the local market.

Keywords: Cocaine, Method Validation, Gas Chromatography, Mass Spectrometry, Drug of Abuse.

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
1. EL PROBLEMA	3
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	3
1.3. OBJETIVO GENERAL	4
1.4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
1.5. JUSTIFICACIÓN	4
CAPÍTULO II	7
2. MARCO TEÓRICO	7
2.1. COCAÍNA	7
2.2. TAXONOMÍA	7
2.3. FABRICACIÓN Y CONSUMO	9
2.4. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y FÍSICAS	11
2.5. INTERACCIÓN BIOQUÍMICA.	12
2.5.1. Vías de administración	13
2.5.2. Metabolismo y excreción	13
2.5.3. Toxicidad	14
2.5.4. Legislación	14
2.6. CROMATOGRAFÍA	15
2.6.1. Cromatografía Gaseosa	15
2.6.2. Espectrometría de Masas	17
2.6.3. Aplicaciones	18
2.7. VALIDACIÓN DE UN MÉTODO	18
2.7.1. Especificidad o Selectividad	19
2.7.2. Límite de detección y cuantificación	20
2.7.3. Intervalo de trabajo (Linealidad)	20
CAPÍTULO III	26
3. DISEÑO METODOLÓGICO	26
3.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	26
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA	27

3.2.1. Recolección de muestras _____	27
3.3. LOS MÉTODOS Y LAS TÉCNICAS _____	28
3.3.1. Equipos y reactivos _____	28
3.3.2. Caracterización Química de las sustancias _____	29
3.3.3. Optimización del método _____	31
3.3.4. Validación de un método analítico. _____	33
CAPÍTULO IV _____	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	37
4.1. OPTIMIZACIÓN DEL METODO _____	37
4.1.1. Particularidades en la aplicación de normativas oficiales _____	37
4.1.2. Pruebas de Condiciones cromatográficas _____	39
4.2. RESULTADOS DE PRUEBAS DE OPTIMIZACIÓN _____	44
4.2.1. Condiciones cromatográficas _____	44
4.2.2. Preparación de los estándares de calibrado _____	45
4.2.3. Preparación de la curva de calibración _____	45
4.2.4. Procedimiento analítico de muestras _____	46
4.3. VALIDACIÓN DEL METODO _____	47
4.3.1. Selectividad y Especificidad _____	47
4.3.2. Límite de detección y cuantificación _____	50
4.3.3. Linealidad _____	51
4.3.4. Precisión (Condiciones de Repetibilidad): _____	53
4.3.5. Precisión (Condiciones de Reproducibilidad): _____	53
4.3.6. Exactitud: _____	58
4.4. RESULTADOS ANALISIS MUESTRAS DE CONSUMO DIRECTO _____	59
4.4.1. Confirmación de la naturaleza química _____	59
4.4.2. Pureza de las muestras analizadas _____	64
4.4.3. Adulterantes analizados _____	67
CAPITULO V _____	70
5. CONCLUSIONES _____	70
6. RECOMENDACIONES _____	71
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	73
ANEXOS _____	78

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Taxonomía del Erythroxyton coca	7
Tabla 2 Extracción de la cocaína a partir de la hoja de coca.	10
Tabla 3 Parámetros Físicos Químicos de la Cocaína	11
Tabla 4 Formas de abuso	14
Tabla 5 Características de desempeño según EURACHEM	21
Tabla 6 Características de desempeño según el Servicio de Acreditación Ecuatoriana (SAE).....	22
Tabla 7 Características de desempeño según UNODC.....	23
Tabla 8 Características de desempeño según SWGDRUG.....	24
Tabla 9 Metodología de investigación.....	26
Tabla 10 Información de análisis en función a su categoría	29
Tabla 11 Requerimientos para identificación de sustancias por categoría.	30
Tabla 12 Condiciones Cromatográficas UNODC	31
Tabla 13 Condiciones Cromatográficas (SWGDRUG, 2023).....	32
Tabla 14 Condiciones de aceptación de criterios de validación.....	36
Tabla 15 Principales inconvenientes y desventajas de condiciones cromatográficas y analíticas UNODC.....	37
Tabla 16 Principales inconvenientes y desventajas de condiciones cromatográficas y analíticas SWGDRUG	38
Tabla 17 Condiciones cromatográficas elegidas para prueba	39
Tabla 18 Datos de prueba de métodos con normativas oficiales.....	39
Tabla 19 Condiciones analíticas en muestras para pruebas.	41
Tabla 20 Datos obtenidos optimización día 1	42
Tabla 21 Datos obtenidos optimización día 2	43
Tabla 22 Datos obtenidos optimización día 3	43
Tabla 23 Resultados MRC.....	44
Tabla 24 Condiciones cromatográficas seleccionadas	44
Tabla 25 Preparación de la curva de calibración	46
Tabla 26 Procedimiento para procesamiento de muestras.....	47
Tabla 27 Tiempo de retención del estándar de cocaína	49
Tabla 28. Resultados del límite de detección y cuantificación	50
Tabla 29 Datos de la Linealidad del método.....	51

Tabla 30 Repetibilidad MRC	53
Tabla 31 Resultados reproducibilidad nivel bajo.....	54
Tabla 32 ANOVA nivel bajo	54
Tabla 33 Análisis Varianza Nivel Bajo	55
Tabla 34 Resultados reproducibilidad nivel medio.....	55
Tabla 35 ANOVA nivel medio	56
Tabla 36 Análisis Varianza Nivel Medio.....	56
Tabla 37 Resultados reproducibilidad nivel alto.....	57
Tabla 38 ANOVA nivel alto	57
Tabla 39 Análisis Varianza Nivel Alto	58
Tabla 40 Confirmación estructural de la sustancia	60
Tabla 41 Pureza de Cocaína en muestras reales	64
Tabla 42 Adulterantes en cocaína de consumo directo	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Erythroxylum coca.....	8
Figura 2 [1R-(exo,exo)]-3-(benzoiloxi)-8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]octano-2-éster metílico del ácido carboxílico o también llamado cocaína.	11
Figura 3 Interacción de la cocaína con los receptores de la dopamina.....	12
Figura 4 Diagrama clásico de un modelo de cromatógrafo de gases.....	16
Figura 5 Curva de calibración de 5 puntos (50 mg L ⁻¹ a 500 mg L ⁻¹) con estándar interno.	40
Figura 6 Curva de calibración y datos de regresión lineal optimización día 1. .	42
Figura 7 Curva de calibración y datos de regresión lineal optimización día 2. .	43
Figura 8 Curva de calibración y datos de regresión lineal optimización día 3. .	44
Figura 9 Selectividad y especificidad del método.....	48
<i>Figura 10 Curvas de calibración. Fuente:</i> Elaborado por el autor.....	52
Figura 11. Naturaleza Química de la Cocaína.....	63
Figura 12 Adulterantes encontrados en muestras de cocaína	69

INTRODUCCIÓN

En la actualidad según el Reporte Mundial de Drogas (UNODC, 2022), el consumo de drogas lo realizan alrededor de 284 millones de personas en todo el mundo, y esto corresponde a personas que están entre los 15 a 64 años de edad. Según las estadísticas proporcionadas por la Oficina de las Naciones Unidas de Drogas y Crimen (UNODC) 21 millones de personas son consumidores de cocaína.

En el año 2020, Ecuador sorpresivamente se situó en el tercer puesto a nivel mundial de incautaciones de cocaína, representando el 6,5% de las incautaciones a nivel mundial (Colombia 41% y Estados Unidos 11%), esto se ha repetido en el año 2021 y 2022 (UNODC, 2022) . Esto quiere decir que el problema de esta droga va en aumento, pero también denota un control exitoso; por ende, es necesario que las técnicas analíticas se vayan actualizando a medida que el tiempo avanza para que sean más aptas en cuestión de detección y cuantificación de la droga.

Desde la década de 1980 en que se comenzó a popularizar el consumo de cocaína, se han realizado diversas investigaciones de la farmacocinética y metabolismo de la misma tal como explica Jatlow, (1988), en el cual toma como precedente la necesidad de la aplicación de metodologías más sensibles para la detección de cocina y/o contaminantes.

Diversos autores tales como (Del Bosque et al., 2014) indican que el consumo y abuso de cocaína a diario se asocia con una morbilidad y mortalidad significativas. Esta droga causa signos tempranos tales como: vasoconstricción, midriasis, hipertermia, taquicardia e hipertensión y en la actualidad, se sigue obteniendo nuevos hallazgos con respecto a la salud por el abuso de estas sustancias.(Wang et al., 2021)

En Ecuador, el análisis de las drogas incautadas como, por ejemplo, cocaína, representa la mayoría de las aprehensiones realizadas en relación a drogas de abuso en el país. Esto es un hecho de gran importancia debido a que es una

herramienta para efectos judiciales e investigación de delitos relacionados con el consumo y el tráfico de sustancias estupefacientes.

El análisis de las muestras de cocaína en el centro forense de Guayaquil (Ecuador) fue llevado a cabo de manera cualitativa. Se ha podido observar que, en su gran mayoría, las muestras estudiadas van acompañada de muchos contaminantes y adulterantes, los cuales deterioran más rápido la salud de los consumidores con un nivel alto de adicción.

La cocaína que proviene de incautación de la “calle” es la que más comúnmente se mezcla con otras sustancias, aumentando de esta manera su volumen para venta, haciendo que los precios disminuyan; siendo la última consecuencia el incremento en su accesibilidad para el consumo. Dentro de las adulterantes de la cocaína, se han detectado desde sustancias aparentemente inofensivas como azúcar, harina, bicarbonato de sodio, hasta sustancias más dañinas que pueden potenciar o cambiar los efectos de las drogas, tales como, fenacetina, levamizol, cafeína, diltiazem, procaína, etc. (Fiorentin et al., 2019)

La presente investigación pretende determinar cuantitativamente, mediante cromatografía de gases con acoplamiento a espectrometría de masas (CG/EM) el nivel de pureza de cocaína, así como sus principales contaminantes de forma cualitativa. Además, se buscará demostrar la alta sensibilidad del método y comparar aquellos contaminantes hallados en análisis similares de drogas incautadas por organismos encargados de hacer cumplir la ley y/o proporcionados por programas de análisis de drogas en otros lugares del mundo; y reportado principalmente en literatura publicada.

CAPÍTULO I

1. EL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente la legislación ecuatoriana según la Ley Orgánica de Prevención Integral Fenómeno Socio Económico Drogas toma en cuenta como una herramienta judicial en la práctica de análisis cuantitativo en las pericias de Química Forense para las sustancias sujetas a fiscalización, entre estas la cocaína.

En base a lo que antecede, el laboratorio de criminalística del centro zonal 8-5 ubicado en Guayaquil cuenta con la instrumentación necesaria para la aplicación de métodos cuantitativos que por lo general es un objeto más de evidencia para el fiscal en el momento de audiencia; sin embargo, el uso de métodos convencionales y/o tradicionales como la cromatografía de capa delgada y los pruebas de identificación preliminar homologada (PIPH) no permite la determinación cuantitativa de las sustancias sujetas a fiscalización.

Es por esto que se adquirió un Cromatógrafo de Gases acoplado a un detector de masas de última generación para la aplicación de métodos cuantitativos entre sus alcances. A pesar de ello, no existía una correcta actualización de conocimientos para la cuantificación de nuevas metodologías a aplicar, haciendo necesario la puesta a punto de un método de análisis para su uso en la determinación del nivel de pureza de cocaína, que es una de las sustancias sujetas a fiscalización de mayor incidencia en el laboratorio, representando el 80% de las muestras recibidas.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Resulta valido el diseño de un método de análisis para la determinación de cocaína en muestras de consumo directo mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas?

1.3. OBJETIVO GENERAL

- ✓ Evaluar el nivel de concentración de cocaína en el material incautado sujeto a fiscalización mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

1.4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Optimizar un método analítico mediante cromatografía gaseosa acoplada a detección de masas para muestras de cocaína.
2. Validar un método analítico para la determinación de cocaína mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.
3. Aplicar el método analítico validado en diferentes muestras de consumo directo.

1.5. JUSTIFICACIÓN

Desde una perspectiva científica, se espera un avance en el campo de la ciencia forense a través del desarrollo de un método específico para la cuantificación precisa de la pureza de la cocaína, lo que implicaría una mejora en las capacidades técnicas y científicas de los laboratorios de criminalística.

Además, la aplicación de métodos más avanzados promovería una mayor precisión y confiabilidad en los resultados obtenidos, lo cual es de suma importancia en el ámbito judicial.

Esta investigación también tiene como objetivo la actualización del conocimiento científico y tecnológico del personal del laboratorio, capacitándolos en el uso de equipos de alta tecnología y en la implementación de metodologías avanzadas para el análisis de sustancias.

Desde una perspectiva de cambio social, este estudio adquiere relevancia al contribuir en la lucha contra el tráfico ilegal de drogas y el crimen organizado, fortaleciendo así la capacidad del sistema judicial para enfrentar este tipo de delitos y proteger la seguridad pública.

Los beneficios de esta investigación se extienden a la sociedad en general al ayudar a reducir la incidencia de la criminalidad relacionada con las drogas y al garantizar una mayor transparencia y confiabilidad en el sistema de justicia, lo que fomenta el respeto por el estado de derecho y la confianza en las instituciones correspondientes.

Existen diversos tipos de investigaciones tal como menciona (Sabogal-Carmona & Urrego-Novoa, 2012) donde analizan muestras de cocaína (bazuco) con el fin de hacer caracterización química, es decir, composición y pureza, con el fin de determinar la importancia toxicológica para los consumidores crónicos. En Ecuador el tipo de investigaciones de estas sustancias son muy pocas debido a la limitación tecnológica y accesibilidad a las muestras, sin embargo; (Moncayo Molina et al., 2021), realizaron una investigación similar en la provincia del Chimborazo.

En relación a lo expuesto es necesario que estos tipos de investigaciones se realicen de manera periódica y ver la incidencia de este tipo de crimen el cual se encuentra tipificado en la ley orgánica penal del Ecuador, además, se debe tener una metodología reproducible y validada para que pueda ser reproducible en distintos laboratorios de química forense a nivel nacional o internacional.

Es por eso que la determinación de la pureza de la cocaína es un estudio importante porque la calidad y la composición de esta droga pueden tener un impacto significativo en la salud y la seguridad de los consumidores. La cocaína que se vende en el mercado negro a menudo se corta con sustancias peligrosas, como el talco, la cafeína, la lidocaína, la fenacetina, la levamisol y otros productos químicos que pueden ser tóxicos y causar efectos secundarios graves.(Fiorentin et al., 2019)

Además, la pureza de la cocaína puede variar ampliamente, lo que hace difícil determinar la dosis adecuada para lograr el efecto deseado. Si la droga es muy pura, el usuario puede sufrir una sobredosis sin darse cuenta. Si la droga está muy diluida, el usuario puede consumir grandes cantidades de sustancias tóxicas sin obtener el efecto deseado, lo que puede provocar enfermedades y daños en los órganos. (Cole et al., 2011; Lizasoain et al., 2002)

Por lo tanto, un estudio de determinación de pureza de la cocaína es importante para ayudar a los usuarios a tomar decisiones informadas sobre su consumo y reducir el riesgo de sobredosis y otros efectos secundarios. También puede proporcionar información valiosa para las autoridades encargadas de hacer cumplir la ley y ayudar a combatir el tráfico ilegal de drogas.

Para que esto se cumpla es necesario que los métodos empleados estén correctamente validados, por ende, proporcionaran resultados confiables y de calidad en un punto en que pueda ser comparado con otros grandes laboratorios de referencia del mundo.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. COCAÍNA

Desde tiempos antiguos la hoja de coca, *Erythroxylon coca* o *Erythroxylon novogranatense*, se ha empleado como parte de rituales en las comunidades ancestrales; sin embargo, la primera extracción de esta planta se dio en el año 1859. (López C. et al., 2015)

Tradicionalmente se preparaban infusiones de hoja de coca, o se masticaban ya que estas le daban al consumidor más energía de la habitual para realizar diferentes actividades. Después de las primeras extracciones, la cocaína se empezó a usar en elixires, tónicos y diferentes preparados naturales que eran usados para tratar enfermedades. (UNODC, 2012)

Hoy en día debido a su gran acción estimulante y su velocidad de acción, la cocaína se comenzó a usar de forma indiscriminada llegando a formar parte una de las drogas ilícitas más comunes en el mundo, donde cada día existen más consumidores y también víctimas fatales por el uso de la misma.(Hesse et al., 2021)

2.2. TAXONOMÍA

El *Erythroxylon coca* o *Erythroxylum novogranatense*, ambos son especies nativas de Sudamérica de las cuales se obtiene mayoritariamente el principio activo de la cocaína. (Stolberg, 2011)

Tabla 1 Taxonomía del *Erythroxylon coca*

Taxonomía	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida

Orden	Malpighiales
Familia	Erythroxylaceae
Genero	<i>Erythroxylum</i>
Especie	<i>Erythroxylum coca</i> <i>Erythroxylum novogranatense</i>

Fuente: (Stolberg, 2011). Elaborado por el autor

Las plantas de coca son arbustos pequeños entre 1,5m a 3m de altura, encontrándose principalmente en los Altiplanos Andinos de Bolivia, Colombia, Perú, Ecuador, Chile, Venezuela, Brasil y Argentina. Siendo los principales países cultivadores de coca Perú y Bolivia con el 90% de la producción mundial. Los arbustos son de tallos leñosos, hojas de forma elipsoidales y unos pequeños frutos de color rojo los cuales no son comestibles ya que no tienen pulpa. (Pacini y Franquemont, 1985)

Según Calatayud y González (2003) , el cultivo de las plantas de coca data desde el año 700 D.C., ya que se han encontrado evidencias de su cultivo y cosecha. Este hecho convierte a la coca, en una de las plantas de cultivo más antiguas de la región Andina, habiéndose expandido por toda América del Sur.



Figura 1 Erythroxylum coca

Fuente: Obtenido de (Abduca, 2007).

