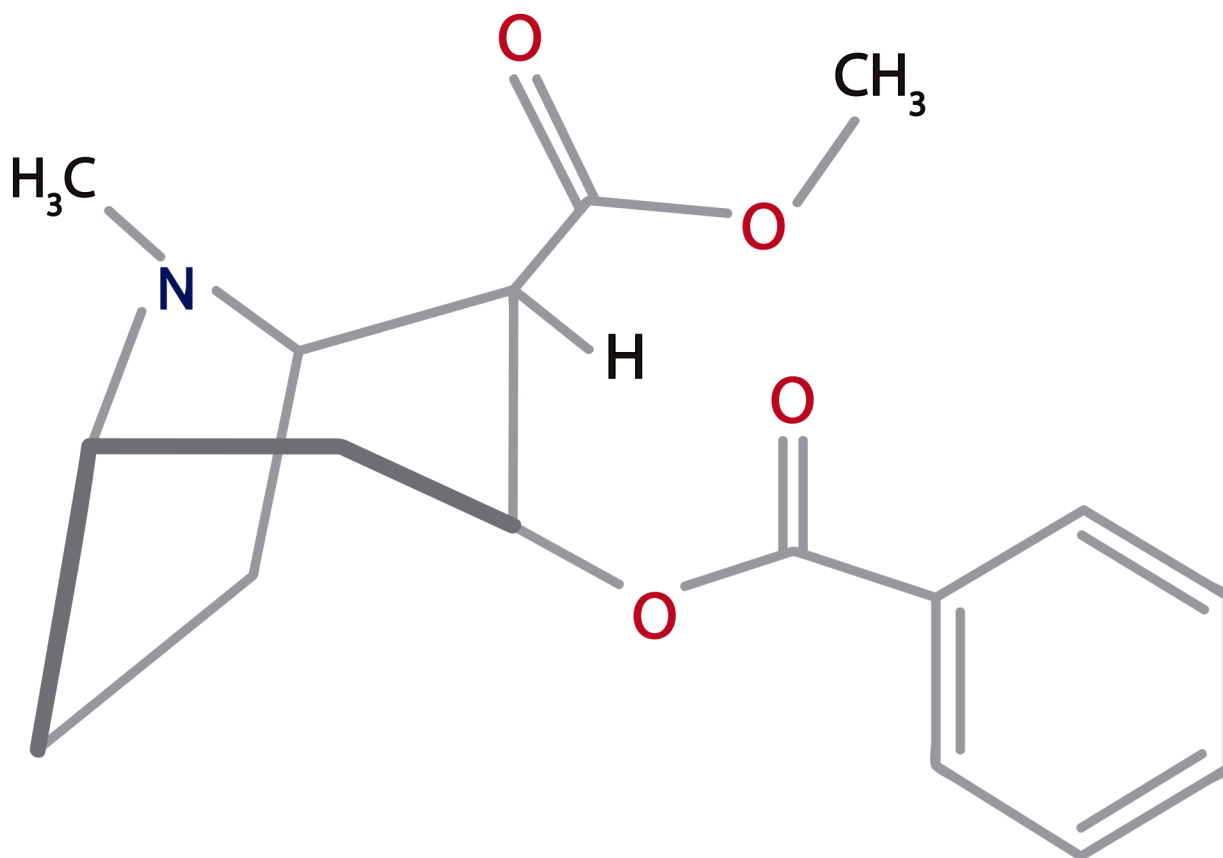




**Universidad de Valladolid**  
Facultad de Ciencias



# MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE COCAÍNA ILÍCITA EN PRESENCIA DE ADULTERANTES



TRABAJO FIN DE GRADO  
GRADO EN QUÍMICA

Autora: Cristina Álvaro Perrote  
Valladolid, Julio 2015

Tutores: Dr. Luis Mariano Debán Miguel  
Dr. Jesús Miguel Tejedor Muñoz





El trabajo que se expone a continuación se ha llevado a cabo por la estudiante de Grado en Química de la Universidad de Valladolid CRISTINA ALVARO PERROTE, en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valladolid y la Delegación del Gobierno, Área de Sanidad Castilla y León, bajo la dirección del Dr. LUIS MARIANO DEBÁN MIGUEL y Dr. JESUS MIGUEL TEJEDOR MUÑOZ.



## **Agradecimientos**

Al área de sanidad y política social de la Subdelegación del Gobierno en Valladolid, a los cuales deseo expresar mi gratitud por la oportunidad y confianza depositada en mí. Agradecerles el poder colaborar con ellos en la realización del presente trabajo tras la experiencia extracurricular adquirida en sus laboratorios, la ayuda prestada, su buena disposición y la gran profesionalidad transmitida. Sin olvidar a Domiciana de la Fuente Marcos, mi tutora de prácticas, y al Dr. Jesús Miguel Tejedor Muñoz, jefe del área de Sanidad, por escucharme y valorarme.

Al Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valladolid, a los cuales agradezco su ayuda y su total disposición en el transcurso de esta última etapa. Así como a todos los profesores que a lo largo de la carrera han estado a mi entera disposición tanto en el ámbito educativo como personal.

Este primer apartado no cobraría sentido si no mencionara al Dr. Luis Mariano Debán Miguel, mi tutor, no sólo por su ayuda, su paciencia, su positividad, su amabilidad, su constante apoyo y su confianza en mí, sino por haberme guiado y enseñado a madurar como profesional químico en un laboratorio. Sin olvidar al Dr. Francisco de la Rosa y a M<sup>ª</sup> Rosario Gómez, técnicos de laboratorio, por su ayuda y el buen ambiente de trabajo que proporcionan. Siempre guardaré un grato recuerdo en mí.

Por último, quiero agradecer este trabajo a mis padres, sin su esfuerzo y dedicación mi educación académica y personal no sería la misma. A mi hermano, que es mucho más de lo que he necesitado. A mis amigos, por ser mi otra familia.

Gracias a todos por ser mi motivación en un momento tan importante de mi vida.



## **ÍNDICE**

<b>1. <u>RESUMEN/ SUMMARY</u></b>	5
<b>2. <u>INTRODUCCIÓN</u></b>	6
<b>2.1 Cocaína</b>	6
2.1.1 Antecedentes históricos y situación actual	6
2.1.2 Antecedentes bibliográficos	7
2.1.3 Características de la cocaína y adulterantes estudiados	12
2.1.4 Obtención de cocaína “ilícita” a partir de la hoja de coca	17
<b>2.2 Planteamiento y objetivos</b>	19
<b>2.3 Líneas de actuación y justificación</b>	19
2.3.1 Técnicas de determinación de cocaína	19
2.3.1.1 Cromatografía	19
2.3.1.2 Espectroscopia Raman	20
2.3.2 Determinación de metales pesados	21
2.3.2.1 Absorción Atómica	21
2.3.3 Determinación de otros iones	22
2.3.3.1 Cromatografía de Intercambio Iónico	22
<b>3. <u>EXPERIMENTACIÓN Y RESULTADOS</u></b>	23
<b>3.1 Cromatografía líquida de alta eficacia con detector UV/Vis (HPLC-UV/Vis)</b>	23
3.1.1 Preparación de la muestra de referencia de 1000ppm	23
3.1.2 Estudio de la capacidad de absorción por espectroscopia UV/Vis	23
3.1.3 Estudio de la fase móvil	27
3.1.4 Análisis de muestras preparadas e incautadas	32
3.1.5 Equipos empleados	34
<b>3.2 Cromatografía líquida de alta eficacia con detector de fluorescencia (HPLC-FLD)</b>	35
3.2.1 Estudio de la luminiscencia por espectrofotometría de fluorescencia	35
3.2.2 Estudio de la fase móvil	36
3.2.3 Análisis de muestras preparadas e incautadas	39
3.2.4 Equipos empleados	39



<b>3.3 Cromatografía de gases con detector FID (GC-FID)</b>	40
3.3.1 Preparación de la muestra de referencia de 1000 ppm	40
3.3.2 Estudio de las condiciones de medida	40
3.3.3 Análisis de muestras incautadas	42
3.3.4 Equipos empleados	43
<b>3.4 Espectroscopia Raman</b>	44
3.4.1 Determinación de cocaína y adulterantes estudiados	44
3.4.2 Determinación de muestras incautadas	47
3.4.3 Equipos empleados	48
<b>3.5 Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS)</b>	48
3.5.1 Preparación de la línea de calibrado	48
3.5.2 Análisis de mercurio en muestras incautadas	48
3.5.3 Equipos empleados	48
<b>3.6 Cromatografía de Intercambio Iónico (IEC)</b>	49
3.6.1 Preparación de la línea de calibrado	49
3.6.2 Análisis de aniones en muestras incautadas	51
3.6.3 Equipos empleados	53
<b>4. <u>CONCLUSIONES</u></b>	54
<b>5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u></b>	56
<b>6. <u>ANEXOS</u></b>	58
A) Cromatografía de líquidos de alta eficacia con detector UV/Vis	59
B) Cromatografía de líquidos de alta eficacia con detector de fluorescencia	72
C) Cromatografía de gases con detector de llama	77
D) Espectroscopia Raman	86





## **1. RESUMEN/SUMMARY**

---

En este trabajo se realizan estudios para la puesta a punto de métodos alternativos mediante cromatografía de líquidos (HPLC) con detector UV/Vis y de fluorescencia (FLD), para la determinación de cocaína en presencia de posibles “adulterantes”: ácido acetilsalicílico, ácido salicílico, paracetamol, cafeína, procaína, éxtasis y lidocaína, normalmente encontrados en muestras incautadas en el “mercado de menudeo”. Se comparan los procedimientos propuestos con el método de cromatografía de gases (GC), habitualmente utilizado en los laboratorios del Área de Sanidad de la Delegación del Gobierno de Castilla y León y, a efectos de una caracterización rápida de las muestras requisadas, se ha realizado un estudio por Espectroscopia Raman.

Por último, dado el poco control y baja calidad de los reactivos utilizados en la obtención artesanal de las drogas ilícitas, así como las posteriores manipulaciones, “cortes”, para la pequeña venta, se ha considerado interesante hacer un estudio sobre elementos, cationes y aniones, que pueden encontrarse en una muestra requisada, mediante Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS) y Cromatografía de Intercambio Iónico (IEC).

This project deals with alternatives to Gas Chromatography (GC), usually used in the laboratories of the Department of Health of the Government Office of Castilla y León, for the determination of cocaine in the presence of possible adulterants, such as: acetylsalicylic acid, salicylic acid, paracetamol, caffeine, procaine, ecstasy and lidocaine. The methods studied were: High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with UV/Vis and fluorescence detectors and Raman Spectroscopy for rapid characterization of confiscated samples.

Finally, due the low quality and little control of the reagents used for the production of illicit drugs, as well as subsequent manipulations for sale, a study of elements, anions and cations, which can be found in a seized sample, was carried out by Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) and Ion-Exchange Chromatography (IEC).

## **2. INTRODUCCIÓN**

---

### **2.1 Cocaína**

#### **2.1.1 Antecedentes históricos y situación actual**

Las hojas de coca se han venido utilizando con fines medicinales y para la elaboración de infusiones. La coca crece adecuadamente en las tierras cálidas y húmedas de los Andes, por ello, el hábito de usar las hojas de coca en el área andina se remonta al periodo preincaico y continúa siendo común entre los actuales grupos indígenas de las serranías y altas mesetas de Bolivia, Perú y Argentina. La cocaína es el alcaloide más importante de esta planta, se libera al masticar la hoja y posee propiedades estimulantes, anestésicas, disminuyendo el cansancio y calmando apetito y sed.

A mediados del siglo XIX se extrajo por primera vez la cocaína pura de la hoja de la planta. La forma más frecuente de obtención de cocaína “ilícita” se detalla posteriormente en el apartado 2.1.4.

A principios del siglo XX, la cocaína se convirtió en el ingrediente principal de medicamentos que se desarrollaron para tratar determinados tipos de enfermedades, precisamente por su potencial para disminuir o eliminar el dolor y por su carácter euforizante. Sin embargo, debido a su alto potencial para generar dependencia y, en consecuencia, el uso abusivo de la misma, la hoja de coca y sobre todo la cocaína fueron sometidas a fiscalización internacional introduciéndose en la Lista I de la Convención Única de 1961 sobre Estupefacientes [1], sin embargo, la cocaína sigue teniendo usos médicos, principalmente como anestésico local, siendo utilizada por ejemplo en cirugía menor de tipo ocular, oído, garganta etc...

En el tráfico internacional, la pureza de la cocaína, como clorhidrato de cocaína, llega a ser del 80% al 90%, sin embargo, cuando se trata de tráfico local y menudeo, la pureza de la cocaína desciende hasta aproximadamente un 30%, debido a que el material inicialmente importado en grandes alijos, se corta con diferentes “adulterantes”. Los adulterantes utilizados suelen ser sustancias no sometidas a fiscalización como lidocaína, cafeína, procaína, etc. y otros muchos productos de fácil adquisición que no alteren el aspecto físico o lo cambien solo ligeramente como aspirinas, paracetamol etc...

De su alto potencial para el abuso y la dependencia, se deriva un amplísimo comercio ilegal de dicha sustancia a nivel internacional con la consiguiente intervención de las fuerzas de seguridad de los estados en la localización y aprehensión de alijos, lo que hace necesario un control de las sustancias incautadas. Las unidades responsables de este control en nuestro país son las Áreas Funcionales de Sanidad en las Subdelegaciones y Delegaciones del Gobierno, dependientes orgánicamente del Ministerio de Administraciones Públicas y Hacienda. En concreto, en la Comunidad Autónoma de Castilla y León, es el Área de Sanidad y Política Social de la Subdelegación del Gobierno en Valladolid el encargado de la inspección farmacéutica y el control de drogas.

Esta unidad debe proporcionar a las distintas autoridades e instituciones: policía, servicios de aduanas, fiscales, abogados, jueces...resultados fiables, basados en procedimientos de determinación y cuantificación validados, que cumplan la normativa de los respectivos sistemas jurídicos y administrativos en materia de pruebas, compatibles con los resultados de otros laboratorios de apelación, que permitan de una manera eficaz y en plazo requerido dar respuesta a las demandas sanitarias y jurídicas, teniendo en cuenta las consecuencias tan importantes que se derivan de los citados resultados.

Actualmente, en dicho laboratorio, se sigue el protocolo sugerido por la Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC) [2]. En dicho protocolo uno de los métodos de análisis recomendados es la Cromatografía de Gases con detección de ionización de llama (GC-FID) y es el utilizado en la Subdelegación del Gobierno en Valladolid. El instrumento que se recomienda es el cromatógrafo de gases con columna capilar de pequeño calibre, en el que se utilizan columnas con un diámetro interno de entre 0,2 y 0,32mm. La técnica de cromatografía de gases con una columna de relleno ya no se recomienda ya que los sistemas de GC están equipados actualmente con columnas capilares.

### **2.1.2 Antecedentes bibliográficos**

Normalmente la cocaína se obtiene de la hoja de coca y la mayoría de las veces se presenta como un polvo cristalina blanco o blanco opaco, a menudo fino y raramente húmedo.

En el tráfico internacional de grandes cantidades, es rara la adulteración de la cocaína, cuya pureza como clorhidrato de cocaína llega a ser del 80% al 90%, sin embargo se producen adulteraciones y transformaciones en el tráfico local y menudeo con sustancias como

lidocaína, procaína, cafeína, etc... En cualquier caso, el aspecto físico apenas cambia ya que todos los adulterantes conocidos se presentan también en forma de polvo blanco fino y seco.

La cocaína es una droga que también se encuentra en el mundo del deporte de alta competición, por lo que su uso se considera como “doping” y por tanto forma parte de las sustancias que se determinan en los controles que se hacen a los deportistas. Normalmente tarda en eliminarse por orina entre 48 y 72 horas, aunque en determinados casos no frecuentes en ambientes deportivos (alto consumo), puede detectarse incluso pasadas dos semanas. La localización se realiza mediante la detección del metabolito benzoilecgonina en orina, ya que solo el 5% de cocaína se elimina como tal en orina mientras que cerca del 50% se hace en forma de dicho metabolito [3].

La presencia de cocaína en orina o sangre aporta una información sobre el consumo a corto plazo, mientras que su determinación en otras muestras biológicas, como el pelo, permite un estudio más amplio en cuanto a su consumo a lo largo de periodos de tiempo mayores. El pelo es un tipo de muestra que está siendo ampliamente estudiada dentro de los procesos analíticos para la determinación de drogas debido a que este tipo de muestras pueden ser obtenidas por vía no invasiva y pueden ser almacenadas y transportadas sin condiciones especiales, presentando además una gran estabilidad. Por otra parte, el análisis de pelo facilita una valoración cronológica del consumo de esta droga, dependiendo de los resultados de los análisis de las distintas zonas del cabello, desde la parte más próxima a la raíz hasta su punta.

Dado el interés de este tipo de análisis, sobre todo en el caso de seguimiento de casos de dopaje en el campo del deporte de alta competición, se han desarrollado diferentes métodos para su determinación en este tipo de muestras. Entre los trabajos encontrados, la técnica utilizada con más frecuencia es la cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC-MS). Se suele utilizar helio como gas portador y una columna capilar OV-1 con fase de sílice fundida. Entre otros trabajos, se considera por su interés el realizado por *Balabanova S. y colaboradores*. En él se desarrolla un método para la determinación simultánea de cocaína y cocaetileno en pelo humano utilizando microextracción en fase sólida (SPME) y GC-MS como técnica analítica para identificar y cuantificar las drogas [4]. La respuesta del detector fue lineal para las sustancias estudiadas en el rango de (0.4-1.5 ng/mg), con coeficientes de correlación superiores a 0.995. Los coeficientes de variación oscilaban entre 0.65 y 14.18%.

Los índices de cuantificación y detección eran aceptables, el método se aplicaba a 15 muestras de pelos y se tenía presente que la cocaína en etanol producía un metabolito, cocaetileno. Las concentraciones medias fueron de 5.39 ng/mg con un rango de (0.43-8.98 ng/mg) y 1.11 ng/mg de cocaetileno con un rango de (0.42-2.23ng/mg).

Según la ley italiana, los solicitantes de un permiso de conducción con un historial de abuso de drogas deben dar pruebas de haber dejado esa adicción y no mostrar riesgo de recaída en el futuro. Para ello, *Tagliaro y colaboradores*, desarrollaron un método para la identificación y cuantificación de cocaína, morfina y éxtasis en pelo humano en paralelo con un programa de análisis de orina seriados en ocho muestras recogidas durante un periodo de aproximadamente 40 días [5]. Los análisis de orina se realizan con ensayos inmunoquímicos y una posterior confirmación mediante GC-MS. El análisis de pelo estaba basado en un primer "screening" mediante radio-inmunoensayos (RIA) y una posterior confirmación por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) con detección electroquímica para morfina, o fluorescencia para cocaína y éxtasis. A las muestras que dieron resultado positivo y, como control, a un 10% de las muestras negativas, se les realizaron un análisis por electroforesis capilar (CZE), espectrometría de masas (MS/MS) y/o cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC-MS) para confirmación de resultados. El análisis por HPLC para morfina estaba basado en una separación isocrática usando una columna de poliestireno-divinilbenceno de 150x4.6mm y un tamaño de partícula de 5µm. La fase móvil era 0.05M de fosfato de potasio y acetonitrilo (80/20). El detector era amperométrico a +0.45V con un electrodo de referencia de Ag/AgCl. Para la cocaína se utiliza la misma columna, sin embargo la fase móvil es 0.05M fosfato de potasio, metanol y THF (72/25/2). La detección es con fluorescencia a una longitud de onda de 230 nm. Para el éxtasis también se utilizaba la misma columna pero con una fase móvil diferente: 0.05 fosfato de potasio y acetonitrilo (72/18). La detección era fluorimétrica a una longitud de onda a 285nm. Los resultados por análisis de orina y los de cabello se compararon y se observó una sensibilidad diagnóstica mucho más alta para el análisis de cabello que para el análisis de orina. Para la morfina y la cocaína, la frecuencia de casos positivos de análisis de cabellos era más alta que la de los análisis de orina, pero esta diferencia era notable para el éxtasis. Para este compuesto, los únicos casos positivos encontrados provenían del análisis de cabello, mientras que el análisis de orina era constantemente negativo. Por otra parte, también hubo casos negativos en análisis de cabello pero positivos



en análisis de orina. Esto revelaba recaídas ocasionales del consumo de drogas después de un periodo de abstinencia virtual y señala fuertemente la utilidad de combinar el análisis de cabello con el análisis de orina seriados para una supervisión eficaz de los abusos de drogas.

*Clauwaert y colaboradores*, desarrollaron un método por cromatografía de líquidos con detección de fluorescencia (HPLC-FLD) para el análisis de cocaína y algunos de sus metabolitos: benzoilecgonina (BEG) y cocaetileno. En el trabajo se analizó ocho muestras de cabello procedentes de fuentes forenses utilizando una columna Hypersil BDS C<sub>18</sub> con una fase móvil que combinaba un flujo isocrático durante 7 min de 45nM de acetato amónico, metanol y acetonitrilo (84/8/8) y un flujo en gradiente durante 27 min de metanol, acetonitrilo y agua (42/42/16), tras una extracción en fase sólida. La detección se realizó a una longitud de onda de 242 nm y el límite de detección fue de 0.2ng/mg [6].

*Fernández y colaboradores*, desarrollaron un método por cromatografía de líquido con detección Diodo-Array (HPLC-DAD) para la determinación simultánea de morfina, codeína, 6-acetilmorfina (6AM), cocaína, benzoilecgonina (BEG), cocaetileno, metadona y su metabolito 2-etilideno-1,5-dimetildifenilpirrolidina (EDDP), en sangre limpia de drogas, del Banco de sangre de Santiago de Compostela, que fue contaminada por esas 8 drogas. La extracción en fase sólida se veía seguida por la cromatografía en un equipo X-Terra con una columna RP8 utilizando como fase móvil acetonitrilo y fosfato como tampón (pH 6.53) y una elución en gradiente. La respuesta del detector era lineal en un rango de concentraciones de 0.1-10 µg/ml de sangre y la correlación de coeficientes para las ocho drogas era superior a 0.99. La precisión fue aceptable con coeficientes de variación oscilantes entre 2.55% y 6.45%. [7]

Una técnica que se está mostrando como un complemento importante en el campo forense es la espectroscopia Raman ya que se ha demostrado que es una técnica efectiva y rápida en la práctica forense para la determinación de drogas, fundamentalmente, para la caracterización de las muestras, en el proceso siguiente a su incautación, ya que produce espectros específicos moleculares y en la mayoría de los casos la preparación de muestra es mínima permitiendo un análisis no destructivo de volumen o de muestras microscópicas in situ sin efectuar la separación del analito del sustrato o de la matriz base. Esta técnica es particularmente importante por la rapidez en el análisis, que se puede llevar a cabo sin

tratamientos previos que evitan problemas de manipulación con posibilidad de contaminación de la muestra y anulación en las causas judiciales de material probatorio.

La técnica de espectroscopia Raman ha sido aplicada satisfactoriamente para la identificación de éxtasis, cocaína, barbitúricos y benzodiacepinas. También ha sido utilizada en el análisis de drogas de consumo en diferentes tipos de mezclas. Por otra parte, el transporte, embalaje, venta y uso de las drogas de consumo causan inevitablemente contaminación en las ropas y otras pertenencias de las personas involucradas, algunos estudios han demostrado el interés de la microscopia Raman para la detección y la identificación de drogas ilícitas en materiales y objetos en contacto con las mismas. Por tanto, la detección de residuos de las drogas ilícitas en la ropa puede ser usada como un fuerte indicador para establecer una relación entre estas sustancias ilícitas y las personas involucradas en estas actividades. *Ali Esam y colaboradores* determinaron, mediante esta técnica, clorhidrato de cocaína y N-metil-3,4-metilendioxiacetilfenetamina (MDMA) en tejidos de ropa, naturales y sintéticos. La presencia de excipiente en los espectros de las drogas no impidió la identificación de las drogas. Los espectros Raman de los compuestos no presentaron interferencias significativas derivadas del tipo de fibra ni de los colorantes asociados a la misma. Además, si fuera necesario, las bandas de interferencia se podrían eliminar fácilmente por sustracción espectral. El tiempo para la adquisición de los espectros fue de 90s. No fue necesario ningún tipo de preparación de la muestra, presentando además la ventaja de mantener la integridad del tejido, el cual se podría conservar como material de prueba para posteriores análisis [8].

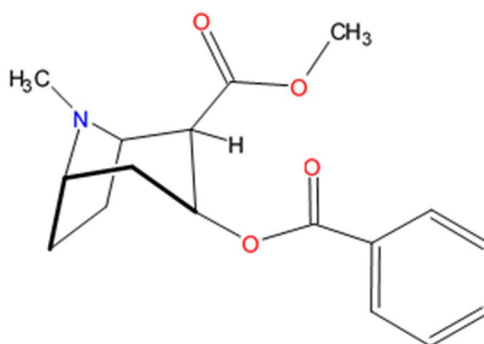
*Day y colaboradores*, describieron una aplicación de la espectroscopia Raman consistente en la detección de drogas en elementos que estuvieron en contacto con las huellas dactilares de una persona. En el trabajo se cuenta el supuesto de un individuo que estuvo manipulando una sustancia y posteriormente toca determinados objetos. En las huellas dactilares latentes se estudiaron cinco drogas de consumo (codeína, clorhidrato de cocaína, sulfato de anfetamina, barbital y nitrazepam) y otras sustancias de apariencia similar (cafeína, aspirina, paracetamol, almidón y talco). Estas sustancias se identificaron por espectroscopia Raman siendo manifestadas las únicas interferencias en el espectro por procesos de fluorescencia dada la variedad de compuestos que acompañan a las drogas de consumo [9].

Con el fin de no realizar una exposición excesivamente larga sobre los trabajos bibliográficos considerados para el estudio y determinación de cocaína, únicamente se ha hecho referencia en este apartado a algunos de ellos, ya sea por el interés que representaban desde el punto de vista de nuestro estudio, como desde posibles vías de investigación que se abran para realizar otros trabajos similares.

### 2.1.3 Características de la cocaína y adulterantes estudiados

#### Cocaína

-Estructura química: Benzoilmetilecgonina

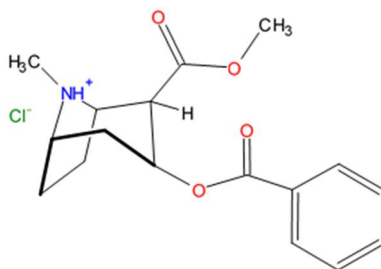


-Tabla de características

Datos químicos		
<b>Fórmula química</b>	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	
<b>Peso molecular</b>	303.4 g	
Datos físicos		
<b>Aspecto físico</b>	Polvo blanco de sabor amargo	
<b>Punto de fusión</b>	98°C	
<b>Solubilidad</b>	<b>Disolvente</b>	<b>g/100mL</b>
	Agua	0.16
	Etanol	15.38

**Clorhidrato de cocaína**

-Estructura química:

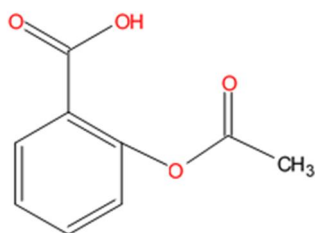


-Tabla de características

Datos químicos		
<b>Fórmula química</b>	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>4</sub>	
<b>Peso molecular</b>	339.8 g	
Datos físicos		
<b>Aspecto físico</b>	Polvo blanco de sabor amargo	
<b>Punto de fusión</b>	195°C	
<b>Solubilidad</b>	<b>Disolvente</b>	<b>1g/mL</b>
	Agua	1 en 0.4
	Etanol	1 en 3.2

**Ácido acetilsalicílico**

-Estructura química: Ácido 2-acetiloxi-benzoico

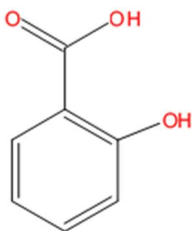


-Tabla de características

Datos químicos		
<b>Fórmula química</b>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	
<b>Peso molecular</b>	180.16 g	
Datos físicos		
<b>Aspecto físico</b>	Cristales entre incoloros y blancos, o polvo	
<b>Punto de fusión</b>	138°C	
<b>pH</b>	Aprox. 3.5	
<b>Solubilidad</b>	<b>Disolvente</b>	<b>g/100mL</b>
	Agua	1.22
	Etanol	8

**Ácido salicílico**

-Estructura química: Ácido 2-hidroxibenzoico

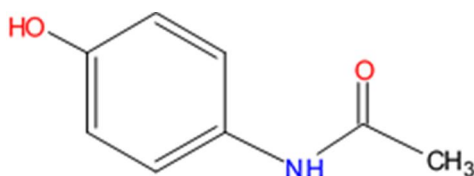


-Tabla de características

Datos químicos		
Fórmula química	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	
Peso molecular	138.12 g	
Datos físicos		
Aspecto físico	Sólido blanco inodoro	
Punto de fusión	160°C	
pH	Aprox. 3	
Solubilidad	Disolvente	g/100mL
	Agua	1.8
	Etanol	1.9

**Paracetamol**

-Estructura química: N- (4-hidroxifenil) acetamida

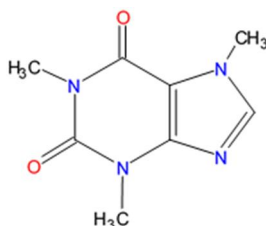


-Tabla de características

Datos químicos		
Fórmula química	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	
Peso molecular	151.16 g	
Datos físicos		
Aspecto físico	Polvo blanco finamente cristalizado	
Punto de fusión	169 – 171°C	
pH	5.3 – 6.5	
Solubilidad	Disolvente	g/100mL
	Agua	1.4
	Etanol	1.5

**Cafeína**

-Estructura química: 3,7- dihidro- 1, 3, 7- trimetil- 1H-purina- 2,6- diona

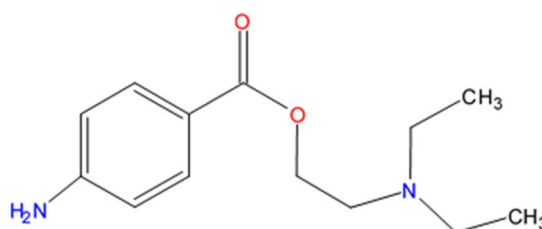


-Tabla de características

Datos químicos		
<b>Fórmula química</b>	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	
<b>Peso molecular</b>	194.19 g	
Datos físicos		
<b>Aspecto físico</b>	Sólido blanco inodoro	
<b>Punto de fusión</b>	234 – 239 °C	
<b>pH</b>	5.5 – 7	
<b>Solubilidad</b>	<b>Disolvente</b>	<b>g/100mL</b>
	Agua	1.6
	Etanol	1.5

**Procaína**

-Estructura química: 4- aminobenzoato de 2- (dietilamino) etilo

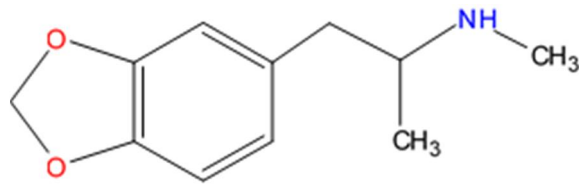


-Tabla de características

Datos químicos		
<b>Fórmula química</b>	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	
<b>Peso molecular</b>	236.31 g	
Datos físicos		
<b>Aspecto físico</b>	Sólido blanco inodoro	
<b>Punto de fusión</b>	154 - 158 °C	
<b>pH</b>	5.0 – 6	
<b>Solubilidad</b>	<b>Disolvente</b>	<b>g/100mL</b>
	Agua	0.5
	Etanol	0.6

**Éxtasis**

-Estructura química: 3,4-metilendioximetanfetamina (MDMA)

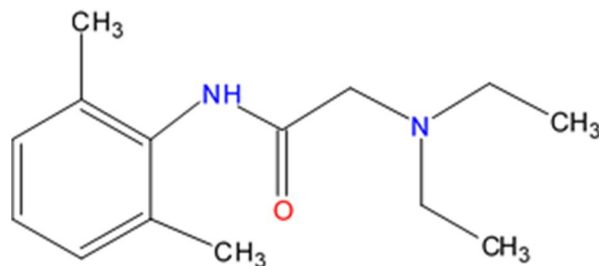


-Tabla de características

Datos químicos		
Fórmula química	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	
Peso molecular	193.24 g	
Datos físicos		
Aspecto físico	Sólido blanco inodoro	
Punto de fusión	145 °C	
Solubilidad	<b>Disolvente</b>	<b>g/100mL</b>
	Agua	0.54
	Etanol	0.6

**Lidocaína**

-Estructura química: 2- (dietilamino)- N- (2, 6- dimetilfenil) acetamida



-Tabla de características

Datos químicos		
Fórmula química	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O	
Peso molecular	234.34 g	
Datos físicos		
Aspecto físico	Sólido blanco con ligero olor	
Punto de fusión	66 - 69°C	
pH	4.0 a 5.5	
Solubilidad	<b>Disolvente</b>	<b>g/100mL</b>
	Agua	0.9
	Etanol	5

#### 2.1.4 Obtención tradicional de cocaína "ilícita" a partir de la hoja de coca

La producción de clorhidrato de cocaína a partir de las hojas de coca se suele llevar a cabo en tres etapas:

- 1) Extracción de la cocaína y otros alcaloides de la hoja de coca, pasta de coca
- 2) Purificación de la pasta de coca hasta cocaína base
- 3) Transformación de la cocaína en clorhidrato de cocaína

##### 1) Extracción de la cocaína y otros alcaloides de la hoja de coca, pasta de coca

Las hojas de coca se tratan con bicarbonato de calcio convirtiendo así a la cocaína en una sustancia insoluble en agua. La mezcla alcalina se deja macerar de uno a tres días extrayéndose las sustancias estimulantes. A continuación se añade queroseno, u otro hidrocarburo, para extraer la cocaína. Así los alcaloides de la coca pasan al queroseno. El queroseno se trata con ácido sulfúrico diluido, ácido fuerte de baja volatilidad, convirtiendo la cocaína y el resto de alcaloides en sulfatos (base libre). Los sulfatos pasan a la fase acuosa y por extracción se separan de la cocaína y los alcaloides, las ceras y grasas de las hojas de coca. A la fase acuosa se añade amoníaco, transformándose el sulfato de cocaína, de nuevo, en cocaína base dando lugar a la precipitación de cocaína bruta, los alcaloides más básicos y sales inorgánicas. A continuación, se filtra y se seca el producto para obtener la pasta de coca. Esta pasta de coca contiene aproximadamente un 50% de cocaína.

