



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA
LICENCIATURA EN QUÍMICA

“MÉTODOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS APLICADAS A LA QUÍMICA FORENSE (ALCOHOLEMIA Y TOXICOLOGICO)”

MONOGRAFÍA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN QUÍMICA

P R E S E N T A:

JUAN MANUEL GARCÍA HERNÁNDEZ

ASESOR: DR. JOSEANTONIO GODOY REYES

PACHUCA DE SOTO, HIDALGO

SEPTIEMBRE 2010

DEDICATORIAS

A mis Padres, por apoyarme durante toda la vida y darme con gran esfuerzo todo lo necesario para la obtención de este título.

A mi esposa Irma, por ser parte primordial de esto y alentarme cuando más lo necesitaba.

A mis hijos Alondra y Ariel, ya que por ellos estoy logrando esto.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por que nunca me desamparo y estuvo cuando más lo necesitaba.

Al Dr. Joseantonio Godoy Reyes, por que tuvo la paciencia y serenidad de esperarme hasta el término de este trabajo.

A mis sinodales por ser parte de esta titulación.

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por ser la base institucional de este trabajo.

A todos los profesores que durante el tiempo de mi formación académica me impartieron sus conocimientos para la formación de este nuevo profesionista.

A Anita mi coordinadora del Laboratorio de Química Forense de la PGHJ, por darme el apoyo necesario.

A mis Hermanos que en algún momento me brindaron la ayuda necesaria para el término de mi carrera.

A todos mis compañeros que estuvieron cursando la Licenciatura conmigo y me tendieron la mano tanto en las buenas como las malas.

A todas aquellas personas que sin darme cuenta me apoyaron directa o indirectamente.

A TODOS MUCHAS GRACIAS...

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, con colaboración del Laboratorio de Química Forense de la Procuraduría General de Justicia del Estado de Hidalgo (PGJH), bajo la dirección del Dr. Joseantonio Godoy Reyes.



Índice

1. Abreviaturas	6
2. Introducción	8
3. Antecedentes	10
3.1. Generalidades sobre farmacología y química forense	12
3.2. Validación de los métodos analíticos	14
4. Objetivos	18
4.1. Objetivo general	18
4.2. Objetivos específicos	18
5. Investigación Químico-toxicológica	19
5.1. Introducción	19
5.2. Amplitud y profundidad del análisis	19
5.3. Elección del método de análisis	20
5.3.1. Consideraciones especiales	21
5.4. Interpretación de los resultados	22
5.5. Tóxicos	22
5.6. Toma de muestras para el análisis toxicológico	26
5.6.1. Aspectos legales relacionados con la toma y conservación de muestras para análisis de drogas en fluidos biológicos	26
5.6.2. Muestras utilizadas con mayor frecuencia en el laboratorio de química forense	31
5.7. Análisis Químico Toxicológico	36
5.7.1. Generalidades	36
5.7.2. Orientación del análisis toxicológico	39
5.7.3. Interpretación de los análisis toxicológicos	40
5.7.4. Extracción de tóxicos	42
5.7.4.1. Métodos no extractivos	43
5.7.4.2. Detección e identificación de tóxicos	44
5.8. Metodología general para el estudio químico toxicológico	45
6. Principales técnicas aplicadas en la detección de tóxicos en el laboratorio de química forense de la Procuraduría General de Justicia del Estado de Hidalgo	49
6.1. Alcohol etílico	49
6.1.1. Introducción	49
6.1.2. Fuentes de la intoxicación alcohólica	50



6.1.3. Clasificación Legal	51
6.1.4. Diagnóstico médico-legal de la embriaguez	51
6.1.4.1. Métodos clínicos para el diagnóstico de la embriaguez en seres vivos	52
6.1.4.2. Métodos bioquímicos para el diagnóstico de la embriaguez en seres vivos	53
6.1.5. Pruebas de consumo reciente de alcohol	53
6.1.5.1. Técnica para la detección de alcohol por cromatografía de gases	55
6.1.5.2. Prueba del alcoholímetro	56
6.1.6. Diagnostico de la intoxicación alcohólica en muestras de cadáver	58
6.2. Drogas de abuso	61
6.2.1. Anfetaminas	62
6.2.1.1. Clasificación legal	63
6.2.1.2. Técnica de extracción para anfetaminas	63
6.2.2. Benzodiacepinas	65
6.2.2.1. Clasificación legal	65
6.2.2.2. Técnica colorimétrica para identificación de Benzodiacepinas	65
6.2.2.3. Técnica de extracción para Benzodiacepinas	67
6.2.3. Cocaína	69
6.2.3.1. Clasificación legal	69
6.2.3.2. Método de Sweeney W. y cols. para la extracción del metabolito de la cocina benzoilecgonina (BE)	70
6.2.4. Marihuana	72
6.2.4.1. Clasificación legal	72
6.2.5. Técnica de extracción cloroformica para la separación de fármacos en fluidos biológicos	73
6.2.6. Técnica de extracción de drogas en orina	75
6.2.7. Técnica de 3 vías para la extracción de drogas en fluidos biológicos	78
7. Conclusiones	81
8. Bibliografía	83
Anexo 1	94
Técnicas espectroscópicas	94
Fundamento	94
Luz visible	94
Soluciones coloreadas	95
Ley de Lambert-Beer	96
Espectroscopía Ultravioleta Visible	97
Fundamento	97
Instrumentación ultravioleta y visible	103