2.3. FABRICACIÓN Y CONSUMO

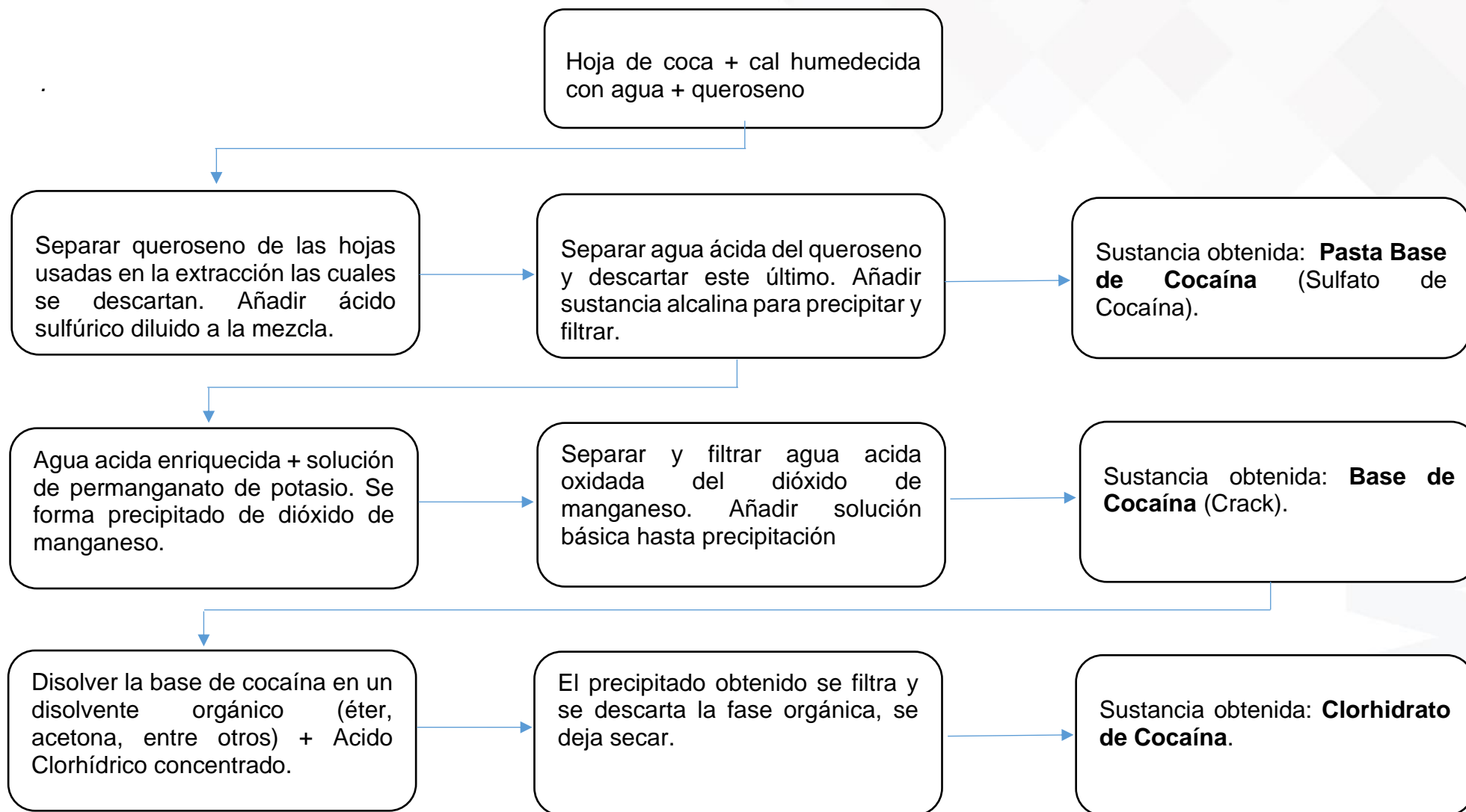
Según la UNODC, (2012), una de las formas más comunes de consumo de cocaína es su sal soluble en agua (Clorhidrato de cocaína) y en cocaína base insoluble en agua (base de cocaína, crack). Teniendo cada una su forma de obtención específica hasta llegar al producto final.

El proceso de fabricación de la cocaína de consumo directo es una actividad ilegal, la cual a variar porque siempre se trata de restringir los principales precursores para la obtención del mismo; y por ende, se puede decir que es susceptible a tener diferentes formas de fabricación a diferencia de otras drogas de abuso. (Casale & Klein, 1993)

Siguiendo principios básicos de extracción y purificación como es la filtración, decantación y precipitación mediante diferentes reacciones químicas se puede llegar a su forma de pasta, base o clorhidrato. En pocas palabras la obtención de cocaína se basa en 3 simples pasos. (Casale & Klein, 1993)

1. Extracción del analito de las hojas de coca.
2. Purificación de la pasta base a base de cocaína eliminando impurezas
3. Transformar la base de cocaína a clorhidrato de cocaína mediante reacción química.

Tabla 2 Extracción de la cocaína a partir de la hoja de coca.



Como se explica en la **tabla 2**, el método más común para la obtención de la cocaína en sus formas más consumidas es la de la extracción con solvente en el cual se maceran las hojas de coca en medio acuoso con una base inorgánica en forma de sal.

2.4. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y FÍSICAS

La molécula de cocaína se caracteriza por estar clasificada como un alcaloide tropano. Así mismo el grupo nitrogenado puede ser considerado una amina terciaria, el cual en pruebas preliminares direcciona mucho al tipo de sustancia que es.

Las propiedades Físico-Químicas se mencionan en la siguiente Tabla

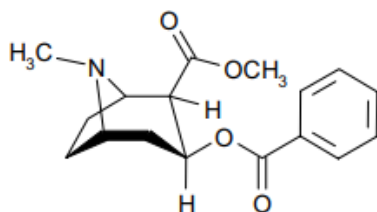
Tabla 3 *Parámetros Físicos Químicos de la Cocaína*

Parámetro	Base de Cocaína	Clorhidrato de Cocaína
Pero Molecular	303,4 g/mol	339,8 g/mol
Solubilidad en Agua	Insoluble	Soluble
Solubilidad en Etanol	Soluble	Soluble
Solubilidad en Éter	Soluble	Insoluble
Solubilidad en Cloroformo	Soluble	Soluble
Punto de Fusión	98°C	195°C

Fuente: (UNODC,2012) Elaborado por el autor

La estructura de la cocaína se muestra en la figura:

Figura 2 [1R-(exo,exo)]-3-(benzoiloxi)-8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]octano-2-éster metílico del ácido carboxílico o también llamado cocaína.



Fuente: Obtenido de, PubChem(2023).

2.5. INTERACCIÓN BIOQUÍMICA.

La cocaína, al igual que otros anestésicos locales, modula la transmisión neural al bloquear la corriente rápida de sodio en las neuronas sensoriales. En dosis elevadas, puede impactar también en la actividad cardíaca, ralentizando la conducción y afectando la capacidad de contracción del corazón, lo que potencialmente contribuye a arritmias y muerte súbita. (Benowitz, 1993)

La cocaína actúa directamente en los receptores neuronales adyacentes de la dopamina, el cual ayuda a la liberación de dopamina dentro de la sinapsis. La proteína especializada transportadora de dopamina no elimina la misma si no que la acumula por un bloqueo en el proceso de reciclaje, por ende, va a contribuir un efecto más placentero de la cocaína. (Volkow, 2001)

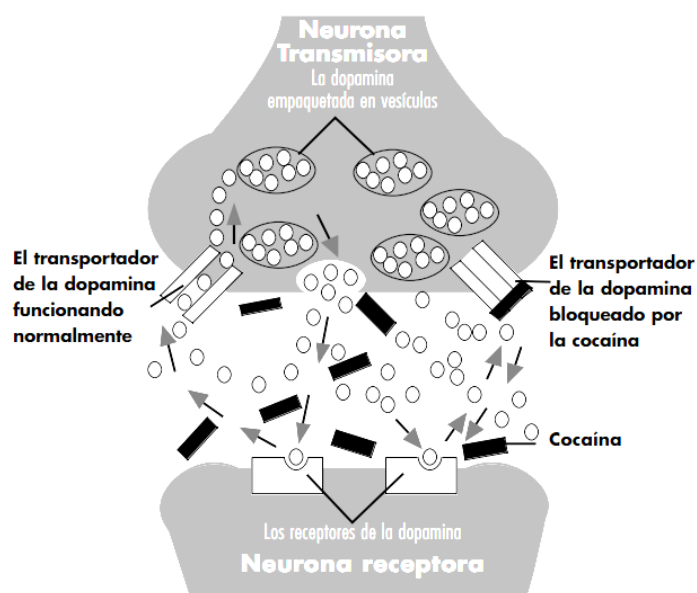


Figura 3 Interacción de la cocaína con los receptores de la dopamina.

Fuente: Obtenido de (Volkow, 2001)

Es ampliamente reconocido el efecto adrenérgico de la cocaína, se ha determinado que bloquea la recaptación de norepinefrina en las terminales nerviosas adrenérgicas, lo que resulta un aumento de esta sustancia en aproximadamente un 10% a nivel del Sistema Nervioso Central. (Garro Vargas, 2011)

A medida que se produce una exposición repetida a la cocaína, el cuerpo puede desarrollar tolerancia a algunos de sus efectos, como por ejemplo la euforia y los

efectos cardiovasculares. Sin embargo; algunos efectos conductuales pueden intensificarse con el uso crónico, lo que implica adaptaciones complejas en los receptores y sistemas neurotransmisores.(Benowitz, 1993)

2.5.1. Vías de administración

La vía de administración depende mucho de su forma de abuso ya que estas van a influenciar directamente la farmacocinética, actividad farmacológica, toxicidad e incidencia en el grado de adicción. (Pascual et al., 2021)

- ✓ Inhalación: La más común, se lo hace cuando esta en forma de polvo inhalándolo por la nariz.
- ✓ Fumar: Se puede fumar siempre y cuando se encuentre como crack la cual está en su forma de base como una roca que se calienta e inhala.
- ✓ Inyección: Se administra directamente al torrente sanguíneo, es la menos usada debido a su gran riesgo de sobredosis, generalmente se lo hace en su forma de sal o clorhidrato.

2.5.2. Metabolismo y excreción

La cocaína experimenta un proceso de descomposición en el cuerpo a través de las esterasas presentes en el plasma y en el hígado, convirtiéndose principalmente en benzoilecgonina (el metabolito principal) y en metilester de ecgonina, que luego son eliminados a través de la orina. Otros metabolitos, en cantidades menores, no contribuyen significativamente a los efectos clínicos, excepto el cocaetileno, un metabolito que se forma en pequeñas cantidades, generalmente menos del 5%, mediante un proceso llamado transesterificación hepática. Si alguien que consume cocaína también ingiere alcohol, las cantidades de cocaetileno generadas aumentarán significativamente. (Damin & Grau, 2015)

Tabla 4 *Formas de abuso*

TIPO DE SUSTANCIA	CONCENTRACION DE COCAINA	VIA DE ADMINISTRACION	PORCENT. EN PLASMA	VELOCIDAD APARICION DE EFECTOS	CONC. MAXIMA PLASMA	DURACION EFECTOS	DESARROLLO DEPENDENCIA
HOJAS DE COCA	0.5 - 1.5%	Mascado infusión oral	20 - 30%	LENTA	60 Minutos	30- 60 Minutos	NO
CLORHID. COCAINA	12 - 75%	tópica: ocular genital,intranasal (esnifar)	20 - 30%	RELATIV. RAPIDA	5-10 Minutos	30- 60 Minutos	SI LARGO PLAZO
CLORHID. COCAINA	12 - 75%	parenteral: endovenosa subcutanea, intramuscular.	100%	RAPIDA	30-45 Segundos	10-20 Minutos	SI CORTO PLAZO
PASTA DE COCA	40 - 85% (Sulfato de cocaína)	Fumada	70 - 80%	MUY RAPIDA	8-10 Segundos	5-10 Minutos	SI CORTO PLAZO
COCAINA BASE.	30 - 80% (alcaloide cocaína)	Inhalada-fumada	70 - 80%	MUY RAPIDA	8-10 Segundos	5-10 Minutos	SI CORTO PLAZO

Fuente: obtenido de (Lizasoain et al., 2002)

2.5.3. Toxicidad

La intoxicación aguda por cocaína provoca una respuesta inicial estimulante debido a su potente actividad simpaticomimética. Durante esta etapa, se observan cambios fisiológicos en el sistema cardiovascular, respiratorio y nervioso central, incluyendo hipertensión, taquicardia, midriasis e hiperpirexia. Los cambios en el estado mental, como confusión, delirio excitado o paranoia intensa, pueden ser indicadores tempranos de intoxicación, a veces acompañados de comportamiento homicida. (Farrar & Kearns, 1989)

Existen diversos estudios de antaño como el de (Zapata Ortiz, 1944) en el cual hacen estudios de la dosis letal de la cocaína la cual es de 1.2 g es decir 17 mg por Kg de peso del individuo, a la actualidad, Garro Vargas (2011) menciona que la dosis letal es de 0.5 g a 1.5 g lo cual no ha variado en los estudios en relación al tiempo.

2.5.4. Legislación

En Sudamérica, varios países cuentan con leyes que regulan la pureza de las drogas ilícitas y establecen sanciones específicas para aquellos que estén

involucrados en su producción, distribución o posesión. Por ejemplo, en Argentina, la Ley de Estupefacientes establece penas para quienes adulteren drogas, mientras que, en Brasil, la Ley de Drogas regula la calidad de las sustancias y las sanciones por su manipulación ilegal. Colombia, Perú y Chile también tienen legislaciones similares que abordan la pureza de las drogas y penalizan actividades como la fabricación o distribución de sustancias adulteradas. Estas leyes son fundamentales para combatir el tráfico y el consumo de drogas ilegales en la región, y su aplicación varía según las circunstancias específicas de cada caso y las disposiciones legales vigentes en cada país.

En comparación con Ecuador la “Ley Orgánica De Prevención Integral Fenómeno Socio Económico Drogas” en semejanza también imponen sanciones y penas en función a la escala de tráfico de drogas ilícitas en función a su peso total tomando en cuenta su pureza.

2.6. CROMATOGRAFÍA

La cromatografía es un procedimiento empleado para separar, identificar y cuantificar los componentes presentes en una mezcla compleja. En este método, la muestra se diluye en una fase móvil, que puede ser gas, líquido o un fluido supercrítico, dependiendo del equipo utilizado. Posteriormente, esta mezcla se somete a alta presión y atraviesa una fase estacionaria, que, en el caso de la cromatografía de alta eficacia, suele ser una columna que contiene la fase estacionaria. (Skoog et al., 2008)

2.6.1. Cromatografía Gaseosa

La cromatografía gaseosa (CG o GC, por sus siglas en inglés) es una técnica de análisis que se emplea para separar y examinar los constituyentes de una muestra que puedan ser vaporizados sin sufrir cambios químicos. En este procedimiento, la muestra se introduce en un flujo constante de gas que atraviesa una columna cromatográfica, donde se produce la separación de los componentes según sus propiedades físico-químicas. Estas propiedades determinan la velocidad de desplazamiento de cada componente a través de la columna y, por ende, el tiempo necesario para que salga de ella. Los

componentes se detectan a medida que abandonan la columna, lo que facilita su identificación y cuantificación. (Kaur et al., 2018a)

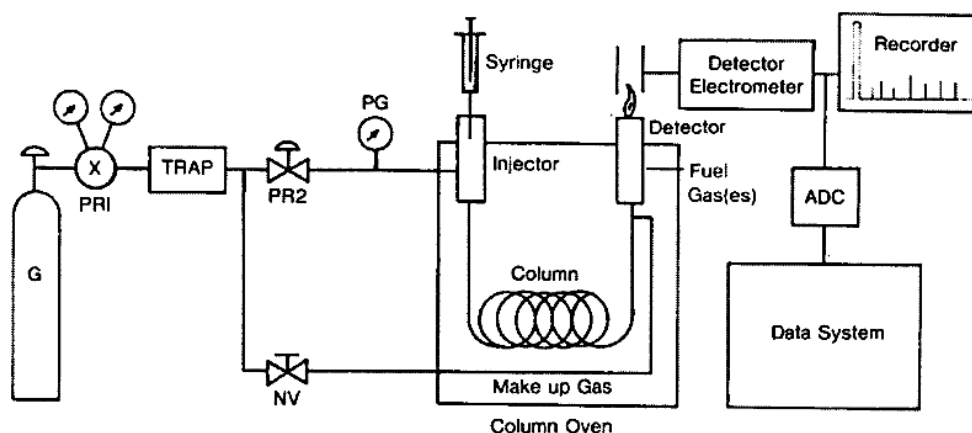


Figura 4 Diagrama clásico de un modelo de cromatógrafo de gases.

Fuente: Obtenido de (Bartle & Myers, 2002)

Los componentes se separan en función de sus propiedades físicas y químicas, como el peso molecular, la polaridad, la solubilidad y la volatilidad. (Skoog et al., 2008)

En la CG, la muestra se introduce en la columna de cromatografía mediante un inyector de muestra y se transporta a través de la columna por un gas portador, como el helio o el nitrógeno. La columna está rellena con una fase estacionaria, que puede ser líquida o sólida, y que interactúa con los componentes de la muestra a medida que pasan por la columna. Los componentes se separan en función de su interacción con la fase estacionaria y su tiempo de retención en la columna. (Raymond P., 1977)

La separación se detecta mediante un detector de cromatografía, que convierte la separación en una señal eléctrica. Los detectores comunes incluyen detectores de ionización de llama (FID), detectores de captura de electrones (ECD), detectores de espectrometría de masas (MS) y detectores de conductividad térmica (TCD). (Kaur et al., 2018b)

La CG se utiliza en una amplia variedad de aplicaciones, como el análisis de petróleo y gas, el control de calidad de alimentos y productos farmacéuticos, el análisis forense y la investigación científica. La técnica es muy sensible y selectiva, lo que permite la detección de componentes en concentraciones muy bajas y la identificación de compuestos. (Kaur et al., 2018b)

2.6.2. Espectrometría de Masas

La EM destaca como una de las herramientas analíticas más poderosas, cuyo uso se expande en diversos campos científicos gracias a su gran sensibilidad, precisión y capacidad de alto rendimiento. (Awad et al., 2020)

A través de la EM, se obtiene información estructural del analito en relación a su masa-carga (m/z) de las moléculas y los fragmentos de masa tándem (MS/MS). Actualmente, existen en el mercado instrumentos de EM con diferentes niveles de resolución, pero todos comparten los mismos componentes básicos: la fuente de ionización, el analizador de masa y el detector. (Awad et al., 2020)

Para llevar a cabo un ensayo de espectrometría de masas, se requiere una muestra que contenga los compuestos que se desean analizar. La muestra se introduce en un instrumento de espectrometría de masas, que consta de tres componentes principales: una fuente de iones, un analizador de masas y un detector.

En primer lugar, la muestra se ioniza, lo que significa que se le añade o se le quita un electrón para generar iones cargados. A continuación, los iones se aceleran y se separan en función de su masa y carga eléctrica en el analizador de masas. Finalmente, los iones se detectan y se registran como un espectro de masas.

La interpretación del espectro de masas puede proporcionar información sobre la composición y estructura de los compuestos presentes en la muestra. Esta información puede ser utilizada para identificar los compuestos y cuantificar su concentración en la muestra.

La espectrometría de masas es una técnica analítica poderosa y versátil que se utiliza en una amplia variedad de campos, incluyendo la química, la biología, la medicina y la ciencia de los materiales.