##### 2) Purificación de la pasta de coca hasta cocaína base

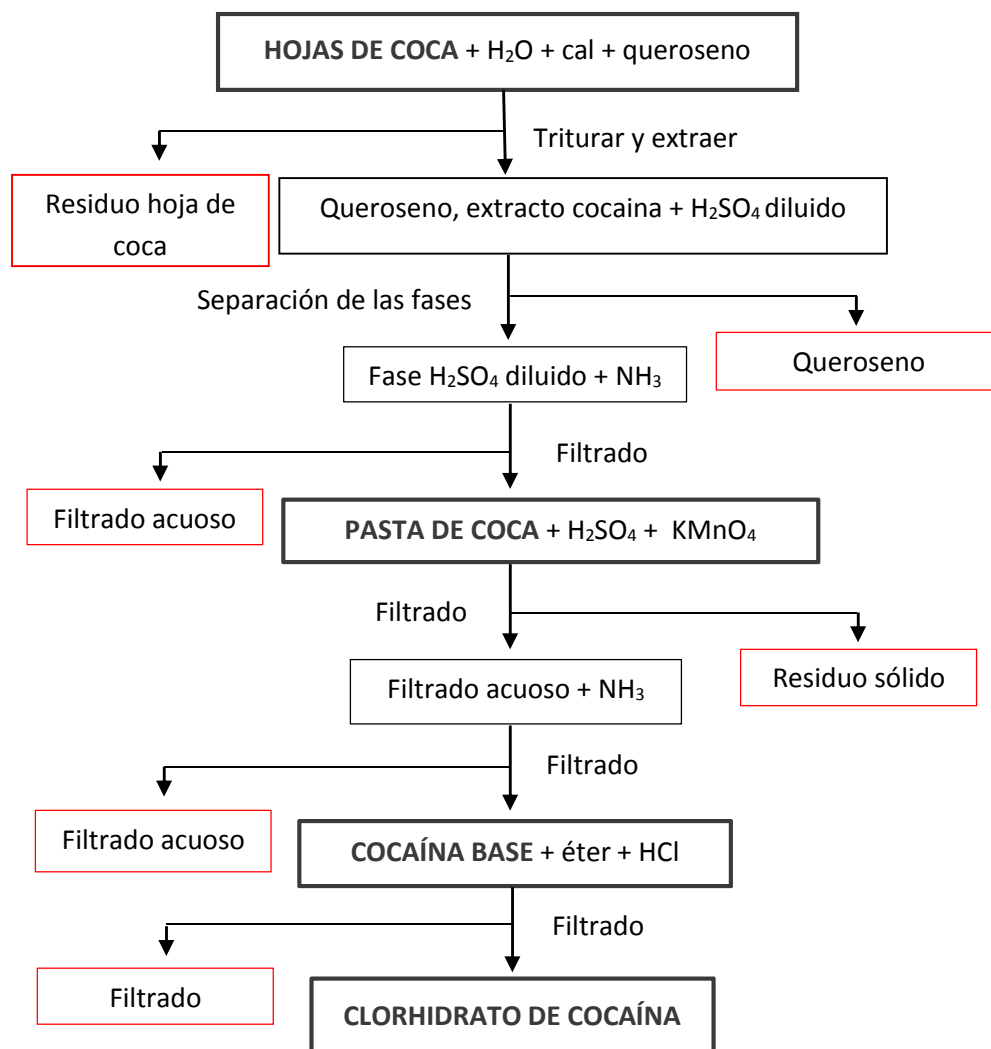
La pasta de coca se trata con ácido sulfúrico diluido y la disolución, de color marrón amarillento, se trata con permanganato potásico. El permanganato se añade lentamente hasta que la solución pasa a ser incolora. Con la adición del permanganato se oxidan los isómeros de cinamilcocaína presentes en la cocaína y otros alcaloides indeseados. Estos productos oxidados, al no ser solubles en agua, se separan de la disolución donde está la cocaína mediante filtración. La separación de estas impurezas ayuda a la cristalización del clorhidrato de cocaína en el paso final y facilita la obtención de un producto final blanco que es lo que desean los distribuidores y consumidores de cocaína. El líquido filtrado se hace alcalino con amoníaco, convirtiendo la sal de cocaína en cocaína. Con esta reacción se produce la precipitación de la cocaína base. La cocaína base se filtra, se lava con agua y se seca.



### 3) Transformación de la cocaína base en clorhidrato de cocaína

La etapa final tiene la finalidad de convertir la base de cocaína bruta en clorhidrato de cocaína. Para ello, la cocaína base se disuelve en la mínima cantidad de un solvente orgánico, por ejemplo éter dietílico. La solución se filtra para eliminar cualquier sustancia insoluble, y se añade ácido clorhídrico concentrado y acetona, lo que provoca la precipitación de clorhidrato de cocaína. A continuación, el clorhidrato de cocaína se filtra y se seca. La pureza del producto resultante suele oscilar entre 90% y 98% de clorhidrato de cocaína.

Cabe destacar que parte de los productos químicos de desecho obtenidos, se utilizan para elaborar otras drogas más baratas como el crack.



**Figura 1:** Diagrama en el que se muestra la obtención artesanal de cocaína a partir de las hojas de coca, según la UNODC

## **2.2 Planteamiento y objetivos**

Se pretende proponer otros posibles procedimientos alternativos a la determinación de drogas de uso abusivo, que lleven implícito también una metodología que permita cuantificar sus componentes activos en muestras requisadas, en presencia de otros componentes habituales en dichas muestras. Además, dado el carácter artesanal de la preparación inicial de estas sustancias, al que hay que añadir su posterior tratamiento mediante sucesivos “cortes” en el mercado interno, “menudeo”, se ha considerado de interés realizar un estudio sobre la posible presencia de metales pesados y otros elementos que pudieran estar presentes en dichas muestras.

En concordancia con lo anterior se procede al análisis de cocaína mediante: Cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Llama (GC-FID), Cromatografía Líquida de Alta Eficacia con detectores UV/Vis y de fluorescencia (HPLC-UV/Vis) (HPLC-FLD) y Espectroscopia Raman, en todos los casos dicho estudio se ha extendido a los casos en los que en las muestras pudieran estar presentes sustancias tales como, ácido acetilsalicílico, ácido salicílico, paracetamol, cafeína, procaína, éxtasis y lidocaína.

Con el fin de llevar a cabo la determinación de mercurio y otros posibles iones presentes en las mismas, se utilizaron técnicas de Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS) y Cromatografía de Intercambio Iónico (EIC).

## **2.3 Líneas de actuación y justificación**

### **2.3.1 Técnicas de determinación de cocaína**

#### **2.3.1.1 Cromatografía**

La principal técnica utilizada de forma rutinaria es la cromatografía de Gases, método oficial que a efectos de cuantificación se utiliza habitualmente en los laboratorios forenses institucionales y el que llevé a cabo durante mi estancia en los laboratorios de la Delegación del Gobierno del Área de Sanidad de la Junta de Castilla y León en Valladolid.

Es un método de separación en el que la fase móvil es un gas. La muestra, una vez preparada, se introduce en un vial para ser inyectada, en este caso la inyección se produce de manera automática mediante un sistema de inyección Split. La muestra, una vez inyectada, se vaporiza

poniéndose en contacto con el gas portador y llega a la columna produciéndose allí la separación de los analitos. Una vez los analitos separados, llegan al sistema de detección, en este caso un detector FID (Flame Ionization Detector). El detector proporciona una señal que será registrada y visualizada en el cromatograma.

La temperatura de la columna y del sistema de introducción de la muestra está controlada mediante un sistema de termostatación.

En este trabajo se plantea como alternativa la cromatografía de líquidos, debido a sus amplias posibilidades para la separación de distintos tipos de sustancias además de ser una técnica de uso extendido, muy manejable y en la que resulta fácil, también, la modificación de sus condiciones de trabajo, es decir, en el caso de la existencia de señales superpuestas, sería posible separar dichas señales mediante la utilización de un gradiente de la fase móvil.

Es una técnica de separación por elución en el que la fase móvil es un líquido. La muestra es inyectada manualmente mediante una jeringa en el portal de inyección. El portal de inyección es de tipo válvula, la muestra se introduce en el bucle mientras la fase móvil es dirigida hacia la columna. Una vez que la muestra es cargada en el bucle, se pasa al modo "inyect" y la válvula se abre permitiendo el paso de la fase móvil. La fase móvil, previamente desgasificada, es impulsada por una bomba cuaternaria, arrastrando a la muestra hasta la columna cromatográfica donde se produce la separación.

Los compuestos, salen secuencialmente de la columna y llegan al detector, el cual proporciona una señal que es registrada y visualizada en el correspondiente cromatograma.

### **2.3.1.2 Espectroscopia Raman**

La espectroscopía Raman es una técnica muy interesante, sobre todo a tener en cuenta en la caracterización inicial de la droga. Se trata de una técnica fotónica, no destructiva, que proporciona en poco tiempo información química y estructural de un gran número de compuestos permitiendo en muchos casos su rápida identificación.

La técnica se basa en la incidencia de un haz de luz monocromática, láser, sobre la muestra que se quiere investigar, sin ningún tipo especial de preparación previa.

Una gran porción de la luz dispersada tiene la misma frecuencia que el haz de luz incidente, pero una pequeña parte presenta un cambio de frecuencia, producto de la interacción de algunos fotones con la muestra.

La luz dispersada que mantiene la misma frecuencia que la luz incidente, es llamada “dispersión de Rayleigh” y no genera información. Sin embargo, la luz dispersada a frecuencias distintas, conocida como “dispersión Raman, es la que aporta datos sobre la composición química, estado físico y estructura de las moléculas estudiadas.

Existen dos tipos de dispersión Raman:

-Dispersión Raman Stokes. Es aquella en la que la luz del fotón dispersado tiene menor frecuencia que la luz incidente, es decir, la molécula de la materia estudiada ganó algo de energía. Esa energía fue perdida por el fotón y por ello la frecuencia con la que es dispersado es menor que la incidente.

-Dispersión Raman anti-Stokes. Es aquella en la que la luz del fotón dispersado tiene mayor frecuencia que la luz incidente, es decir, hubo transferencia de energía desde la molécula hasta el fotón. Esa energía ganada por el fotón implica que la frecuencia de dispersión sea mayor que la frecuencia incidente.

## **2.3.2 Determinación de metales pesados**

### **2.3.2.1 Espectroscopía de Absorción Atómica de Vapor Frío**

Dada la falta de control en los procesos de fabricación así como en los posteriores procesos de comercialización, se ha considerado interesante determinar no solamente el contenido en cocaína, sino también la presencia de algún otro elemento que pudieran estar presentes y, aunque no considerados desde un punto de vista penal, sí que pudieran presentar riesgos por su toxicidad, caso este de determinados elementos metálicos.

La espectroscopía de Absorción Atómica es una técnica instrumental basada en la atomización del analito en una matriz líquida. Es un método interesante a tener en cuenta por su exactitud en los resultados, sin embargo es una técnica destructiva.

En este caso, determinación de mercurio, la muestra en disolución se mezcla con una corriente de cloruro de estaño (II) que reduce el mercurio presente a mercurio elemental. El vapor de mercurio generado se arrastra hasta la celda de medida con la ayuda de una corriente de Argon, y allí se determina el contenido en mercurio por espectrofotometría de absorción atómica sin llama (método del vapor frío) a 254 nm. La cuantificación se efectúa frente a una línea de calibrado de concentraciones conocidas.

### **2.3.3 Determinación de otros iones**

#### **2.3.3.1 Cromatografía de Intercambio Iónico**

Como se indica en el apartado anterior, también se ha considerado conveniente el análisis de determinados iones de carácter aniónico que aunque no vinculados al procedimiento forense de control de drogas, sí que pudiera representar un riesgo para la salud.

La cromatografía de intercambio iónico es un método que permite la separación de moléculas basada en sus propiedades de carga eléctrica.

La muestra es inyectada manualmente mediante una jeringa en el portal de inyección. El portal de inyección es de tipo válvula, la muestra se introduce en el bucle mientras la fase móvil es dirigida hacia la columna. Una vez que la muestra es cargada en el bucle, se pasa al modo “inyect” y la válvula se abre permitiendo el paso de la fase móvil. La fase móvil, previamente desgasificada, es impulsada por una bomba cuaternaria, arrastrando a la muestra hasta la columna cromatográfica donde se produce la separación. En este caso, las moléculas cargadas se adhieren a la fase estacionaria de forma reversible de manera que dichas moléculas pueden ser asociadas o disociadas cambiando el ambiente iónico. La separación mediante intercambiadores iónicos se realizan, por lo general, en dos fases: en la primera, las sustancias a separar se unen al intercambiador utilizando condiciones que originan una unión fuerte y estable, a continuación, se eluye de la columna con buffers de diferente fuerza iónica, compitiendo los componentes del buffer con el material por los sitios de unión.

Los compuestos, salen secuencialmente de la columna y llegan al detector, el cual proporciona una señal que es registrada y visualizada en el correspondiente cromatograma.

### **3. EXPERIMENTACIÓN Y RESULTADOS**

---

#### **3.1 Cromatografía líquida de alta eficacia con detector UV/Vis (HPLC-UV/Vis)**

De la bibliografía consultada, se deduce que no es una técnica habitual en la determinación de cocaína, no solo desde el punto de vista de laboratorios forenses donde el método oficial, como ya se ha indicado es el de gases, sino también desde el punto de vista de publicaciones relacionadas con trabajos de investigación en este campo.

En primer lugar se realizaron patrones de cocaína de diferentes concentraciones utilizando como disolvente agua y de los adulterantes estudiados

##### **3.1.1 Preparación de la muestra de referencia de 1000 ppm**

La muestra de referencia se prepara a partir de una muestra de cocaína al 80%, proporcionada por el Área de Sanidad de la Delegación del Gobierno. Se utiliza como patrón ya que existen pocas muestras incautadas con un porcentaje tan alto de pureza y obtener patrones de pureza contrastada conlleva dificultades administrativas que nos impedía acceder a este tipo de patrones.

Se pesan  $12,50\text{mg} \pm 0,01$  de muestra, se disuelve en agua desionizada y se enrasa a 10mL.

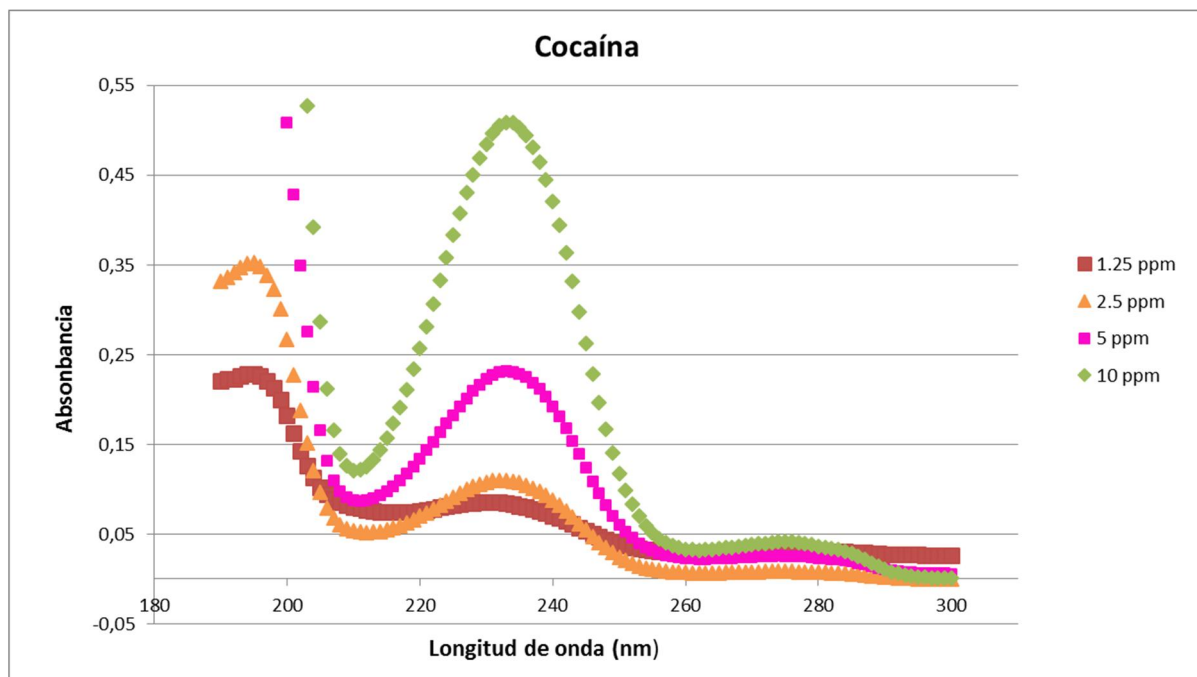
Posteriormente se toman alícuotas y se enrasan al volumen conveniente con el fin de obtener disoluciones patrón comprendidas entre 1 y 50 ppm.

##### **3.1.2 Estudio de la capacidad de absorción por espectroscopia UV/Vis**

Este estudio se realizó para obtener la longitud de onda de máxima absorción tanto de la cocaína como de las posibles sustancias que la pueden acompañar en muestras requisadas que por sus características pudieran absorber a las mismas longitudes de onda que lo hace la cocaína, fijándose así las condiciones óptimas de media por HPLC con detector UV/Vis.

Para ello se tomaron diferentes patrones de cocaína comprendidos entre 1 y 10 ppm y se realizaron barridos entre 190 y 300 nm (la cocaína no absorbe en el visible).

Los resultados se recogen en la **figura 1**



**Figura 1:** Espectroscopía UV/Vis de patrones de cocaína

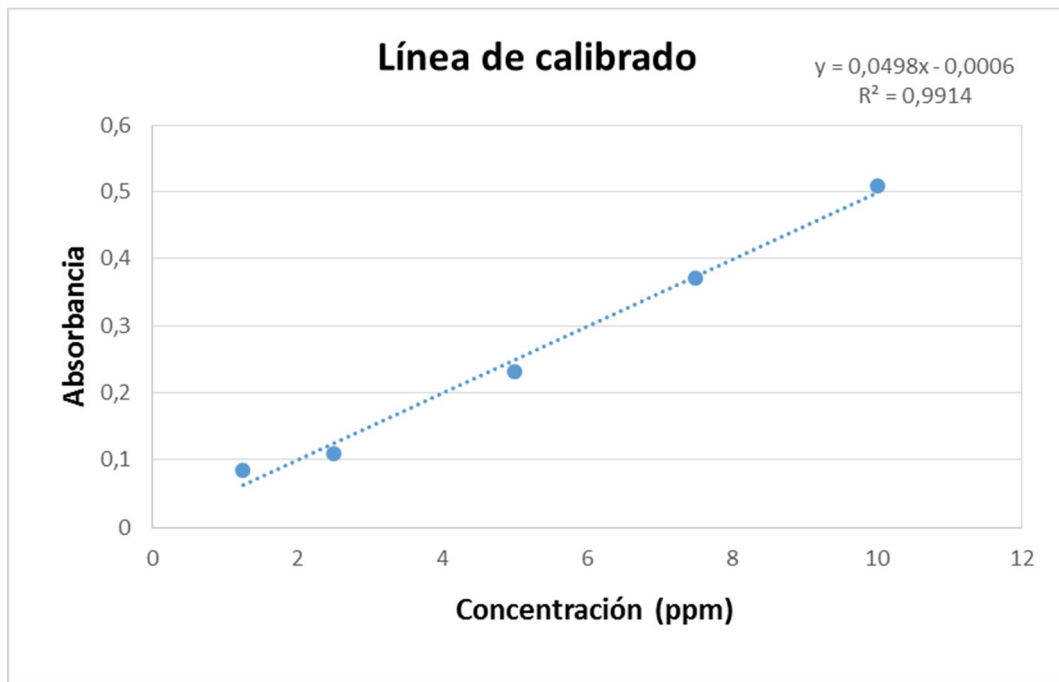
Como se puede observar, aparecen dos bandas a 195 nm y a 233 nm, y otra menos definida a 274 nm.

La banda que se obtuvo a una longitud de onda igual a 195 nm no era adecuada para trabajar ya que existen muchos compuestos orgánicos que absorben a tal longitud de onda. Por otro lado, la banda que se obtuvo a una longitud de onda igual a 274 nm se corresponde con una baja absorbancia por lo que la banda que se obtiene a 233 nm se consideró la óptima para trabajar, tanto en medida directa por absorción molecular como para inicialmente utilizarla en HPLC.

A continuación se realizó una línea de calibrado, para obtener el valor de la absortividad molar de la cocaína a esta longitud de onda, **Tabla 1, figura 2**.

**Tabla 1:** Datos de la línea de calibrado de la cocaína por espectroscopía Vis/UV

Concentración (ppm)	Absorbancia
1.25	0.084
2.5	0.110
5	0.232
7.5	0,370
10	0.509

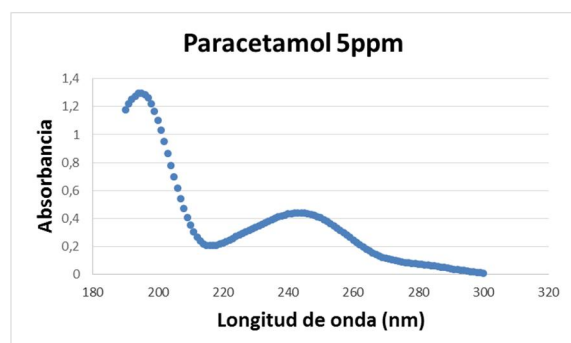
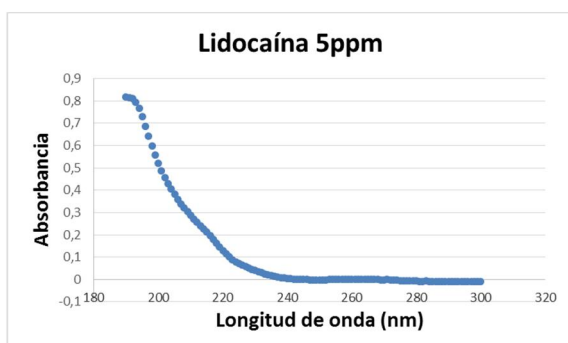


**Figura 2:** Línea de calibrado de la cocaína por espectroscopía UV/Vis

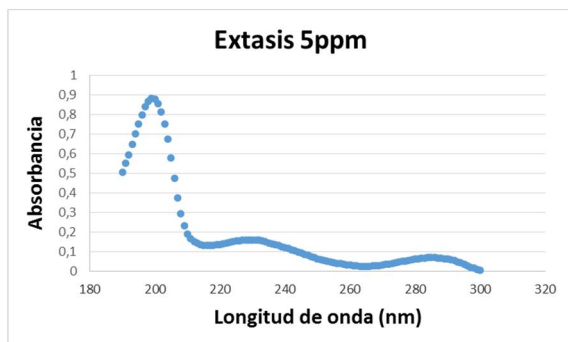
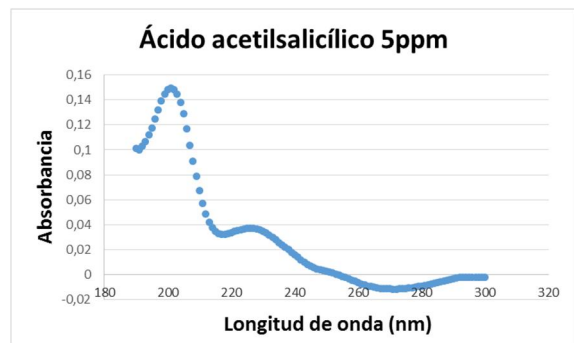
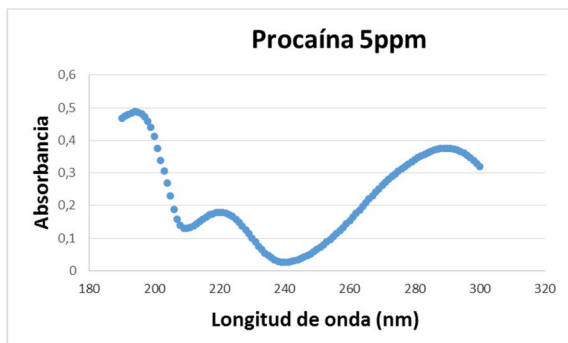
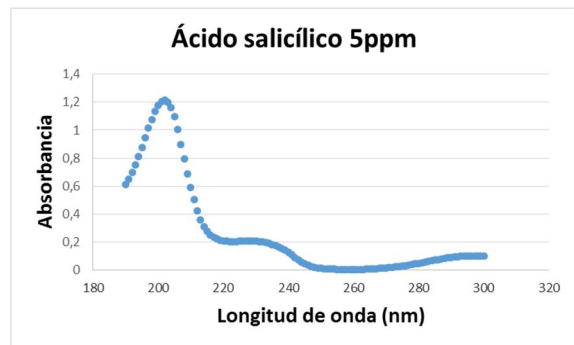
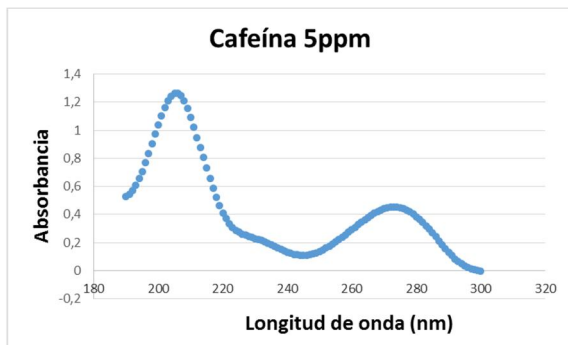
A partir de la pendiente de la correspondiente línea de calibrado se obtiene la absortividad  $a=0.0498 \text{ ppm}^{-1}\text{cm}^{-1}$  que se corresponde con una absortividad molar:  $\epsilon=1.7 \cdot 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

También se hizo el estudio de absorción de los adulterantes con los que se iba a trabajar para comprobar si éstos absorbían a la longitud de onda óptima de trabajo.

Los resultados se observan en la **figura 3**.