Fundamento	103
Espectroscopia Infrarroja	106
Fundamento	106
Grados de libertad	109
Tipos de vibraciones	109
Identificación de sustancias	110
Cromatografía	114
Fundamento	114
Cromatografía en columna	115
Cromatografía en papel	118
Cromatografía en capa fina	119
Fundamento	119
Cromatografía de gases	121
Fundamento	121
Espectroscopia de masas	124
Fundamento	124
Componentes de los espectrómetros de masas	125
Cromatografía de gases acoplado a masas	128
Fundamento	128
Anexo 2	129
Alcohol etílico	129
Toxicología	129
Anexo 3	131
Anfetaminas	131
Toxicología.	132
Anexo 4	134
Benzodiacepinas	134
Toxicología	135
Anexo 5	137
Cocaína	137
Toxicología	138
Anexo 6	139
Marihuana	139
Toxicología	141



Índice de Tablas.

Tabla I. Clasificación Químico-Forense de los tóxicos	23
Tabla II. Clasificación de psicofármacos según la OMS	25
Tabla III. Ejemplos de no psicofármacos	26
Tabla IV. Muestreo en el caso de cadáveres	30
Tabla V. Muestras de mayor interés para la investigación de los grupos de tóxicos que se especifican	36
Tabla VI. Valoración de datos respecto a la concentración de alcohol en sangre	52
Tabla VII. Condiciones Instrumentales del cromatógrafo de gases para el análisis de alcoholemia	56
Tabla VIII. Valores de la curva de calibración del equipo de gases, para el análisis de alcoholemia	56
Tabla IX. Principales técnicas espectroscópicas empleadas en la PGJH	94
Tabla X. Tipos de cromóforos	102
Tabla XI. Símbolos utilizados en espectrofotometría	105
Tabla XII. Intervalo de frecuencias, tipos de vibración y enlaces en que se localizan en el espectro de infrarrojo	112
Tabla XIII. Masas de los fragmentos más característicos y frecuentes que aparecen en los espectros de masas	127
Tabla XIV. Datos estadísticos comprobados entre la alcoholemia y su afectación	130
Tabla XV. Algunos tipos de anfetaminas	133
Tabla XVI. Algunos tipos de benzodiazepinas	136

Índice de Figuras.

Figura 1. Posible número de sustancias tóxicas	24
Figura 2. Material utilizado para el análisis de alcoholemia por medio de cromatografía de gases	57
Figura 3. Ejemplo de un cromatograma de una muestra positiva para alcohol etílico en sangre	58
Figura 4. Curva de alcoholemia	59
Figura 5. Estructura de la beta-fenil-isopropil-amina (anfetamina)	62
Figura 6. Marcha analítica para la extracción de anfetaminas	64
Figura 7. Marcha analítica para la identificación de Benzodiacepinas (método colorimétrico)	66
Figura 8. Marcha analítica para la extracción de Benzodiacepinas	68
Figura 9. Cocaína en sus diferentes presentaciones planta, polvo y crack	69
Figura 10. Estructura general de la cocaína	70
Figura 11. Marcha analítica para la extracción del metabolito de la cocina benzoilecgonina (BE)	71
Figura 12. Plantas y hojas de marihuana	72
Figura 13. Estructura general del Δ^9 Tetrahidrocannabinol (principal metabolito de la marihuana)	73



Figura 14. Marcha analítica para la separación de fármacos por extracción cloroformica	74
Figura. 15. Marcha analítica para extracción de drogas en orina	77
Figura 16. Marcha analítica de 3 vías para la extracción de drogas en fluidos biológicos	78
Figura 17. Espectro Electromagnético	95
Figura 18. Atenuacion de un haz de luz de radiacion por una solucion absorbente	97
Figura 19. Transiciones electrónicas	98
Figura 20. Ejemplo de un espectro de ultravioleta de la cocaína	101
Figura 21. Componentes de un espectrofotómetro de ultravioleta visible	103
Figura 22. Niveles energéticos	107
Figura 23. Ejemplo de un espectro de infrarrojo, de una benzodiacepina (Valium [Diazepam] ó 7-cloro-1,3-dihidro-1-metil-1-5-fenil-2H-1,4-benzodiacepina	108
Figura 24. Componentes de un espectrofotómetro de infrarrojo	113
Figura 25. Columna para cromatografía	117
Figura 26. Ejemplo de una cromatografía en papel	119
Figura 27. Comparativo de una placa de cromatografía y un cromatograma	120
Figura 28. Ejemplo de una cromatografía en placa fina	121
Figura 29. Componentes de un cromatógrafo de gases	123
Figura 30. Componentes de un espectrómetro de masas de un haz	125
Figura 31. Ejemplo de espectro de masas del delta-9-tetrahidrocannabinol metabolito principal de la marihuana	126
Figura 30. Componentes de un espectrómetro de masas de un haz	
Figura 31. Planta de la coca	137