2.6.3. Aplicaciones

La CG y EM tiene una amplia variedad de usos en distintos campos. Se aplica en la medicina y la farmacología, así como en el análisis de alimentos, bebidas, aromas y fragancias. También se emplea en el monitoreo y análisis ambiental. En el ámbito forense, se utiliza para investigar drogas, incendios provocados, identificar sustancias tóxicas en fluidos corporales, realizar pruebas de fibras, medir el nivel de alcohol en sangre, detectar venenos, pesticidas y residuos de explosivos. Asimismo, se utiliza en seguridad para detectar agentes químicos usados en conflictos bélicos. (El-Aneed et al., 2019; Kaur et al., 2018a)

2.7. VALIDACIÓN DE UN MÉTODO

Los métodos que se vayan a emplear en el laboratorio deben proporcionar resultados confiables los cuales para aquello deben ser evaluados y sometidos a diferentes tipos de pruebas ya que esto va relacionado con la calidad de los resultados, es decir; tienen que estar validados. (UNODC, 2010)

Según la normativa ISO 17025, 2018 se detallan y explican los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, uno de aquellos es la validación de los métodos el cual explica “El laboratorio debe usar métodos y procedimientos apropiados para todas las actividades de laboratorio y, cuando sea apropiado, para la evaluación de la incertidumbre de medición, así como también las técnicas estadísticas para el análisis de datos”.

De acuerdo con los estándares de análisis de AOAC International, 2016 es esencial contar con un método analítico sólido para obtener una estimación precisa de la concentración, sin embargo; resulta necesario llevar a cabo una validación del método, que implica un enfoque documentado para determinar sus características de rendimiento.

La validación puede tomar dos formas principales: retrospectiva, que aborda métodos tradicionales utilizados en el laboratorio que no han sido

estandarizados, y prospectiva, que se refiere a métodos recién desarrollados (Sandoval, 2010).

Es crucial validar métodos no estandarizados y aquellos que han sido estandarizados, pero han experimentado modificaciones significativas. Además de la validación, también es necesario verificar métodos estandarizados, así como aquellos que están fuera del alcance previsto originalmente. Esto incluye métodos normalizados o validados que han experimentado cambios menores o poco significativos.

Existen muchos manuales y guías para la validación de un método analítico, tal como se explica en Eurolab España et al., 2016, SWGDRUG, 2022, Farmacopeas, en los manuales de la UNODC, 2010 y el Servicio de Acreditación Ecuatoriana (SAE), 2018 en los cuales describen el proceso de validación y las características de desempeño del método como es en el caso de análisis cuantitativos se toma en cuenta los siguientes:

1. Especificidad/Selectividad
2. Límite de detección
3. Límite de Cuantificación
4. Precisión
5. Linealidad y rango de trabajo
6. Incertidumbre de la medición
7. Estabilidad
8. Robustez

2.7.1. Especificidad o Selectividad

También llamado especificidad, se relaciona con el grado en que se puede utilizar un método en el cual los analitos de interés no se exponen a interferencias tales como otros que son característicos en mezclas o matrices donde siempre se encontrara el objeto de estudio. (Sandoval, 2010)

La selectividad se evalúa usualmente de las siguientes maneras:

- Agregando intencionalmente interferencias que se puedan encontrar usualmente en la matriz de estudio, o que puedan considerarse similares a la naturaleza química del analito.

- Estudiando la posibilidad de medir el analito comparando con otros métodos junto a una referencia de valor conocido.

Cualquiera de las 2 formas es aceptado para la selectividad del método.

2.7.2. Límite de detección y cuantificación

El límite de detección (LD) es la concentración más baja en que el analito puede ser detectado por el método propuesto, esto también se puede interpretar en pocas palabras como el valor mínimo detectable, mientras el límite de cuantificación (L.C.) es el nivel mínimo de desempeño aceptable que puede tener el analito sin embargo esto no quiere decir que sea el primer nivel del intervalo de trabajo.(Eurolab España et al., 2016)

El L.D. y L.C. son imprescindibles en metodologías las cuales sus concentraciones sean bajas o inclusive trazas, sin embargo, no está demás tener una visión hasta qué punto es posible cuantificar el analito de interés.

2.7.3. Intervalo de trabajo (Linealidad)

El rango de concentraciones en el cual el método va a proporcionar resultados, se considera intervalo de trabajo el cual tiene estrecha relación con el L.C. debido a que este deberá partir desde el mismo valor o superior a este.

La relación de concentración frente a la señal generada por el instrumento usado genera resultados proporcionales dentro de la interpolación de los datos estudiados, es decir que los resultados obtenidos de las muestras van a ser directamente proporcionales a la concentración del analito y la respuesta generada por el instrumento.(ICH, 2005)

PRECISIÓN. - Es el grado de correlación o cercanía entre los resultados analíticos individuales que se obtienen al aplicar repetidamente el método a varias muestras. (ICH, 2005)

La precisión puede expresarse en dos niveles:

- **Repetibilidad:** Es la precisión entre determinaciones independientes realizadas en las mismas condiciones.

- **Reproducibilidad:** Es la precisión entre determinaciones independientes realizadas bajo diferentes condiciones.

VERACIDAD. - La veracidad o justeza indica la capacidad del método analítico para dar resultados lo más próximo posible al verdadero valor. Si la diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero es pequeña, la exactitud es buena.

La veracidad se expresa matemáticamente en forma de porcentaje de recuperación de la cantidad del analito presente en la muestra, o bien en forma de diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero (Eurolab España et al., 2016).

La determinación del porcentaje de recuperación se puede llevar a cabo a través de tres procedimientos:

- Análisis repetido de una muestra de concentración única conocida
- Método de adición de patrón
- Comparación con otro método analítico ya validado.

ESTABILIDAD. - Para validar un método, es necesario mostrar en qué grado los componentes analizados permanecen estables durante todo el proceso de análisis, incluyendo su almacenamiento antes y después del mismo. Por lo general, esto se logra comparando muestras recién preparadas con concentraciones conocidas con muestras similares almacenadas durante diversos lapsos de tiempo y en diversas condiciones. (UNODC, 2010)

Tabla 5 Características de desempeño según EURACHEM

Características de desempeño	Tipo de aplicación analítica			
	Ensayo de identificación	Ensayo de cuantificación de impurezas	Ensayo para límite de impurezas	Cuantificación del componente principal
Selectividad	x	x	x	x
Límite de detección			x	

Límite de cuantificación		x		
Intervalo de trabajo incluyendo linealidad		x		x
Veracidad (sesgo)		x		x
Precisión (repetibilidad y precisión intermedia)		x		x

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 6 Características de desempeño según el Servicio de Acreditación Ecuatoriana (SAE)

No.	CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO MÉTODOS CUANTITATIVOS
1	Selectividad/Especificidad
2	Límite de detección
3	Límite de cuantificación
4	Intervalo de trabajo incluyendo <ul style="list-style-type: none"> ▪ Linealidad
5	Sensibilidad Analítica
6	Veracidad Sesgo <ul style="list-style-type: none"> ▪ Error ▪ Recuperación
7	Precisión <ul style="list-style-type: none"> ▪ Repetibilidad

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Precisión intermedia ▪ Reproducibilidad
8	Estimación de la incertidumbre de medición
9	<p>Robustez</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Robustez contra las influencias externas, sensibilidad contra la interferencia de la matriz de la muestra o el objeto de la prueba
10	Otro parámetro según criterios específicos de acreditación para técnicas particulares, para la comprobación del desempeño en métodos cualitativos acorde a las condiciones particulares para la confiabilidad de los resultados

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 7 Características de desempeño según UNODC

No.	CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO MÉTODOS CUANTITATIVOS
1	Selectividad/Especificidad
2	Límite de detección
3	Límite de cuantificación
4	Intervalo de trabajo incluyendo <ul style="list-style-type: none"> ▪ Linealidad
5	Exactitud <ul style="list-style-type: none"> ▪ Error ▪ Recuperación
6	Precisión <ul style="list-style-type: none"> ▪ Repetibilidad ▪ Reproducibilidad
7	Estimación de la incertidumbre de medición

8	Otro parámetro según criterios específicos de acreditación para técnicas particulares, para la comprobación del desempeño en métodos cualitativos acorde a las condiciones particulares para la confiabilidad de los resultados
----------	---

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 8 Características de desempeño según SWGDRUG

No.	CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO MÉTODOS CUANTITATIVOS
1	Selectividad/Especificidad
2	Límite de detección
3	Límite de cuantificación
4	Intervalo de trabajo incluyendo <ul style="list-style-type: none"> ▪ Linealidad
5	Sensibilidad Analítica
6	Veracidad Sesgo <ul style="list-style-type: none"> ▪ Error ▪ Recuperación
7	Precisión <ul style="list-style-type: none"> ▪ Repetibilidad ▪ Precisión intermedia ▪ Reproducibilidad
8	Estimación de la incertidumbre de medición
9	Robustez <ul style="list-style-type: none"> ▪ Robustez contra las influencias externas, sensibilidad contra la interferencia de la matriz de la muestra o el objeto de la prueba
10	Otro parámetro según criterios específicos de acreditación para técnicas particulares, para la comprobación del desempeño en

	métodos cualitativos acorde a las condiciones particulares para la confiabilidad de los resultados
--	--

Fuente: Elaborado por el autor

Según las **tablas 5, 6, 7 y 8** se puede apreciar como diferentes entidades y organismos de acreditación comparten ciertos criterios y a su vez disciernen de otros, esto no quiere decir que uno es más efectivo que el otro, la aplicación de las características de desempeño se puede referenciar a solo una guía o a una mezcla de ellas, esto no afectaría en la validación del método.

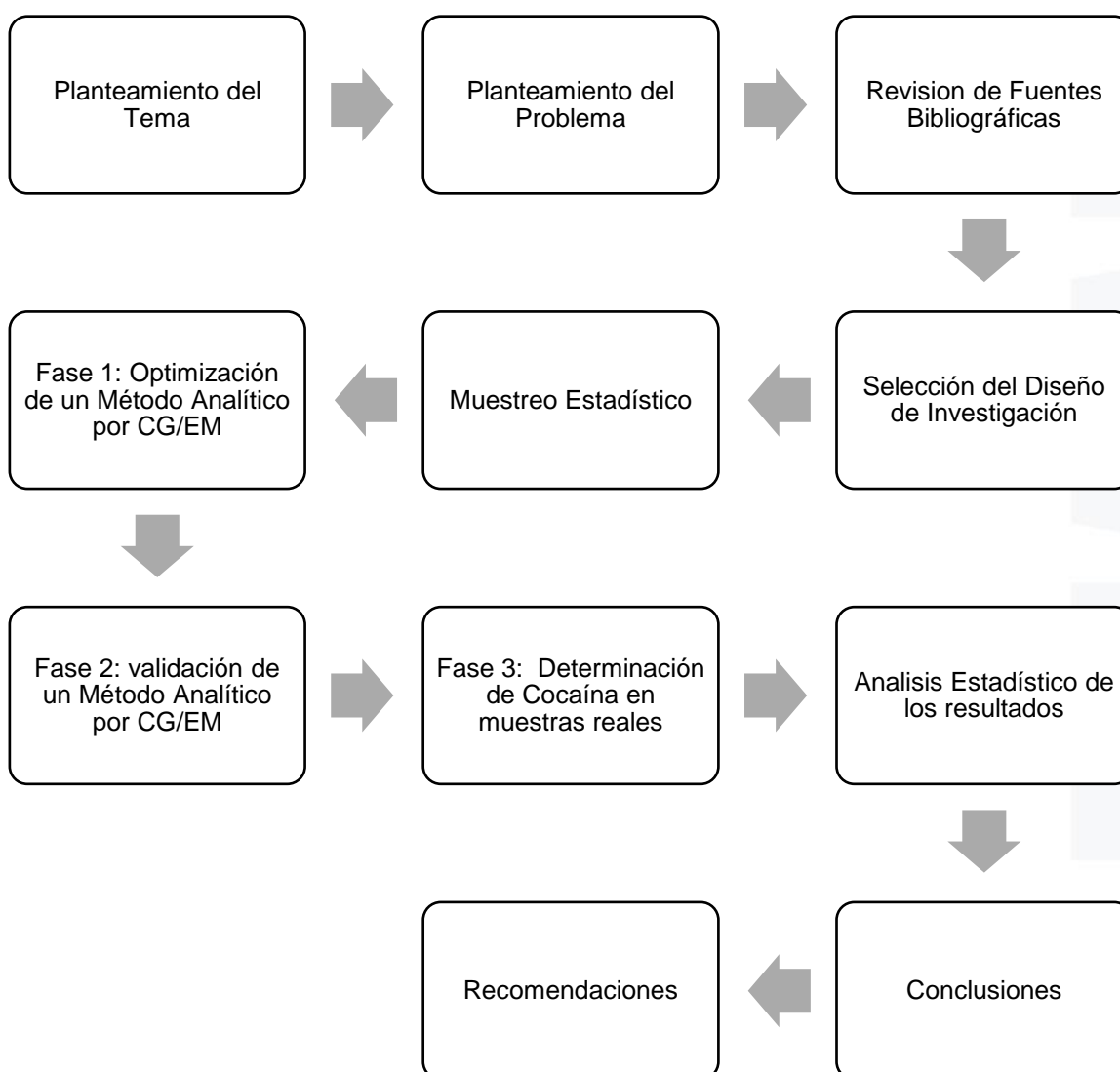
CAPÍTULO III

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

La metodología aplicada para este estudio se resume en la siguiente tabla, la cual incluye 2 fases analíticas separadas para un mejor análisis de los datos obtenidos.

Tabla 9 Metodología de investigación



Fuente: Elaborado por el autor

Investigación Descriptiva: Relaciona conceptos o variables

Analítico: Se relacionó causa-efecto del analito a investigar, ya que este va a ser un objeto de estudio y análisis para así obtener una metodología aplicable.

Transversal: La investigación se realizó en un tiempo máximo de plazo y así obtener resultados del problema mencionado.

Experimental: Se determinó el nivel de pureza de cocaína optimizando métodos de diferentes autores.

Prospectivo: Los datos obtenidos pueden usarse en investigaciones futuras.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1. Recolección de muestras

El tipo de matriz seleccionadas para este estudio serán las que están en presentación de polvo, sustancias compactas, semisólidas, rocosas y granulares los cuales son utilizadas para consumo directo, las mismas que deberán resultar positivas preliminarmente para cocaína mediante pruebas de identificación preliminar homologada (PIPH) e identificadas estructuralmente por Espectroscopia de infrarrojo (FT-IR).

La selección y recolección de muestras reales se realizará por medio de un muestreo aleatorio simple, se emplearán diversas muestras provenientes de diferentes incautaciones desde el mes de junio hasta el mes de agosto del 2023 que llegan para ser analizadas al laboratorio de Química Forense de Guayaquil.

Por la peligrosidad de la sustancia y al no ser posible el almacenamiento de una gran cantidad de muestras por motivos legales y de seguridad se seleccionarán muestras hasta alcanzar un $n=50$ con los siguientes criterios inclusión:

- ✓ Naturaleza Química de la muestra definida (Base, Clorhidrato de cocaína)
- ✓ Presentación de la muestra (Polvo, compacto, semisólido, rocoso, granular)

De las muestras seleccionadas estas serán analizadas tanto por CG/EC con los métodos previamente validados.

3.3. LOS MÉTODOS Y LAS TÉCNICAS

3.3.1. Equipos y reactivos

Equipos:

- ✓ Cromatógrafo de gases Thermo Fisher Scientific Trace 1100 acoplado a espectrómetro de masas ISQ 7000
- ✓ Equipo SMITH de espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier.
- ✓ Pipeta Volumétrica de 100 a 1000 uL
- ✓ Pipeta Volumétrica de 20 a 200 uL
- ✓ Pipeta Volumétrica de 10 a 100 uL
- ✓ Equipo de baño ultrasónico

Reactivos:

- ✓ Metanol Grado GC/MS
- ✓ Tolueno Grado GC/MS
- ✓ Estándar primario de tetracosano
- ✓ Estándar primario de cocaína HCL
- ✓ Reactivo de Scott
- ✓ Ácido Nítrico
- ✓ Nitrato de plata 5%

Materiales:

- ✓ Viales de 2mL tipo HPLC
- ✓ Matraz de 25 mL
- ✓ Matraz de 50 mL

Aplicación de metodologías oficiales:

Se uso como métodos de referencia el de la UNODC y del SWGDRUG las cuales son bibliografías oficiales utilizadas en muchos países del mundo donde recomiendan diferentes metodologías para análisis preliminares y confirmatorios de las sustancias catalogadas sujetas a fiscalización.

3.3.2. Caracterización Química de las sustancias

Por normativa legal, siguiendo lineamientos internacionales el análisis de sustancias para su confirmación se clasifica en diferentes tipos de categorías.

Tabla 10 Información de análisis en función a su categoría

CATEGORIA A (SELECTIVIDAD MEDIANTE INFORMACIÓN ESTRUCTURAL)	Espectroscopía de Infrarrojo
	Espectrometría de Masas
	Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear
	Espectroscopia Raman
	Difractometría de rayos-X
CATEGORIA B (SELECTIVIDAD MEDIANTE CARACTERISTICAS QUÍMICAS Y FISICAS)	Electroforesis Capilar
	Cromatografía de Gases
	Espectrometría de movilidad iónica
	Test Microcristalinos
	Cromatografía de Líquidos
	Cromatografía de Capa Delgada
	Espectroscopía Ultravioleta Visible
	Examinación Macroscópica (solo cannabis)
	Examinación Microscópica (solo cannabis)
	Cromatografía de Fluidos Supercríticos
CATEGORIA C (INFORMACIÓN GENERAL O INFORMACIÓN DE CLASE)	Test Colorimétricos
	Espectroscopía de Fluorescencia
	Inmunoensayos
	Punto de Fusión
	Indicadores Farmacéuticos

Fuente: Obtenido de SWGDRUG,2023. Elaborado por el Autor

En la **Tabla 5** se muestra los métodos que pueden ser incluidos en un esquema analítico para identificar drogas o sustancias químicas. Estos métodos se agrupan según su nivel potencial de selectividad más alto. El analista debe considerar con cual nivel de selectividad logrará obtener los datos esperados.

Las técnicas de Categoría A ofrecen el nivel más alto de selectividad basado en su información estructural, las de Categoría B ofrecen un nivel intermedio-alto de selectividad basado en sus características físicas/químicas, sin información estructural, y las de Categoría C ofrecen un bajo nivel de selectividad, pero proporcionan información general o de clase.