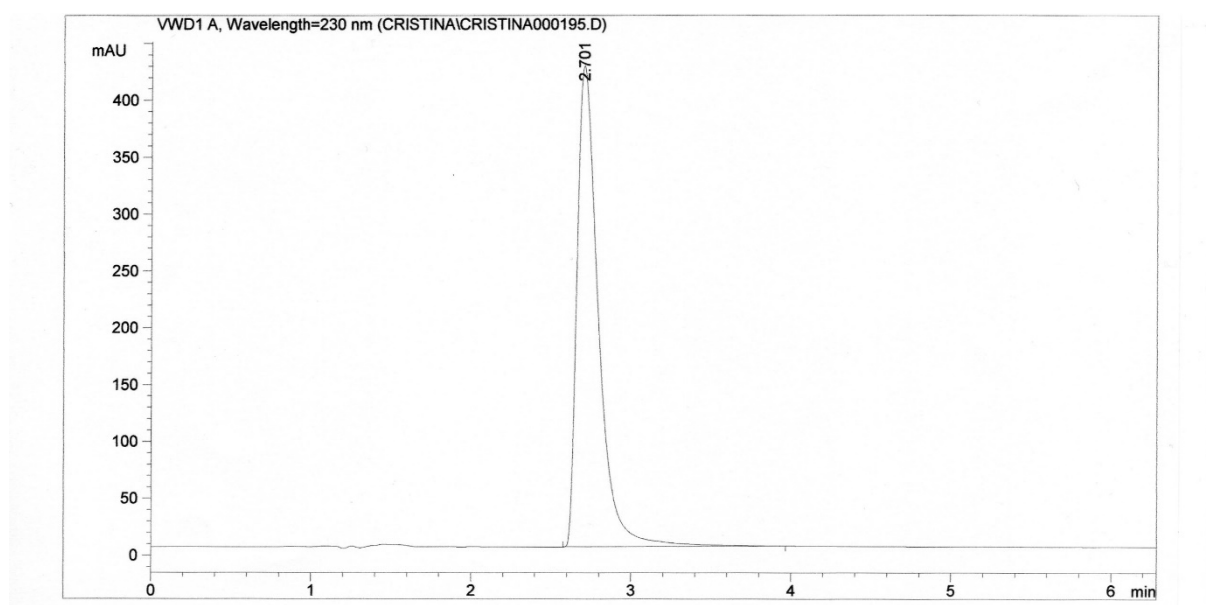
**Figura 3:** Espectroscopía UV/Vis de lidocaína, paracetamol, cafeína, ácido salicílico, procaína, ácido acetilsalicílico y éxtasis, en disolución de concentración 5ppm.

Como se observa en las figuras, todos los compuestos muestran absorbancia a una longitud de onda igual a 233nm lo cual significa que en el estudio por HPLC, con detector UV/Vis, podrían también ser identificados.

### 3.1.3 Estudio de la fase móvil

Los primeros estudios se realizaron con una fase móvil, recomendada por la UNODC, para la determinación de cocaína: Metanol: Agua: Ácido fosfórico en proporciones 15: 35: 50. De este modo, no se obtuvieron resultados que permitieran una mínima separación de todos los compuestos de este estudio.

Tras la consulta bibliográfica correspondiente sobre trabajos de investigación en este campo, se probó con una fase móvil de Agua : Metanol : Acetonitrilo : Acetato amónico 0.05M en proporciones 30 : 10 : 55 : 5 que se había utilizado en separaciones de muestras similares a las preparadas por nosotros [6] . Los resultados obtenidos, inicialmente, con respecto a la cocaína, tiempo de retención de 2.701 min, se muestran en la **figura 4**.



**Figura 4:** Cromatograma de cocaína con una fase móvil de Agua : Metanol : Acetonitrilo : Acetato amónico 0.05M (30:10:55:5)

A continuación se hizo un estudio, por separado, de cafeína, lidocaína y paracetamol en las mismas condiciones de trabajo de la cocaína. Se obtuvieron los resultados que se muestran en la **tabla 2**.

**Tabla 2:** Tiempo de retención de cafeína, lidocaína y paracetamol en régimen isocrático

Compuesto	$t_R$ (min)
Paracetamol	1.51
Cafeína	2.30
Lidocaína	4.38

Dado que la diferencia entre los tiempos de retención permitía una buena separación de estos compuestos, se procedió a realizar un patrón mixto con todos ellos y cocaína, observándose en este caso que no se producía una buena resolución del cromatograma debido a algunos solapamientos, por lo que se procedió a realizar modificaciones en la composición de la fase móvil, variando el porcentaje de acetonitrilo en relación con el agua, para comprobar si daba lugar a una total separación de las señales comprobándose que con un 15% de acetonitrilo en régimen isocrático, se producía dicha separación, sin embargo el tiempo total de análisis era muy amplio, por lo que se planteó realizar la separación en gradiente.

Las condiciones óptimas de separación para los cuatro compuestos y los correspondientes tiempos de retención se muestran a continuación en las **tablas 3** y **4**, y los resultados obtenidos en el **cromatograma 1** del Anexo A.

**Tabla 3:** Gradiente de elución (A=agua, B=metanol, C=acetonitrilo y D=acetato amónico 0,05M)

Tiempo	%A	%B	%C	%D
0:0	70	10	15	5
3:50	70	10	15	5
4:50	30	10	55	5
10:50	30	10	55	5
11:50	70	10	15	5

**Tabla 4:** Tiempo de retención de paracetamol, cafeína, cocaína y lidocaína en régimen de gradiente

Compuesto	t <sub>R</sub> (min)
Paracetamol	2.455
Cafeína	3.053
Cocaína	7.131
Lidocaína	8.698

Una vez separados estos compuestos, se empezó a trabajar con éxtasis (MDMA), ácido salicílico y ácido acetilsalicílico.

Se inyectaron por separado patrones de estos compuestos y se observó que el ácido salicílico y el acetilsalicílico salían en el punto de inflexión inicial del cromatograma, lo cual imposibilitaba su identificación. Para posponer la salida de dichos compuestos y separarlos, se hicieron diferentes modificaciones en la fase móvil del acetonitrilo, con respecto al agua. Los resultados obtenidos se muestran en las **tablas 5 y 6**, y en los **cromatogramas 3 - 7** del Anexo A.

**Tabla 5:** Tiempo de retención del ácido acetilsalicílico y ácido salicílico con una fase móvil de 15% de acetonitrilo

15% ACN	
Compuesto	t <sub>R</sub> (min)
Ácido acetilsalicílico	1.6
Ácido salicílico	2.032

El ácido acetilsalicílico seguía saliendo en la inflexión por lo que se trató de separarlo disminuyendo el porcentaje de acetonitrilo al 5%.

**Tabla 6:** Tiempo de retención del ácido acetilsalicílico y ácido salicílico con una fase móvil de 5% de acetonitrilo

5% ACN	
Compuesto	t <sub>R</sub> (min)
Ácido acetilsalicílico	2.715
Ácido salicílico	4.393

Se observa que las señales estaban separadas, sin embargo, se hizo un estudio con un 10% de ACN con el fin de mejorar la separación. Los resultados se muestran en la **tabla 7**.

**Tabla 7:** Tiempo de retención del ácido acetilsalicílico y ácido salicílico con una fase móvil de 10% de acetonitrilo

10% ACN	
Compuesto	t <sub>R</sub> (min)
Ácido acetilsalicílico	2.076
Ácido salicílico	2.858

Finalmente las señales salían perfectamente separadas en las condiciones y tiempos de retención reflejados en las **tablas 8 y 9** y **cromatogramas 8** del Anexo A.

**Tabla 8:** Gradiente de elución (B=metanol, C=acetonitrilo, D=acetato amónico, A=agua)

Tiempo	%A	%B	%C	%D
0	75	10	10	5
3:50	75	10	10	5
4:50	70	10	15	5
8:50	70	10	15	5
10:50	30	10	55	5
15:50	30	10	55	5
17:00	75	10	10	5

**Tabla 9:** Tiempo de retención de los siete compuestos en régimen de gradiente

Compuesto	t <sub>R</sub> (min)
Ácido acetilsalicílico	2.081
Ácido salicílico	2.816
Paracetamol	3.206
Cafeína	5.042
Éxtasis	8.742
Cocaína	12.474
Lidocaína	13.997

Separados los siete compuestos, se procedió a la introducción de un último adulterante, la procaína. Se estudió con diferentes porcentajes de ACN que se muestran en la **tabla 10**.

**Tabla 10:** Tiempos de retención de procaína para diferentes porcentajes de acetonitrilo

%ACN	t <sub>R</sub> (min)
55	1.914
15	5.672

Con un 55% de ACN, se solaparía con el éxtasis por lo que el gradiente se ajustó de tal manera que la procaína saliera cuando la fase móvil contuviera un 15% de ACN y el éxtasis saliera cuando la fase móvil contuviera un 55% de ACN.

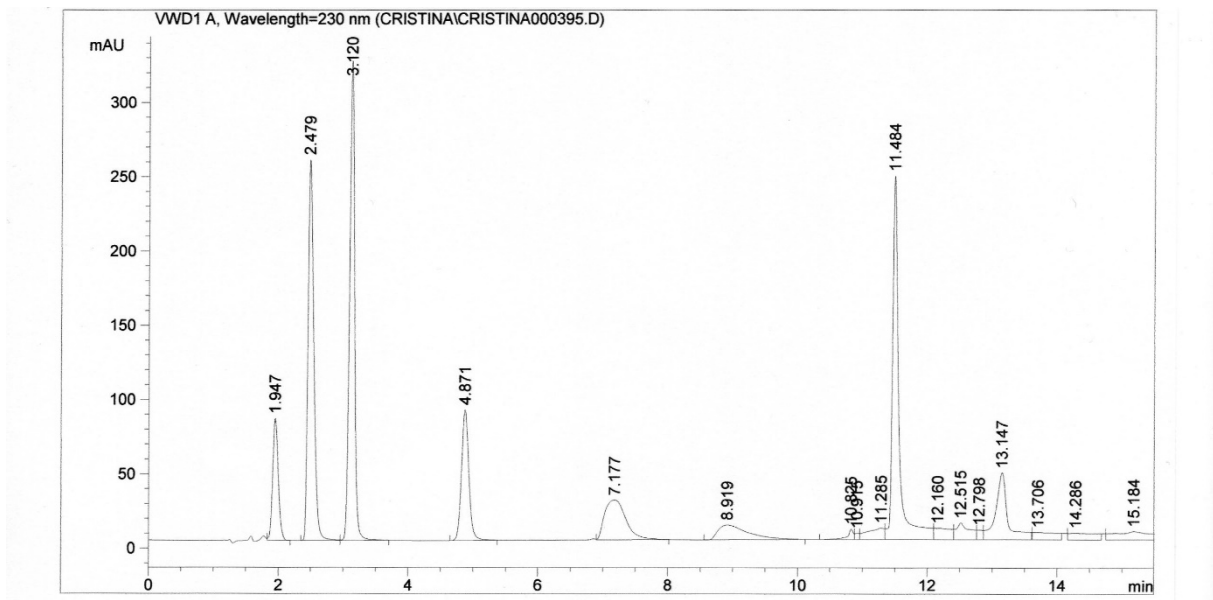
Las condiciones finales de gradiente y los tiempos de retención se observan en las **tablas 11 y 12** y los picos perfectamente separados en la **figura 5**.

**Tabla 11:** Condiciones finales de gradiente para la separación de cocaína y sus 7 adulterantes estudiados

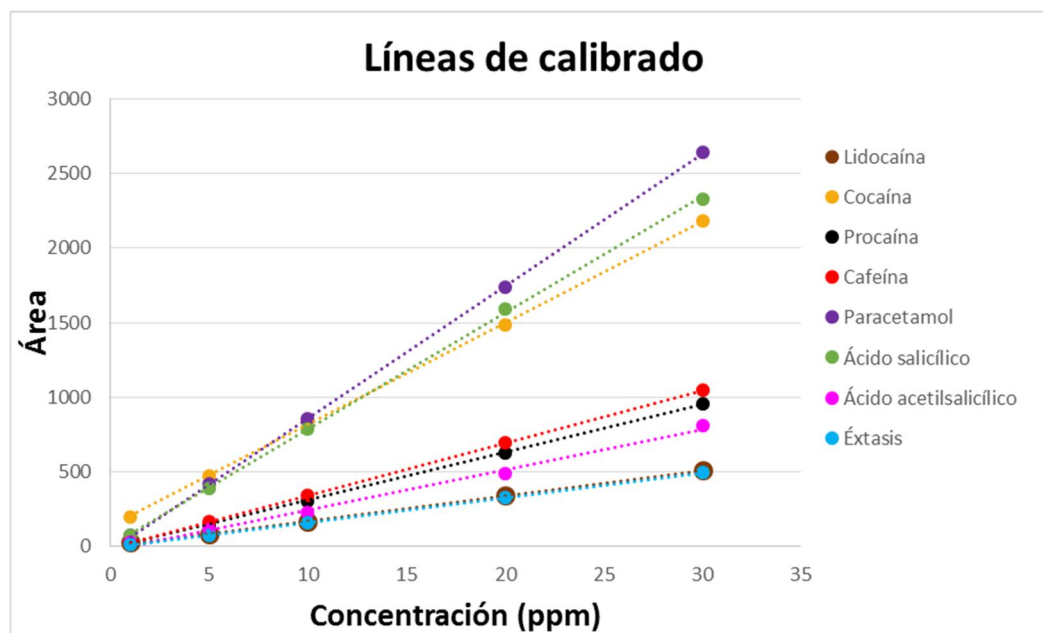
Tiempo	%A	%B	%C	%D
0:00	75	10	10	5
3:00	75	10	10	5
4:00	70	10	15	5
8:00	70	10	15	5
9:00	30	10	55	5
14:50	30	10	55	5
15:50	75	10	10	5

**Tabla 12:** Tiempo de retención de los ocho compuestos en régimen de gradiente

Compuesto	t <sub>R</sub> (min)
Ácido acetilsalicílico	1.947
Ácido salicílico	2.479
Paracetamol	3.120
Cafeína	4.871
Procaína	7.177
Éxtasis	8.919
Cocaína	11.484
Lidocaína	13.147

**Figura 5:** Cromatograma de los ocho compuestos separados con el gradiente definitivo

Una vez separados los ocho compuestos, se procedió a la realización de las líneas de calibrado con concentraciones, en todos los casos, de: 1.0; 5.0; 10.0; 20.0 y 30.0 ppm. Los resultados se muestran en las **figura 6**.



**Figura 6:** Líneas de calibrado por HPLC-UV/Vis de lidocaína, cocaína, procaína, cafeína, paracetamol, ácido salicílico, ácido acetilsalicílico y éxtasis, en concentraciones de 1.0, 5.0, 10.0, 20.0 y 30.0 ppm. Todas ellas con un coeficiente de correlación de 0.999

### 3.1.4 Análisis de muestras preparadas e incautadas

A continuación se realizó un estudio de problemas preparados en el laboratorio con diferentes concentraciones de cocaína, cafeína, lidocaína y paracetamol. Las concentraciones se muestran en la **tabla 13** y los resultados en los **cromatogramas 9-12** del Anexo A.

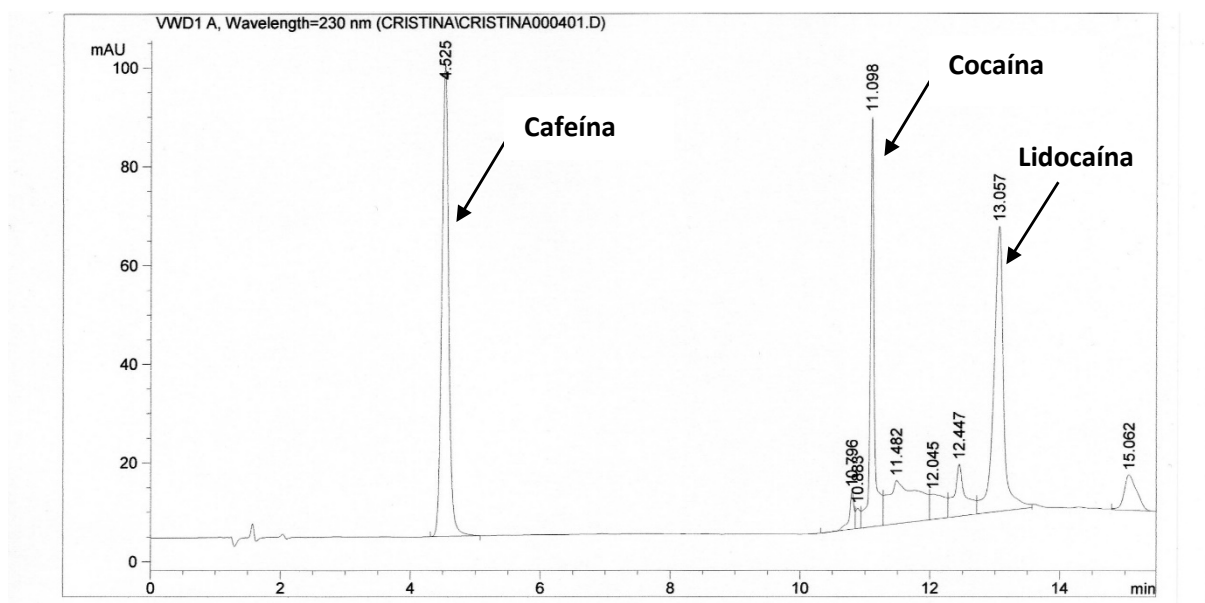
**Tabla 13:** Concentraciones de los problemas A, B, C y D

Problemas	Compuestos	Concentración (ppm)
Problema A	Paracetamol	1
	Cafeína	4
	Cocaína	5
	Lidocaína	5
Problema B	Paracetamol	5
	Cafeína	10
	Cocaína	1
	Lidocaína	5

Problemas	Compuestos	Concentración (ppm)
Problema C	Paracetamol	10
	Cafeína	10
	Cocaína	1
	Lidocaína	1
Problema D	Paracetamol	20
	Cafeína	20
	Cocaína	1
	Lidocaína	1

Como se puede observar en los citados  *cromatogramas*, independientemente de la concentración de cocaína y adulterantes, todos los compuestos son perfectamente identificados.

Finalmente se procedió al análisis de una muestra de cocaína incautada, las dificultades judiciales para obtener más muestras de este tipo nos limitaron la experimentación a este único caso. La muestra de cocaína incautada, únicamente con referencia en su envase de cocaína adulterada, fue analizada por el procedimiento propuesto, comprobándose que efectivamente se trataba de una muestra de cocaína con un porcentaje del 16%, adulterada con cafeína y lidocaína en un 31% y 26% respectivamente, el resto se supone formado por sustancias aglutinantes con baja o nula respuesta cromatográfica. Las señales se observan en el cromatograma de la **figura 7**.



**Figura 7:** Cromatograma de la muestra de cocaína incautada analizada por HPLC/UV-Vis



### 3.1.5 Equipos empleados

#### Espectrofotómetro UV-Vis

Equipo	HEWLETT PACKARD AGILENT 8453
Medio	Neutro
Cubeta	Cuarzo
Lámpara	Deuterio o Wolframio

#### -Cromatógrafo de líquidos de alta eficacia

Equipo	Agilent 1200
Columna	Col KROMAPHASE C18 5.0 150mm x 4.6mm
Fase móvil	Agua:Metanol:Acetonitrilo:Acetato amónico 0.05M pH=6.7

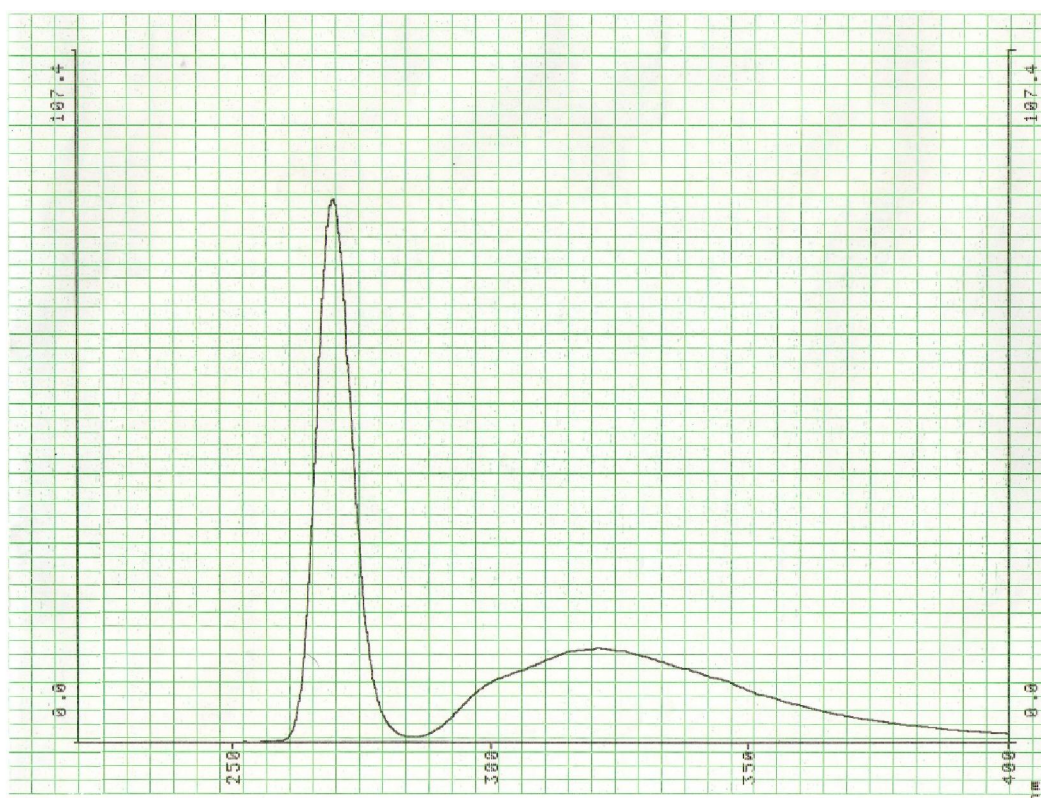
### 3.2 Cromatografía líquida de alta eficacia con detector de fluorescencia (HPLC-FLD)

Las muestras empleadas en esta técnica son las mismas que las utilizadas por HPLC-UV/Vis

#### 3.2.1 Estudio de la luminiscencia por espectrofotometría de fluorescencia

Esta técnica se utiliza para aquellas sustancias que tienen propiedades fluorescentes, con este fin se ha aplicado al estudio de la cocaína y otras sustancias posibles adulterantes. Para ello se tomaron los mismos compuestos que en el apartado anterior. En primer lugar se estudiaron las longitudes de onda de absorción y en su caso emisión de cada una de los compuestos, para posteriormente aplicarlo a la detección y cuantificación de los mismos por HPLC-FLD

En primer lugar se procedió al estudio del patrón de cocaína, para ello, se excitó la muestra a diferentes longitudes de onda, encontrándose que las condiciones óptimas de medida eran: una longitud de onda de absorción de 243 nm y de emisión de 320nm.

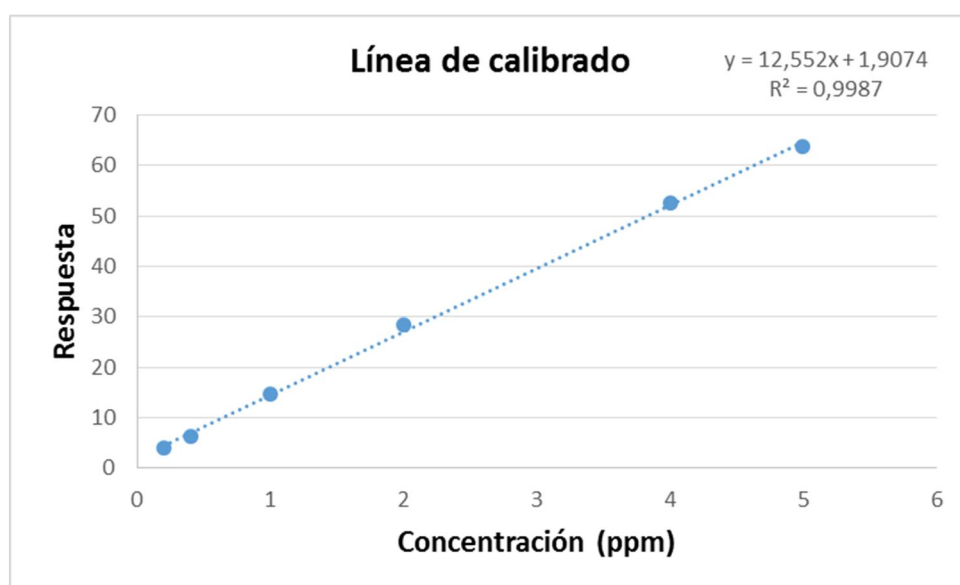


**Figura 8:** Espectro de fluorescencia del patrón de cocaína

A continuación se llevó a cabo la línea de calibrado de la cocaína, **tabla 14** y **figura 9**.

**Tabla 14:** Datos de la línea de calibrado de la cocaína por espectrofotometría de fluorescencia

Concentración (ppm)	Respuesta
0.2	3.972
0.4	6.200
1.0	14.59
2.0	28.51
4.0	52.59
5.0	63.74



**Figura 9:** Línea de calibrado de la cocaína por espectrofotometría de fluorescencia

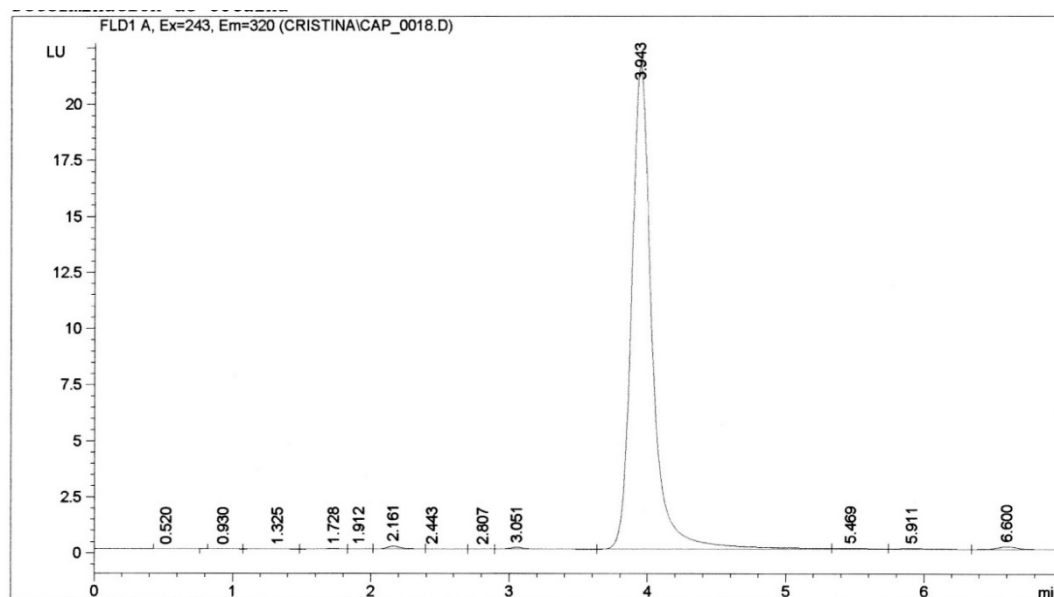
En cuanto a los adulterantes estudiados, se observó que presentaban luminiscencia la procaína, éxtasis, ácido salicílico y ácido acetil salicílico [**Anexo B**]. El resto de adulterantes no presentaban luminiscencia.

### 3.2.2 Estudio de la fase móvil

De la bibliografía consultada, se deduce que no es una técnica habitual en la determinación de cocaína.

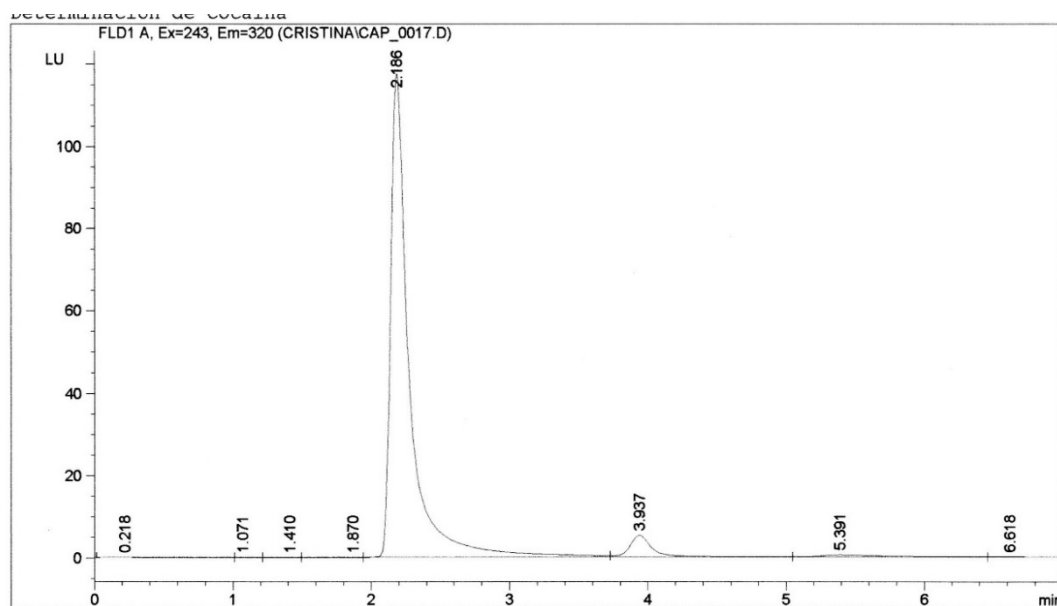
Dados los buenos resultados para la separación de los compuestos del apartado anterior, se procedió al estudio utilizando una fase móvil de componentes y composición idénticos a los empleados por HPLC-UV/Vis, es decir, Agua (A) Acetonitrilo (B): Metanol (C) y Acetato amónico 0.05M (D) en proporciones 30: 55: 10: 5. De este modo, se obtenía un pico de cocaína en la inflexión, tiempo de retención 1.383, por lo que se procedió a hacer modificaciones en la fase móvil. Resultado obtenido en el **Cromatograma 13** del *Anexo B*.

Con el estudio de las condiciones óptimas de medida a efectos de separación, se encontró que con una fase móvil de composición en % 70 (A): 15 (B): 10 (C) : 5 (D), en régimen isocrático, se obtenía una buena determinación de cocaína a un tiempo de 3.943 minutos, **figura 10**.