1. Abreviaturas

h ν	Quantum o cuanto de energía
cm/seg	Centímetros sobre segundo
m μ	milimicrón
μ	micrómetro
UV	Luz ultravioleta
IR	Infrarrojo
gr.	gramos
°C	Grados centígrados
mL	Mililitros
p. Ej.	Por ejemplo
CG	Cromatografía de Gases
EM	Espectrometría de Masas
-COOH	Carboxilo
-NH	Amina
-NH ₂	Amida
OH	Hidroxilo
mg	Miligramo
NAS	Nivel de Etanol en Sangre
c.c.	Centímetro Cúbico
ADH	Alcohol Deshidrogenaza
min.	Minutos
SNC	Sistema Nervioso Central
N	Normalidad
r. p. m.	Revoluciones por minuto
-Cl	Cloro
THC	Tetrahidrocanabinol



$t_{\max}$

Tiempo máximo

mg/Kg

Miligramo por kilogramo

pH

$-\log [H^+]$



2. Introducción.

El uso y abuso de sustancias adictivas constituye, desde las últimas décadas, un problema de salud social de importancia creciente en la mayoría de los países. Así nuevos grupos de la población, especialmente jóvenes, se ven afectados por estas prácticas. Se observa una difusión e incremento en el consumo y adicción a drogas como la cocaína, la heroína y la metanfetamina que vienen a sumarse al abuso de sustancias como la marihuana, los disolventes volátiles y los medicamentos psicotrópicos¹.

Las drogas de abuso constituyen un grupo de principios activos muy heterogéneo. Desde el punto de vista farmacológico y químico "Drogas son todas aquellas sustancias que producen dependencia y que se emplean voluntariamente o involuntariamente para provocarse determinadas sensaciones o estados psíquicos no justificados terapéuticamente". Son sustancias de origen natural o sintético con efectos sobre el sistema nervioso central, utilizadas con fines extraterapéuticos. El que una sustancia sea definida como droga se decide por elementos socioculturales más que por sus características farmacológicas². Lo que unifica a todas ellas es el hecho de que las personas consumidoras encuentran en su uso efectos placenteros y tienden a desear repetirlos, por lo que también reciben el nombre de "sustancias reforzadoras". Este concepto se refiere a que la utilización puede ser perjudicial o beneficiosa para el ser vivo, y que depende del tiempo de administración y de la dosis.

Las sustancias clasificadas como drogas lo son porque la sociedad las ha codificado culturalmente como tales entrando, además, en contacto con ellas y usándolas precisamente para conseguir los efectos que de ellas se esperan.



La investigación farmacológica y bioquímica ha demostrado las propiedades y los efectos de determinadas sustancias sobre el organismo, señalando cuáles son drogas teóricas o potenciales. Las drogas de abuso suelen ser sustancias psicotrópicas y estupefacientes.

El presente trabajo esta dirigido al estudio químico-toxicológico de las principales drogas de abuso que se consumen en el estado de Hidalgo y que están implicadas en los diferentes hechos delictuosos que ameritan la intervención del perito en materia de química forense, En este grupo de drogas se incluyen compuestos que forman parte de nuestros hábitos alimentarios (como el alcohol), así como medicamentos comercializados por su interés terapéutico (benzodiazepinas o anfetaminas) y, por supuesto, productos sin interés médico cuya distribución es ilegal (cocaína, marihuana, etc.).

Debido a la carencia de un manual conciso sobre el manejo y análisis de las drogas de abuso más comunes en el laboratorio de la Procuraduría General de Justicia del Estado de Hidalgo, surge la necesidad de realizar esta monografía con la finalidad de tener un compendio de las técnicas mas utilizadas para la detección y cuantificación de estas drogas.



3. Antecedentes.

A grandes rasgos la historia de la farmacología puede dividirse en dos periodos. Primero comienza desde la antigüedad y se caracteriza por observaciones empíricas en el empleo de medicamentos naturales sin purificar³.

Es muy interesante que incluso los pueblos primitivos pudieran descubrir relaciones entre medicamentos y enfermedades. En contraste con este periodo, la farmacología moderna se basa en investigaciones experimentales sobre lugar y modo de acción de las drogas. Estudios de este tipo fueron llevados a cabo inicialmente en el siglo XVIII y aumentaron considerablemente en el XIX. El nombre de Oswald Schmiedeberg (1838-1921) suele asociarse con el desarrollo de la farmacología moderna. Este campo de trabajo aumentó considerablemente al evolucionar la química orgánica sintética que proporcionó nuevos elementos y nuevos agentes terapéuticos. Mas recientemente, la farmacología se ha beneficiado del crecimiento impresionante de otras ciencias básicas y a su vez, ha contribuido al desarrollo de las mismas.

A pesar de la considerable superposición entre las diversas disciplinas de la biología, el tratamiento lógico del inmenso cuerpo de conocimientos relacionados con medicamentos y efectos de las drogas constituye el campo primario de la farmacología.

Los primeros trabajos que dieron el inicio de la investigación forense en sus diferentes ramas se consideran los de Purkine, Galton y Vucetich⁴ sobre Dactiloscopía, los de Devergie y colaboradores⁵ sobre investigaciones osteológicas; los de Ulenhat, Meyer, Van Deen, Teichmann y Lechan Marxo⁶ sobre las manchas de sangre, los de



Quenu y Delbet, Cannon y Bayliss⁷ sobre la teoría de la toxemia traumática; los de Grehant, Haldane, Moso⁸ y colaboradores, sobre monóxido de carbono; etc., los cuales dan idea del adelanto científico alcanzado en su tiempo.