Tabla 11 *Requerimientos para identificación de sustancias por categoría.*

<p>Cuando se incorpora una técnica de Categoría A en un esquema analítico, se deberá utilizar al menos otra técnica que aproveche diferentes propiedades químicas o físicas del analito (de las Categorías A, B o C) para respaldar la identificación.</p>	<p style="text-align: center;">AA AB AC</p>
<p>Cuando no se utilice una técnica de Categoría A, se emplearán al menos tres técnicas distintas; dos serán de la categoría B, cuya combinación proporciona un alto grado de selectividad. Se requiere la tercera técnica (categoría B o C) para respaldar la identificación.</p>	<p style="text-align: center;">BBB BBC</p>
<p style="text-align: center;"><i>“Una técnica separada (por ejemplo, cromatografía de gases-espectrometría de masas, cromatografía líquida-espectroscopia ultravioleta/visible) puede considerarse como dos técnicas separadas dentro del ámbito analítico”</i></p>	
<p style="text-align: center;"><i>“Para que los resultados de las técnicas dentro del esquema analítico se consideren valiosos para la identificación del analito, los resultados de la prueba deben ser positivos, cumplir con todos los requisitos de control de calidad y lograr la selectividad requerida”.</i></p>	

Fuente: Elaborado por el autor

Para la cuantificación de Cocaína en primer lugar se deberá realizar los análisis preliminares y confirmar su naturaleza química según lo descrito en la Tabla se deberá realizar un análisis tipo A, B o C.

Los análisis seleccionados para este estudio son los siguientes:

1. Espectroscopia de Infrarrojo (Tipo A)
2. Prueba de Scott (Tipo C)

3. Prueba de Cloruros (Tipo C)
4. Prueba de Fenolftaleína (Tipo C)
5. Cromatografía en capa delgada (Tipo B)

Se tomará en cuenta las 3 principales presentaciones en razón a la característica química estructural de la cocaína:

- ✓ Sulfato de Cocaína
- ✓ Base de Cocaína
- ✓ Clorhidrato de Cocaína

Una vez identificada la naturaleza química estructural de cada una de las muestras se le realizara la cuantificación con el método previamente validado.

3.3.3. Optimización del método

Se toma en consideración dos metodologías oficiales:

- a) **Métodos recomendados para la identificación y el análisis de cocaína en materiales incautados. (UNODC,2012)**

Tabla 12 *Condiciones Cromatográficas UNODC*

Condiciones del horno:	Gradiente 60°C por 3 minutos, se incrementa 40°C/min hasta 300°C y se mantiene por 6 minutos.
Columna	(5%-Fenil)-metilpolisiloxano 30 m x 0.25 mm x 0.25 um
Modo de inyección	Splitless, flujo de purga 60 ml/min en 0.5 min
Inyector	240°C
Gas portador	Helio, flujo constante 1ml/min
Detector (MASAS)	Retraso de disolvente 3 minutos Exploración TIC 40-450 (uma)

Fuente: Elaborado por el autor

Método analítico:

Preparación de la muestra y extracción:

Las muestras sólidas se pulverizan y homogeneizan en un mortero.

Se toma una cantidad adecuada de material y se disuelve en un disolvente apropiado, como metanol, cloroformo o una mezcla 1:1 de metanol y cloroformo, para obtener una solución de la muestra con una concentración de 1 mg/ml.

Se pueden usar otros disolventes o mezclas de disolventes según las necesidades de las muestras o sustancias a analizar.

Preparación de las soluciones patrón:

Se prepara una solución patrón de cocaína con una concentración de 1 mg/ml utilizando un disolvente adecuado, como metanol, cloroformo o una mezcla 1:1 de metanol y cloroformo.

Preparación del patrón interno (benzopinacolona):

Se disuelven 50 mg de 2,2,2-trifenilacetofenona (benzopinacolona) en un litro de un disolvente apropiado, como cloroformo o una mezcla 1:1 de cloroformo y metanol.

Se añade una porción del patrón interno a la solución muestra o a la solución patrón si se necesita bloquear el tiempo de retención del análisis.

b) Monografías para la identificación y el análisis de cocaína SWGDRUG.

Tabla 13 *Condiciones Cromatográficas (SWGDRUG, 2023)*

Condiciones del horno:	Gradiente 100°C inicial, se incrementa 35°C/min hasta 295°C y se mantiene por 6.43 minutos.
Columna	(5%-Fenil)-metilpolisiloxano 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm
Modo de inyección	Split, flujo de purga 50 ml/min en 1
Inyector	240°C
Gas portador	Helio, flujo constante 2 ml/min
Detector (MASAS)	No menciona datos

Fuente: Elaborado por el autor

Método analítico:

No se hace mención de manera detallada acerca de la preparación de la muestra y estándares.

3.3.4. Validación de un método analítico.

SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD

Realizar el análisis bajo las condiciones especificadas para la prueba y registrar los tiempos de retención obtenidos para:

1. Todas las sustancias controladas que pertenezcan al grupo de interés.
2. Todos los componentes presentes en fuentes naturales o productos sintéticos que se encuentren comúnmente en las muestras confiscadas que contengan las drogas del grupo de interés.
3. Todos los compuestos que típicamente se encuentren como diluyentes, excipientes, u otros aditivos en la matriz confiscada que contiene la droga.
4. Muestras de sustancias controladas de otros grupos.
5. Además, analizar mezclas de sustancias con tiempos de retención similares y confirmar la capacidad de identificarlas incluso en presencia unas de otras.

DETERMINACIÓN DEL LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Para la determinación del L.D. y L.C. se procederá a realizar 10 medidas del blanco en matrices que no contenga el analito. En el tiempo de retención donde eluye la cocaína se deberá tomar el área del pico correspondiente al ruido y se emplearán las siguientes formulas:

$$LD = \frac{y_{bl} + 3 \times S_{bl}}{b}$$

- Y_{bl} = Señal promedio del blanco
- S_{bl} = Desviación estándar del blanco
- b = Pendiente obtenida desde la regresión lineal del analito.
- LD= Límite de detección

$$LC = \frac{y_{bl} + 10 \times S_{bl}}{b}$$

- Y_{bl} = Señal promedio del blanco
- S_{bl} = Desviación estándar del blanco

- b = Pendiente obtenida desde la regresión lineal del analito
- LC = Limite de cuantificación

PREPARACIÓN SOLUCIÓN STOCK

1. Preparar una solución madre o stock según lo obtenido en la optimización del método.
 - a. Obtener el estándar secundario partiendo del primario certificado
 - b. Realizar el ajuste de Pureza del estándar del estándar secundario
 - c. Preparar una segunda solución para el estudio de estabilidad.

RANGO DE TRABAJO, LINEALIDAD

1. Preparar de la solución madre o stock en 5 diluciones de concentraciones distintas más el estándar interno respectivo. Se debe incluir el blanco y estándar interno sin el analito de interés
2. Leer cada nivel de concentración. Leer desde la concentración menor a mayor.
3. Elaborar un gráfico de concentración vs área bajo la curva.
4. Determinar la ecuación de la recta
5. Realizar 10 curvas de calibración ejecutadas en diferentes días y diferentes analistas.

LINEALIDAD

De los datos de la curva de calibración obtenida:

1. Efectuar el análisis de regresión lineal.
2. Determinar la proporcionalidad existente entre la concentración y la lectura obtenida, calculando por el método de ajuste mínimos cuadrados de la ecuación de regresión lineal con estándar interno. Se calcula con la siguiente formula:

- $y = a + bx$
- $a = y - bx$

$$b = \frac{\sum(xi - x)/(Conc SI)/(yi - y)/(Area SI)}{\sum(xi - x)/Conc SI}$$

Dónde:

- Intercepto (a)
 - Pendiente (b)
 - Concentración (x)
 - Respuesta del método (y)
 - Concentración estándar interno (Conc SI)
 - Área estándar interno (Área SI)
3. Determinar el coeficiente de correlación (R).
 4. Determinar el coeficiente de determinación (R² esperado >0.99).

PRECISIÓN

1. La precisión se expresa con 2 parámetros: repetibilidad y reproducibilidad.
 - a) **Repetibilidad:**
 - 1) Realizar 6 réplicas del material de referencia por el mismo analista, laboratorio y en el mismo día.
 - b) **Reproducibilidad:**
 - 1) Realizar 6 réplicas de la concentración baja, media y alta en 2 días distintos por diferentes analistas.
2. Calcular la precisión de los datos obtenidos en la repetibilidad y reproducibilidad con las siguientes formulas:

$$CV = \frac{S}{X} \times 100$$

CV: Coeficiente de variación

S: Desviación estándar

X: Media

$$S = \sqrt{\frac{\sum(\bar{X} - X_i)^2}{n - 1}}$$

X: Muestra promedio

X_i: Valor de cada muestra

n: Número de datos

EXACTITUD O VERACIDAD

Se deberá evaluar el porcentaje de recuperación en función a lo siguiente:

1. En una muestra en blanco adicionar una cantidad conocida de cocaína por cada nivel de concentración (bajo, medio y alto).
2. Realizar 5 muestras por cada nivel.

3. Calcular el porcentaje de recuperación:

$$\%Recuperaci\o{n} = \frac{Valor\ obtenido\ (\bar{X})}{Valor\ real} \times 100$$

ESTABILIDAD

Almacenar el est\u00e1ndar madre en congelaci\u00f3n (aproximadamente -16\u00b0C) y preparar una curva de calibraci\u00f3n por d\u00eda, por 4 semanas, realizar un estudio en funci\u00f3n al porcentaje de recuperaci\u00f3n del MRC.

CRITERIOS DE ACEPTACI\u00d3N

Los criterios de aceptaci\u00f3n seleccionados para los par\u00e1metros de validaci\u00f3n son los que se describen en la siguiente tabla:

Tabla 14 Condiciones de aceptaci\u00f3n de criterios de validaci\u00f3n

Par\u00e1metro	Criterio	Normativa
Especificidad/Selectividad	No existan interferencias	Eurachem, 2016
Rango de trabajo (linealidad)	r2: ≥ 0.99	Eurachem, 2016
Precisi\u00f3n intermedia. - Reproducibilidad Repetibilidad	CV < 15%	UNODC, 2010 Eurachem, 2016
Exactitud o Veracidad	+/- $\geq 15\%$ recuperaci\u00f3n	UNODC, 2010

Fuente: Elaborado por el autor

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. OPTIMIZACIÓN DEL METODO

4.1.1. Particularidades en la aplicación de normativas oficiales

Tal como se menciona en el punto 3.3.3 se realizó una optimización del método tomando como referencias normativas y guías internacionales tal como de la UNODC y SWGDRUG, sin embargo; al momento de la aplicación de las metodologías se encontró con las siguientes desventajas e inconvenientes relacionados con las condiciones cromatográficas y analíticas:

Tabla 15 Principales inconvenientes y desventajas de condiciones cromatográficas y analíticas UNODC

Desventaja UNODC	Detalle
Modo de inyección	El Uso del modo Splitless para laboratorios donde solo existe un equipo de CG este es un inconveniente porque no es practico el estar cambiando columna y liner debido a que se suele analizar sustancias que se encuentran concentradas en el mismo equipo, la normativa no da condiciones cromatográficas para el modo Split.
Tipo de corrida	Tiempo de corrida muy largo, aproximadamente 12 a 15 minutos.
Curva de Calibración	No hay curva de calibración, se realiza cuantificación en base a lo expuesto en el punto 3.3.4
Estándar primario o secundario	Se usa una estándar con concentración muy alta (1000 mg L ⁻¹) para el modo de inyección splitless.

Fuente: Elaborado por el autor

Las principales desventajas relacionadas con las condiciones cromatográficas y analíticas de la SWGDRUG eran las siguientes:

Tabla 16 Principales inconvenientes y desventajas de condiciones cromatográficas y analíticas SWGDRUG

Desventaja SWGDRUG	Detalle
Modo de inyección	No existe un método de CG/EM con método de Split, pero si con detector FID, las condiciones para ambos son distintas, se hizo pruebas con combinaciones de ambos métodos (COC-GCQ1 y SFL4 Screen)
Curva de Calibración	Puntos de Curva de calibración muy altos de 100 a 1800 mg L ⁻¹)
Preparación de la muestra	No hay mucha información acerca de la preparación de la muestra.
Solvente	Se usa cloroformo como solución de enrase y extracción, pero se ha evidenciado que el cloroformo deteriora más rápido las jeringas de inyección y el sistema cromatográfico.

Fuente: Elaborado por el autor

Como se demuestra en la **tabla No. 15 y No. 16**, se encontraron muchos inconvenientes en la aplicación de las metodologías oficiales en relación a las condiciones de operación en el laboratorio:

a.- El laboratorio cuenta con un equipo de CG/EM por lo tanto no se podría hacer cambio de modo de inyección (Split a splitless) esto debido a que en el mismo equipo se analizan otros tipos de sustancias que suelen estar concentradas o con mucha carga orgánica, por lo tanto; podría haber una mayor contaminación entre corridas y también ocasionar errores humanos al momento de cambio de columna y liners.

b.- Las concentraciones utilizadas para elaborar una curva de calibración son muy altas para el método splitless, se realizó pruebas para confirmar la linealidad del método y se evidencio que no afecta en la misma ya que su coeficiente de determinación es mayor a 0,99, sin embargo; en muestras de blanco posterior a la curva de calibración se evidencio presencia de cocaína, esto significa que por la concentración inyectada la cocaína queda en el sistema cromatográfico y puede dar paso a resultados indeseados.

4.1.2. Pruebas de Condiciones cromatográficas

Las condiciones cromatográficas elegidas para realizar la prueba en relación a las normativas oficiales fueron las siguientes:

Tabla 17 Condiciones cromatográficas elegidas para prueba

Condiciones del horno:	Gradiente 150°C por 3 minutos, se incrementa 15°C/min hasta 300°C y se mantiene por 4.80 minutos.
Columna	(5%-Fenil)-metilpolisiloxano 30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m
Modo de inyección	Split, flujo de purga 60 ml/min 24 split radio
Inyector	250°C
Gas portador	Helio, flujo constante 2.5 ml/min
Detector (MASAS)	Retraso de disolvente 2 minutos Exploración TIC 35-400 (uma)

Fuente: Elaborado por el autor.

Las condiciones que se sometieron a las pruebas respectivas fueron seleccionadas de ambos métodos oficiales, no se pudo realizar pruebas por individual por lo expuesto previamente.

Tabla 18 Datos de prueba de métodos con normativas oficiales

Concentración de la muestra	Concentración MT/Concentración SI	Lectura Muestra	Lectura Estandar interno	Lectura MT/SI
50	0.47	1209130	6827013	0.18
100	0.94	2550336	6860310	0.37
200	1.87	5532838	6905805	0.80
250	2.81	8918451	6581609	1.36
500	4.69	14708820	6650656	2.21

Fuente: Elaborado por el autor.

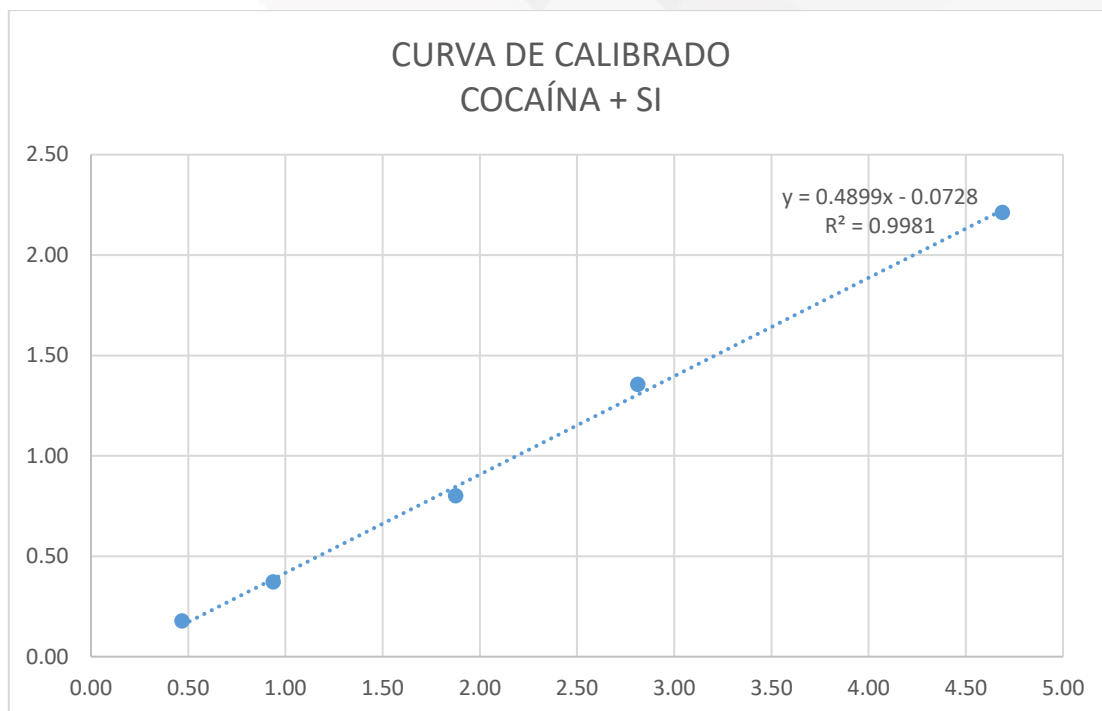
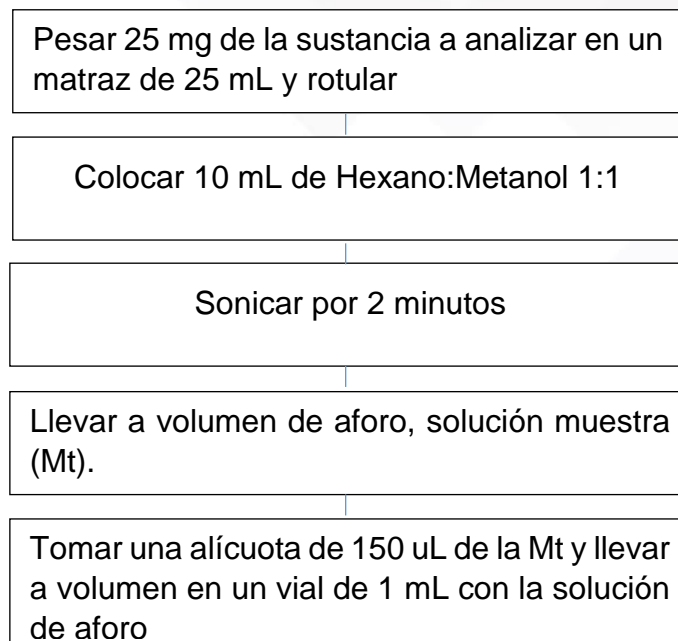


Figura 5 Curva de calibración de 5 puntos (50 mg L⁻¹ a 500 mg L⁻¹) con estándar interno.

Fuente: Elaborado por el autor.

Tal como se demuestra en la **figura 5** los datos obtenidos en la regresión lineal son válidos, pero esto no quiere decir que sean óptimos, los valores de área bajo la curva representados en la **tabla 18** son demasiado altos en relación a su línea base. Las condiciones analíticas para las pruebas en muestras fueron las siguientes:

Tabla 19 Condiciones analíticas en muestras para pruebas.