**Figura 10:** Cromatograma de cocaína por HPLC-FLD en régimen isocrático con una fase móvil de Agua:Acetonitrilo: Metanol:Acetato amónico 0.05M (70:15:10:5)

A continuación se estudió el éxtasis en presencia de cocaína. Se procedió a la inyección de un patrón mixto de cocaína y éxtasis en las mismas condiciones que en el caso anterior, los resultados obtenidos se observan en la **figura 11** en el que se aprecia el pico de extasis de mucha mayor intensidad a 2.186min.



**Figura 11:** Cromatograma de éxtasis y cocaína por HPLC-FLD en régimen isocrático con una fase móvil de Agua:Metanol:Acetonitrilo:Acetato amónico 0.05M (70:15:10:5)

Una vez encontradas las condiciones de trabajo en las que es posible la identificación del éxtasis y la cocaína, se procedió al estudio de la procaína. Se inyectó la procaína en las condiciones de trabajo antes descrita, observándose una señal a 3.045min, como se muestra en el **cromatograma 14**, adjunto en el *Anexo B*.

En el correspondiente cromatograma se observa que la señal del éxtasis tiene mucha más intensidad que el resto, por ello, para favorecer la visualización de los cromatogramas (integración de picos), durante este estudio se trabajó con el éxtasis en una proporción 1:5 (éxtasis: otros de compuestos). En la **tabla 17** se muestran las concentraciones de los compuestos y sus respectivos tiempos de retención.

**Tabla 17:** Concentraciones y tiempos de retención para éxtasis, cocaína y procaína en gradiente de elución

Compuesto	Concentración (ppm)	Tiempo de retención (min)
Éxtasis	1	2.186
Cocaína	5	3.943
Procaína	5	3.045

A continuación se procedió al estudio del ácido salicílico y ácido acetil salicílico. Con estos compuestos se trabajó inicialmente en las mismas condiciones, sin lograrse una buena separación de los mismos. Se obtenían respuestas a tiempos de retención 1.772 y 2.232 para el acetil salicílico y salicílico respectivamente. Se modificaron las condiciones de trabajo a fin de lograr una mejor separación, sin embargo las modificaciones que se hicieron modificaban también los tiempos de retención de la cocaína y éxtasis originando en unos casos problemas de solapamiento y en otros de excesivo tiempo, por lo tanto y dado que no son compuestos que puedan dar problemas desde un punto de vista forense y las limitaciones de experimentación, no se procedió a realizar un estudio más amplio para su separación, logrando por lo tanto una buena identificación de cocaína, éxtasis y procaina y una señal de solapamiento para el acetil salicílico y salicílico.

Es importante destacar la alta respuesta que presenta el éxtasis en comparación con el resto de compuestos. Esto, a veces implica, en los procesos de integración en el correspondiente cromatograma, la no consideración, por el software, de estos picos dada su baja intensidad cuando el éxtasis está presente en la muestra en una alta concentración, por lo cual se recomienda realizar un “zoom” en el correspondiente intervalo de tiempos de respuesta de los demás componentes.

### 3.2.3 Equipos empleados

#### -Espectrofotómetro de fluorescencia

Equipo	HITACHI F-3000
Medio	Neutro
Cubeta	Cuarzo
Lámpara	Xenón

#### -Cromatógrafo de líquidos de alta eficacia

Equipo	Agilent 1200
Columna	Col KROMAPHASE C18 5.0 150mm x 4.6mm
Fase móvil	Agua:Metanol:Acetonitrilo:Acetato amónico 0.05M pH=6.7

### 3.3 Cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID)

#### 3.3.1 Preparación de la muestra de cocaína 1000 ppm

Al igual que los estudio por HPLC, la muestra de referencia se prepara a partir de una muestra de cocaína al 80% proporcionada por el Área de Sanidad de la Delegación del Gobierno.

Se pesan  $12,50\text{mg} \pm 0,01$  de muestra, se disuelve en etanol y se enrasa a 10mL.

Posteriormente se toman alícuotas y se enrasan al volumen conveniente con el fin de obtener disoluciones patrón comprendidas entre 10 y 100 ppm.

#### 3.3.2 Estudio de las condiciones de trabajo

Según la bibliografía consultada, la cromatografía de gases es la técnica utiliza por excelencia para el análisis cualitativo y cuantitativo de la cocaína.

Con el fin de obtener las condiciones idóneas de medida para obtener un cromatograma en el que se pudieran identificar todos los componentes, se procedió a la inyección de una muestra patrón de cocaína, 1000 ppm, inicialmente sin rampa de temperatura. Se hicieron mediciones consecutivas con el fin de observar la repetitividad de la técnica. Se observó que el pico era repetitivo pero en un amplio intervalo de tiempo de salida, eso significaba que estaba entrando a la columna una concentración saturada de analito, por tanto se diluyó la muestra y se empezó a inyectar concentraciones de 100 ppm ya que el Split no se podía hacer mayor. En estas condiciones, la cocaína salía a un tiempo de retención de 5.633 min. A continuación se procedió a trabajar con rampa de temperatura, siguiendo condiciones de trabajo similares a las utilizadas en la Delegación del Gobierno y a las recomendadas por la UNODC. **Tabla 18.**

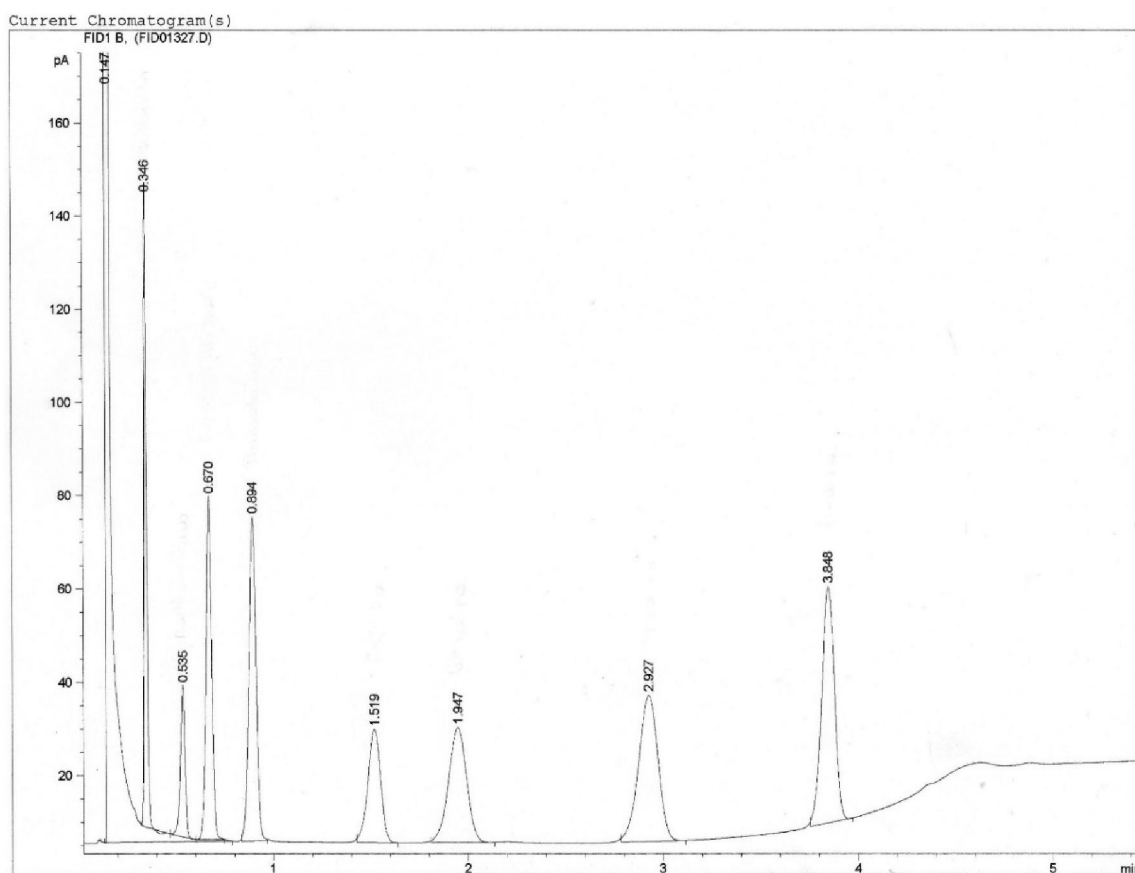
**Tabla 18:** Condiciones de trabajo con rampa de temperatura

<b>Portal de inyección</b>	Temperatura del inyector	290°C
	Split del inyector	9:1
	Flujo del Split	178mL/min
	Volumen de inyección	0.2 µL
<b>Horno</b>	Temperatura inicial	200°C durante 2.5min
	Temperatura final	280°C durante 1min
	Rampa de temperatura	40°C/min durante 2min
	Duración del ensayo	5.5 min
<b>Detector</b>	Temperatura del horno	290°C

A continuación se inyectaron, en las citadas condiciones, cada uno de los compuestos por separado obteniéndose sus cromatogramas y correspondientes tiempos de retención.

**Cromatogramas 15 - 22**, en el Anexo C.

Una vez comprobado que los compuestos sometidos a estudio tenían diferente tiempo de retención, se procedió a la inyección de patrones mixtos. Se observó que los picos salían perfectamente separados, **figura 12**, a los tiempos de retención que muestra la **tabla 19**.

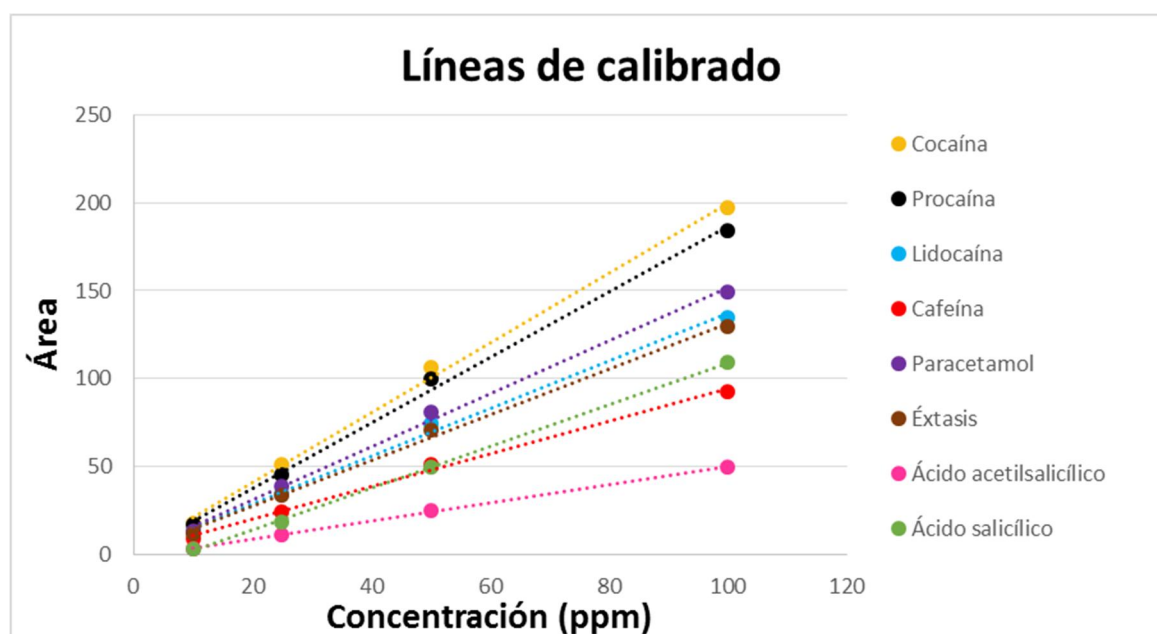
**Figura 12:** Cromatograma de los ocho compuestos analizados por CG-FID



**Tabla 19:** Tiempo de retención de los ocho compuestos analizados por CG-FID

Compuesto	Tiempo de retención (min)
Ácido salicílico	0.3420
Ácido acetil salicílico	0.5281
Éxtasis	0.6613
Paracetamol	0.8822
Cafeína	1.4985
Lidocaína	1.9203
Procaína	2.8946
Cocaína	3.8386

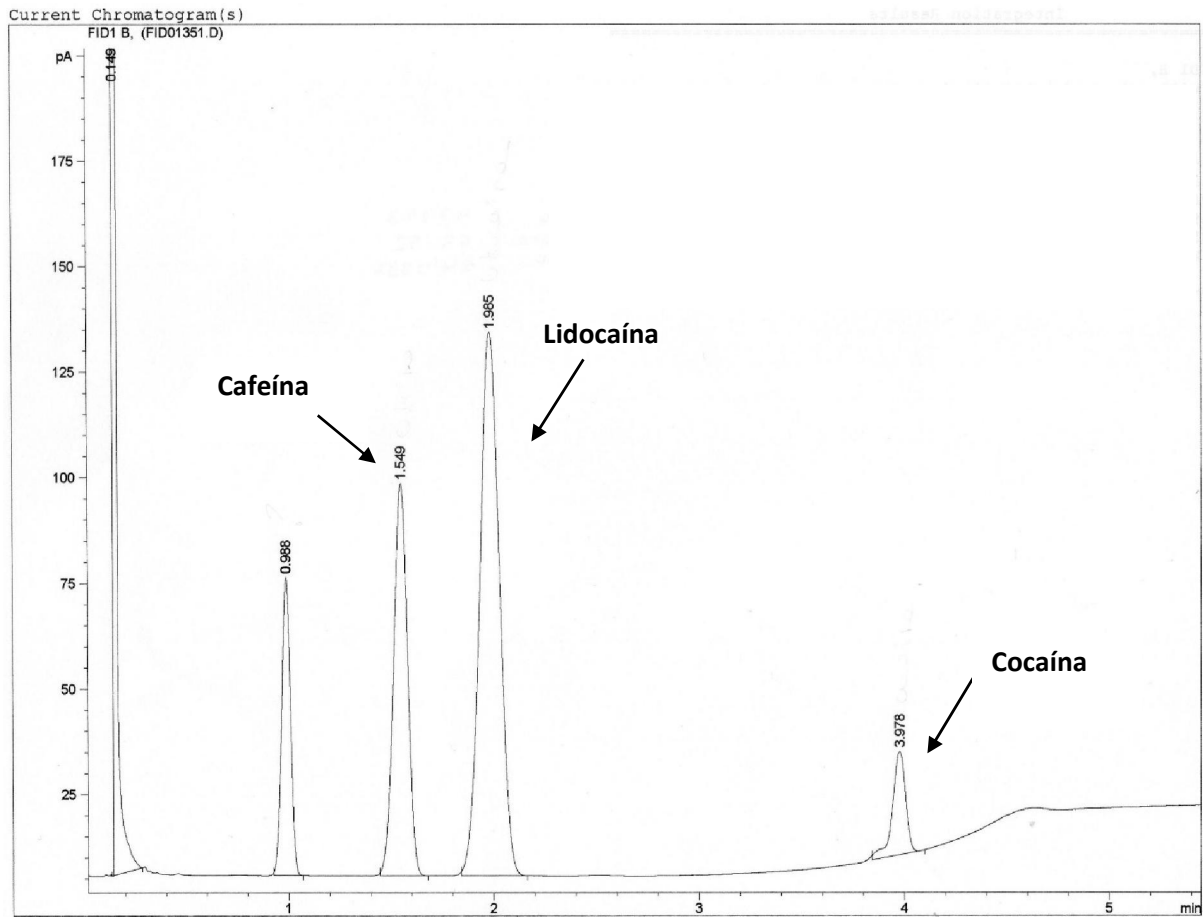
A continuación se procedió a la realización de las respectivas líneas de calibrado. **Figura 13.**



**Figura 13:** Líneas de calibrado de lidocaína, paracetamol, cafeína, ácido salicílico, procaína, ácido acetilsalicílico y éxtasis, en concentraciones de 10, 25, 50 y 100 ppm. Todas ellas con un coeficiente de correlación de 0.999

### 3.3.3 Análisis de muestras incautadas

Finalmente se procedió al análisis de una muestra de cocaína incautada. Según el cromatograma de la **figura 14**, se comprobó que la citada muestra de cocaína estaba adulterada con cafeína y lidocaína, obteniéndose los mismos resultados que por la técnica de HPLC-UV/Vis. Además se observa una nueva señal que podría provenir de otros compuestos que no daban respuesta por HPLC-UV/Vis.



**Figura 14:** Cromatograma de la muestra de cocaína incautada analizada por CG-FID

### 3.3.4 Equipos empleados

-Cromatógrafo de gases

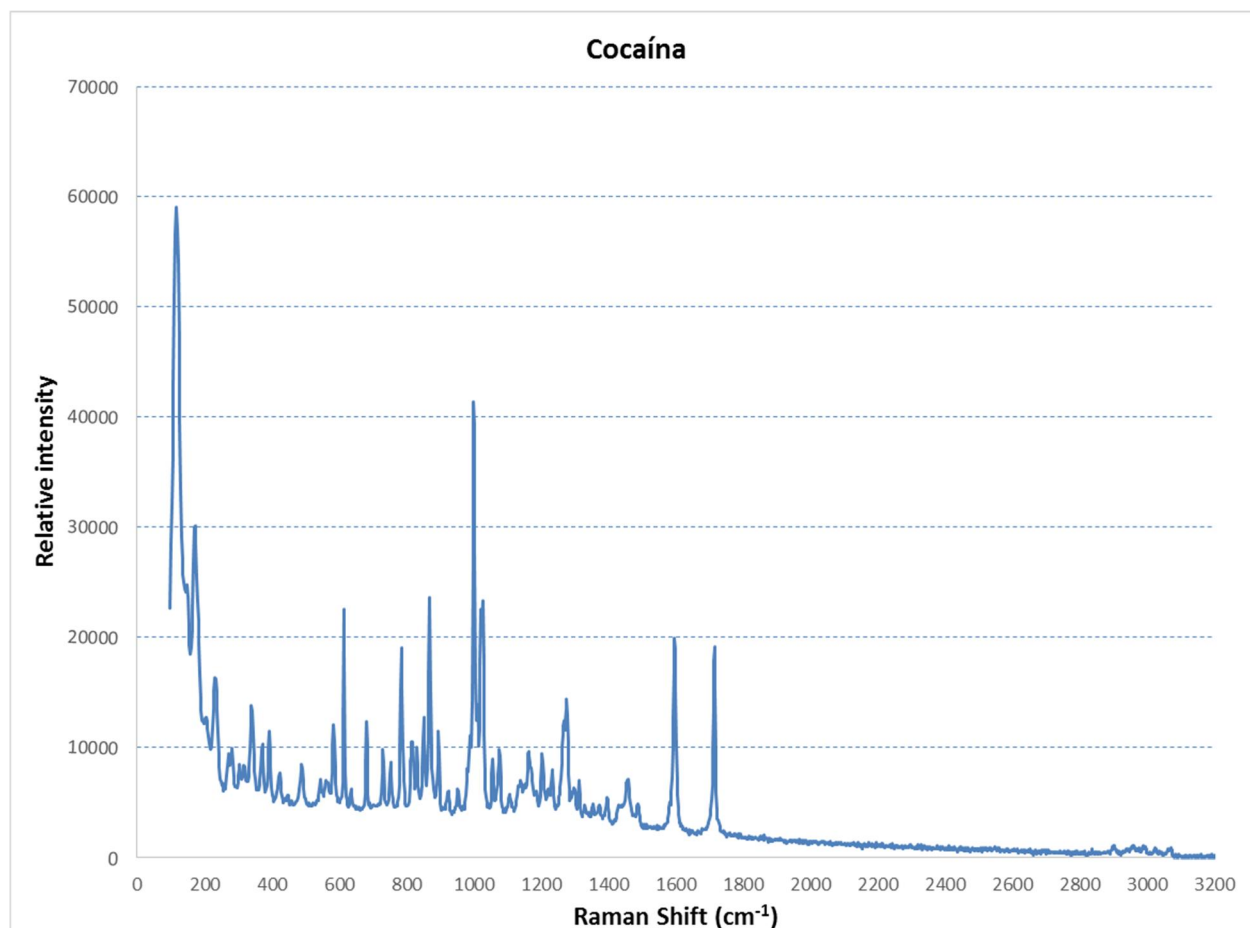
Equipo	Agilent Technologies 6890N
Columna	GC Capillary Column BPx1 6m x 0.53 mm 2.650m
Gas portador	Nitrógeno

### 3.4 Espectroscopía Raman

#### 3.4.1 Determinación de cocaína y adulterantes estudiados

Se realiza la calibración del equipo con silicio cristalino para comprobar que la banda más intensa,  $520\text{ cm}^{-1}$ , se corresponde con la característica de este patrón.

Posteriormente se procede al análisis de la muestra patrón de cocaína. Se toman un 10 mg de muestra patrón, triturados previamente en un mortero de ágata, y se llevan a una placa metálica de aluminio donde se deposita en una de las cavidades de la misma procediéndose a su medida por Raman a un longitud de onda de excitación de  $784.92\text{ nm}$ . Los resultados obtenidos se observan en la **figura 15**.



**Figura 15:** Espectro de cocaína obtenido por Raman

Como se puede observar en la anterior figura, las bandas más características de la cocaína son las siguientes. **Tabla 20**.

**Tabla 20:** Bandas más características de la cocaína por Raman

Desplazamiento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensidad Relativa
118	58926
999	41430
1598	19971
1714	19180

A continuación se procedió al estudio de la cafeína, paracetamol, ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, procaína, éxtasis y lidocaína. Los resultados obtenidos se encuentran en el **[Anexo D]**.

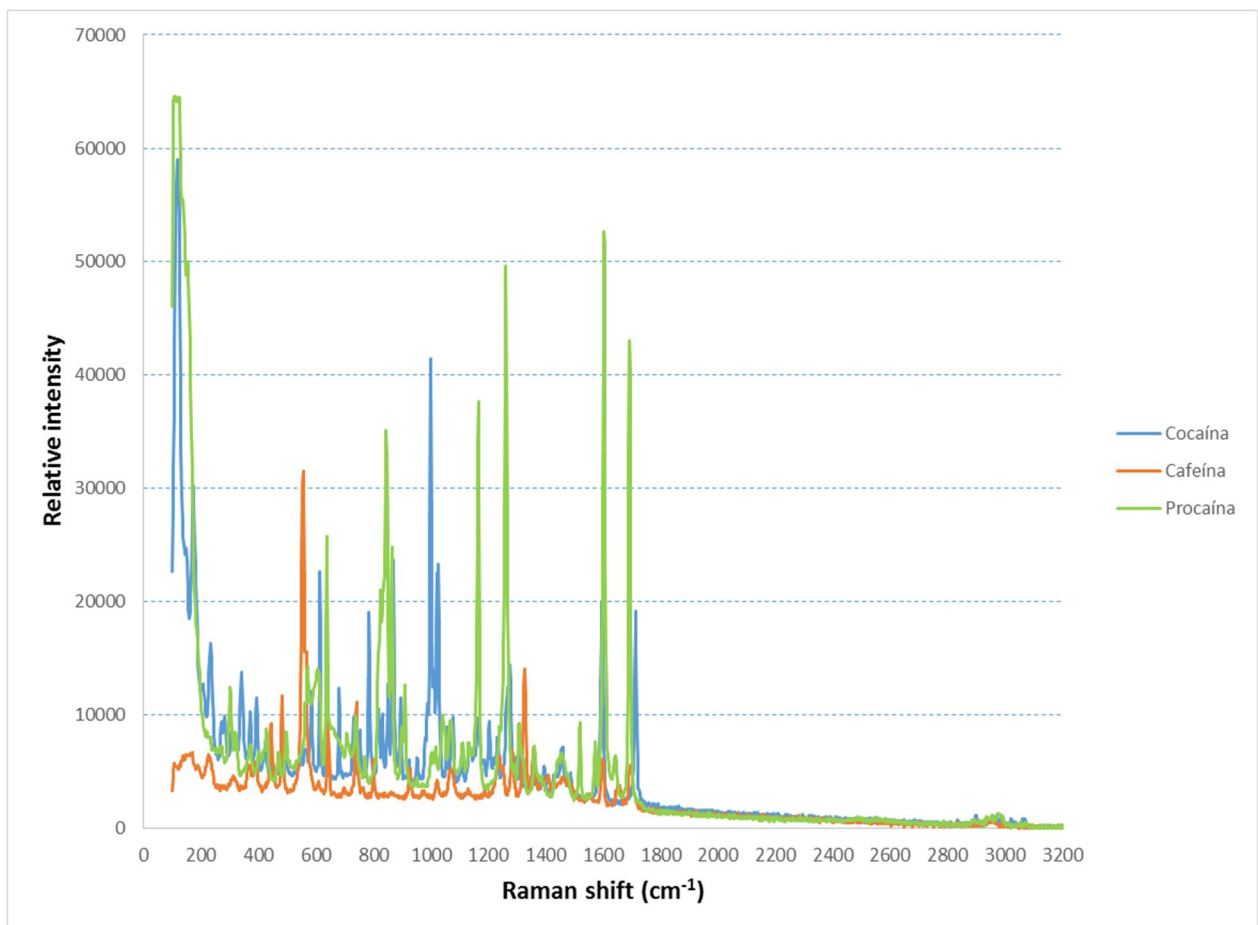
Las bandas más características de cada uno de los compuestos se pueden observar en la **tabla 21**.

**Tabla 21:** Bandas características de los adulterantes estudiados

Compuesto	Desplazamiento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensidad Relativa
Cafeína	555	31514
	1601	5698
	1695	5545
Paracetamol	858	35594
Ácido Salicílico	772	64560
	1635	24057
Ácido Acetilsalicílico	173	64251
	1605	50135
Procaína	116	64122
	1166	37599
	1261	49365
	1603	52605
	1692	42981

Compuesto	Desplazamiento Raman ( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensidad Relativa
Éxtasis	529	54699
	608	53053
	715	51269
	770	49118
	808	52577
Lidocaína	1092	63453
	1274	53485
	1386	41781
	1591	31109

Como se puede observar en los espectros, los compuestos que podrían mostrar alguna interferencia en la identificación de cocaína son la cafeína y la procaína. En la **figura 16** se muestra la superposición de sus respectivos espectros.



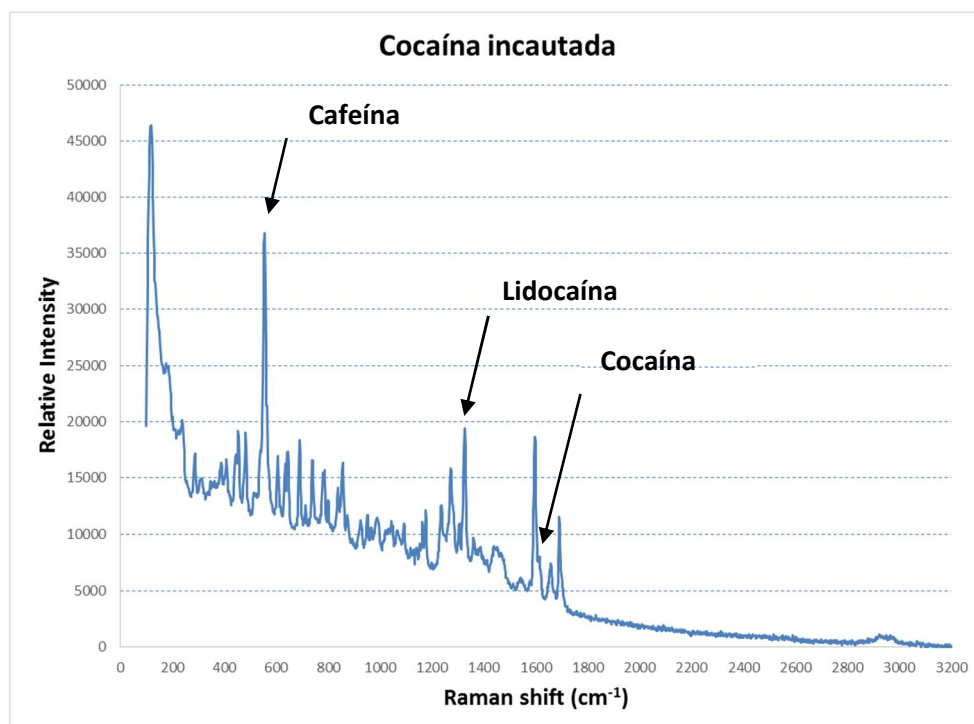
**Figura 16:** Superposición de los espectros de la cocaína, cafeína y procaína.

Observando la superposición de espectros, las bandas más características de la cocaína, a  $1598$  y  $1714$   $\text{cm}^{-1}$ , se encuentran solapadas por lo que no sería posible la identificación de cocaína en presencia de dichos “adulterantes”. Sin embargo, al hacer un estudio más profundo del resto de bandas características de la cocaína, se observa que la banda a  $999$   $\text{cm}^{-1}$  no se encuentra solapada con ninguno de los compuestos estudiados, por tanto se podría diferenciar unos compuestos de otros, pero en un análisis forense de cocaína no se garantizaría una fiabilidad del 100%.

Por tanto, esta técnica, aunque con bandas características y bien definidas para la cocaína, se debe considerar como una técnica recomendable por su rapidez, portabilidad y su carácter no destructivo, para hacer medidas sobre todo en zonas de incautación como por ejemplo en aduanas.

### 3.4.2 Determinación de cocaína en una muestra incautada

Finalmente se procedió al estudio de una muestra de cocaína incautada. Su correspondiente espectro se comparó con los de los patrones y se observó, que al igual que en los anteriores estudios, la muestra de cocaína estaba adulterada con cafeína y lidocaína. **Figura 17**.



**Figura 17:** Espectro de la muestra de cocaína incautada obtenido por Raman

La comparación de espectros se encuentra en el **anexo D**.

### **3.4.3 Equipos empleados**

#### **-Equipo RAMAN**

i-Raman B&W TEK modelo BW S415-785

## **3.5 Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS)**

Se considera interesante el estudio del mercurio mediante esta técnica debido a los problemas de toxicidad de dicho elemento y que, como ya se ha indicado, dado el poco control en la obtención artesanal de la cocaína, pudiera estar presente en muestras como algún tipo de compuesto orgánico o inorgánico del mercurio.

### **3.5.1 Preparación de la muestra**

Se pesa la cantidad necesaria de muestra para preparar una disolución de 25 ml de una concentración de 0.5 ppm en cocaína, para ello, se añaden 2,5 ml de disolución patrón de cocaína de 5ppm, 2.5 mL de HNO<sub>3</sub> al 65% y 2.5mL de HCl al 37% y se enrasa con agua desionizada hasta 25 ml

### **3.5.2 Medición de la muestra incautada**

Una vez preparada la muestra, se procede a su medición a la longitud de onda característica del Hg (254 nm), tres veces durante 15 segundos. Se obtiene un resultado de 1.06 ppm, cantidad relativamente grande hablando de Hg en una muestra.