Dado que la química forense es el conjunto de todos los conocimientos químicos y biológicos aplicados a resolver los problemas que se plantean desde la vertiente del derecho, su método de estudio no es otro que el de las ciencias médicas y de los recursos de que ésta se vale para tratar de resolver los problemas de quienes se encargan de administrar la justicia. Como ciencia que es, está integrada por dos métodos fundamentales: la observación y la experimentación⁹.

La observación puede ser simple (directa) o instrumental, es simple cuando se hace en el occiso o lugar de los hechos. La observación instrumental se refiere a la información obtenida al aplicar un método analítico instrumental, esta información cuali/cuantitativa es de la(s) sustancia(s) presentes en el organismo, causantes de la intoxicación o muerte del individuo.

En la actualidad existen diversos equipos de espectroscopía y cromatografía, que son de gran ayuda en la búsqueda de metabolitos de drogas de abuso, los cuales nos permiten la identificación y cuantificación de los fármacos que se tratan de encontrar en las diversas muestras de interés biológico (ver anexo 1 Pág. 94).

En los últimos veinte o treinta años se han alcanzado sorprendentes avances en tecnología y equipo. El químico de hoy está en condiciones de separar una mezcla impura en sus componentes, mediante el uso de diversos tipos de cromatografía.



Ahora, se logra obtener una gran cantidad de información acerca de un compuesto en cuestión de unas horas, con diversos instrumentos y con solo pequeñas cantidades de muestras¹⁰.

Las mediciones de las propiedades físicas de los diferentes compuestos, se realizan en los instrumentos denominados espectrómetros o espectrofotómetros, que registran los datos obtenidos en los llamados espectrogramas o espectros, proporcionando así una rápida referencia del analito. Este aspecto del estudio de la química, recibe el nombre de espectroscopia.

3.1. Generalidades sobre farmacología y química forense.

La **farmacología**, (del griego, *pharmacon*, fármaco, y *logos*, ciencia) es la ciencia que estudia el origen, las acciones y las propiedades de las sustancias químicas en los organismos vivos. En un sentido más estricto se considera la farmacología como el estudio de los fármacos, es decir, aquellas sustancias utilizadas en el tratamiento, cura, prevención o diagnóstico de una enfermedad, o para evitar la aparición de un proceso patológico no deseado. Esta ciencia abarca el conocimiento de la historia, origen, propiedades físicas y químicas, asociaciones, efectos bioquímicos y fisiológicos, mecanismos de absorción, biotransformación y excreción de los fármacos para su uso terapéutico o no¹¹.

La farmacología es una de las ciencias farmacéuticas principales, siendo una aplicación química de una mezcla entre biología molecular, fisiología/fisiopatología, biología molecular y bioquímica.



Aunque la farmacología destaque sobre las otras ciencias farmacéuticas, no es más importante que las otras (química, farmacéutica, farmacognosia, botánica, fotoquímica...). Ya que todas ellas se apoyan mutuamente para un beneficio común.

La **química forense** es otra alternativa a los muchos caminos que puede seguir un químico en el ámbito de la investigación, además de ser una buena opción a la hora de hacer aportes significativos a la sociedad, donde actuar, junto con su alto nivel de conocimiento analítico y su capacidad de manejo instrumental, es de vital importancia para descifrar las evidencias y contribuir a la brusquedad de la verdad¹².

Uno de los principios fundamentales de los cuales se rige la ciencia forense y específicamente la química forense se basa en la premisa de cuando dos objetos entran en contacto, habrá un intercambio entre los dos. Es decir “cada contacto deja un rastro”, frase que popularizó Edmundo Locard, padre de la criminalística moderna, provocando así un giro en la metodología investigativa. Es por esto que el químico forense rastrea el intercambio entre materiales y trae a la luz lo que es invisible a los ojos. Basándose en sus conocimientos y en las tecnologías desarrolladas, tiene la capacidad de rastrear sustancias o huellas que estas dejan en la escena del crimen. Por lo tanto puede trabajar con sustancias no biológicas o biológicas tales como pinturas, vidrios, líquidos, trazas de pólvora provenientes de la deflagración de un disparo por arma de fuego, las cuales pueden ser analizadas mediante métodos analíticos apropiados.

Otro de los campos en que un químico forense puede desarrollarse es en Toxicología donde principalmente se tratan muestras biológicas, orina, pelo, sangre,



semen, saliva o contenido gástrico y así poder determinar por ejemplo el nivel de alcohol o drogas que una persona ha consumido al momento de la toma de muestras.

Con el paso del tiempo la química analítica ha adquirido una gran importancia en la investigación criminal, sobre todo a la hora de conocer la naturaleza intrínseca de cualquier sustancia o elemento y más aun, cuando sirve para auxiliar en la investigación científica de los delitos. Por lo tanto los químicos forenses tienen tres tareas principales: primero analizar las evidencias en el laboratorio, luego interpretar la información que se saca de ellas y por ultimo, se puede llegar a defender lo encontrado, mediante la testificación del químico forense en un juicio.