Fuente: Elaborado por el autor

En razón al solvente usado para extracción, aforo y lectura se contemplaba cloroformo en la SWGDRUG, pero se evidencia que este solvente daña el revestimiento de las jeringas de inyección, tienden a doblarse y dañarse con mucha frecuencia, a parte que suele dañar el equipo y el sistema cromatográfico por su prolongado uso. Por tal motivo se empleó hexano:metanol 1:1 para las pruebas ya que el estándar interno elegido (tetracosano) no es soluble en metanol.

Para optimizar el método se tomó en cuenta las siguientes consideraciones:

- ✓ Repetibilidad
- ✓ Estabilidad
- ✓ Resolución
- ✓ Recuperación
- ✓ Dispersión de los resultados

Se realizó una serie de pruebas en el cual se evaluó el tiempo de estabilidad que duraba el analito en la solución madre, de igual manera para el estándar interno:

Se parte desde una solución madre de 1000 mg L⁻¹ trazable ISO 17034.

De la solución madre preparada se realizó una curva de calibración de 25, 50, 75, 100 y 150 mg L⁻¹ la cual fue analizada en 3 días distintos.

En cada día de análisis se evalúa la recuperación y dispersión mediante un material de referencia certificado (MRC) recibido de una prueba Interlaboratorio de la UNODC.

Tabla 20 Datos obtenidos optimización día 1

Concentración de la muestra	Concentración MT/Concentración SI	Lectura Muestra	Lectura Estandar interno	Lectura MT/SI
24.975	0.33	881466	3542732	0.25
49.95	0.67	1552713	3639030	0.43
74.925	1.00	2481077	3828484	0.65
99.9	1.33	3352544	3786857	0.89
149.85	2.00	4574059	3546460	1.29

Fuente: Elaborado por el autor.

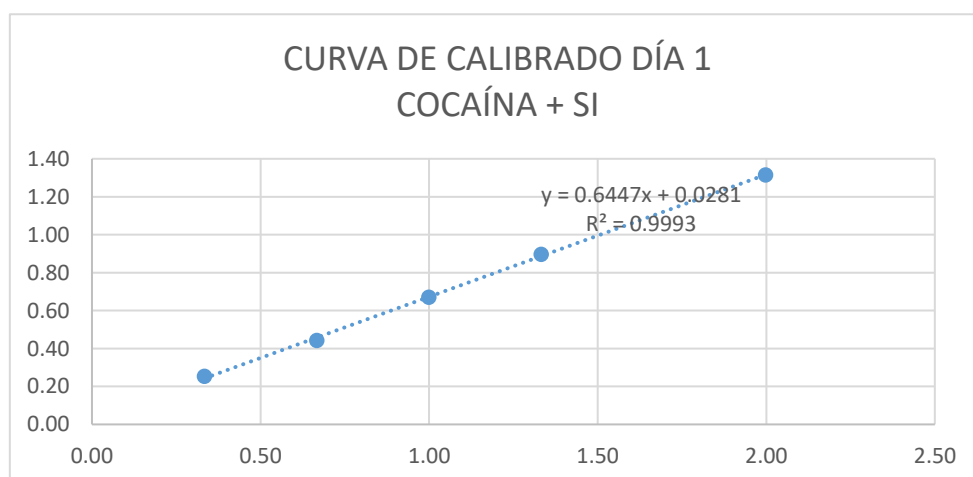


Figura 6 Curva de calibración y datos de regresión lineal optimización día 1.

Fuente: Elaborado por el autor.

Tabla 21 Datos obtenidos optimización día 2

Concentración de la muestra	Concentración MT/Concentración SI	Lectura Muestra	Lectura Estandar interno	Lectura MT/SI
24.975	0.333	900043	3839882	0.23
49.95	0.666	1758509	3942984	0.45
74.925	0.999	2720408	4174459	0.65
99.9	1.332	3332394	3626836	0.92
149.85	1.998	5659951	4311660	1.31

Fuente: Elaborado por el autor.

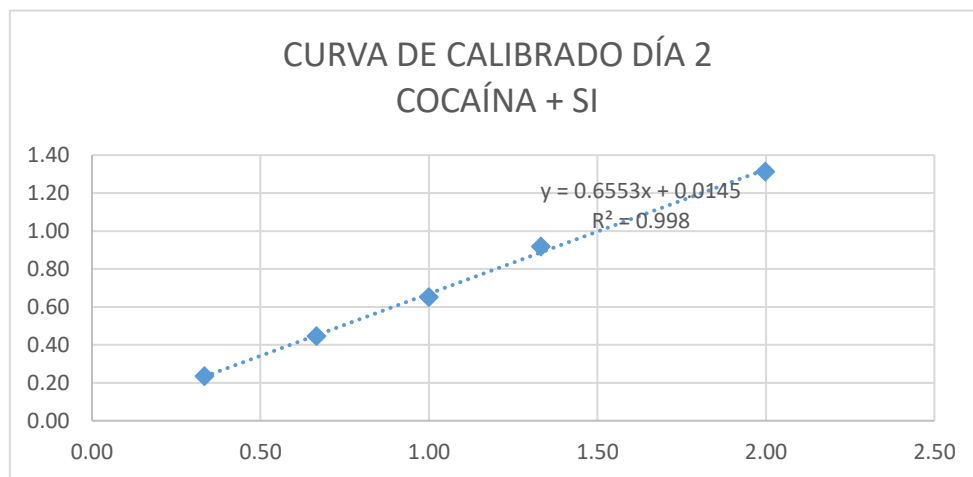


Figura 7 Curva de calibración y datos de regresión lineal optimización día 2.

Fuente: Elaborado por el autor.

Tabla 22 Datos obtenidos optimización día 3

Concentración de la muestra	Concentración MT/Concentración SI	Lectura Muestra	Lectura Estandar interno	Lectura MT/SI
24.975	0.333	657153	3897930	0.17
49.95	0.666	1233235	3398701	0.36
74.925	0.999	2186568	3884004	0.56
99.9	1.332	2907768	4024370	0.72
149.85	1.998	4380021	3726887	1.18

Fuente: Elaborado por el autor.

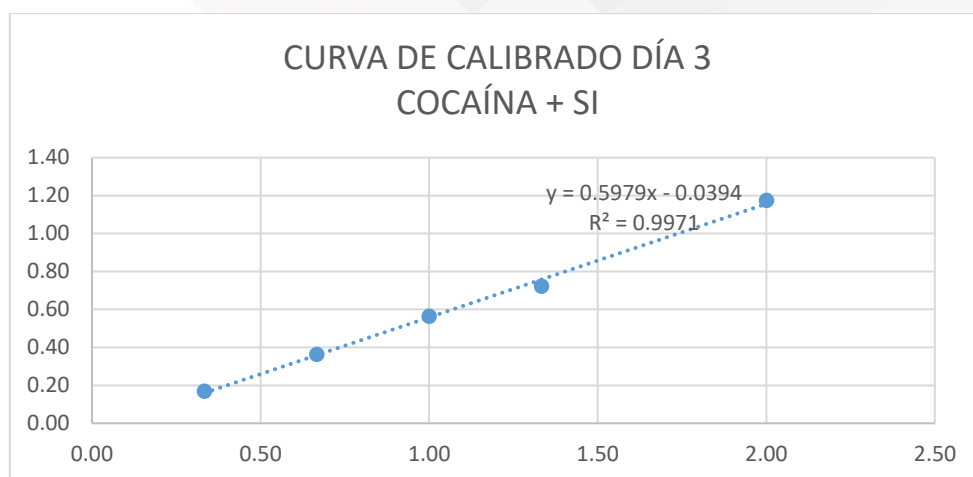


Figura 8 Curva de calibración y datos de regresión lineal optimización día 3.

Fuente: Elaborado por el autor.

Tabla 23 Resultados MRC

Detalle	Resultado MRC	% CV	Recuperación
Día 1	44.21 %	0.4	100.47%
Día 2	44.21 %	0.5	100.47%
Día 3	72.42%	30	164.59 %

Fuente: Elaborado por el autor.

Los datos obtenidos en los gráficos de las **tablas 21, 22 y 23** se observa un comportamiento lineal, pero existe un hallazgo que se evidenció en los ensayos realizados el cual se observa que a partir del día 3 empieza a haber variación en los resultados de las áreas del estándar externo y estándar interno.

Se realizaron una serie de repeticiones para encontrar la causa raíz y se determinó que el reactivo hexano era muy volátil en condiciones de frío o ambiente por tal motivo se hizo pruebas con una mezcla de tolueno:metanol 1:1 las cuales fueron satisfactorias.

4.2. RESULTADOS DE PRUEBAS DE OPTIMIZACIÓN

4.2.1. Condiciones cromatográficas

En función a las pruebas realizadas, las condiciones cromatográficas seleccionadas fueron las siguientes:

Tabla 24 Condiciones cromatográficas seleccionadas

Condiciones del horno:	Gradiente 80°C por 0.30 minutos, se incrementa 35°C/min hasta 300°C y se mantiene por 3.5 minutos. Tiempo de corrida: 10 minutos.
Columna	(5%-Fenil)-metilpolisiloxano 30 m x 0.25 mm x 0.25 um
Modo de inyección	Split, flujo de purga 60 mL/min
Velocidad de la aguja	Lento
Split Ratio	24
Flujo de purga	5 mL/min
Inyector	250°C
Gas portador	Helio, flujo constante 2.5 ml/min
Detector (MASAS)	T° Línea de transferencia: 250°C T° Fuente de iones: 225°C Retraso de disolvente 2 minutos Exploración TIC 35-400 (uma)

Fuente: Elaborado por el autor.

4.2.2. Preparación de los estándares de calibrado

COCAINA ESTANDAR PRIMARIO O SECUNDARIO

1. Pesar 0.025g de un estándar de cocaína en polvo al suponiendo 100% de pureza en un matraz de 25 mL.
2. Disolver con una porción de MeOH-Tol grado GC/MS
3. Sonicar por 2 minutos
4. Llevar a volumen con el solvente usado

TETRACOSANO ESTANDAR INTERNO

1. Pesar 0.025g de un estándar de cocaína en polvo al suponiendo 100% de pureza en un matraz de 50 mL.
2. Disolver con una porción de MeOH-Tol grado GC/MS
3. Sonicar por 2 minutos
4. Llevar a volumen con el solvente usado

4.2.3. Preparación de la curva de calibración

Tabla 25 Preparación de la curva de calibración

Concentración deseada (mg/L)	Alícuota ST (μL)	Alícuota SI (μL)	Volumen Final (mL)	Observaciones
25	25	150	1	Tomar alícuota de las soluciones madres
50	50	150	1	Tomar alícuota de las soluciones madres
75	75	150	1	Tomar alícuota de las soluciones madres
100	100	150	1	Tomar alícuota de las soluciones madres
125	125	150	1	Tomar alícuota de las soluciones madres

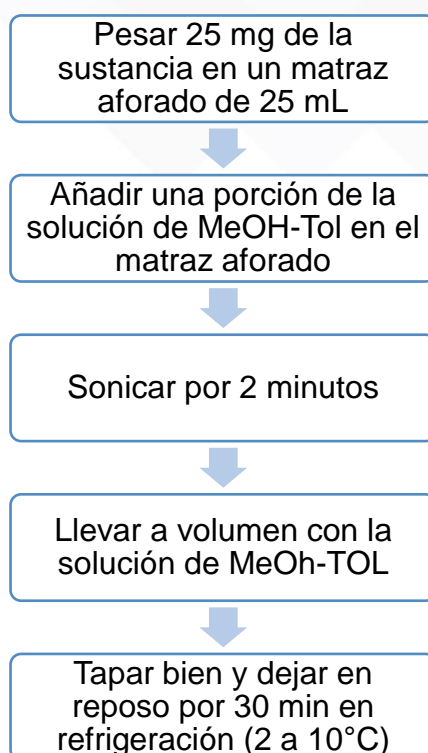
Fuente: Elaborado por el autor.

La curva de calibración se prepara directamente en los viales de 2 mL que se colocan en el equipo cromatógrafo, se debe incluir blanco de reactivo y blanco de estándar interno.

4.2.4. Procedimiento analítico de muestras

Las condiciones analíticas para el análisis de las muestras se seleccionaron tal como indica el siguiente flujo del proceso.

Tabla 26 Procedimiento para procesamiento de muestras



Fuente: Elaborado por el autor.

*Si la sustancia es rocosa o granular se debe pulverizar

**No siempre las sustancias se van a solubilizar en su totalidad por las sustancias de corte contenidas, por ende, es necesario que sedimenten las impurezas.

4.3. VALIDACIÓN DEL METODO

4.3.1. Selectividad y Especificidad

Se realizó una corrida conteniendo estándar cocaína y otros tipos de sustancias (de similares características incluyendo el tetracosano como estándar interno) mediante la corriente total de iones (TIC), se evaluó el tiempo de retención.

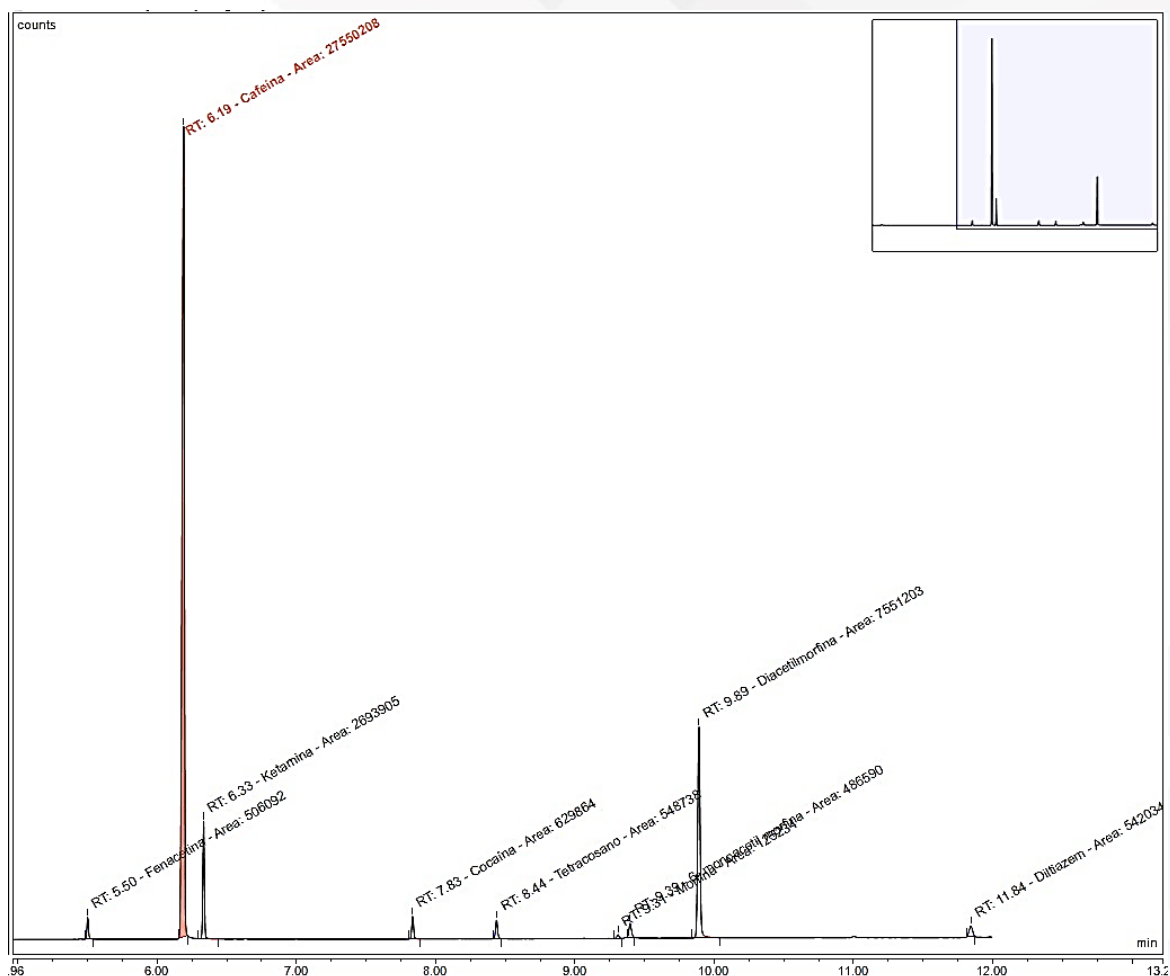


Figura 9 Selectividad y especificidad del método
Fuente: Elaborado por el autor.

Como se observa en la **figura 9**, se analizó el estándar de cocaína en presencia de otros analitos de similares características o que suelen venir como sustancia de recorte en la sustancia de consumo directo.

Los analitos empleados y sus tiempos de retención fueron los siguientes:

1. Fenacetina: 5.50 min
2. Cafeína: 6.19 min
3. Ketamina: 6.33 min
4. Cocaína: 7.83 min
5. Tetracosano: 8.44 min
6. Morfina: 9.31 min
7. Monoacetilmorfina: 9:39 min
8. Diacetilmorfina: 9.89 min
9. Diltiazem: 11.84 min

No existe interferencia alguna de los compuestos analizados, ya sea en su tiempo de retención o en la resolución en el cromatograma por ende se puede afirmar que el método es selectivo y específico para la cocaína.

Se determino la dispersión del tiempo de retención de 10 estándares de cocaína leídos de 2 diferentes curvas de calibración.

Tabla 27 Tiempo de retención del estándar de cocaína

No.	Tiempo de retención
1	7.58
2	7.51
3	7.49
4	7.47
5	7.5
6	7.6
7	7.51
8	7.5
9	7.5
10	7.53
Promedio	7.519
S	0.041
%CV	0.541

El tiempo de retención se mantiene en una media de 7.519, sin embargo, en otras pruebas realizada se ha evidenciado que se desplaza hasta 7.90 pero esto no afecta en razón a solapamientos con otras sustancias ya que no eluyen en el mismo tiempo de retención o en su cercanía. Por tal motivo en razón a criterio técnico se emplea un +/- 0.3 min de su posible desplazamiento a su tiempo medio de elución es decir 7.519 +/- 0.3 min.

4.3.2. Límite de detección y cuantificación

Se selecciono 10 blancos de matriz y se tomó en consideración el pico correspondiente al ruido en el tiempo de retención de la cocaína (7,519 +/- 0.3 min).

Tabla 28. Resultados del límite de detección y cuantificación

No.	AREA
1	688
2	1061
3	759
4	629
5	908
6	674
7	2208
8	1370
9	1178
10	1886
Promedio	1136.1
S	513.7255
m promediada	1.646
LD	1626.535
LC	3811.273

Fuente: Elaborado por el autor

El límite de detección fue de 1626.53 y para el de cuantificación de 3811.27 en función a los promedios de los blancos de reactivo, se usó la formula descrita en el punto 3.3.4. En caso de obtener áreas por debajo del límite de cuantificación se debería usar algún otro método o declarar por debajo del límite de cuantificación.