### **3.5.3 Identificación de equipos**

#### **-Equipo de absorción atómica**

Agilent Technologies VGA77 Vapor Generation Accessory

Atomic Absorption Spectrometer AA140

### 3.6 Cromatografía de Intercambio Iónico (EIC)

Los aniones estudiados en este trabajo fueron el Sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), Cloruro ( $\text{Cl}^-$ ), Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), Bromuro ( $\text{Br}^-$ ), Fluoruro ( $\text{F}^-$ ) y Nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ).

#### 3.6.1 Preparación de la línea de calibrado

En primer lugar se inyectaron los patrones de dichos aniones por separado, obteniendo los tiempos de retención que se muestran en la **tabla 22**.

**Tabla 22:** Tiempo de retención de los aniones por separado

Aniones	Tiempo de retención (min)
$\text{F}^-$	3.49
$\text{Cl}^-$	4.80
$\text{NO}_2^-$	5.58
$\text{Br}^-$	6.71
$\text{NO}_3^-$	7.51
$\text{SO}_4^{2-}$	12.75

Como se puede observar en la anterior tabla, cada anión sale a un tiempo de retención por lo que no habrá interferencias a la hora de sus análisis.

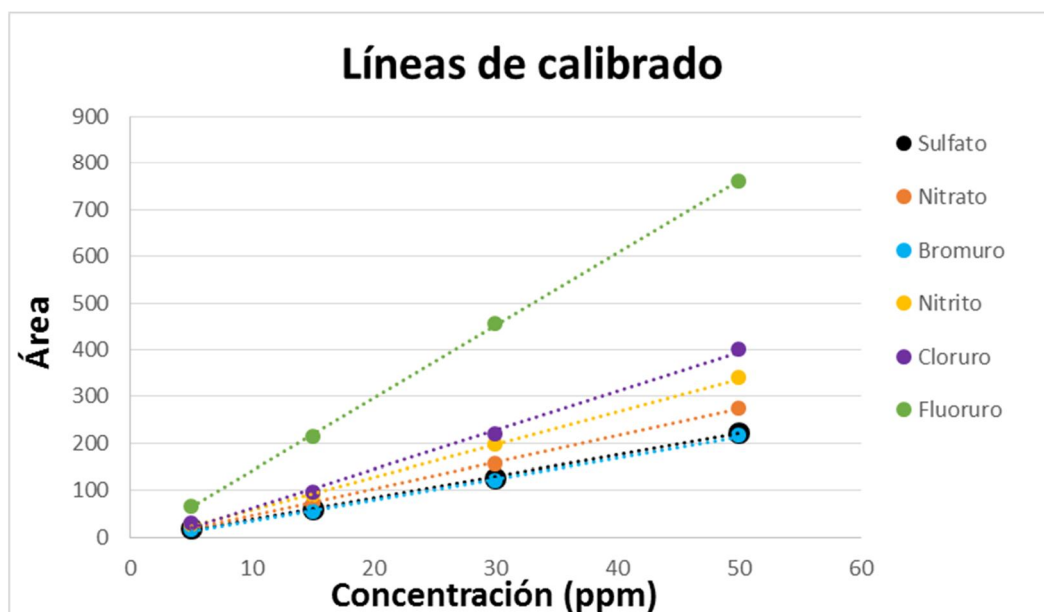
A continuación, se procedió a la inyección de patrones mixtos de concentración 5ppm, 15ppm, 30ppm y 50ppm para poder realizar la posterior línea de calibrado. **Tabla 23**.



**Tabla 23:** Tiempo de retención de los aniones en el patrón mixto

Aniones	Tiempo de retención (min)
F <sup>-</sup>	3.42
Cl <sup>-</sup>	4.76
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	5.63
Br <sup>-</sup>	6.78
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7.66
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	12.83

Como se puede observar en las tablas, los aniones salen a los mismos tiempos de retención, por lo que se procedió a la creación de las respectivas líneas de calibrado. **Figuras 18.**

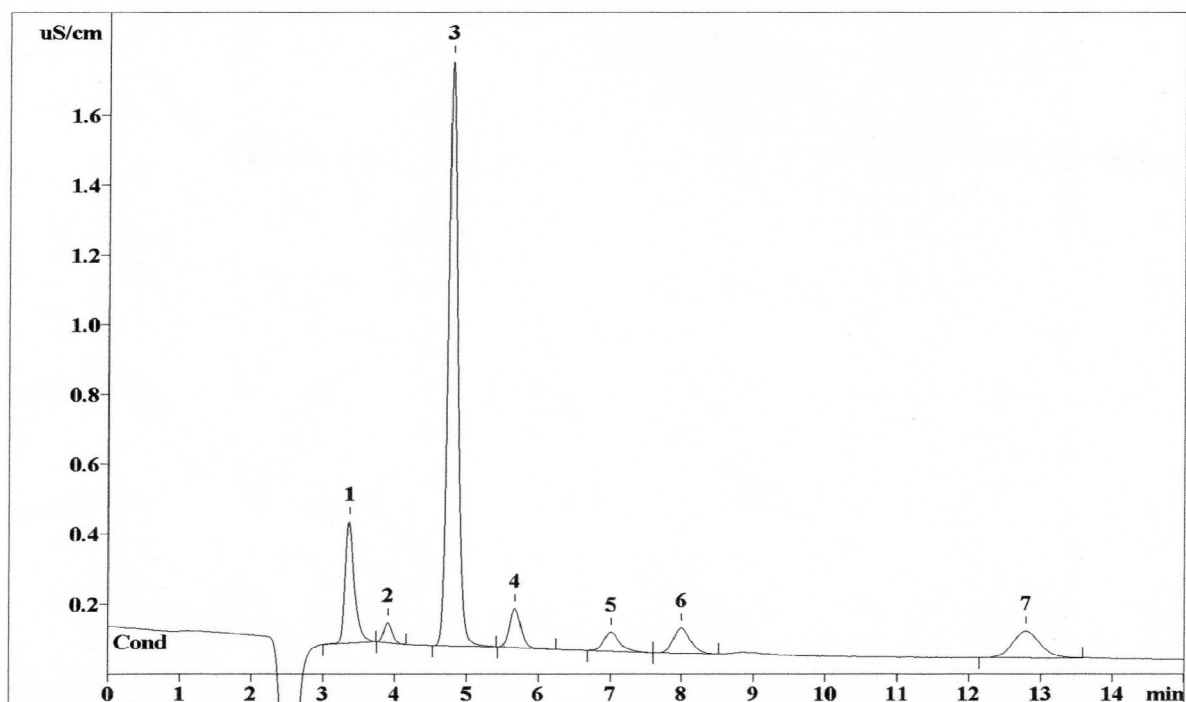


**Figura 18:** Línea de calibrado por cromatografía de Intercambio Iónico de fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato y sulfato. Todas ellas con un coeficiente de correlación de 0.999

### 3.6.2 Análisis de aniones

#### Patrón 80% cocaína

En primer lugar se llevó a cabo el análisis de una disolución de 10 ppm de la muestra de cocaína del 80% patrón de cocaína. Según el cromatograma, en dicha muestra aparecen los aniones estudiados. Los resultados obtenidos se muestran en la **figura 19** y **tabla 24**.



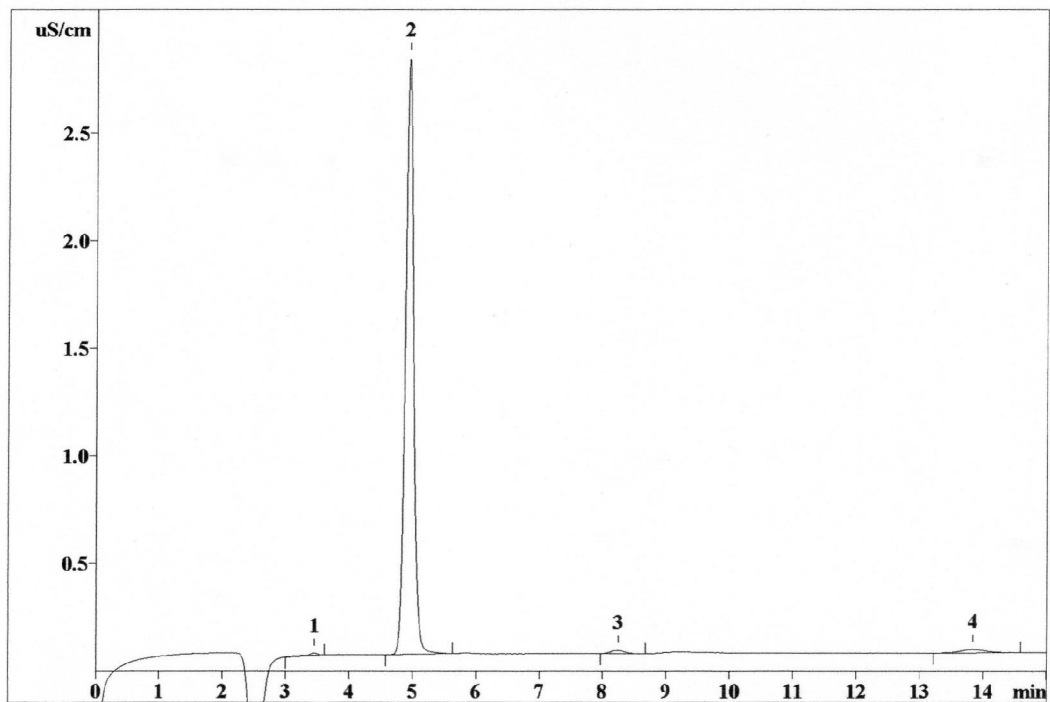
**Figura 19:** Cromatograma de cocaína obtenido por cromatografía de intercambio iónico

**Tabla 24:** Concentraciones de los aniones en el patrón de cocaína

Anión	Concentración (ppm)
F <sup>-</sup> (1)	1.03
Cl <sup>-</sup> (3)	4.47
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (4)	1.71
Br <sup>-</sup> (5)	2.15
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (6)	2.00
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (7)	1.71

Patrón extasis

A continuación se llevó a cabo el análisis de la muestra utilizada como patrón de éxtasis. Según el cromatograma, en la muestra se encuentra tan solo cuatro de los aniones estudiados. Los resultados obtenidos se muestran en la **figura 20** y **tabla 25**.



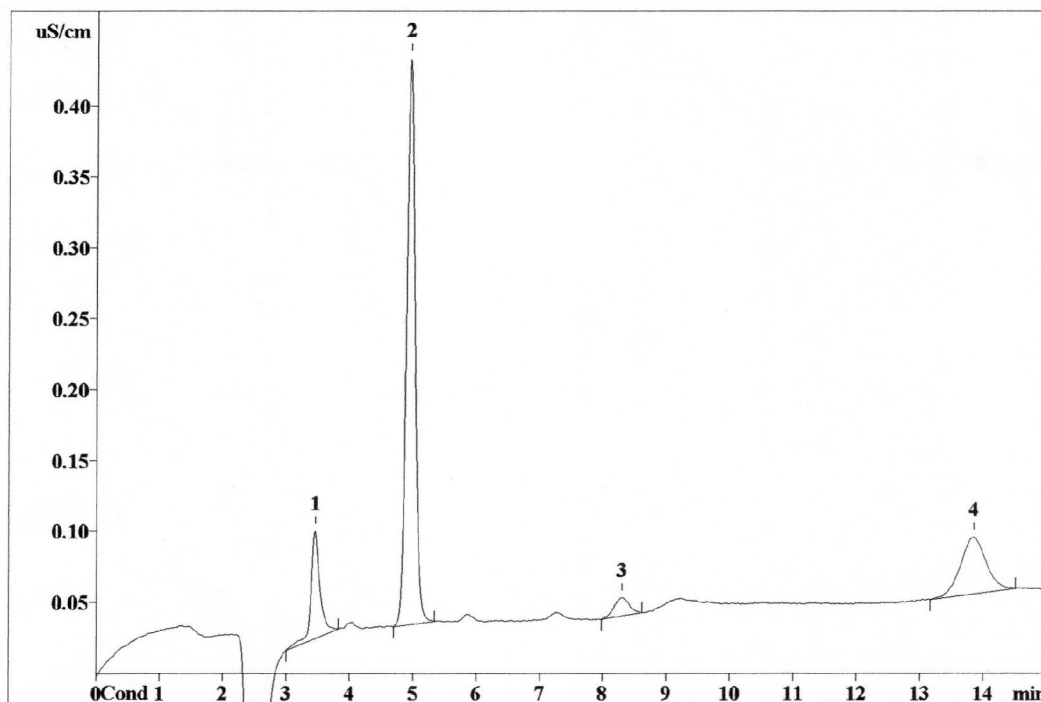
**Figura 20:** Cromatograma del patrón de éxtasis obtenido por cromatografía de intercambio iónico

**Tabla 25:** Concentraciones de los aniones en el patrón de éxtasis

Anión	Concentración (ppm)
F <sup>-</sup> (1)	0.84
Cl <sup>-</sup> (2)	5.68
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (3)	1.84
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (4)	1.37

Muestra incautada

Finalmente se llevó a cabo el análisis de la muestra de cocaína incautada. Según el cromatograma, en la muestra se encuentra tan solo cuatro de los aniones estudiados. Los resultados obtenidos se muestran en la **figura 21** y **tabla 26**.



**Figura 21:** Cromatograma de la muestra de cocaína incautada obtenido por cromatografía de intercambio iónico

**Tabla 26:** Concentraciones de los aniones en muestra de cocaína incautada

Anión	Concentración (ppm)
F <sup>-</sup> (1)	0.91
Cl <sup>-</sup> (2)	3.12
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (3)	1.90
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (4)	1.53

### 3.6.3 Identificación de equipos

#### -Cromatógrafo de Intercambio Iónico

Equipo	Metrosep Basic 107
Columna	Columna Metrosep A Supp 250 / 4.0 mm
Fase móvil	1.7 mM NaHCO <sub>3</sub> y 1.8 mM Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>

## 4 CONCLUSIONES

---

### a) Determinación de cocaína

- Se ha llevado a cabo un estudio comparativo de métodos para la determinación de cocaína en presencia de distintos compuestos, habitualmente presentes en muestras requisadas, como: ácido acetilsalicílico, ácido salicílico, paracetamol, cafeína, procaína, éxtasis y lidocaína. Las técnicas analíticas que se han empleado son las siguientes:
  - Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-Vis/UV), (HPLC-FLD)
  - Cromatografía de gases con detector FID (CG-FID)
  - Espectroscopía Raman
- De los análisis realizados con distintas muestras preparadas, se puede concluir que la técnica GC-FID es la más idónea, tiempo de análisis más corto y mejor resolución de picos, sin embargo, el procedimiento que se propone por HPLC-UV/Vis proporciona resultados comparables a la anterior.
- Se sugiere el procedimiento Raman para un primer análisis "in situ" ya que es una técnica rápida y de gran portabilidad, sin embargo no proporciona una información cuantitativa comparable a las técnicas anteriores.

### b) Determinación de iones de carácter aniónico

- Se ha llevado a cabo un estudio de determinados iones que previsiblemente podrían estar presentes en la droga y pudieran ocasionar un daño en la salud. La técnica empleada es:
  - Cromatografía de Intercambio Iónico
- Se ha realizado el análisis de una muestra de cocaína incautada en la que se encontraron los siguientes aniones: fluoruro, cloruro, nitrato y sulfato, ninguno de ellos presentes en concentraciones que pudieran implicar toxicidad por su consumo.

**c) Determinación de mercurio**

- Se ha llevado a cabo un estudio para la determinación de mercurio por Absorción Atómica de Vapor Frío en una muestra de cocaína incautada.
- Se ha encontrado una concentración de mercurio del orden de la ppm. De acuerdo con las recomendaciones de la European Food Safety Authority (EFSA) de 2012 [10], que actualizó la ingesta semanal tolerable (IST) de mercurio inorgánico en 4 µg/kg, lo que supone una ingesta de 240 µg por persona (de 60 kg de peso), esto implicaría que la concentración ingerida de una muestra podría presentar problemas de toxicidad adicional a la droga ingerida.

## 5 BIBLIOGRAFÍA

---

- [1] **Junta Internacional de fiscalización de estupefacientes** (2011): *“Lista de estupefacientes sometidos a fiscalización internacional”*, Viena: 50ª edición
- [2] **UNODC. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito** (2012): *“Métodos recomendados para la identificación y el análisis de cocaína en materiales incautados”*, Nueva York: UNODC.
- [3] **RIVIER, L. and SAUGY, M.** (1995) *“Recent advances in doping analysis.”* Sport und Strauß, Köln, pp. 339-356
- [4] **BALABANOVA, S. and HOMOKI, J.** (1987) *“Determination of Cocaine in Human Hair by Gas Chromatography / Mass Spectrometry.”* Z. Rechtsmed, n. 98, pp. 235-240
- [5] **TAGLIARO, F.; VALENTINI, R.; MANETTO, G.; CRIVELLENTI, F.; CARLI, G. and MARIGO, M.** (2000) *“Hair analysis by using radioimmunoassay, high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis to investigate chronic exposure to heroin, cocaine and/or ecstasy in applicants for driving licences.”* Forensic Science International, n. 107, pp. 121-128
- [6] **CLAUWAER, K.; VAN BOCXLAER, J.; LAMBERT, W. and DE LEENHEER, A.** (2000) *“Segmental analysis for cocaine and metabolites by HPLC in hair of suspected drug overdose cases.”* Forensic Science International, n. 110, pp. 157-166
- [7] **FERNÁNDEZ, P.; MORALES, L.; VÁZQUEZ, C.; BERMEJO, A.M. and TABERNERO, M.J.** (2006) *“HPLC-DAD determination of opioids, cocaine and their metabolites in plasma.”* Forensic Science International, n. 161, pp. 31-35
- [8] **ALI, E.M.; EDWARDS, H.G. and SCOWEN, I.J.** (2011) *“Rapid in situ detection of Street samples of drugs of abuse on textile substrates using micro Raman spectroscopy.”* Spectrochimica Acta, Part A n. 80, pp. 2-7
- [9] **DAY, J.S.; EDWARDS, H.G.; DOBROWSKI, S.A. and VOICE, A.M.** (2004) *“The detection of drugs of abuse in fingerprints using Raman spectroscopy I: latent fingerprints.”* Spectrochimica Acta, Part A n. 60, pp. 563-568
- [10] **Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición.** (2012). Mercurio. Recuperado el 19 de Mayo de 2015.  
[http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/web/cadena\\_alimentaria/subdetalle/qui\\_mercurio.shtml](http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/web/cadena_alimentaria/subdetalle/qui_mercurio.shtml)

## **OTRA BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA**

### **ARTÍCULOS Y TRABAJOS**

[11] FLORIANI, G.; GASPARETTO, J.C. and PONTAROLO, R. (2014) *“Development and validation of an HPLC-DAD method for simultaneous determination of cocaine, benzoic acid, benzoylecgonine and the main adulterants found in products based on cocaine.”* Forensic Science International, n. 235, pp. 32-39

[12] MERCOLINI, L.; MANDRIOLI, R.; SALADINI, B.; CONTI, M.; BACCINI, C. and RAGGI, M.A. *“Quantitative analysis of cocaine in human hair by HPLC with fluorescence detection.”* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, n. 48, pp. 456 - 461

[13] BUENO, G. O.y SALAZAR, J.D. (2012) *Validación del método para los análisis de cocaína, opiáceos y sus principales adulterantes por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, en el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. [Trabajo de Grado].* Universidad Tecnológica de Pereira.

### **LIBROS**

[14] ETRE, L. S. (1993) *“Pure and Applied Chemistry.”* n. 65 p. 819

[15] HARRIS, D.C. (2001). *“Cromatografía de gases” y “Cromatografía de líquidos de alta eficacia”*. En: *Análisis Químico Cuantitativo*. 2ª edición/correspondiente a la 5ª edición original norteamericana. Reverté S.A.

[16] REQUENA, A. and ZÚÑIGA, J. (2004) *“Espectroscopía Raman”*. En: *Espectroscopía*, pp 545 – 547. Pearson Educación.

### **PÁGINAS WEB**

[17] Acofarma distribución, S.A.(1999). [www.acofarma.com](http://www.acofarma.com)

[18] Grupo Prevenir Consulting (2011) <http://www.grupoprevenir.es/prl/>

[19] Santa Cruz Biotechnology (2010) <http://www.scbt.com/es/>

[20] Laboratorio de Técnicas Instrumentales UVA. (2013). Espectroscopía de Absorción Atómica. Recuperado el 17 de Marzo de 2015.

<http://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-gumicos/espectroscopa-de-absorcion-atmica>

[21] Laboratorio de Técnicas Instrumentales UVA. (2013). Análisis de mercurio. Recuperado el 17 de Marzo de 2015.

<http://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-gumicos/analisis-de-mercurio>

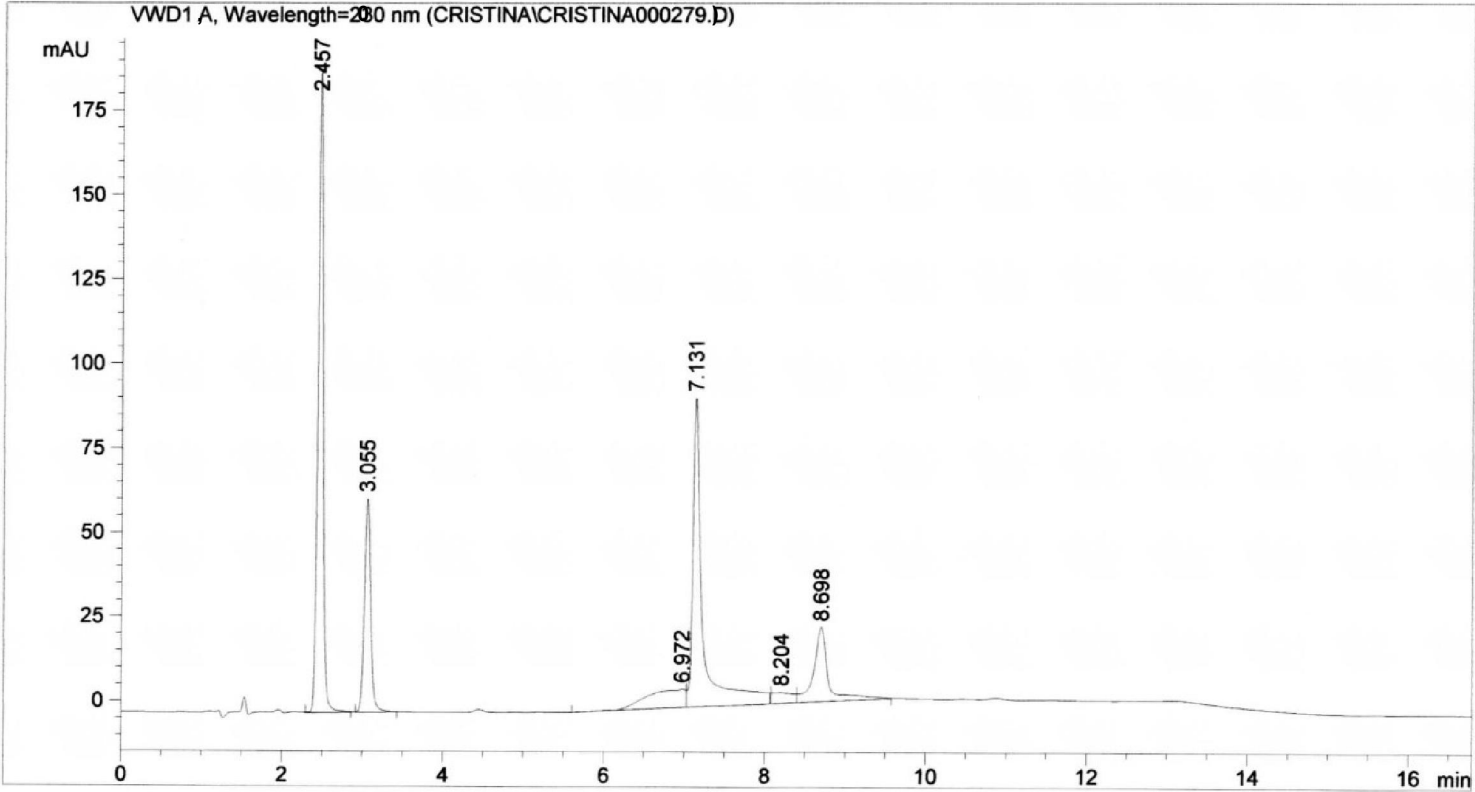


## **6 ANEXOS**

---

**A) Cromatografía de líquidos de alta eficacia con  
detector UV/Vis (HPLC-UV/Vis)**

=====  
Acq. Operator : Cristina  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 10/29/2014 6:09:23 PM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA.M  
Last changed : 10/29/2014 6:25:56 PM by Cristina  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M  
Last changed : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina

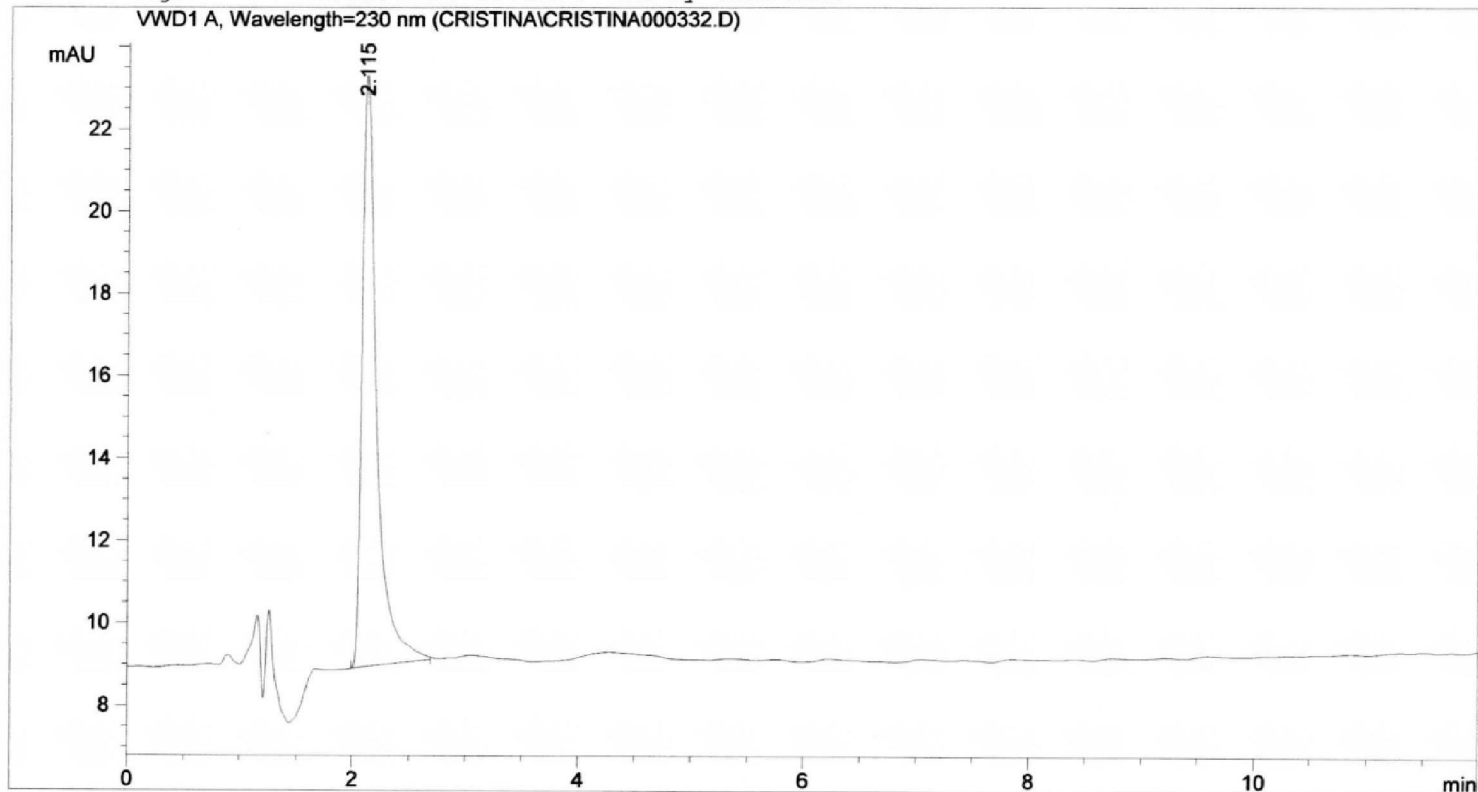


=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2014 6:45:44 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

=====  
Acq. Operator : Cristina  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 11/11/2014 11:29:46 AM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA\_2.M  
Last changed : 11/11/2014 11:29:50 AM by Cristina  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M  
Last changed : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina

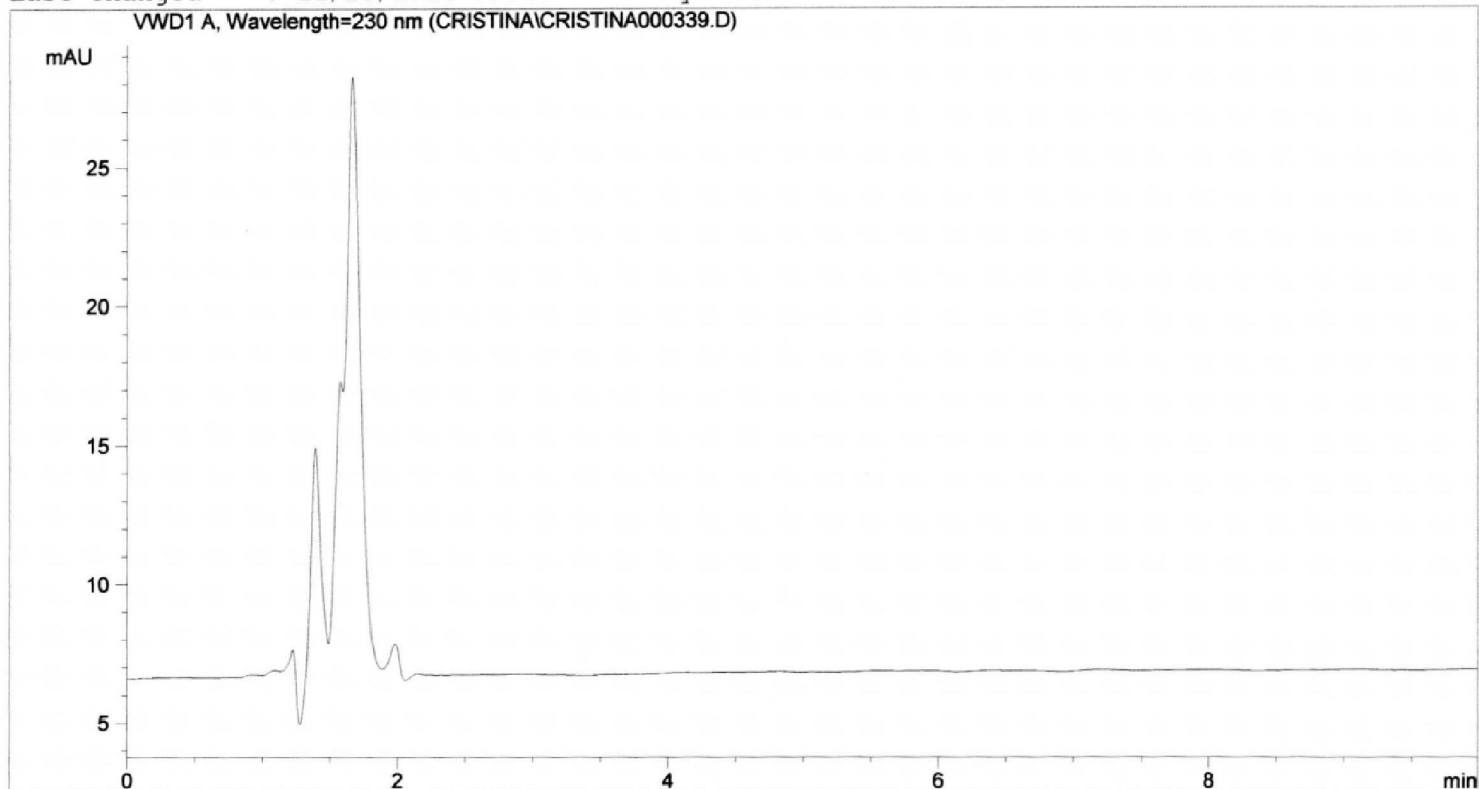


=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2014 6:45:44 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

=====  
Acq. Operator : Cristina  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 11/11/2014 12:43:28 PM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA\_2.M  
Last changed : 11/11/2014 12:52:09 PM by Cristina  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M  
Last changed : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina

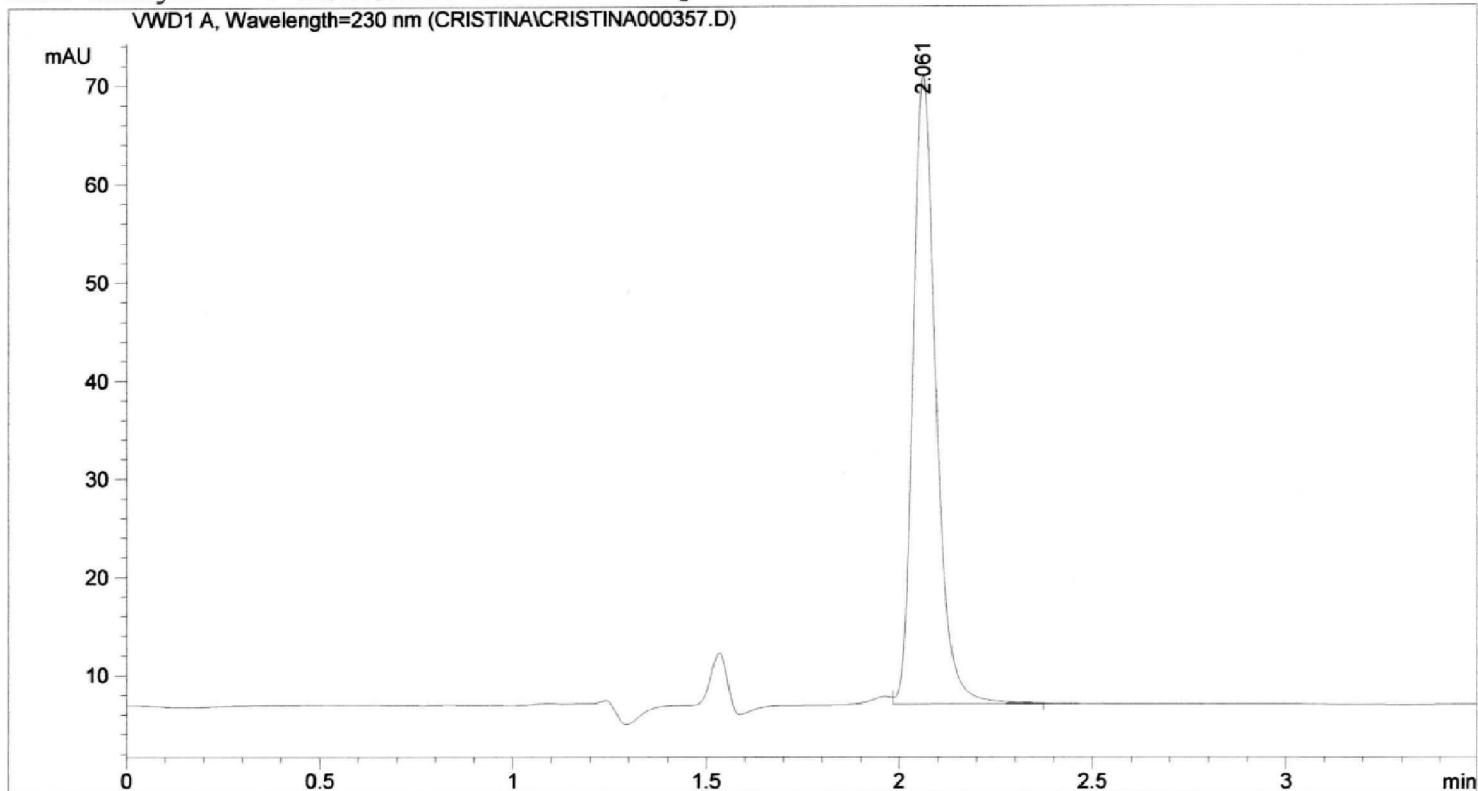


=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2014 6:45:44 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

=====  
Acq. Operator : Cristina  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 11/13/2014 11:18:44 AM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA\_3.M  
Last changed : 11/13/2014 11:21:44 AM by Cristina  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M  
Last changed : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina



=====  
Area Percent Report  
=====

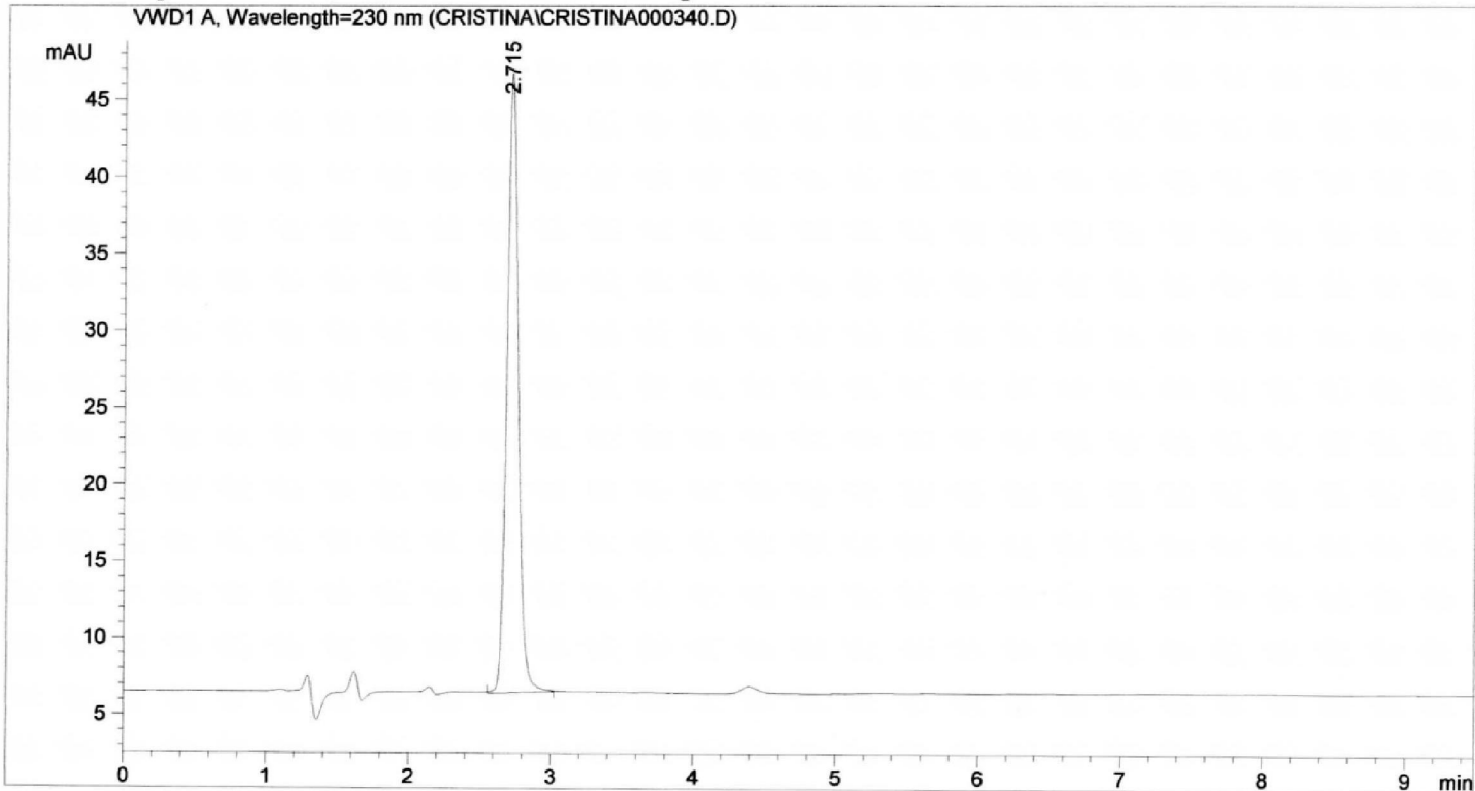
Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2014 6:45:44 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

```

=====
Acq. Operator   : Cristina
Acq. Instrument : Instrument 1
Injection Date  : 11/11/2014 12:59:03 PM
Acq. Method    : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA_2.M
Last changed   : 11/11/2014 1:08:22 PM by Cristina
                 (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M
Last changed   : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina
=====

```



```

=====
                          Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By           :      Signal
Calib. Data Modified :      11/5/2014 6:45:44 PM
Multiplier          :      1.0000
Dilution            :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

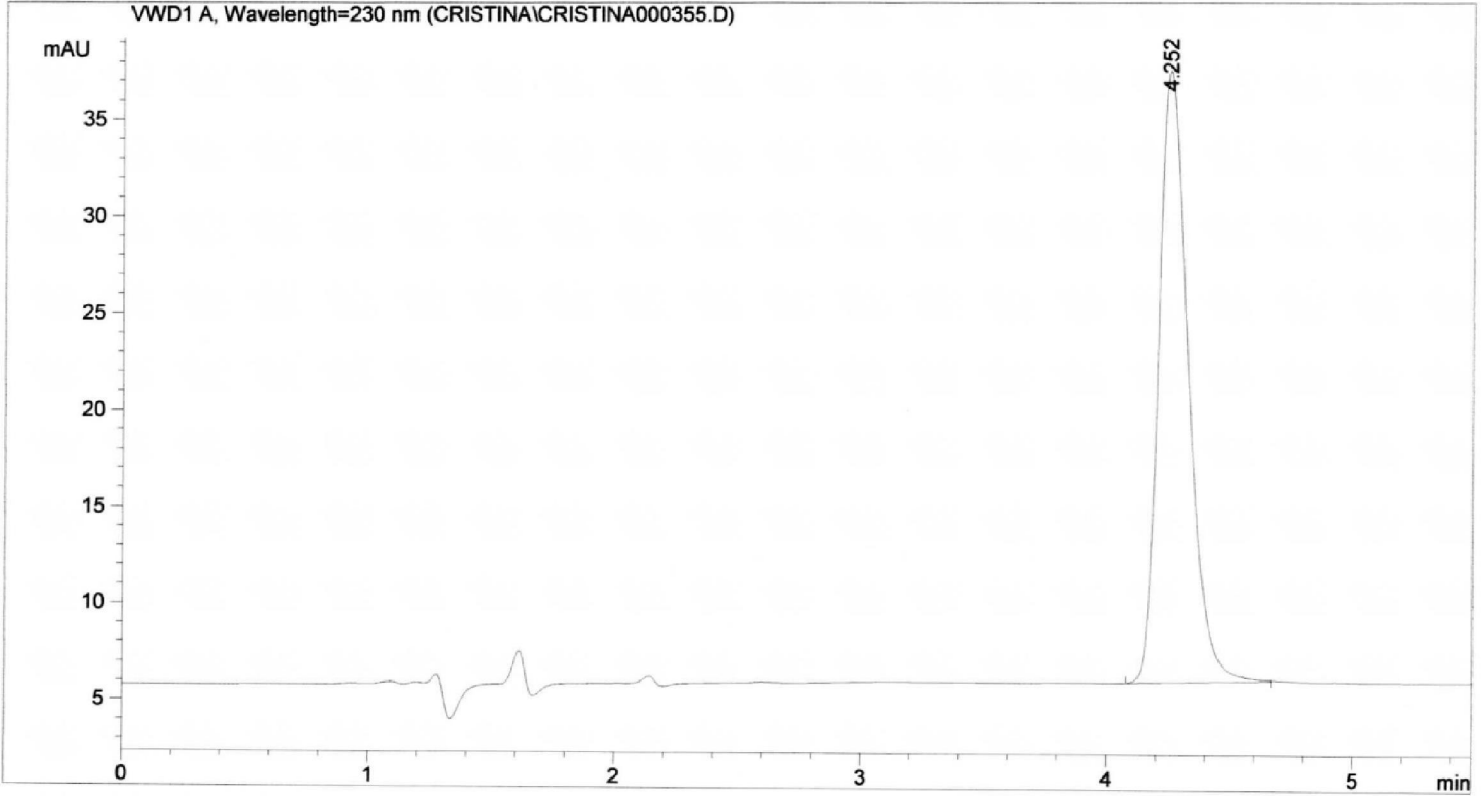
Sample Name: Salicilico 5ppm (5%ACN)

CRROMATOGRAMA 6.

```

=====
Acq. Operator   : Cristina
Acq. Instrument : Instrument 1                Location : Vial 1
Injection Date  : 11/13/2014 11:03:00 AM
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA_3.M
Last changed    : 11/13/2014 11:07:27 AM by Cristina
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M
Last changed    : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina
=====

```



```

=====
                          Area Percent Report
=====

```

```

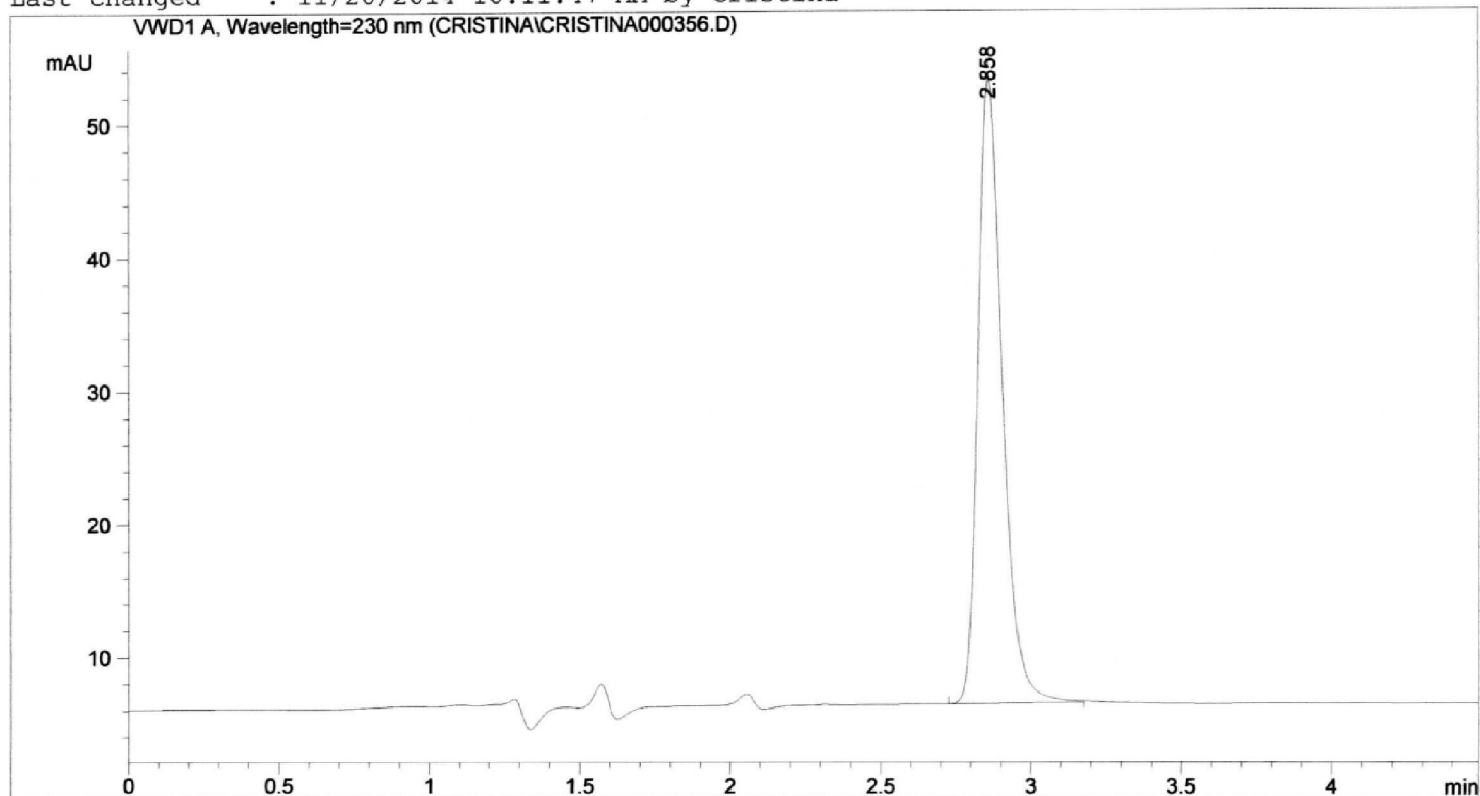
Sorted By           :      Signal
Calib. Data Modified :      11/5/2014 6:45:44 PM
Multiplier          :      1.0000
Dilution            :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm



=====  
Acq. Operator : Cristina  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 11/13/2014 11:10:22 AM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA\_3.M  
Last changed : 11/13/2014 11:14:13 AM by Cristina  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M  
Last changed : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina

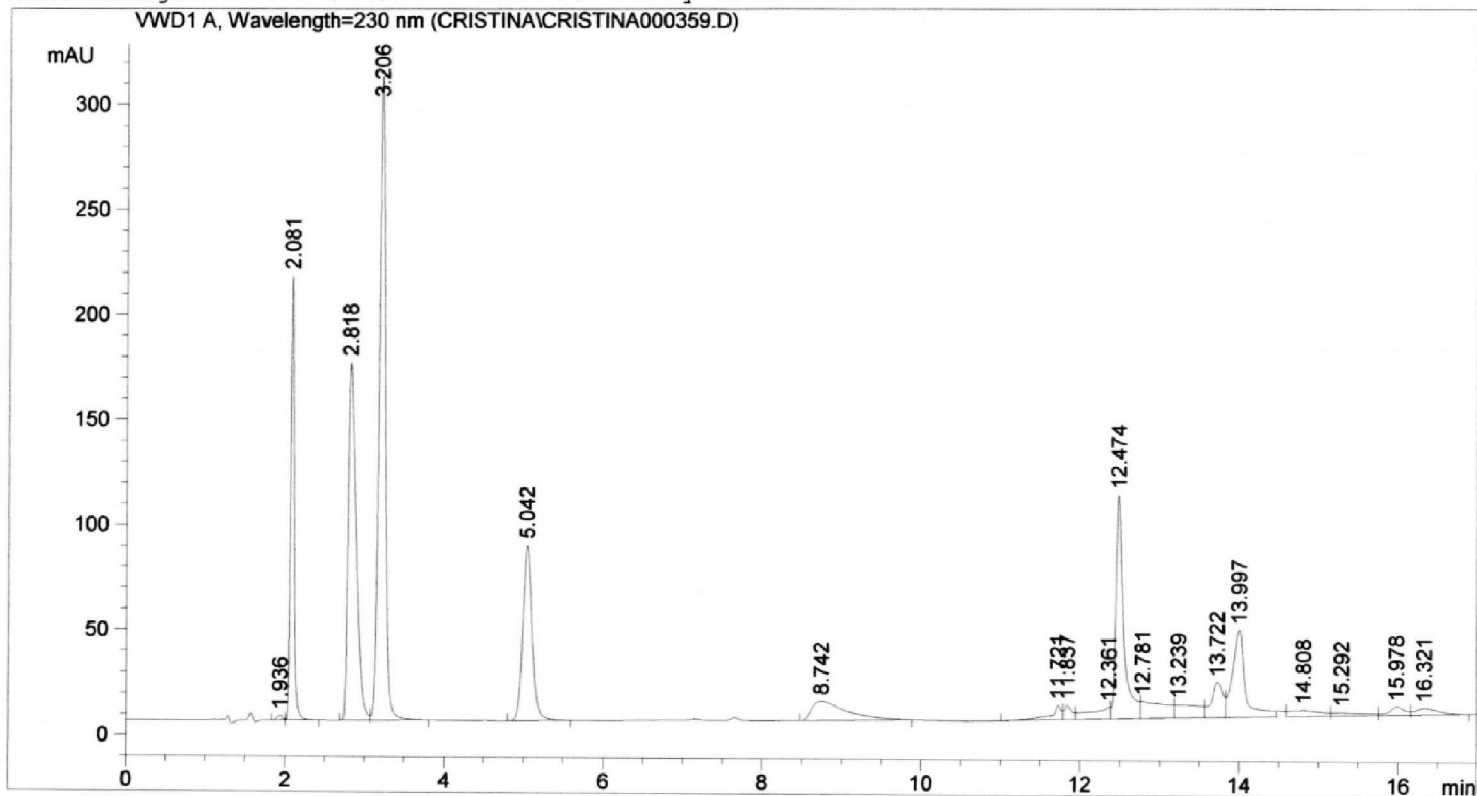


=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2014 6:45:44 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

=====  
Acq. Operator : Cristina  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 11/13/2014 11:36:39 AM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA\_3.M  
Last changed : 11/13/2014 11:34:11 AM by Cristina  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M  
Last changed : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina

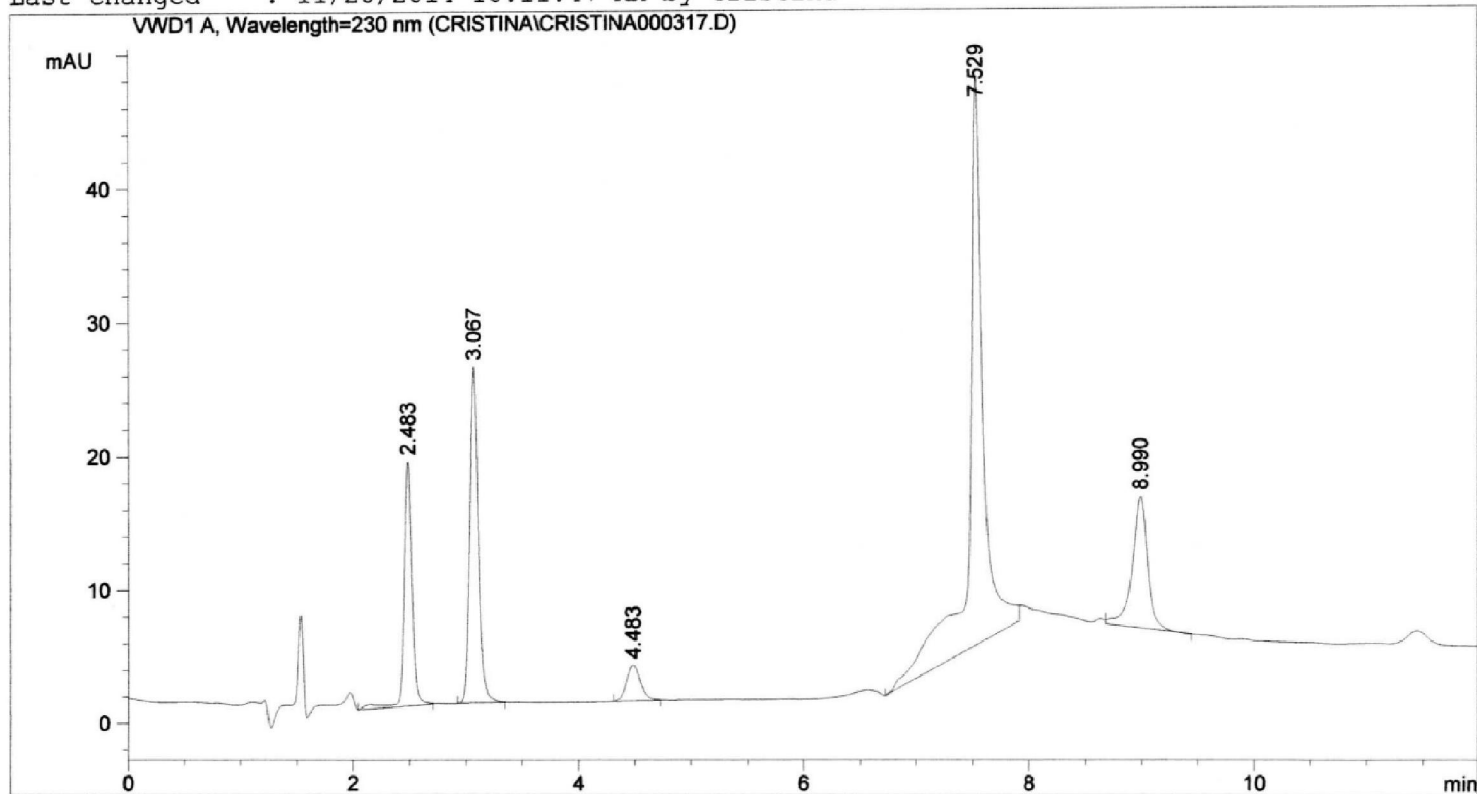


=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2014 6:45:44 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

=====  
Acq. Operator : Cristina  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 11/6/2014 11:14:09 AM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA\_2.M  
Last changed : 11/6/2014 11:12:09 AM by Cristina  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M  
Last changed : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina

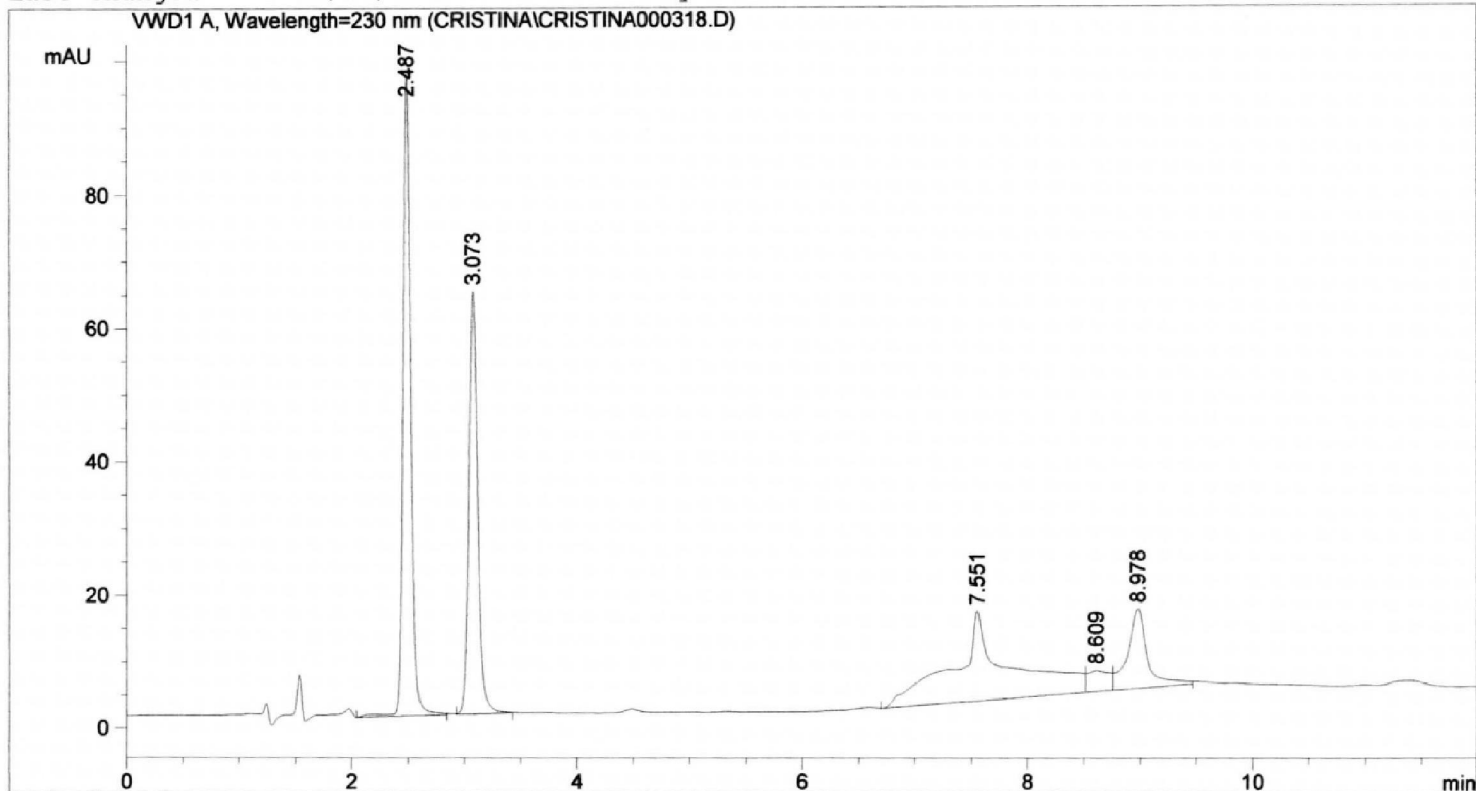


=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2014 6:45:44 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