3.2. Validación de los métodos analíticos.

La validación de cualquier método analítico es la última etapa de su desarrollo¹³. Se trata de demostrar que cuando sea aplicado, el método actuará justamente tal y como se espera que lo haga y, consecuentemente, que permitirá obtener información analítica de muestras desconocidas. Desde este punto de vista, el proceso de validación implica documentar adecuadamente la calidad del procedimiento, para una serie de características de funcionamiento de modo que pueda ser juzgado de forma objetiva y a la vez, disponer de criterios numéricos con el al objeto de que nuevos laboratorios que decidan hacer uso de dicho procedimiento puedan verificar que tales características son reproducidas en las nuevas condiciones de utilización.

Desde luego, la extensión o rigurosidad con la que los procesos de validación deben ser llevados a cabo depende de las circunstancias. En laboratorios (industrias



farmacéuticas o laboratorios actuando bajo regulaciones gubernamentales de estricto cumplimiento) que operan en entornos de las buenas practicas de laboratorio, la validación debe constituir un proceso permanente, en el que cabe distinguir tres facetas:

- a) **Validación de métodos** o validación prospectiva es el proceso de validación que se realiza cuando un nuevo procedimiento es desarrollado o se decide su introducción.
- b) **Adecuación de sistemas** validación efectuada cuando se transfiere un procedimiento (que habrá sido previamente validado) desde un laboratorio a otro, o cuando se quiere establecer que un determinado sistema instrumental esta funcionando correctamente, como condición previa a su utilización para el análisis de nuevas muestras.
- c) **Seguimiento y análisis de tendencias:** es acumulación de datos y registros en una serie temporal con el objetivo de verificar las facetas anteriores o de facilitar la resolución de problemas de funcionamiento del sistema instrumental. A su vez, cada una de estas facetas posee diversos componentes. En el caso de validación de métodos deben distinguirse 8 características fundamentales:

- 1. **Precisión.** Es la medida del grado de reproducibilidad de un procedimiento analítico en condiciones normales de operación. Se suele expresar como coeficiente de variación (%RSD). La precisión es una característica de funcionamiento de un procedimiento analítico que se relaciona directamente con los errores aleatorios aunque, dependiendo de la forma



en que sea evaluada puede implicar igualmente errores sistemáticos (con los que de hecho se debe relacionar la exactitud).

2. **Exactitud.** Se relaciona con los errores sistemáticos y mide el grado en que un procedimiento analítico produce valores que coinciden con las verdaderas magnitudes que tratamos de medir o bien, desde otro punto de vista, el porcentaje de analito recuperado en el ensayo.
3. **Limite de detección.** Es la menor concentración (o masa) de un analito que puede ser detectada en una muestra. Normalmente se expresa en función de la relación señal/ruido o bien en las mismas unidades en las que se dan los resultados habitualmente para las muestras.
4. **Limite de cuantificación.** Es la mínima concentración (o masa) del analito que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo condiciones de trabajo especificadas. Normalmente se expresa en las mismas unidades utilizadas para los informes de las muestras.
5. **Selectividad.** Es la capacidad de un sistema analítico para medir en forma exacta un analito e presencia de otros componentes. Visto de otra manera es el grado de interferencias que presenta el procedimiento y, en cromatografía, se suele expresar en términos relativos a la resolución.
6. **Rango dinámico.** Es el intervalo entre el nivel inferior y superior entre los cuales el analito puede ser medido mediante el procedimiento propuesto.



7. **Linealidad.** Es la capacidad de generar resultados que están relacionados directa o matemáticamente de forma proporcional a la concentración del analito.
8. **Robustez.** Es la sensibilidad (o ausencia de la misma) de un procedimiento analítico a los pequeños cambios sufridos por las condiciones de operación a lo largo del tiempo de uso del método.

En el caso de la validación de métodos deben distinguirse 3 etapas fundamentales:

- **Reproducibilidad.** Es cuando el proceso es utilizado en repetidas veces en días diferentes o por laboratorios (sistemas analíticos) distintos.
- **Revisión de la separación.** Generalmente nos interesa poder calcular datos como son: resolución, tiempo de retención, área, altura, ruido en la línea base, deriva en la línea base, numero de platos y asimetría de los picos. Toda esta información resulta enormemente útil con vistas a garantizar que el sistema funciona correctamente y facilita la resolución de problemas cuando alguno de los criterios se viola.
- **Resolución de problemas.** Es una de las cuestiones que más tiempo se ocupan en un laboratorio ya que pueden variar estos debido a la temperatura, flujo, composición, etc.



4. OBJETIVOS.

4.1. Objetivo general.

- Elaborar una monografía sobre las principales técnicas y metodologías analíticas aplicadas a la química forense, utilizadas en la Procuraduría General de Justicia del Estado de Hidalgo, la cual servirá como un manual de referencia rápida donde se puedan consultar los fundamentos de las técnicas, aplicaciones y métodos de análisis aplicados a diversas muestras de interés forense.

4.2. Objetivo específico

- Hacer un compendio de las principales técnicas para la identificación de drogas de abuso (anfetaminas, benzodiazepinas, cocaína y marihuana), desde el punto de vista de la química forense, su toxicología, su clasificación legal y los principales métodos para su extracción e identificación en fluidos biológicos.
- Exponer desde el punto de vista de la química forense la intoxicación por alcohol etílico su toxicología, su clasificación legal y los principales métodos para la extracción e identificación en fluidos biológicos.