4.3.3. Linealidad

Se determino la linealidad en base a 10 curvas realizadas en distintos días con estándares recién preparados desde los 25 mg L⁻¹ hasta 125 mg L⁻¹ incluido el blanco.

Tabla 29 Datos de la Linealidad del método

CONC. TEORICA	CONC. ST/SI	MT/SI 1	MT/SI 2	MT/SI 3	MT/SI 4	MT/SI 5	MT/SI 6	MT/SI 7	MT/SI 8	MT/SI 9	MT/SI 10	S	\bar{X}	%CV
25	0.33	0.13	0.12	0.09	0.12	0.12	0.10	0.11	0.11	0.11	0.14	0.012	0.117	10.611
50	0.67	0.25	0.31	0.32	0.32	0.30	0.27	0.26	0.28	0.31	0.35	0.031	0.296	10.553
75	1.00	0.47	0.49	0.46	0.54	0.52	0.46	0.47	0.47	0.49	0.60	0.045	0.496	9.141
100	1.33	0.66	0.66	0.66	0.77	0.77	0.69	0.69	0.66	0.73	0.81	0.056	0.710	7.943
125	1.67	0.83	0.90	0.86	0.99	1.00	0.94	0.87	0.93	0.93	0.97	0.058	0.922	6.283
r^2		0.994	0.995	0.996	0.999	0.997	0.993	0.996	0.992	0.998	0.995			
PENDIENTE (m)		1.838	1.736	1.788	1.516	1.490	1.576	1.702	1.644	1.613	1.562			
INTERCEPTO (b)		0.140	0.140	0.146	0.167	0.192	0.223	0.183	0.195	0.168	0.108			
Error Tipico (Sr)		0.048	0.045	0.040	0.017	0.032	0.052	0.037	0.056	0.028	0.043			
m max		1.838												
m min		1.490												
b max		0.223												
b min		0.108												

Fuente: Elaborado por el autor

Los resultados obtenidos de la linealidad cumplen con todos los parámetros de validación descritos en el punto 3.3.4 dando en todos los casos un coeficiente de determinación mayor a 0.099 y cumpliendo con la desviación estándar y coeficiente de variación obtenidos. Las curvas se representan en la siguiente grafica la cual como se observa sigue una tendencia lineal en todos sus casos. La curva fue realizada por el método de estándar interno.

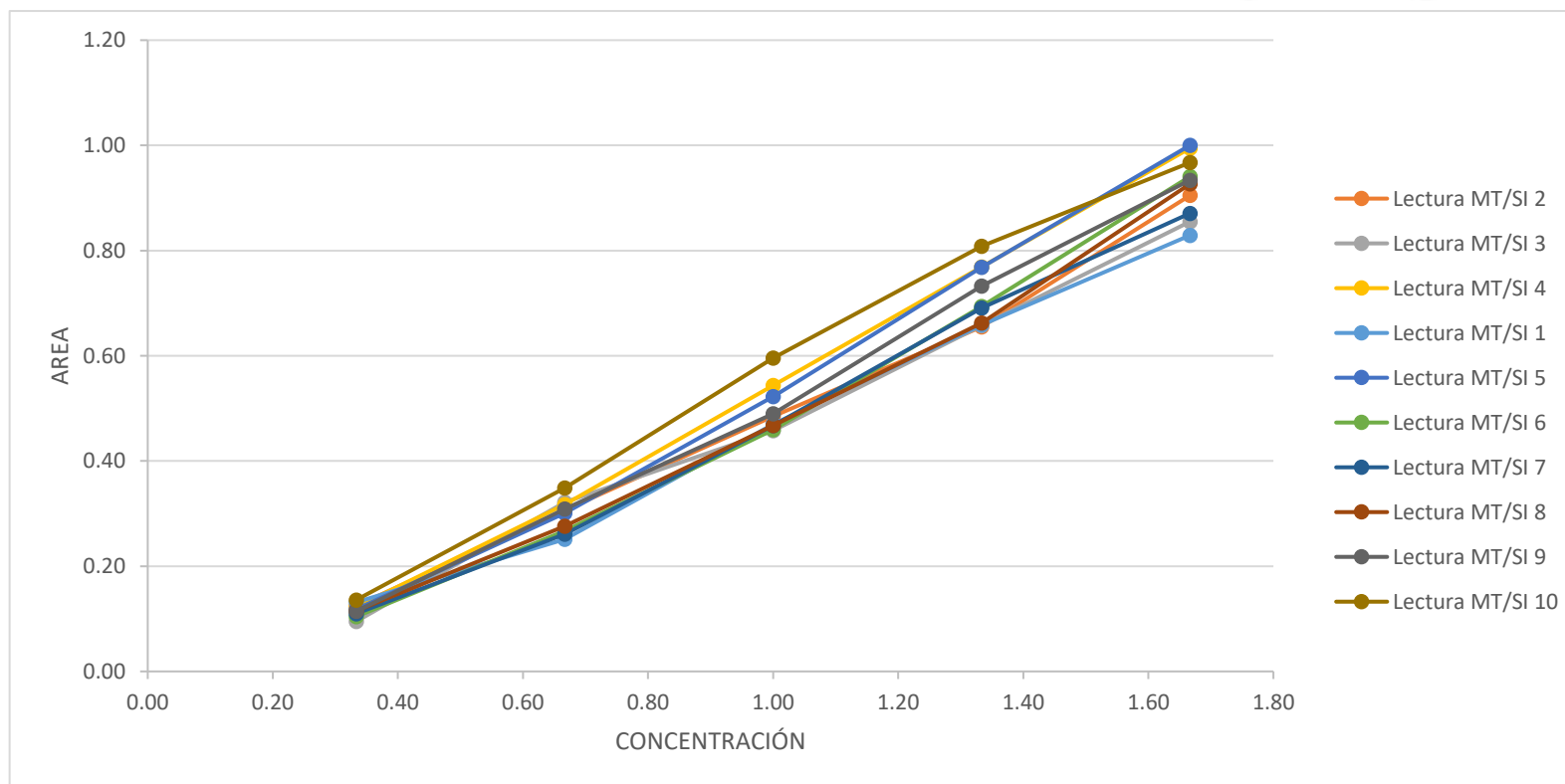


Figura 10 Curvas de calibración. Fuente: Elaborado por el autor

4.3.4. Precisión (Condiciones de Repetibilidad):

Se realizó el análisis de precisión en condiciones de repetibilidad con 6 réplicas de un material de referencia certificado (MRC) obtenido de pruebas interlaboratorios de la UNODC.

Tabla 30 Repetibilidad MRC

No.	Nivel	Día 1	Concentración Calculada
1	MRC	0.42	83.73
2		0.41	86.92
3		0.42	86.93
4		0.44	88.88
5		0.41	83.59
6		0.41	83.94
Promedio		0.42	85.67
S		0.01	2.22
%CV		2.79	2.59

La repetibilidad obtenida para el material de referencia fue de 2,79% en función a su lectura del resultado obtenido del MRC dividido para el estándar interno y de la concentración calculada expresada en porcentaje de pureza es de 2.59% de CV.

Los resultados obtenidos son aceptables, ya que en condiciones de repetibilidad se necesita que la variación sea menos del 15%.

4.3.5. Precisión (Condiciones de Reproducibilidad):

Se realizó el análisis de precisión en condiciones de reproducibilidad con 6 réplicas distintas analizadas en dos días diferentes por diferentes analistas. Para las pruebas se utilizó una muestra blanco a la cual se le añadió estándar de cocaína en 3 niveles de concentración (bajo, medio y alto) estos niveles son semejantes al primer, tercer y quinto punto de la curva (0,25, 75 y 125 mg L⁻¹), se hizo la corrección estadística con el estándar interno quedando los valores de 0.33, 1, 1.67 (se divide el valor teórico del estándar de cocaína con el del

estándar interno). A cada nivel de concentración se le realizó un estudio de ANOVA para ver si existe diferencia significativa entre los resultados de los dos días estudiados:

Planteamiento hipótesis análisis de varianza.

H0: Hipótesis Nula

H1: Hipótesis Alternativa

- **Nivel Bajo:**
- H0: No existen diferencias significativas en los resultados
- H1: Existen diferencias significativas Si $F > F$ Critico se rechaza la hipótesis nula por lo tanto habrá diferencias significativas en las muestras analizadas por cada método.

Tabla 31 Resultados reproducibilidad nivel bajo

No.	Nivel	Día 1	Día 2
1	Bajo	0.13	0.11
2		0.12	0.11
3		0.09	0.11
4		0.12	0.14
5		0.12	0.14
6		0.10	0.16
Promedio		0.11	0.13
S		0.02	0.02
%CV		13.28	16.65

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 32 ANOVA nivel bajo

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	2	0.24	0.12	0.0002
Fila 2	2	0.23	0.115	0.00005
Fila 3	2	0.2	0.1	0.0002
Fila 4	2	0.26	0.13	0.0002
Fila 5	2	0.26	0.13	0.0002
Fila 6	2	0.26	0.13	0.0018

Columna 1	6	0.68	0.11333333	0.00022667
Columna 2	6	0.77	0.12833333	0.00045667

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 33 Análisis Varianza Nivel Bajo

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Filas	0.00144167	5	0.00028833	0.72995781	0.63089137	5.05032906
Columnas	0.000675	1	0.000675	1.70886076	0.24801744	6.60789097
Error	0.001975	5	0.000395			
Total	0.00409167	11				

Fuente: Elaborado por el autor

Tal como se observa en la **tabla 33** el F calculado es menor al F crítico por tal motivo se rechaza la hipótesis alternativa, es decir que no hay diferencias significativas entre las medias de los grupos estudiados (día 1 y día 2), tal como indica los manuales de la UNODC para la validación de métodos para el nivel más bajo se permite un coeficiente de variación hasta máximo de 20% por tal motivo se cumple con el nivel bajo en todos sus aspectos estadísticos.

- **Nivel Medio**
- H0: No existen diferencias significativas en los resultados
- H1: Existen diferencias significativas Si $F > F$ Crítico se rechaza la hipótesis nula por lo tanto habrá diferencias significativas en las muestras analizadas por cada método.

Tabla 34 Resultados reproducibilidad nivel medio

No.	Nivel	Día 1	Día 2
1	Media	0.47	0.47
2		0.49	0.47
3		0.46	0.49

4		0.54	0.60
5		0.52	0.57
6		0.46	0.52
Promedio		0.49	0.52
S		0.03	0.05
%CV		6.83	10.54

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 35 ANOVA nivel medio

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	2	0.938	0.469	2E-06
Fila 2	2	0.96	0.48	0.0002
Fila 3	2	0.95	0.475	0.00045
Fila 4	2	1.14	0.57	0.0018
Fila 5	2	1.09	0.545	0.00125
Fila 6	2	0.98	0.49	0.0018
Columna 1	6	2.94	0.49	0.00112
Columna 2	6	3.118	0.51966667	0.00300067

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 36 Análisis Varianza Nivel Medio

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.01774167	5	0.00354833	6.19976704	0.03340514	5.05032906
Columnas	0.00264033	1	0.00264033	4.61327897	0.08447388	6.60789097
Error	0.00286167	5	0.00057233			
Total	0.02324367	11				

Fuente: Elaborado por el autor

Tal como se observa en la **tabla 36** el F calculado es menor al F crítico por tal motivo se rechaza la hipótesis alternativa, es decir que no hay diferencias significativas entre las medias de los grupos estudiados (día 1 y día 2), tal como

indica los manuales de la UNODC para la validación de métodos para el nivel medio se permite un coeficiente de variación hasta máximo de 15% por tal motivo se cumple con el nivel bajo en todos sus aspectos estadísticos.

- **Nivel Alto**
- H0: No existen diferencias significativas en los resultados
- H1: Existen diferencias significativas Si $F > F$ Critico se rechaza la hipótesis nula por lo tanto habrá diferencias significativas en las muestras analizadas por cada método.

Tabla 37 Resultados reproducibilidad nivel alto

No.	Nivel	Día 1	Día 2
1	Alto	0.83	0.87
2		0.90	0.93
3		0.86	0.93
4		0.99	0.97
5		1.00	1.05
6		0.94	0.90
Promedio		0.92	0.94
S		0.07	0.06
%CV		7.50	6.64

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 38 ANOVA nivel alto

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	2	1.701	0.8505	0.0008405
Fila 2	2	1.83	0.915	0.00045
Fila 3	2	1.79	0.895	0.00245
Fila 4	2	1.96	0.98	0.0002
Fila 5	2	2.05	1.025	0.00125
Fila 6	2	1.84	0.92	0.0008
Columna 1	6	5.52	0.92	0.00476
Columna 2	6	5.651	0.94183333	0.00390817

Fuente: Elaborado por el autor

Tabla 39 Análisis Varianza Nivel Alto

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Filas	0.03878042	5	0.00775608	8.50370032	0.01735654	5.05032906
Columnas	0.00143008	1	0.00143008	1.56793056	0.26588835	6.60789097
Error	0.00456042	5	0.00091208			
Total	0.04477092	11				

Fuente: Elaborado por el autor

Tal como se observa en la **tabla 38** el F calculado es menor al F crítico por tal motivo se rechaza la hipótesis alternativa, es decir que no hay diferencias significativas entre las medias de los grupos estudiados (día 1 y día 2), tal como indica los manuales de la UNODC para la validación de métodos para el nivel alto se permite un coeficiente de variación hasta máximo de 15% por tal motivo se cumple con el nivel bajo en todos sus aspectos estadísticos.

4.3.6. Exactitud:

Se realizó los análisis en 3 niveles de concentración donde se evaluó el resultado en función a su porcentaje de pureza.

Se realizó en un nivel bajo, medio y alto de forma representativa (10, 50 y 90% de pureza) para la preparación de estas pruebas se utilizó un blanco de muestra.

El estándar se preparó de la siguiente forma:

- 1.- Pesar 0.1g +/- 0.0005g de estándar de cocaína en un matraz aforado de 10 mL, esto nos da una concentración teórica de 1%.
- 2.- Tomar una alícuota de 0.250, 1.25 y 2.25 mL en un matraz de 25 mL conteniendo el blanco de muestra para obtener una concentración de 10, 50 y 90% de forma respectiva.
- 3.- Proceder como el punto **4.2.4**.

NO.	NIVEL	CONCENTRACIÓN TEÓRICA	CONCENTRACIÓN PRACTICA	%RECUPERACIÓN	%CV
1	Bajo	10%	11.15	111.52	1.86%
2			11.12	111.17	
3			10.76	107.65	
4			11.31	113.13	
5			10.98	109.82	
6	Medio	50%	49.23	98.45	3.42%
7			50.69	101.38	
8			48.92	97.85	
9			50.86	101.73	
10			53.29	106.58	
11	Alto	90%	90.67	100.74	2.10%
12			95.66	106.28	
13			95,05	105,61	
14			94,75	105,27	
15			93,91	104,34	

Fuente: Elaborado por el autor

Se evaluó la recuperación de los 3 niveles analizados, para el nivel bajo de 10% se realizó una extrapolación de los datos en función a la curva de calibración, mientras que en el nivel medio y alto se realizó la respectiva interpolación. Esto puede ser un motivo por el cual los valores de recuperación son más altos que los otros niveles, sin embargo; se cumple con los parámetros de validación dispuestos.

4.4. RESULTADOS ANALISIS DE MUESTRAS DE CONSUMO DIRECTO

4.4.1. Confirmación de la naturaleza química

Se procedió a realizar la caracterización química, tal como se menciona en el punto 3.3.2 a las sustancias obtenidas de manera aleatorias de las cuales en primer lugar se les realizó la prueba de Scott, si se observa un azul-turquesa se presume presencia de cocaína. Luego se procedió a analizar por el FT-IR y pruebas tipo C para los casos respectivos.

Tabla 40 Confirmación estructural de la sustancia

Análisis De Cocaína En Muestras Reales							
No.	Descripción	Análisis Empleado					Resultado
		Scott	Ft-Ir	Cloruros	Fenolftaleína	CCD En Éter	
1	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
2	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
3	Polvo Amarillo	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
4	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
5	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
6	Polvo Blanco	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Base De Cocaína
7	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
8	Polvo Blanco	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Clorhidrato De Cocaína
9	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
10	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
11	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
12	Polvo Blanco	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Base De Cocaína
13	Polvo Blanco	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Base De Cocaína
14	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína

15	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
16	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
17	Sustancia Rocosa Amarilla	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
18	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
19	Polvo Amarillo	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
20	Polvo Amarillo	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
21	Polvo Blanco	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Base De Cocaína
22	Polvo Blanco	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Base De Cocaína
23	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
24	Polvo Blanco	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Base De Cocaína
25	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
26	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
27	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
28	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
29	Polvo Amarillo	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
30	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
31	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína

32	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
33	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
34	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
35	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
36	Sustancia Rocosa Amarilla	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
37	Polvo Blanco	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Base De Cocaína
38	Polvo Blanco	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Base De Cocaína
39	Sustancia Rocosa Rosada	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Base De Cocaína
40	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
41	Sustancia Granular Blanca	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
42	Polvo Azul	Positivo	No Detectado	Negativo	Positivo	Positivo	Base De Cocaína
43	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
44	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
45	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
46	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína
47	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Base De Cocaína

48	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
49	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína
50	Polvo Blanco	Positivo	Detectado	N/A	N/A	N/A	Clorhidrato De Cocaína

Fuente: Elaborado por el autor

De los análisis realizados para la determinación de la naturaleza química de cocaína se evidenció que el 40% de las sustancias analizadas corresponden a clorhidrato de cocaína y el 60% de las sustancias analizadas corresponden a base de cocaína.

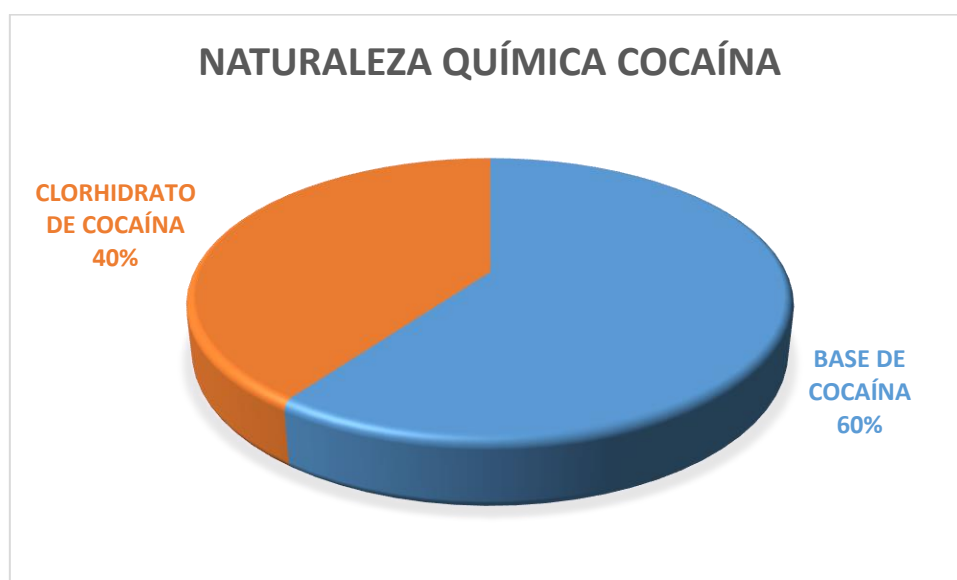


Figura 11. Naturaleza Química de la Cocaína

Fuente: Elaborado por el autor

Tal como se indica en la tabla 30, se ha detectado que de las 50 sustancias analizadas 20 corresponden a clorhidrato de cocaína y 30 a base de cocaína.