=====  
Acq. Operator : Cristina  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 11/6/2014 11:32:41 AM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA\_2.M  
Last changed : 11/6/2014 11:26:13 AM by Cristina  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M  
Last changed : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina

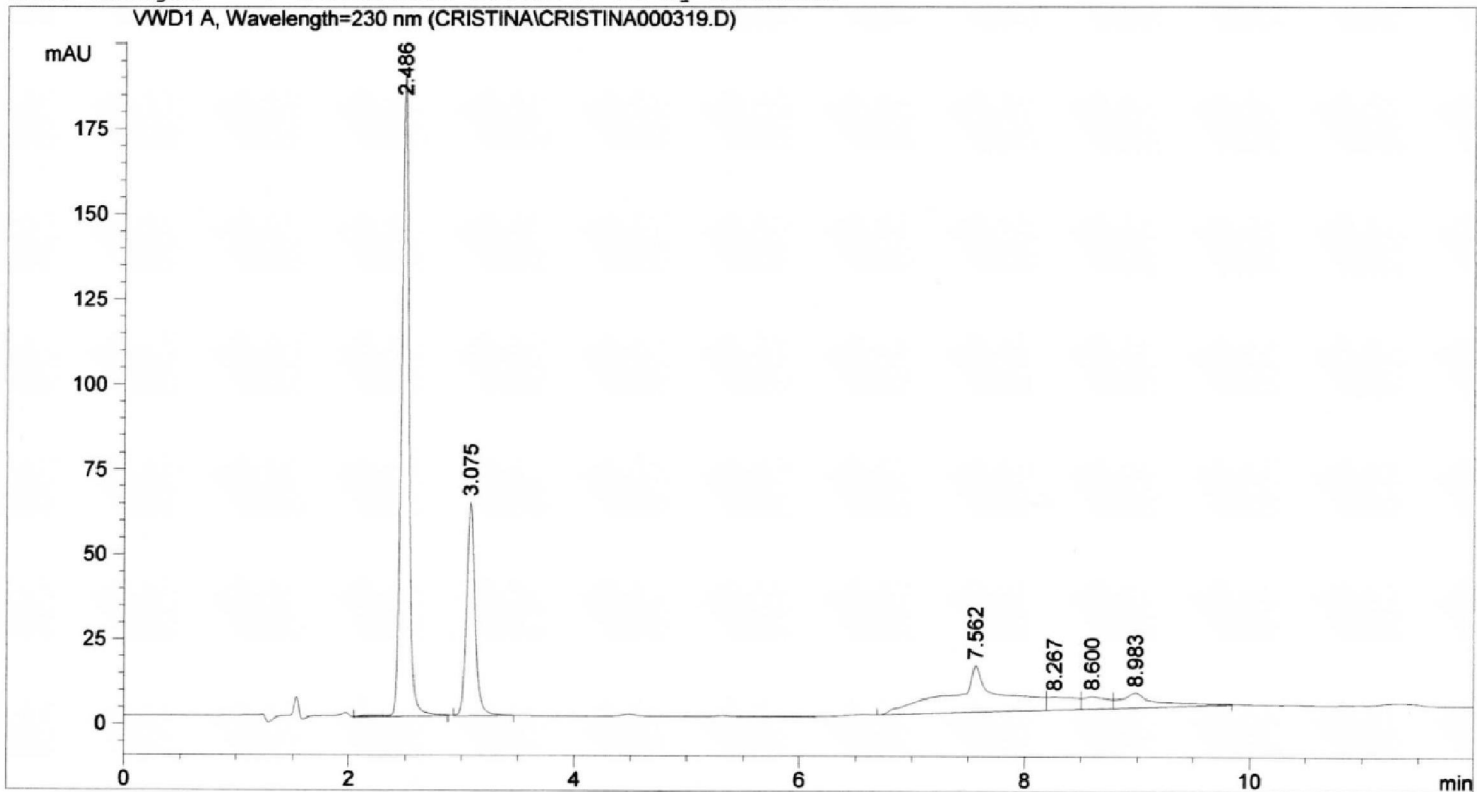


=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2014 6:45:44 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

=====  
Acq. Operator : Cristina  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 11/6/2014 11:53:16 AM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA\_2.M  
Last changed : 11/6/2014 11:44:45 AM by Cristina  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M  
Last changed : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina

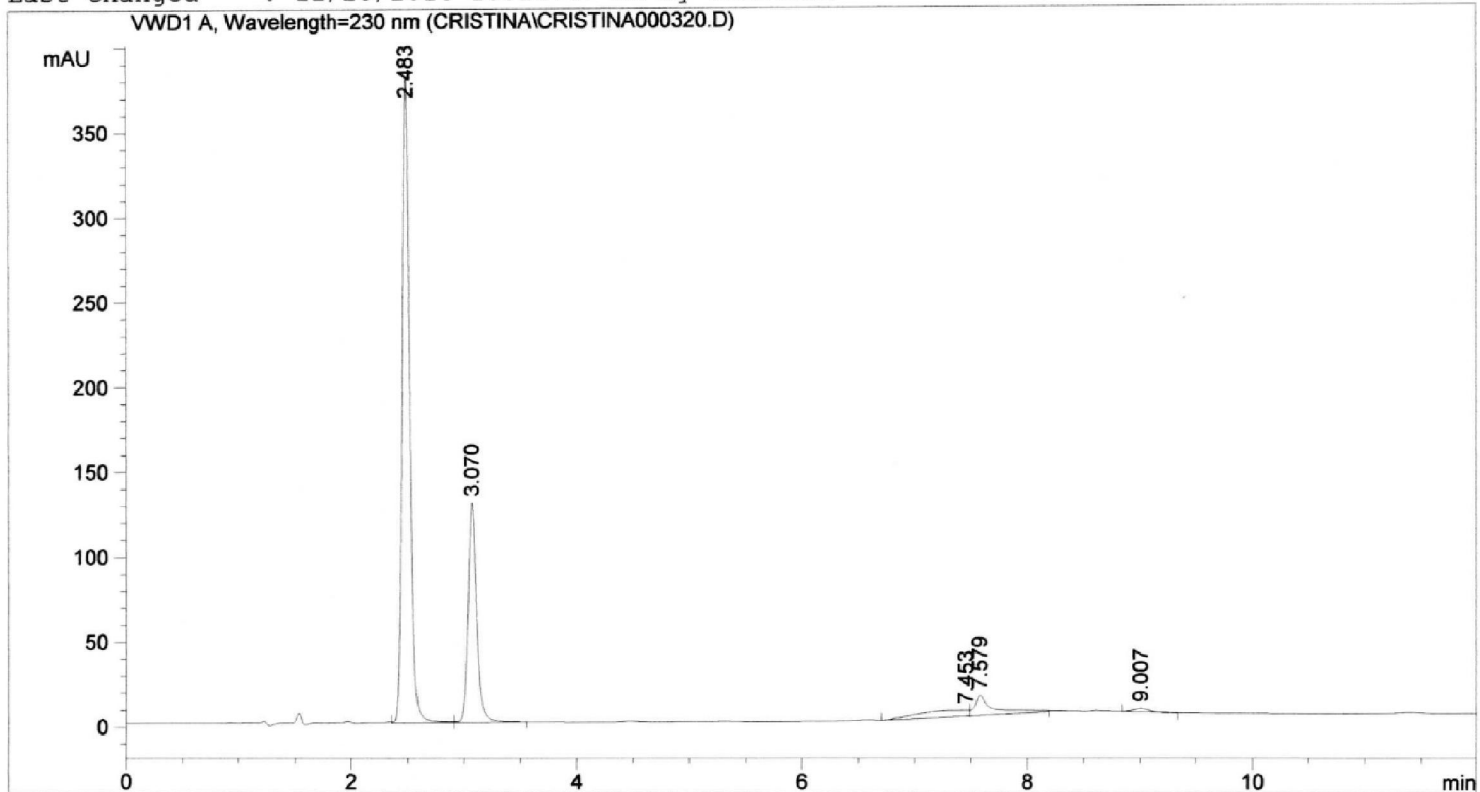


=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2014 6:45:44 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

=====  
Acq. Operator : Cristina  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 11/6/2014 12:08:53 PM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CRISTINA COCA\_2.M  
Last changed : 11/6/2014 12:05:21 PM by Cristina  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\ENCENDIDO.M  
Last changed : 11/20/2014 10:11:47 AM by Cristina

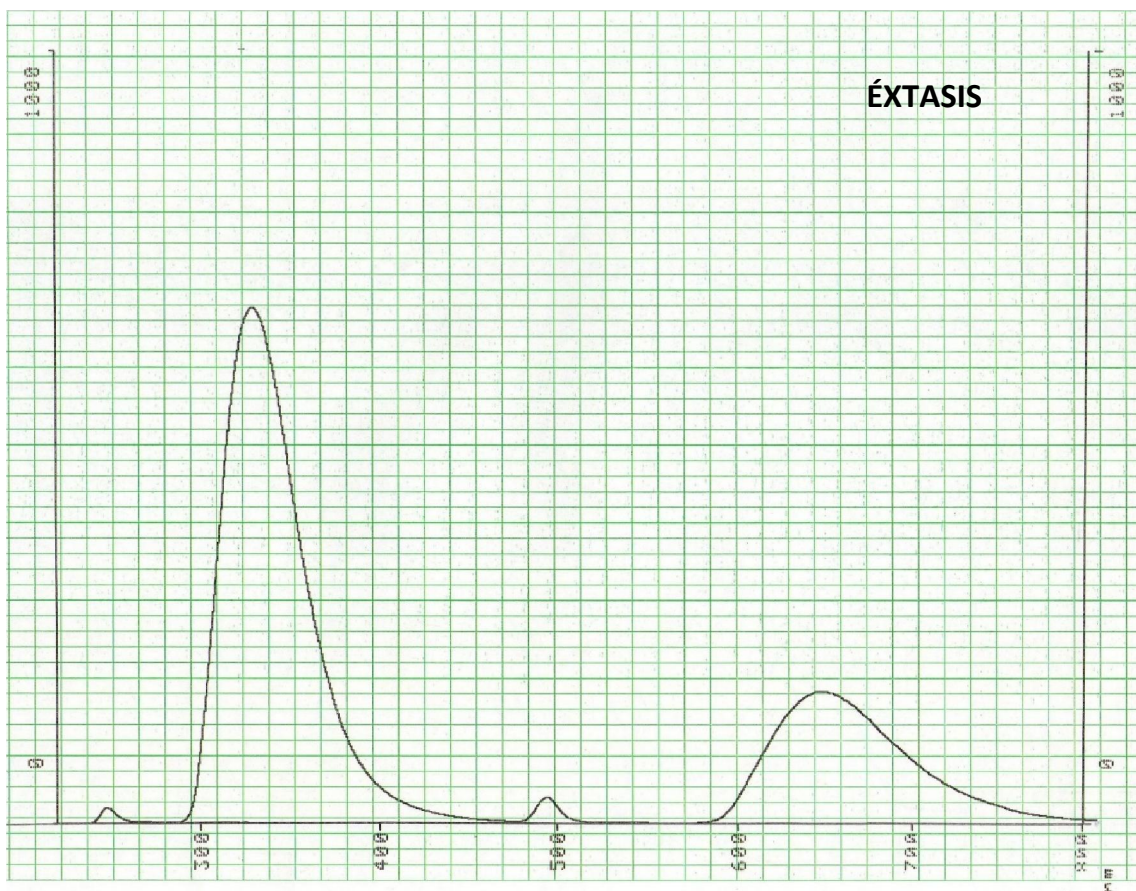
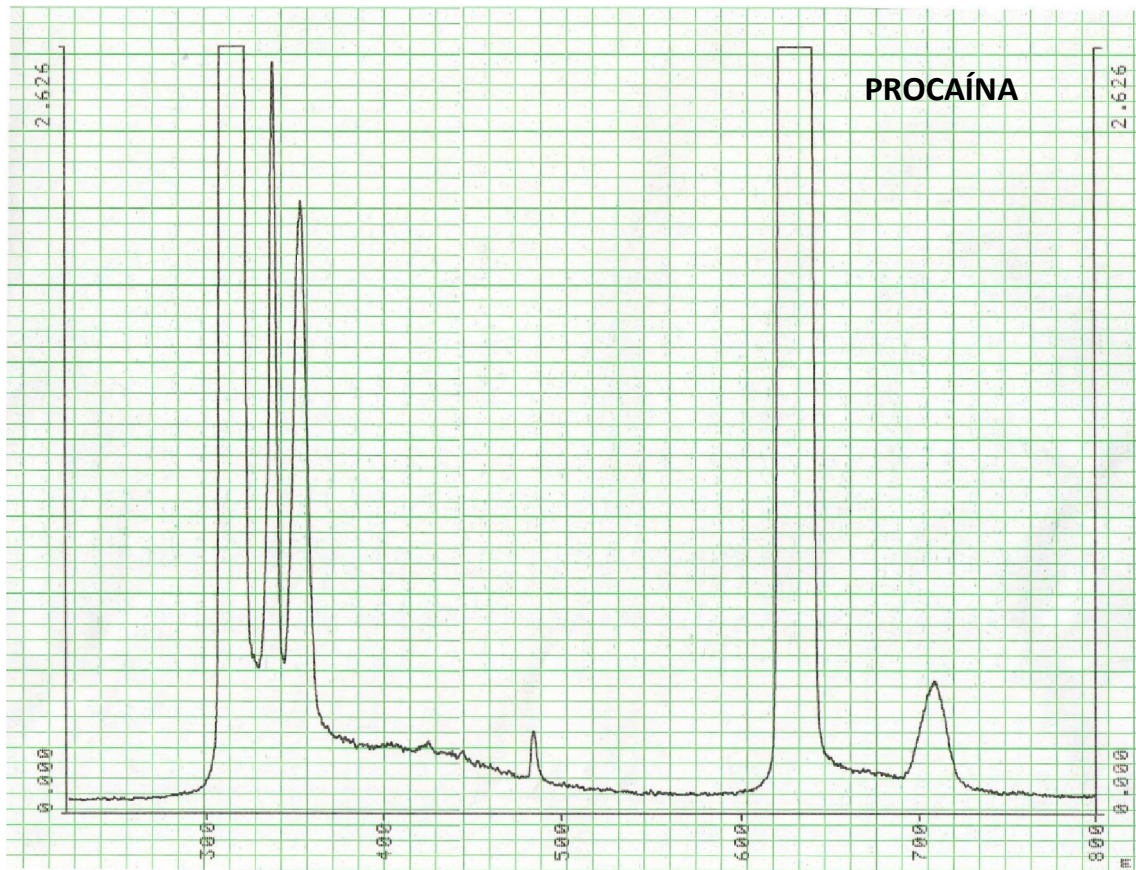


=====  
Area Percent Report  
=====

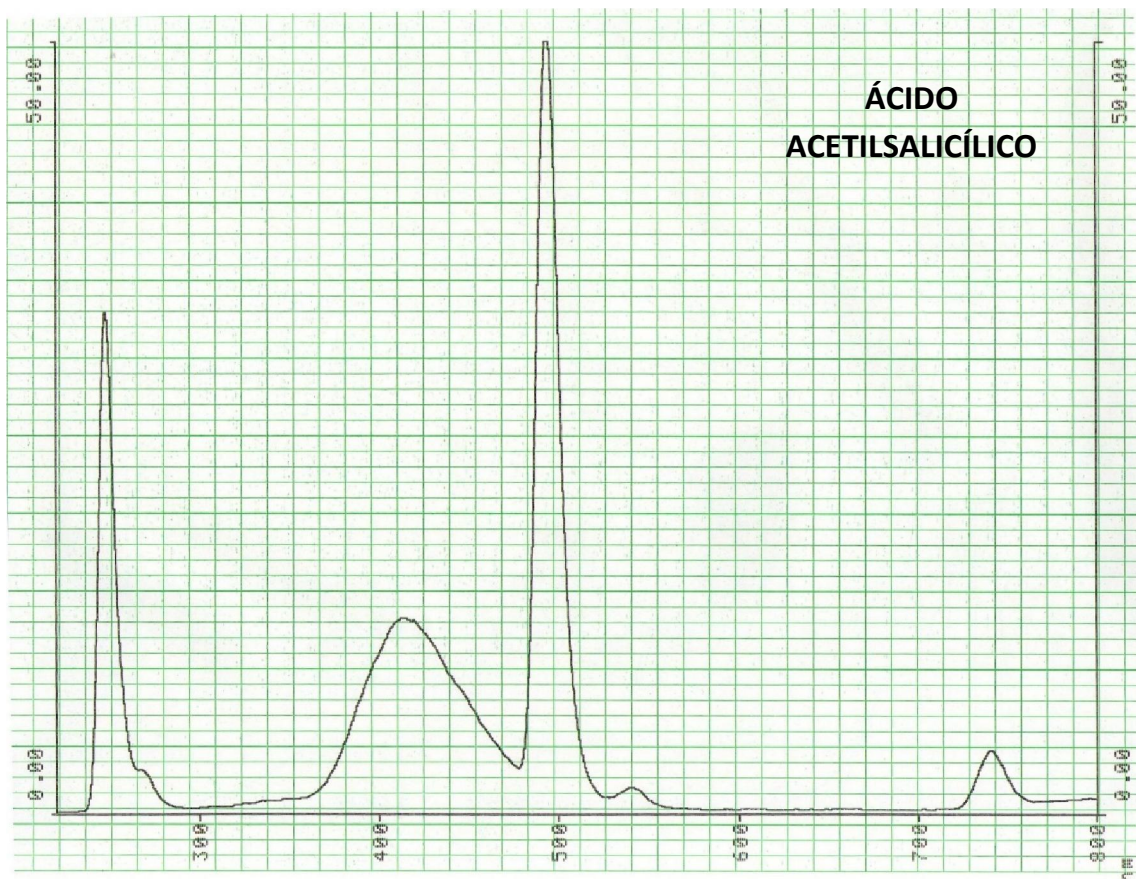
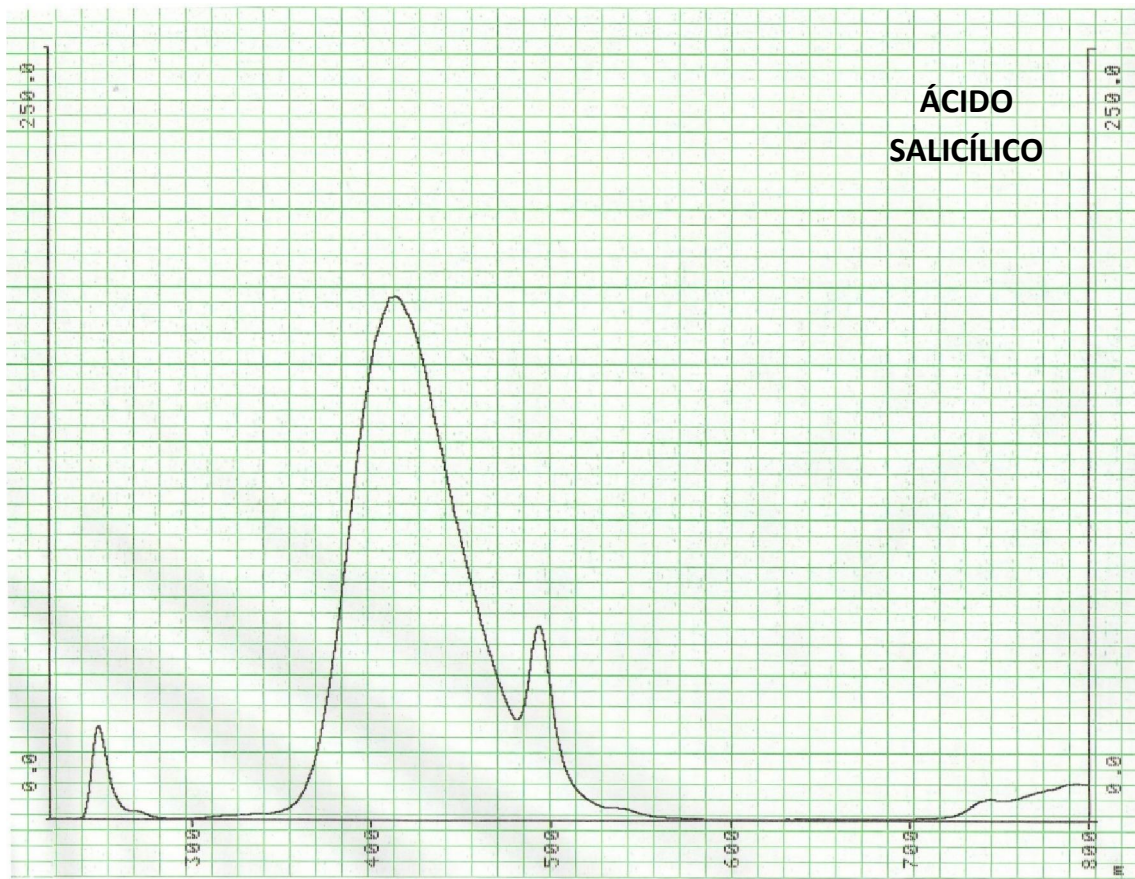
Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 11/5/2014 6:45:44 PM  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=230 nm

## **B) Cromatografía de líquidos de alta eficacia con detector de fluorescencia (HPLC-FLD)**





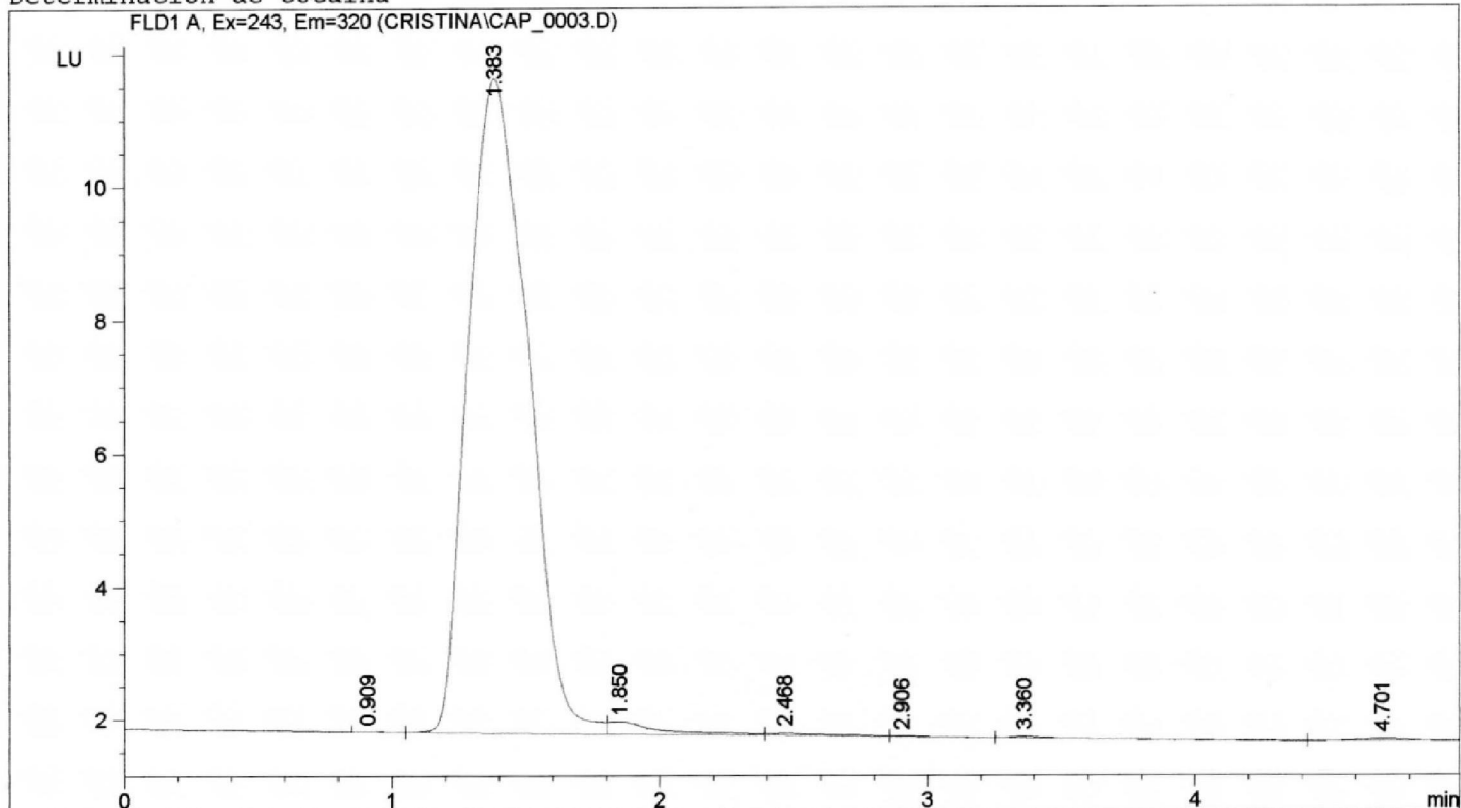


=====  
 Injection Date : 14/05/2015 15:09:44  
 Sample Name : coca 40ppm  
 Acq. Operator : PEPE  
 Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\COCA.M  
 Last changed : 14/05/2015 14:42:14 by PEPE  
 (modified after loading)

Location : -

CROMATOGRAMA 13

Determinación de Cocaína



=====  
 External Standard Report  
 =====

Sorted By : Signal  
 Calib. Data Modified : 25/03/2013 12:36:52  
 Multiplier : 1.0000  
 Dilution : 1.0000

Signal 2: FLD1 A, Ex=425, Em=515 not found

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
7.999	-	-	-	-	-	curcumina

Totals : 0.00000

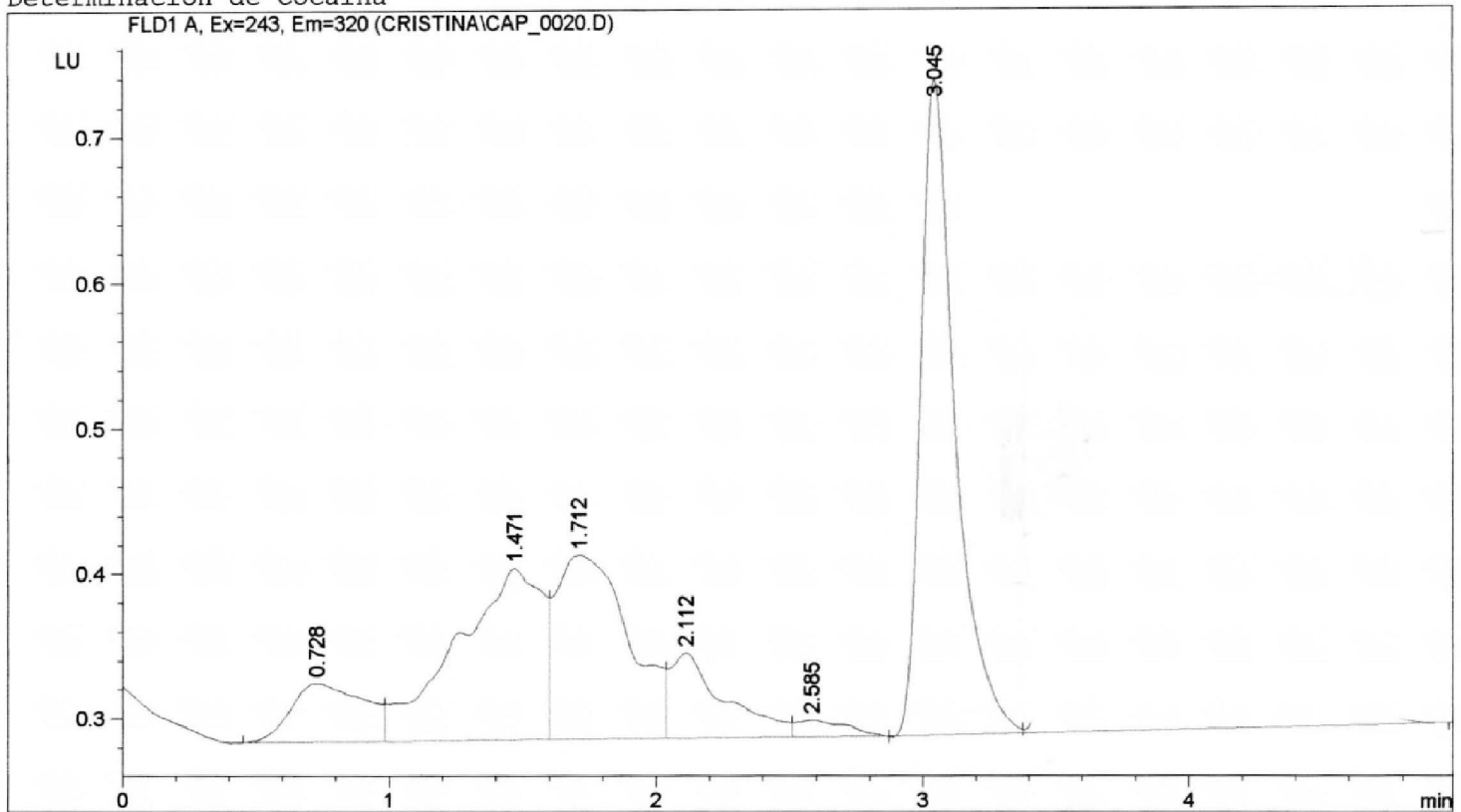
Results obtained with enhanced integrator!  
 1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

=====

Injection Date : 18/05/2015 17:00:25  
 Sample Name : extasis 5 (15) Location : -  
 Acq. Operator : PEPE  
 Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\COCA.M  
 Last changed : 18/05/2015 17:00:39 by PEPE  
 (modified after loading)  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\COCA.M  
 Last changed : 25/11/2014 19:24:36 by CRISTINA  
 Determinación de Cocaína

CROMATOGRAMA 14.