5. Investigación químico-toxicológica.

5.1. Introducción.

La investigación toxicológica¹⁴ es el conjunto de procesos analíticos que tienen por objeto el aislamiento, identificación y determinación cuantitativa de los tóxicos tanto en el ser vivo como en el cadáver, con el fin de permitir el diagnóstico y el esclarecimiento de los hechos.

En sus orígenes la Toxicología Forense¹⁵ fue fundamentalmente analítica y su campo de acción el cadáver; en la actualidad las funciones de esta rama de la toxicología son mucho más extensas, proyectándose sobre el individuo vivo, sobre el cadáver, sobre la actividad laboral y sobre el medio ambiente.

Desde el punto de vista puramente analítico, la investigación toxicológica es la misma en las distintas ramas de la toxicología (clínica, forense, industrial, ambiental y alimentaria). Básicamente, las técnicas utilizadas son semejantes, no obstante, el análisis toxicológico médico legal tiene algunas peculiaridades:

1. La amplitud y profundidad del análisis.
2. El tiempo aproximado de análisis.
3. Interpretación de los resultados.

5.2. Amplitud y profundidad del análisis.

El toxicólogo forense debe ser capaz de detectar cualquier sustancia química exógena presente en el material biológico objeto de la pericia. El gran número de



sustancias tóxicas constituye una limitación importante y de hecho la mayoría de los laboratorios dirigen su investigación hacia aquellos tóxicos que están implicados en la mayoría de los casos (según las estadísticas).

Normalmente un análisis toxicológico completo, para detectar la presencia de cualquier sustancia extraña, no se realiza a ciegas y tampoco es solicitado en tales términos¹⁶. Cada caso tiene sus peculiaridades y el soporte toxicológico requerido debe ser planeado y solicitado adecuadamente. Así el toxicólogo forense tiene dos opciones en cuanto a la elección de los análisis a seguir:

1. **Análisis generales.** Deben ser sensibles, aunque no necesariamente específicos, y detectar gran número de sustancias, de modo que los resultados negativos permitan centrar la atención en unos pocos grupos.
2. **Métodos cuantitativos fiables.** Una vez que se sospecha la presencia de una sustancia por los análisis anteriores, su presencia debe confirmarse al menos por dos técnicas independientes. Los resultados cuantitativos deben ser consistentes, lo que significa: evitar al máximo las interferencias y conocer la precisión y exactitud del método utilizado.

5.3. Elección del método de análisis.

En los laboratorios de análisis, se prefieren métodos sencillos con reactivos estables, siempre cuando su precisión y exactitud sean suficientes. Cualquier método nuevo debe someterse a un examen crítico antes de aplicarse.

Las manipulaciones para análisis¹⁷ pueden dividirse en dos grupos principales:



1. **Análisis cualitativo.** Es la identificación por medios químicos de las sustancias que se encuentran en una mezcla.
2. **Análisis cuantitativo.** Es la medición de la cantidad de una sustancia específica que se encuentra en la muestra.

En el laboratorio de química forense, los métodos cualitativos se utilizan para establecer la presencia de drogas en sangre, contenido gástrico y orina identificando los principales grupos funcionales, mientras los métodos cuantitativos permiten conocer la cantidad de las distintas sustancias en fluidos biológicos.

5.3.1. Consideraciones especiales.

Según el procedimiento analítico escogido, se aplican una o varias de las consideraciones o precauciones siguientes:

- **Limpieza de la cristalería.** La cristalería utilizada en los análisis toxicológico no solo debe estar limpia, sino que no debe contener ningún tipo de sustancia contaminante, por lo que necesita un cuidado especial. Se debe limpiar de la forma siguiente: la cristalería se coloca en una solución al 5% de sosa comercial y se hierve durante 25 minutos y se deja enfriar, enjuagándose con agua de la llave y posteriormente con agua destilada.
- **Pureza de los solventes.** Los solventes que se utilizan en la utilización de las diversas técnicas y para los equipos debe ser de la mejor calidad, es decir debe ser de la pureza adecuada de acuerdo al tipo de análisis y que estos no se encuentren caducados ya que podrían alterar los resultados de los análisis.



- **Tiempo aproximado de análisis.** El tiempo aproximado de análisis se define como el intervalo entre el arribo de la muestra al laboratorio y el tiempo mínimo en que se puede ofrecer el resultado analítico. En toxicología forense rara vez se requiere un resultado inmediato, lo que permite al analista emplear el tiempo necesario para realizar su investigación.

5.4. Interpretación de los resultados.

El dato numérico es sólo una parte del análisis toxicológico y aunque es una parte esencial, no es la única que ha de considerarse en el proceso global. La interpretación requiere tener en cuenta, además, todas las circunstancias implicadas en el caso. La resolución del problema debe hacerse para cada caso en particular por una discusión razonada de todos los hechos y todas las partes que de alguna forma intervienen en la investigación medico legal.

5.4. Tóxicos

En Química Forense los tóxicos se clasifican en seis grupos de acuerdo a los métodos que se utilizan para aislarlos de los fluidos biológicos¹⁸. En la Tabla I se ilustran los diferentes grupos, el método común de aislamiento y ejemplos principales de cada uno de ellos. Como puede observarse en la Figura 1, el grupo mas numeroso son las drogas, con alrededor de 1000 compuestos diferentes lo que le da una importancia singular además de tener la mayor incidencia en casi todo el mundo, ya sea como drogas de abuso o como medicamentos de manera general. Ahora por conveniencia en nuestro



trabajo hemos dividido las drogas en psicofármacos y no psicofármacos. Los psicofármacos son todas aquellas drogas que tienen acción preferencial sobre el sistema nervioso central y los no psicofármacos son todas las restantes.