En general, 11 muestras no pudieron ser analizadas por el equipo de FT-IR debido a que posiblemente esas sustancias contienen en mayor proporción sustancias de corte y no es posible interpretar el espectro de infrarrojo.

4.4.2. Pureza de las muestras analizadas

Tabla 41 Pureza de Cocaína en muestras reales

ANALISIS DE COCAÍNA EN MUESTRAS REALES		
No.	TIPO DE COCAÍNA	PUREZA
1	BASE DE COCAÍNA	52.92
2	BASE DE COCAÍNA	51.72
3	BASE DE COCAÍNA	32.46
4	BASE DE COCAÍNA	33.36
5	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	36.70
6	BASE DE COCAÍNA	35.22
7	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	78.79
8	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	N.D.
9	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	79.94
10	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	81.81
11	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	81.35
12	BASE DE COCAÍNA	38.43
13	BASE DE COCAÍNA	82.46
14	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	75.68
15	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	77.51
16	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	84.52
17	BASE DE COCAÍNA	35.41

18	BASE DE COCAÍNA	49.80
19	BASE DE COCAÍNA	42.45
20	BASE DE COCAÍNA	46.49
21	BASE DE COCAÍNA	83.75
22	BASE DE COCAÍNA	84.75
23	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	98.65
24	BASE DE COCAÍNA	41.30
25	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	87.04
26	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	77.31
27	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	78.01
28	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	82.21
29	BASE DE COCAÍNA	49.92
30	BASE DE COCAÍNA	49.84
31	BASE DE COCAÍNA	60.22
32	BASE DE COCAÍNA	50.28
33	BASE DE COCAÍNA	45.88
34	BASE DE COCAÍNA	38.87
35	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	86.47
36	BASE DE COCAÍNA	34.67
37	BASE DE COCAÍNA	39.37
38	BASE DE COCAÍNA	39.33
39	BASE DE COCAÍNA	33.18
40	BASE DE COCAÍNA	47.77
41	BASE DE COCAÍNA	34.66
42	BASE DE COCAÍNA	N.D.
43	BASE DE COCAÍNA	34.21

44	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	76.57
45	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	78.89
46	BASE DE COCAÍNA	42.03
47	BASE DE COCAÍNA	53.23
48	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	67.65
49	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	45.42
50	CLORHIDRATO DE COCAÍNA	76.59

Fuente: Elaborado por el autor

La tabla 31 contiene información detallada sobre el análisis de pureza de 50 muestras de cocaína. Estas muestras se dividen en dos categorías principales: base de cocaína y clorhidrato de cocaína. La base de cocaína es la forma cruda y menos procesada del alcaloide, mientras que el clorhidrato de cocaína es el producto final más refinado y comúnmente distribuido.

Los valores de pureza reportados en la tabla muestran una amplia variación, desde un mínimo de 32.46% para una muestra de base de cocaína (N°3) hasta un máximo de 98.65% para una muestra de clorhidrato de cocaína (N°23). Esta variación en los niveles de pureza puede atribuirse a diversos factores, como los procesos de producción, purificación y corte (mezcla con sustancias de relleno) empleados por los traficantes de drogas.

Al analizar los datos se observa una tendencia en las muestras de clorhidrato de cocaína, estas tienden a tener una pureza más alta en comparación con las muestras de base de cocaína. Esto se debe a que el clorhidrato de cocaína ha pasado por procesos adicionales de refinamiento y purificación, lo que elimina gran parte de las impurezas presentes en la forma base.

Sin embargo, es importante resaltar que existe una variación considerable en los niveles de pureza incluso dentro de cada tipo de cocaína (base o clorhidrato). Esto sugiere que existen diferencias significativas en los métodos de producción,

purificación y corte empleados por los distintos grupos delictivos involucrados en el tráfico de esta sustancia.

Cabe mencionar que en dos muestras (N°8 y N°42) no se detectó presencia de cocaína. Esto podría deberse a una predominancia en el uso de sustancias de corte en lugar de la cocaína esperada, es decir, están por debajo del límite de cuantificación. Los datos presentados en la **tabla 41** brindan una valiosa información sobre la presencia de cocaína en diversas formas y con diferentes niveles de pureza de las muestras analizadas, lo cual puede ser relevante para fines de investigación, control de drogas o análisis forense.

4.4.3. Adulterantes analizados

Del método empleado para el análisis de cocaína se pudo evaluar también mediante la librería del GC/MS los diferentes contaminantes. Estos no fueron cuantificados, sin embargo; se identificaron mediante la carga y masa, los picos resultantes de estos no interfirieron tal como se pudo evidenciar en la validación del método de su especificidad y selectividad en relación a la cocaína

Se evidencio la presencia de los siguientes adulterantes tal como se muestra a continuación:

Tabla 42 Adulterantes en cocaína de consumo directo

No.	ADULTERANTES				
	Cafeína	Fenacetina	Ketamina	Levamisol	Acetaminofén
1	N.D.	N.D.	N.D.	DETECTADO	N.D.
2	N.D.	N.D.	N.D.	DETECTADO	N.D.
3	N.D.	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.
4	N.D.	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.
5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
10	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
11	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

12	N.D.	N.D.	DETECTADO	N.D.	N.D.
13	N.D.	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.
14	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
15	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
16	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
17	N.D.	DETECTADO	DETECTADO	N.D.	N.D.
18	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
19	N.D.	N.D.	DETECTADO	N.D.	N.D.
20	N.D.	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.
21	N.D.	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.
22	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
23	DETECTADO	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.
24	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
25	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
26	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
27	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
28	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
29	DETECTADO	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.
30	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
31	N.D.	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.
32	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
33	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
34	N.D.	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.
35	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
36	N.D.	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.
37	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
38	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
39	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
40	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
41	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
42	N.D.	N.D.	DETECTADO	N.D.	DETECTADO
43	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
44	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

45	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
46	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
47	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
48	N.D.	N.D.	N.D.	DETECTADO	N.D.
49	N.D.	DETECTADO	N.D.	DETECTADO	N.D.
50	DETECTADO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Fuente: Elaborado por el autor

La **tabla 42** muestra los resultados del análisis de 50 muestras para detectar la presencia de diferentes adulterantes. La sustancia adulterante más comúnmente encontrada fue la fenacetina, detectada en 12 de las 50 muestras. Le siguió la ketamina, presente en 6 muestras, y el levamisol, encontrado en 4 muestras, cafeína en 5 muestras. Por otro lado, el acetaminofén fue el adulterante menos común, detectado únicamente en 1 de las 50 muestras analizadas.

Es importante destacar que en 27 de las 50 muestras no se detectó ninguno de los adulterantes evaluados, lo que sugiere que aproximadamente la mitad de las muestras estaban libres de estas sustancias específicas. Sin embargo, hubo 4 muestras (No. 17, 23, 29 y 49) en las que se detectaron múltiples adulterantes simultáneamente, lo que indica mezclas más complejas.

En general, la mayoría de las muestras presentaron solo un adulterante a la vez, lo que sugiere que comúnmente se utiliza una sola sustancia para adulterar la cocaína.

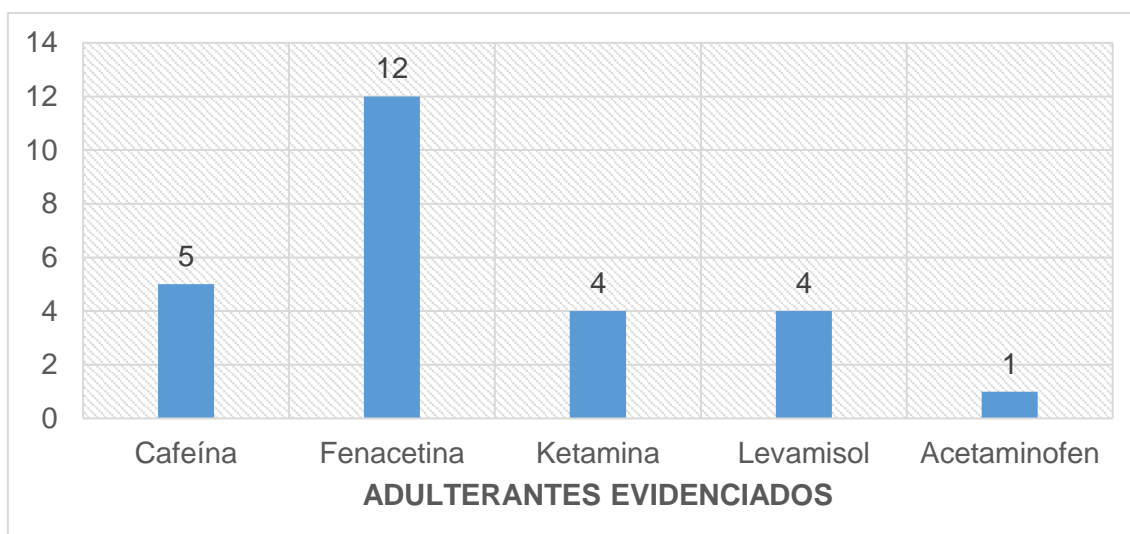


Figura 12 Adulterantes encontrados en muestras de cocaína

Fuente: Elaborado por el autor

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES

Se optimizó un método partiendo de normativas oficiales tales como la de la UNODC y SWGDRUG, en función a las necesidades y alcances del laboratorio, el método obtenido es sencillo, por lo tanto; los costos por análisis van a ser reducidos ya que esto implica un menor gasto de solventes, tiempo y consumibles. El método obtenido cumple con su fin previsto el cual es realizar la cuantificación de cocaína y a su vez el método permite cualificar distintos tipos de contaminantes y/o drogas de abuso debido a que el equipo empleado para el método es un CG/EM mediante modo TIC se podrá obtener información de otros compuestos presentes en la muestra de interés mediante su masa y carga.

Se ha validado un método analítico utilizando un equipo de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas para la determinación la concentración de cocaína en muestras de consumo directo, en el cual se obtuvo una linealidad mayor a 0.99 tanto en el promedio como por cada curva individual realizada. La selectividad fue adecuada con respecto al analito, ya que su tiempo de retención fue similar en todos los casos para el mismo analito y no hubo interferentes consigo mismo. El límite de detección (L.D.) y el límite de cuantificación (L.C.) se calcularon como 3 y 10 veces más que el ruido base de la matriz usada (blanco de matriz), cumpliendo con la condición $LOD > LOQ$. Se observó una precisión dada en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad con un %CV menor al 20% en el caso de la concentración más baja y 15% en el de la concentración media y alta. La exactitud o veracidad medida en porcentaje de recuperación, estuvo entre el 90% y el 120% en los 3 niveles de concentración, lo cual según los criterios por la UNODC es aceptado. Todos estos resultados cumplen con los criterios de aceptación, por lo que se declara que el método está validado. Por último, la estabilidad del analito se ha comprobado que por la volatilidad de los solventes usados no es recomendable

almacenarlos más de 2 semanas (tiene que estar almacenado en temperatura de congelación o refrigeración -16°C a 6°C).

Se analizaron un total de 50 muestras que fueron tomadas de diferentes casos de manera aleatoria de los cuales 30 resultaron ser base de cocaína y 20 clorhidrato de cocaína, para la identificación en su gran mayoría se pudo hacer la identificación por FT-IR, los que no se pudieron identificar es por que contenían demasiadas sustancias de corte y no permitía la información estructural de la cocaína, para esos casos fue necesario la comprobación por métodos tradicionales a la gota como es el ensayo de fenoltaleína y cloruros. La cocaína base tiene alrededor de un 30% a 60% de concentración, mientras el clorhidrato en su gran es mayoría está al 80% aproximadamente. Las principales sustancias de cortes relacionada a principios activos encontradas fueron, Levamisol, Fenacetina, Acetaminofén, Cafeína y Ketamina.

6. RECOMENDACIONES

Analíticamente se podría seguir optimizando el método realizando estudios por si otros analitos de interés correspondiente a sustancias de cortes o contaminantes eluyen después del minuto 12 de la corrida cromatográfica planeada en esta investigación.

Se podría realizar la validación usando estándar interno de un isómero de la sustancia, como, por ejemplo, cocaína deuterada, de esta manera se podría usar un solo solvente para realizar las extracciones y aforo ya que el tetracosano no es soluble en metanol por eso es necesario la mezcla de metanol y tolueno.

El rango de trabajo en función a la linealidad se podría bajar aún más, de esta manera en caso de los estándares primarios se podría optimizar y salvaguardar el mayor tiempo posible su uso y disposición.

De ser posible se recomienda el uso de estándares primarios, caso contrario se podría a partir de un primario la preparación de un estándar secundario, lo cual por normativa esta aceptado, debido a la complejidad que es conseguir estándares de esta sustancia por temas administrativos burocráticos.

Se recomienda profundizar estudios referentes a contaminantes y/o adulterantes inorgánicos tales como Carbonatos, Cal, Cloruro de Sodio, entre otros. De igual manera para principios activos como los encontrados en este estudio. Esto podría hacerse con un número mayor de muestras a nivel Nacional.

Se podría usar esta investigación retrospectivamente para encaminar por nuevos ámbitos de aplicación en estudios sociales, toxicológicos o geográficos en el cual sea necesario la aplicación de un método para cuantificar cocaína, por tal motivo es necesario agregar más tipos de matrices al estudio y validación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abduca, R. G. (2007). La Hoja de Coca De los Andes al mundo. *Universidad Nacional de Rio Negro*, 26, 19–23.
- AOAC International. (2016). *Official methods of analysis*.
- Awad, H., Khamis, M. M., & El-Aneed, A. (2020). Mass Spectrometry, Review of the Basics: Ionization. *Applied Spectroscopy Reviews*, 50(2), 158–175. <https://doi.org/10.1080/05704928.2014.954046>
- Bartle, K. D., & Myers, P. (2002). History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(9–10), 547–557. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00806-3](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00806-3)
- Benowitz, N. L. (1993). Clinical Pharmacology and Toxicology of Cocaine. *Pharmacology & Toxicology*, 72(1), 3–12. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0773.1993.TB01331.X>
- Calatayud, J., & González, Á. (2003). History of the Development and Evolution of Local Anesthesia Since the Coca Leaf. In *Anesthesiology* (Vol. 98). www.anesthesiology.org.
- Casale, J. F., & Klein, R. (1993). Illicit Production of Cocaine. *Forensic Science Review*, 5, 95–107. <https://www.researchgate.net/publication/258111607>
- Cole, C., Jones, L., McVeigh, J., Kicman, A., Syed, Q., & Bellis, M. (2011). Adulterants in illicit drugs: A review of empirical evidence. In *Drug Testing and Analysis* (Vol. 3, Issue 2, pp. 89–96). <https://doi.org/10.1002/dta.220>
- Damin, C., & Grau, G. (2015). Cocaína. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 49(1), 127–134. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572015000100012&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Del Bosque, J., Fuentes Mairena, A., Díaz, D. B., Espínola, M., González García, N., Abdalá, A. L., Medina-Mora, M. E., Alvarado, R. N., Natera, G., García, O. P., Huesca, R. S., Sansores, R., Real, T., Zinser, J., & Vázquez, L. (2014). La cocaína: consumo y consecuencias. In *La cocaína: consumo y consecuencias* (Vol. 381, Issue 5).
- El-Aneed, A., Cohen, A., & Banoub, J. (2019). Mass Spectrometry, Review of the Basics: Electrospray, MALDI, and Commonly Used Mass Analyzers. *Applied Spectroscopy Reviews*, 44(3), 210–230. <https://doi.org/10.1080/05704920902717872>
- Eurolab España, Morillas Bravo, P., Ellison, S., Gjengedal, E., Oxenboll Lund, U., & Thomas Muller, H. (2016). *Guía Eurachem: La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos: Vol. Primera edición.*
- Farrar, H. C., & Kearns, G. L. (1989). Cocaine: Clinical pharmacology and toxicology. *The Journal of Pediatrics*, 115(5), 665–675. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(89\)80640-7](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(89)80640-7)
- Fiorentin, T. R., Fogarty, M., Limberger, R. P., & Logan, B. K. (2019). Determination of cutting agents in seized cocaine samples using GC–MS, GC–TMS and LC–MS/MS. *Forensic Science International*, 295, 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.12.016>
- Garro Vargas, K. (2011). Cocaína: actualización medico legal. *Medicina Legal de Costa Rica*, 28(2), 57–62. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152011000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Hesse, M., Thomsen, K. R., Thylstrup, B., Andersen, C. U., Reitzel, L. A., Worm-Leonhard, M., & Lindholst, C. (2021). Purity of street-level cocaine across Denmark from 2006 to 2019: Analysis of seized cocaine. *Forensic Science International*, 329. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.111050>
- ICH. (2005). ICH Topic Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology. *International Conference on Harmonization*, 1994(November 1996), 17.

https://doi.org/http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf

ISO 17025. (2018). Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. *Organización Internacional de Normalización*, 2.

Jatlow, P. (1988). Cocaine: Analysis, Pharmacokinetics, and Metabolic Disposition. *THE YALE JOURNAL OF BIOLOGY AND MEDICINE*, 61, 105–113.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2590277/pdf/yjbm00074-0007.pdf>

Kaur, G., Sharma, S., & Student, M. S. (2018a). *Gas Chromatography-A Brief Review*. <http://ijics.com/>

Kaur, G., Sharma, S., & Student, M. S. (2018b). *Gas Chromatography-A Brief Review Examination of sequence of strokes View project Gas Chromatography-A Brief Review*. <http://ijics.com/>

Lizasoain, I. ;, Moro, M. A. ;, & Lorenzo, P. (2002). Cocaína: aspectos farmacológicos. *Adicciones*, 14, 57–64. <https://doi.org/10.20882>

López C., Á. M., Garzón M., W. F., Rosero-Moreano, M., & Taborda O., G. (2015). Análise de cocaína em diferentes amostras por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID). *Revista Colombiana de Química*, 44(1), 19–22. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n1.54010>

Moncayo Molina, W. E., Nelson, ;, Castelo, E. M., Carmen, ;, Rocío, D., Smaniego, V., Rosa, M., Jarrín, V., Deillys Dayanna, ;, & Barcia, D. (2021). Cuantificación de cocaína por cromatografía de gases acoplado a masas en Chimborazo. *FACSALUD-UNEMI*, 5(8), 22–29. <https://doi.org/10.29076/issn.2602-8360vol5iss8.2021pp22-29p>

Pacini, D., & Franquemont, C. (1985). COCA AND COCAINE Effects on People and Policy in Latin America. In *Latin American Studies Program (LASP)*, Cornell University.