---

 External Standard Report
 

---

Sorted By : Signal  
 Calib. Data Modified : 25/03/2013 12:36:52  
 Multiplier : 1.0000  
 Dilution : 1.0000

Signal 2: FLD1 A, Ex=425, Em=515 not found

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
7.999	-	-	-	-	-	curcumina

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

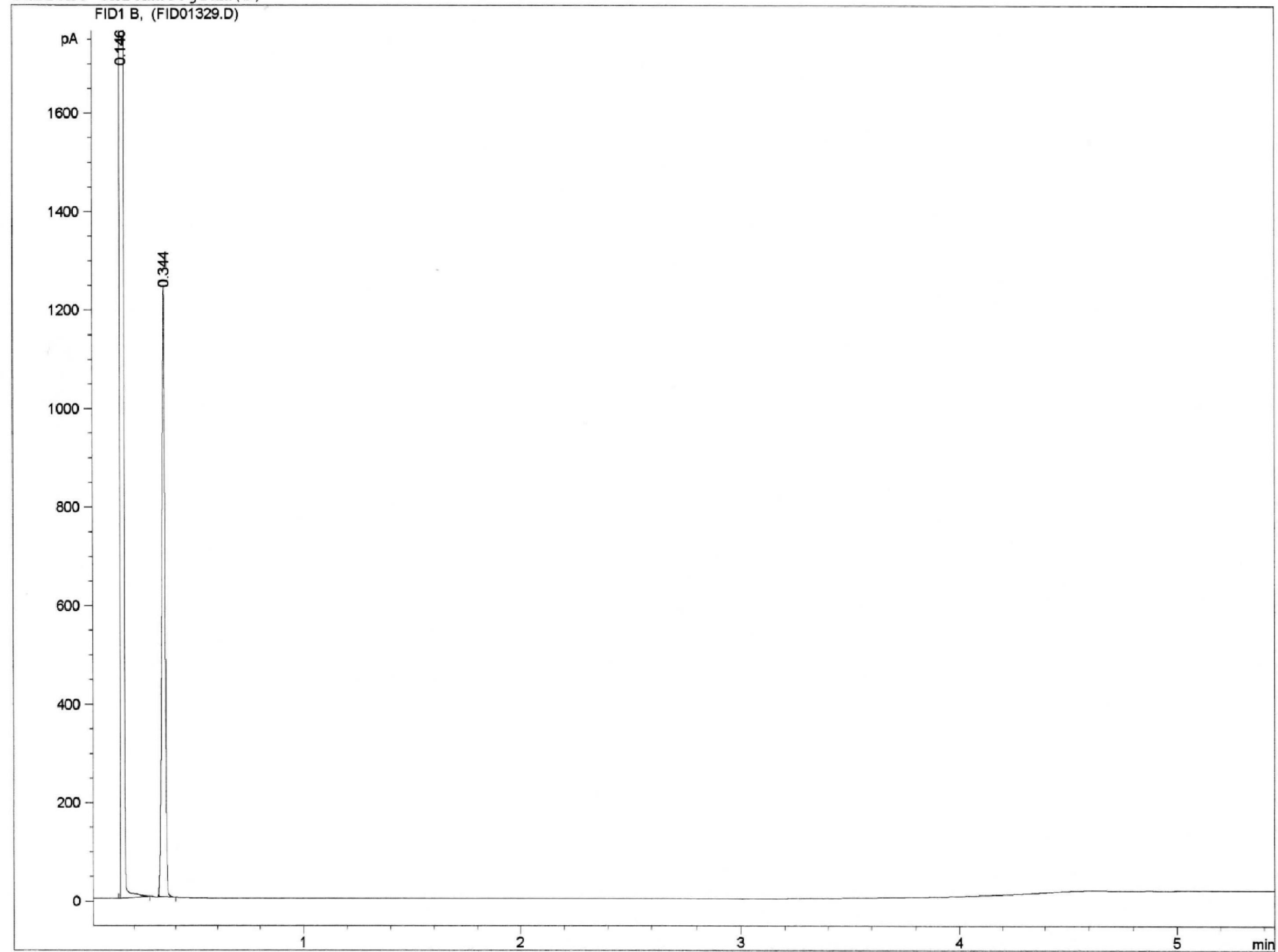
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

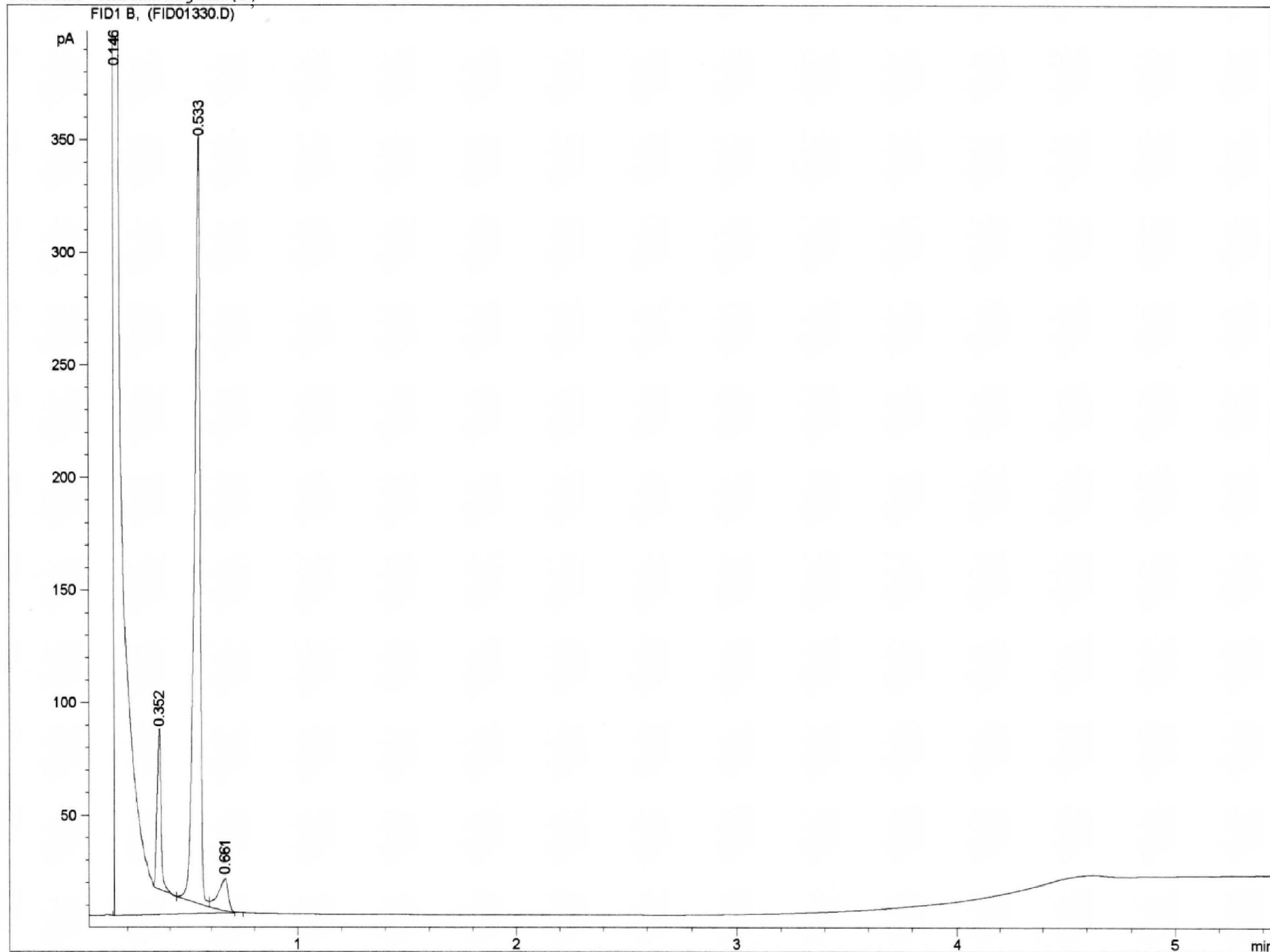
---

## **C) Cromatografía de fases detector de llama (GC-FID)**

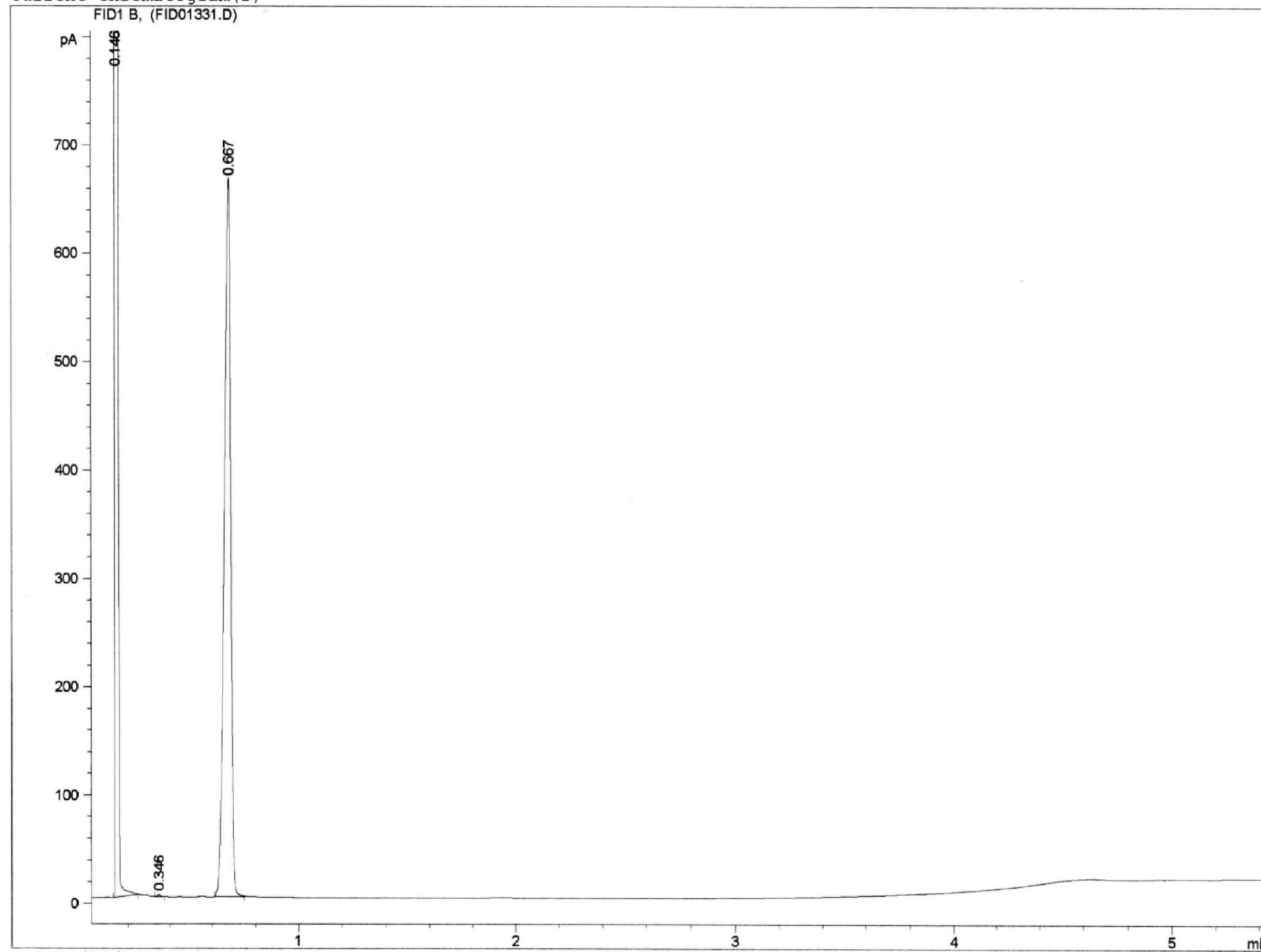
Current Chromatogram(s)



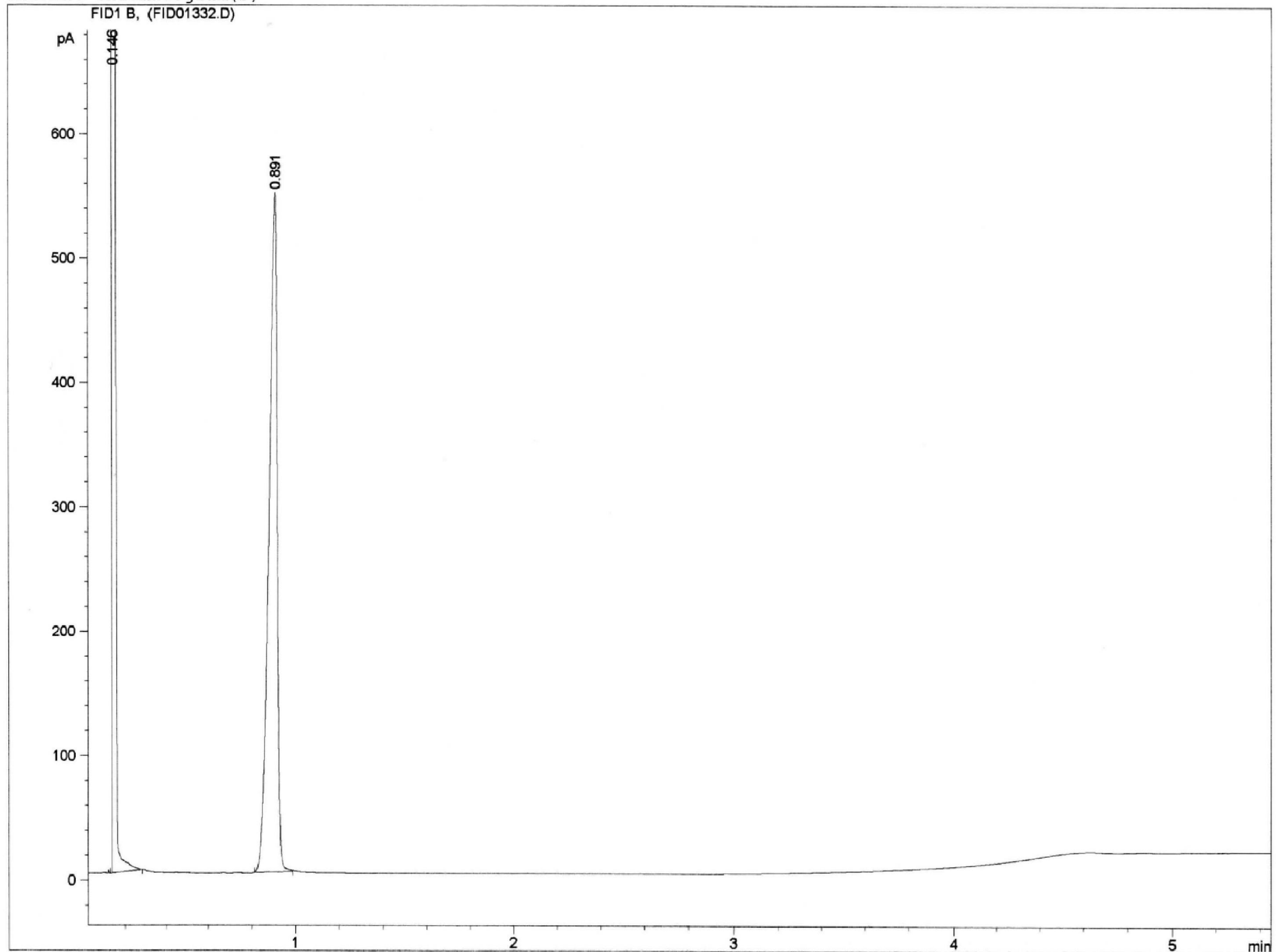
Current Chromatogram(s)



Current Chromatogram(s)

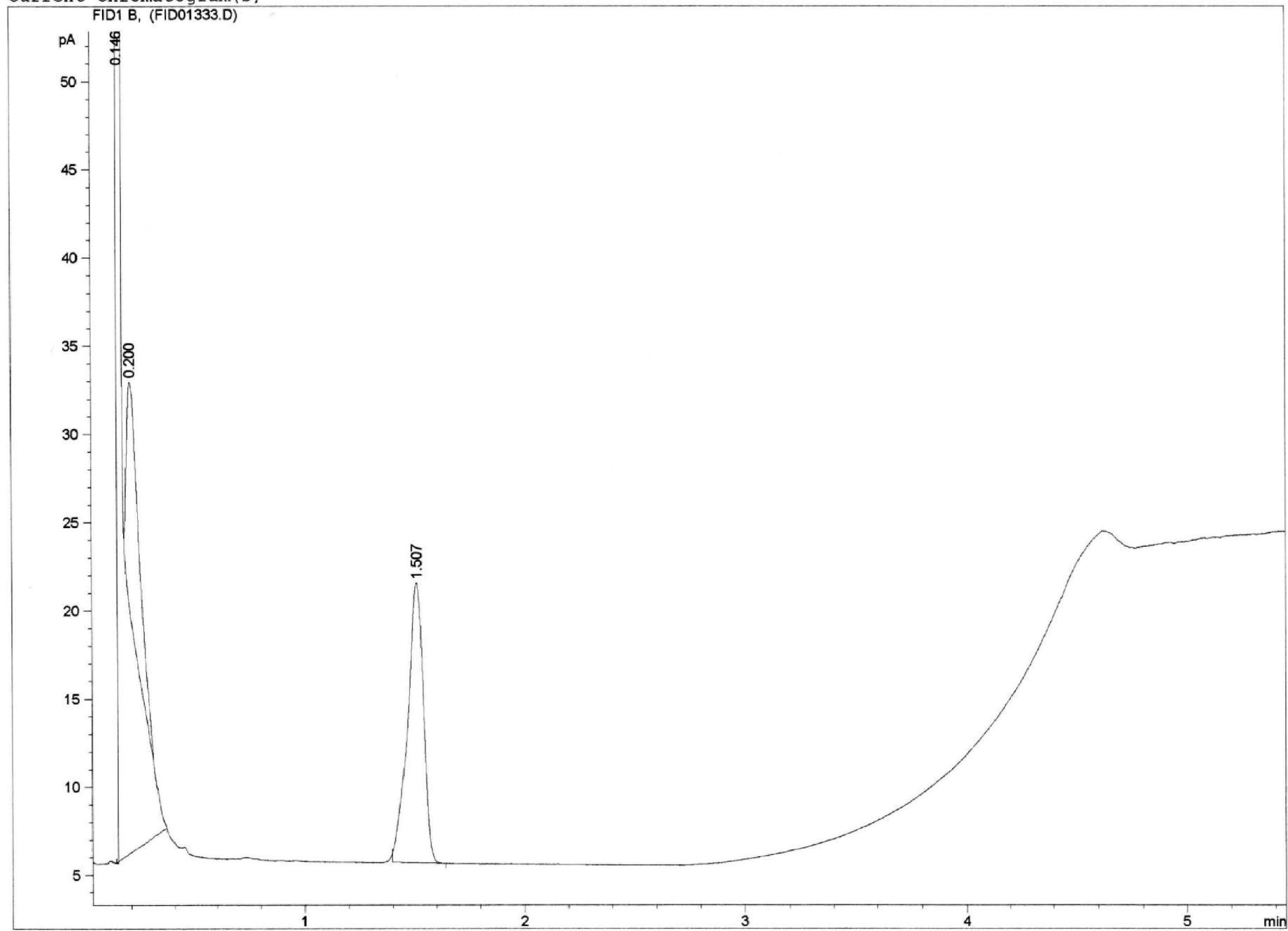


Current Chromatogram(s)



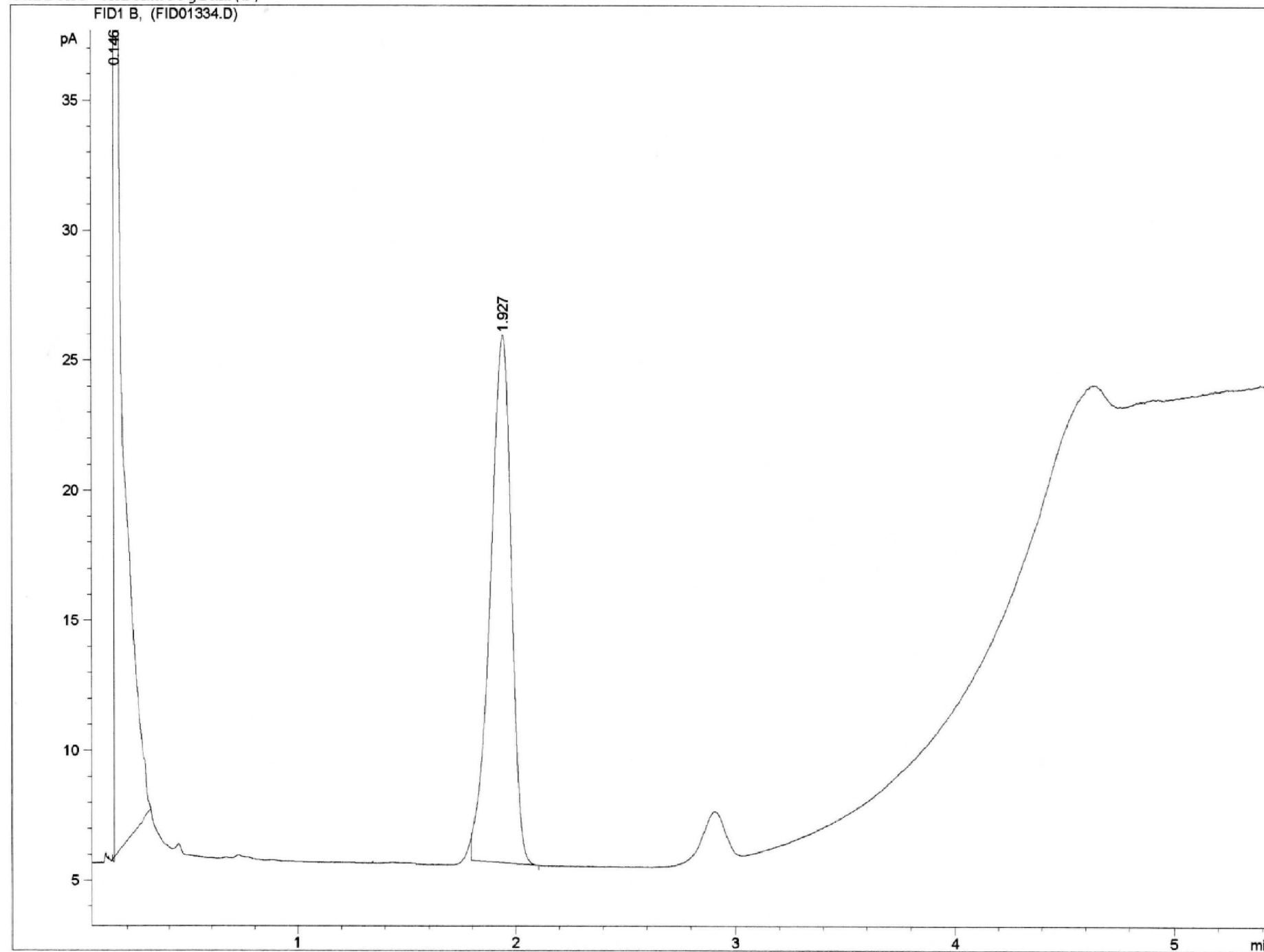


Current Chromatogram(s)

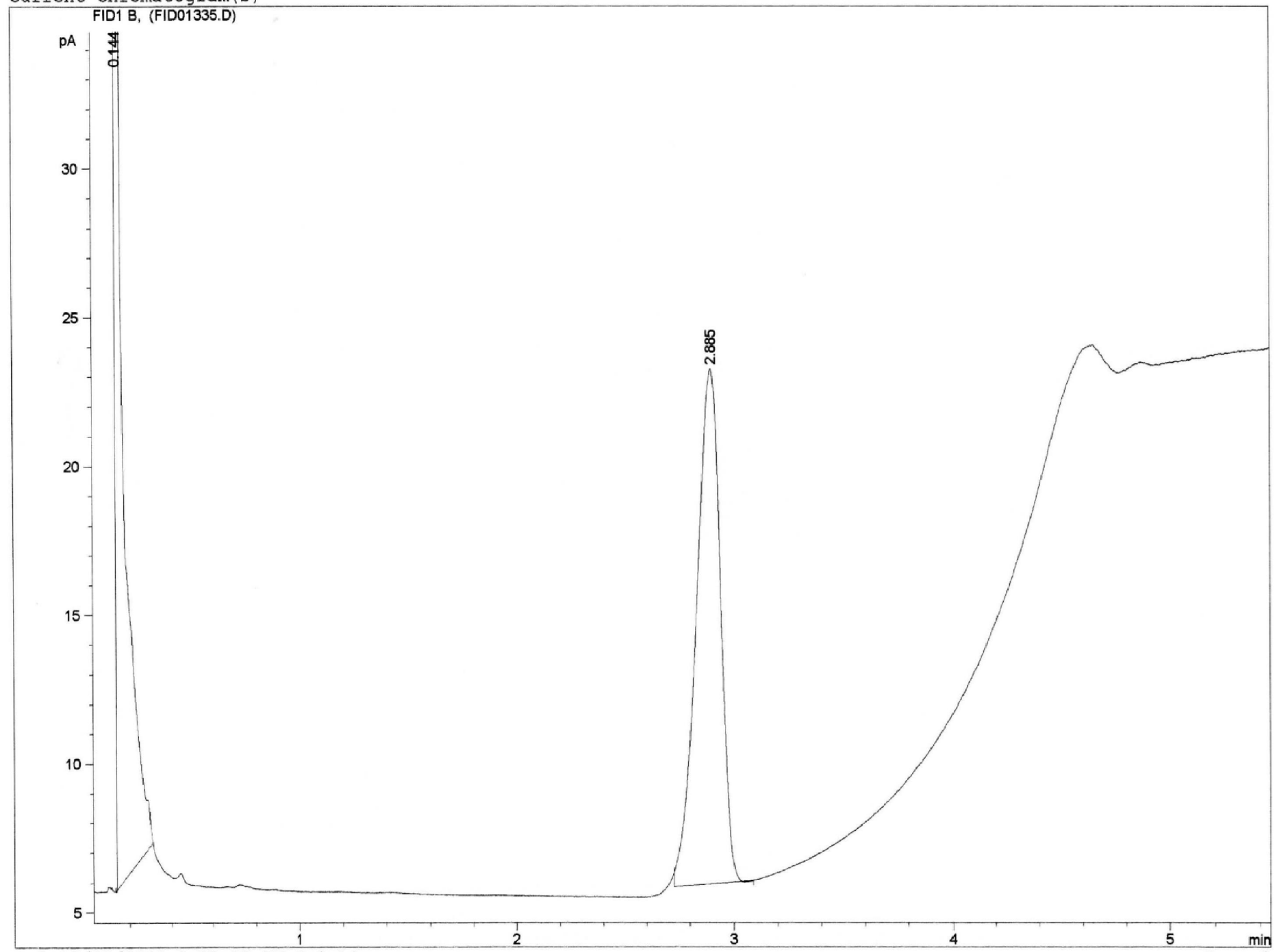


Current Chromatogram(s)

FID1 B, (FID01334.D)

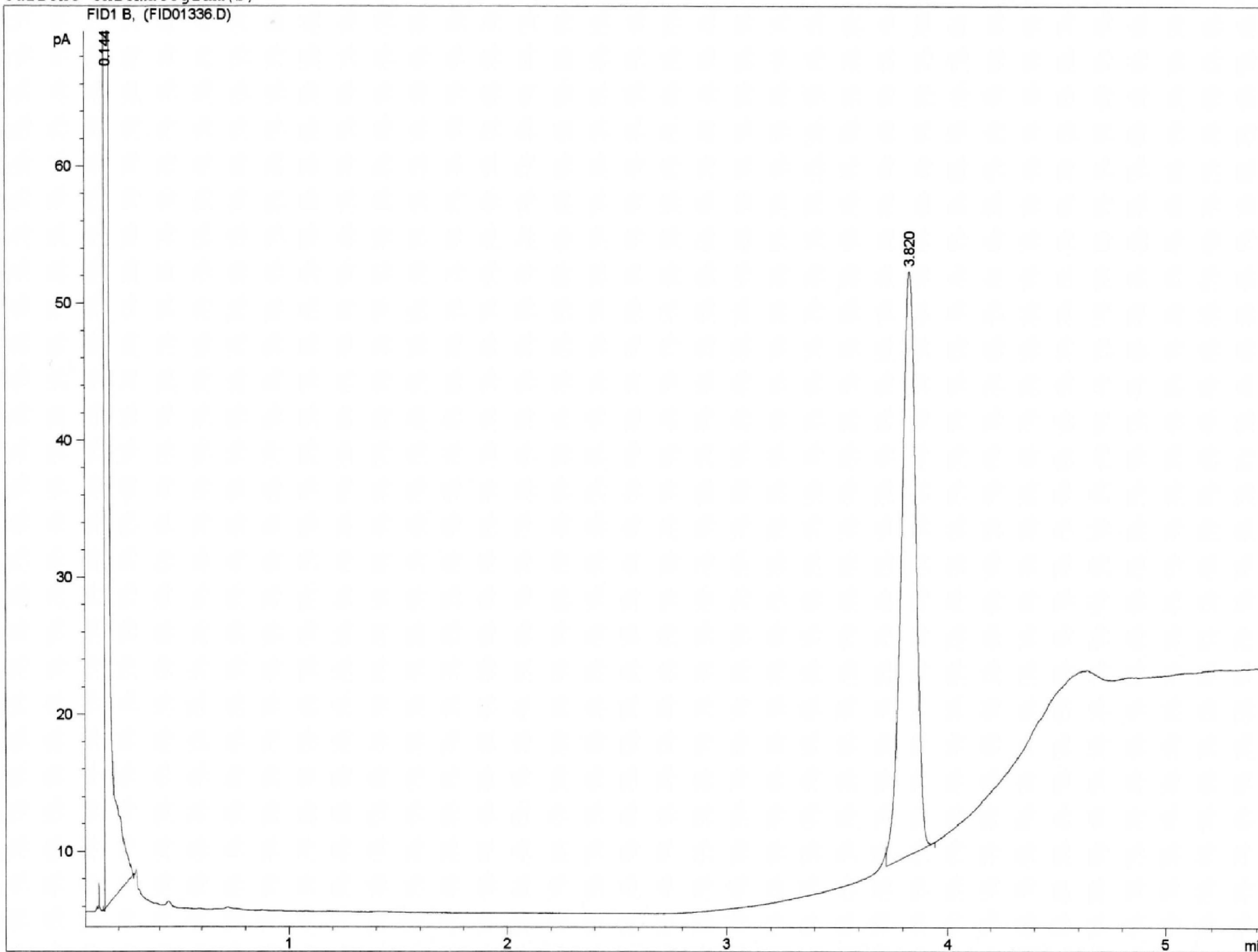


Current Chromatogram(s)



Current Chromatogram(s)

FID1 B, (FID01336.D)



## **D) ESPECTROSCOPIA RAMAN**