Tabla I.- Clasificación Químico-Forense de los tóxicos.

Grupo	Método de aislamiento	Ejemplo
Aniones	Diálisis	Clorato, fluoruro, hipoclorito, persulfito, nitrato, fluoroacetato.
Metales	Incineración	Arsénico, antimonio, plomo, litio, mercurio, talio.
Gases	Difusión	Monóxido de carbono, cianuro, metano, gases anestésicos, óxido nitroso.
Volátiles	Destilación	Etolanol, metanol, hidrato de cloral, aldehídos, tolueno, acetona.
Pesticidas	Extracción líquido - líquido sólido – líquido	Fosforados, clorados, carbamatos.
Drogas	Extracción líquido - líquido sólido – líquido	Psicofármacos, no psicofármacos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), ha clasificado los psicofármacos en tres grandes grupos: psicolépticos o psicodpresores, psicoanalépticos o estimulantes y psicodislépticos o perturbadores (Tabla II). En la Tabla III presentamos algunos de los no psicofármacos con ejemplos significativos de los mismos¹⁹.

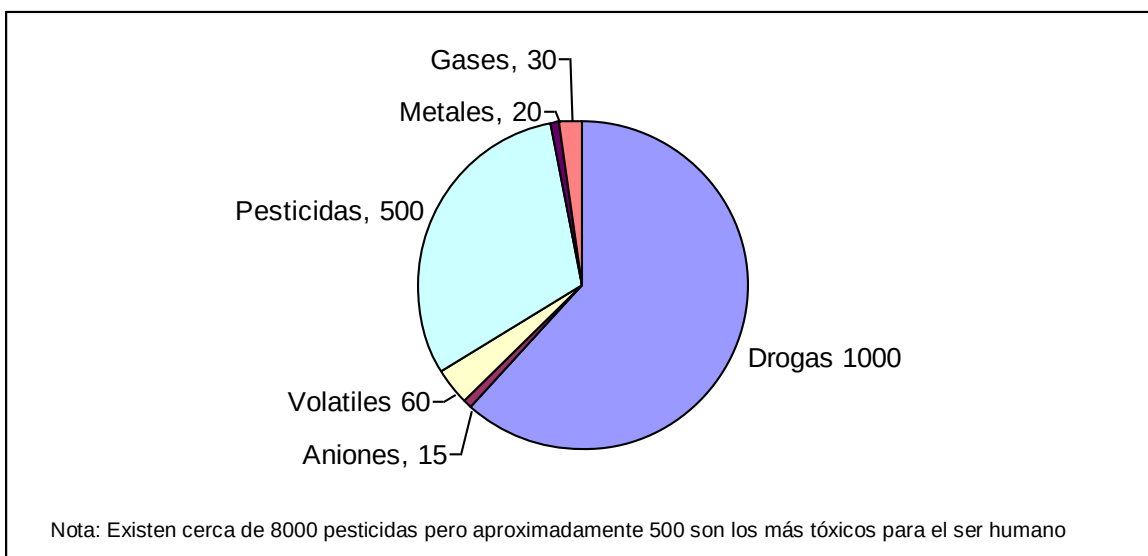


Figura. 1. Posible número de sustancias tóxicas.



Tabla II.- Clasificación de psicofármacos según la OMS.

Clasificación	Efectos	Ejemplos
Psicolepticos	Hipnóticos	Barbitúricos: fenobarbital, amobarbital, secobarbital, etc. No barbitúricos: hidrato de coral, glutetimida, etc. Derivados de la Benacticina: benacticina
	Tranquilizantes menores	Carbamatos: meprobamato, carisoprodol, etc. Benzodiazepinas: diacepam, nitracepam, medacepam, etc.
	Tranquilizantes mayores	Enotiacinas: clorpromacina, trifluoperacina, etc. Butirofenonas: haloperidol, etc. Reserpinoides: reserpina, etc.
Psicoanalépticos	Cocaína y derivados	Cocaína, novocaina, procaina, etc.
	Tipo Anfetaminas	Anfetaminas y derivados: metanfetamina, Mda, etc. Khata edulis: norseudoefredrina (p. activo) Fenmetracina
Psicodislépticos	Alucinógenos	Indolalquilaminas: LSD, etc. Fenilalquilaminas: mezcalina, etc. Preparados de la cannabis: marihuana, Asís, etc.
	Tipo Atropinico	Atropina, etc
	Tipo opiáceos	Opiáceos y Opióides: morfina, heroína, etc.



Tabla III. Ejemplos de no psicofármacos.

Clasificación	Ejemplos
β -Bloqueadores Adrenoreceptores	Propranolol, sotalol, timolol, practolol.
Antiarrítmicos	Tocainida, meclozine.
Anticolinérgicos	Tigloidina, metilsulfato de polidina.
Diuréticos	Metolazone, furosemida, mefruside, hidroclorotiazida.
Antibióticos	Penicilinas, tetraciclinas, etc.
Hipoglucemiantes	Glibornurida, clorpropamida, etc.
Glucósidos cardíacos	Digoxina, digitoxina.