Pascual, F., Torres, M., & Calafat, A. (2021). Monografía Cocaína. *Adicciones*, 13, 167–175.

<https://pnsd.sanidad.gob.es/fr/profesionales/publicaciones/catalogo/bibliotecaDigital/publicaciones/pdf/cocaina.pdf#page=180>

Raymond P., S. (1977). Chapter 1 Basic principles of gas chromatography. *Journal of Chromatography Library*, 10(C), 1–31. [https://doi.org/10.1016/S0301-4770\(08\)60223-7](https://doi.org/10.1016/S0301-4770(08)60223-7)

Sabogal-Carmona, J., & Urrego-Novoa, J. (2012). Composición química de muestras de bazuco incautado en Colombia primer semestre de 2010. *Revista de Salud Publica*, 14(6), 1014–1025.

Sandoval, S. (2010). Guía Técnica: Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición. *Zhurnal Eksperimental'noi i Teoreticheskoi Fiziki*, 66. http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2010/12/guia_tecnica_1_v_alidacion_de_metodos.pdf

Skoog, D. A., Holler, F. J., Crouch, S. R., Cervantes González, S., & Anzures, M. B. (2008). *Principios de análisis instrumental* (6ta Edicio). Cengage Learning.

Stolberg, V. B. (2011). The use of coca: Prehistory, history, and ethnography. In *Journal of Ethnicity in Substance Abuse* (Vol. 10, Issue 2, pp. 126–146). <https://doi.org/10.1080/15332640.2011.573310>

SWGDRUG. (2022). *Scientific Working Group For The Analysis of Seized Drugs (SWGDRUG) Recommendations*. www.swgdrug.org

SWGDRUG. (2023). *Monographs*. Monografías SWGDRUG. <https://swgdrug.org/monographs.htm>

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME & DIVISION FOR TREATY AFFAIRS. (2022). *WORLD DRUG REPORT 2022*. UNITED NATIONS.

UNODC. (2010). Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos. *Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos*.

https://www.unodc.org/documents/scientific/Validation_Manual_STNAR41_Ebook_S.pdf

UNODC. (2012). *Métodos recomendados para la identificación y el análisis de cocaína en materiales incautados Manual para el uso de los laboratorios nacionales de análisis de estupefacientes.*

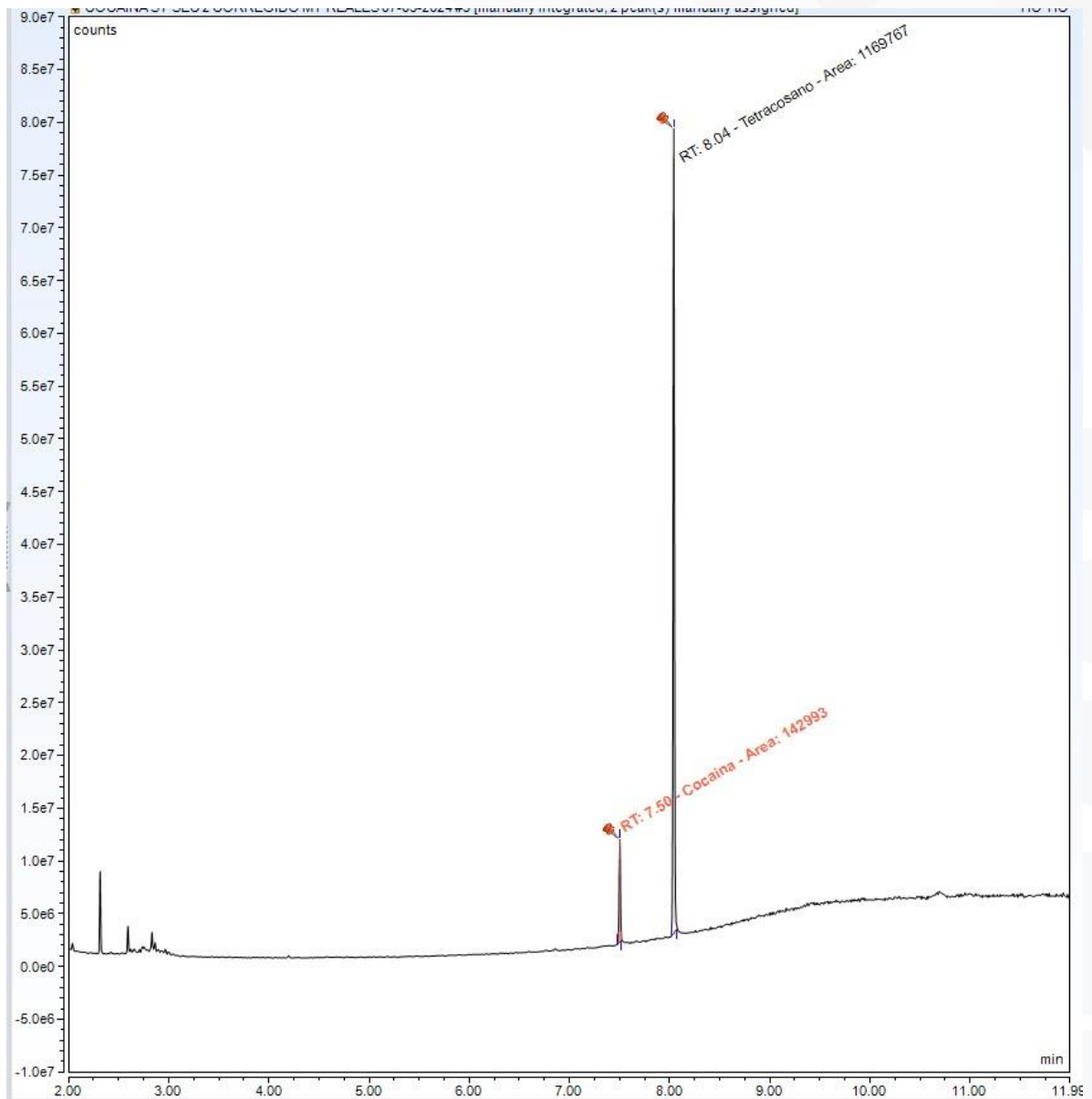
Volkow, N. D. (2001). ¿Qué es la cocaína? *National Institutes of Health*, 01–4324.

Wang, J., Patel, P. S., Andhavarapu, S., Bzhlyanskaya, V., Friedman, E., Jeyaraju, M., Palmer, J., Raffman, A., Pourmand, A., & Tran, Q. K. (2021). Prevalence of myocardial infarction among patients with chest pain and cocaine use: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Emergency Medicine*, 50, 428–436.
<https://doi.org/10.1016/j.ajem.2021.08.024>

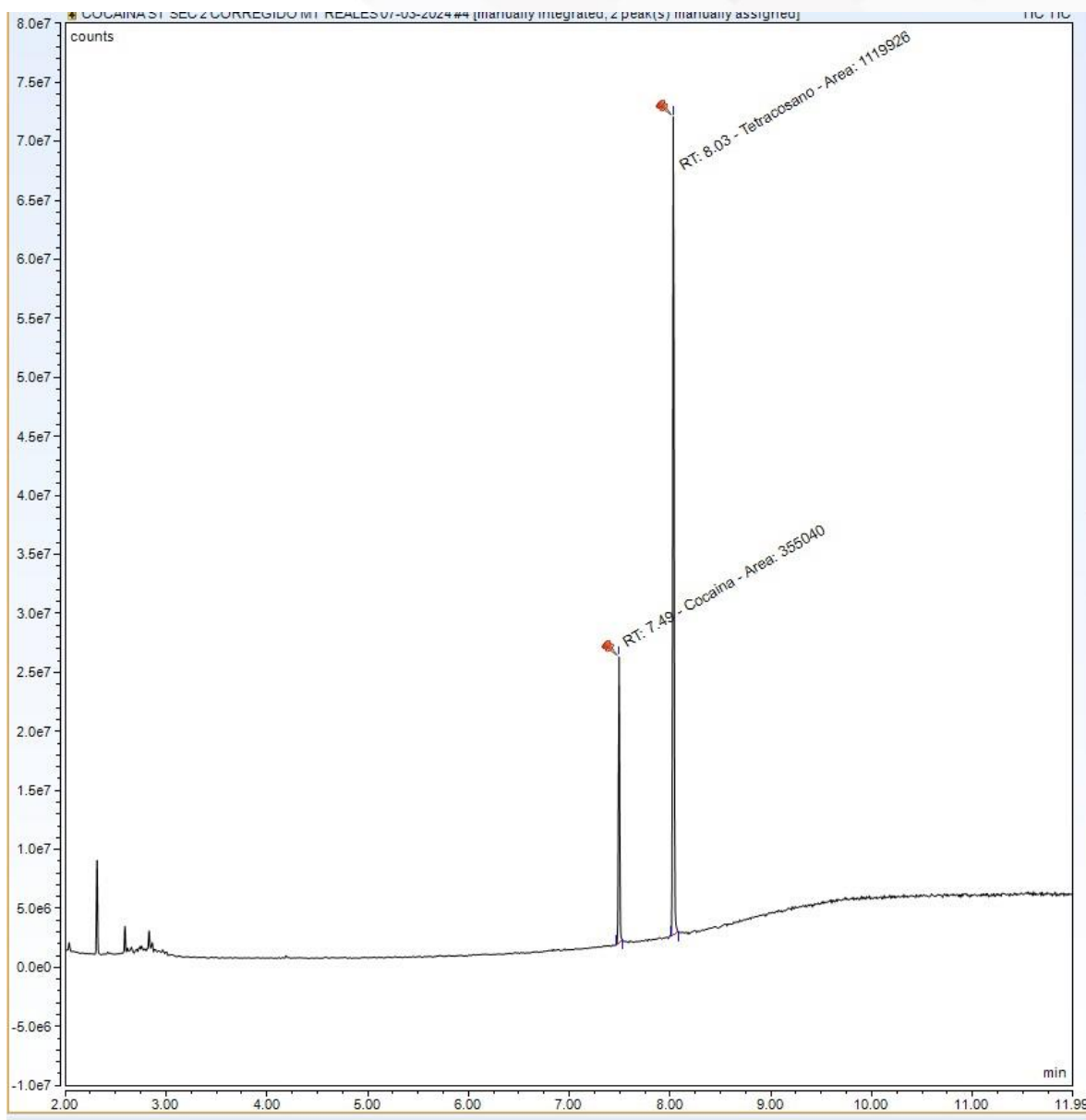
Zapata Ortiz, V. (1944). Acción de la cocaína en sujetos no habituados. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 3(4), 307–316.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46341944000400002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

ANEXOS

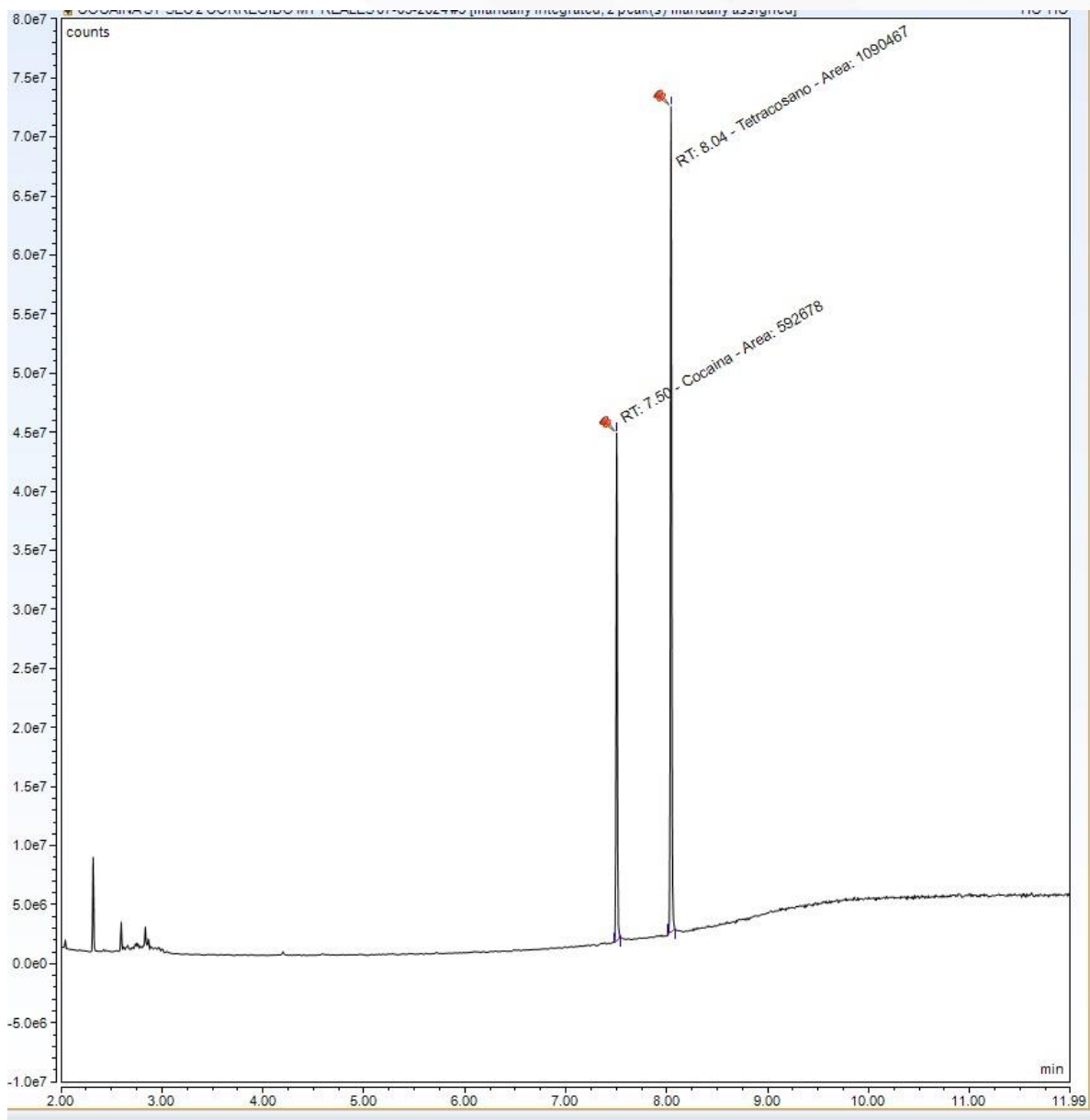
ANEXO 1.- Curva de calibración primer nivel



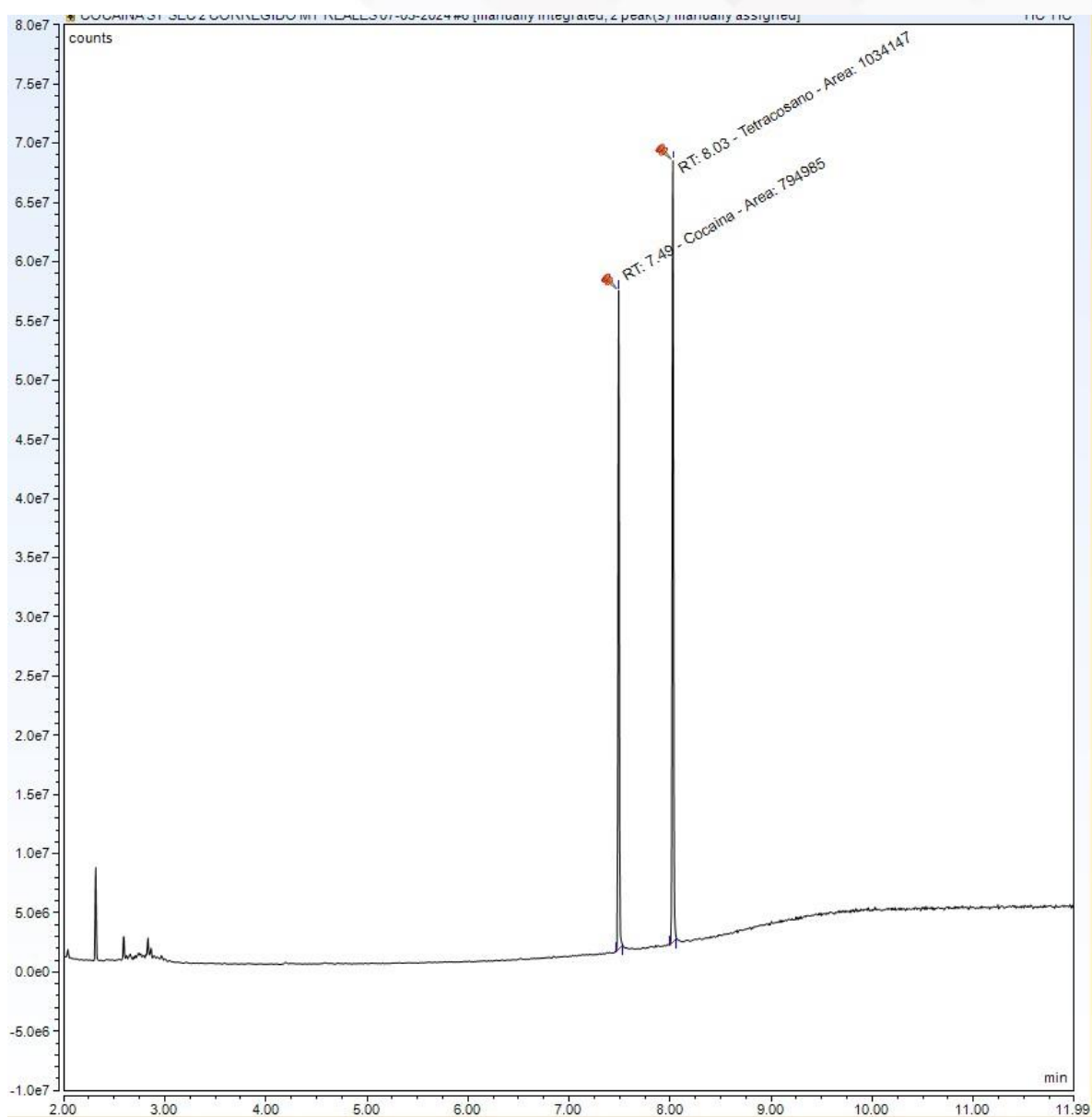
ANEXO 2.- Curva de calibración segundo nivel.



ANEXO 3.- Curva de calibración tercer nivel.



ANEXO 4.- Curva de calibración cuarto nivel.



ANEXO 5.- Curva de calibración quinto nivel.