5.6. Toma de muestras para el análisis toxicológico.

La selección de las muestras²⁰ adecuadas para el análisis y su correcta conservación son requisitos indispensables en la investigación toxicológica. Las muestras para el análisis toxicológico deben recogerse teniendo en cuenta las condiciones particulares de cada caso y las referentes a la distribución y metabolismo.

5.6.1. Aspectos legales relacionados con la toma y conservación de muestras para análisis de drogas en fluidos biológicos.

1. El personal que tome la muestra es responsable de que se rotule con al menos los siguientes datos (autoridad, agencia, numero de averiguación, numero de articulo, tipo de delito, fecha y hora de toma de muestra,



descripción de la muestra, nombre del que la recaba...etc.), de su conservación antes de que llegue al laboratorio y de su transporte, además de facilitar los documentos necesarios con todos los datos requeridos (solicitud de peritaje).

2. Durante la toma de la muestra en el caso de que la o las personas estén involucradas en un hecho delictuoso, el Agente del Ministerio Público o Autoridad competente, debe dar fe de esta, con el objetivo de que no sea adulterada o sustituida lo que conlleva a la invalidación de la misma.
3. El grupo de expertos recomienda la orina como muestra idónea para el análisis de drogas de abuso, de manera que dicha muestra debe tomarse por duplicado en frascos de 50 mL de capacidad, que deben llenarse sus 2/3 partes. Deben evitarse los frascos plásticos siempre que sea posible debido a que las drogas pueden absorberse en la superficie de los frascos y se afecta considerablemente la recuperación.
4. Inmediatamente después de la colección en personas vivas, debe medirse la temperatura (que debe estar entre 32 y 38 C° dentro de los 4 minutos después de su recolección), la cual se realiza observando el termómetro que contienen algunos recipientes especiales y el pH (con tiras reactivas especiales). Si se sospecha cualquier adulteración se debe notificar al laboratorio. La orina debe observarse y ver si tiene algún precipitado, observar su color y la presencia de espuma.



5. Es importante mantener las muestras en frío y en un lugar oscuro en el período de tiempo entre su toma y el análisis de las mismas.
6. Cuando la muestra llega al laboratorio se debe revisar y checar con las solicitudes de petición ministerial para asegurarnos que los datos coincidan plenamente, guardándose una de las muestras para reiteración de los análisis si fuese necesario.
7. Las solicitudes de peritaje deben contener:
 - Órgano que solicita el peritaje y antecedentes del caso.
 - Nombre y apellidos del implicado, edad y peso.
 - Fecha, hora y tipo de muestra que se colecta.
 - Tiempo aproximado del último consumo.
 - Sustancias consumidas en las últimas horas o días.
 - Patrón de consumo.
 - Temperatura y pH de la muestra en el momento de su recolección.
8. Las muestras se deben inscribir en un registro de entrada, dándole a la misma un número consecutivo que será escrito en los frascos y en la solicitud de peritaje por la persona que la reciba, anotando también la cantidad de muestra recibida, hora de recepción, etc.



9. Si los análisis no se comienzan en el momento de la recepción las muestras deben guardarse en refrigeración a 4 C°.
10. Es importante mantener una completa seguridad y confidencialidad en todo momento. Cualquier información relacionada con el caso debe considerarse secreta y colocarse en un lugar seguro.
11. Al concluir el caso debe realizarse un informe pericial dirigido al órgano de instrucción que lo solicitó, el cual debe reflejar no solo los resultados de los análisis sino todos los procedimientos que se utilizaron para obtenerlos.
12. En el caso de cadáveres, las muestras pueden ser muy variables pero la orina sigue siendo la muestra mas importante para la determinación de drogas de abuso. En la Tabla IV aparece información adicional acerca del muestreo en casos de cadáveres.



Tabla IV.- Muestreo en el caso de cadáveres.

Muestra	Cantidad	Droga a Investigar
Contenido Gástrico	Todo	Cualquier droga ingerida
Hígado	250 gr.	Todas las drogas
Bilis	Toda	Opiáceos
Orina	Toda	Idónea para drogas de abuso
Cerebro	100 gr. parte media y central	Solventes, Cocaína
Sangre	2 muestras de 5 mL. y 10 mL.	Una para etanol, otra para drogas
Pelos	300 mg	Drogas de abuso
Músculos	Cualquiera	Mayoría de tóxicos

13. Todas las muestras deben guardarse en refrigeración antes y después de terminados los análisis y las muestras de sangre para determinación de etanol deben conservarse con fluoruro de sodio al 2 %.
14. Una vez analizadas las muestras (sangre, contenido gástrico, vísceras, residuos no patológicos derivados de los análisis y objetos punzocortantes), se deben inactivar, ya que son considerados residuos biológicos infecciosos de acuerdo a la Norma oficial mexicana NOM-052-ECOL/93 y cada una de las muestras deberán colocarse en las bolsas y recipientes adecuados, como lo marca la NOM antes mencionada, para que las compañías especializadas los transporten a las plantas de destrucción final



(tratamiento) y los confinen los residuos ya tratados en rellenos autorizados por parte de las autoridades correspondientes, ajustándose a las disposiciones de la NOM-ECOL/95.

De manera general los análisis de drogas en fluidos biológicos por parte de los laboratorios forenses tienen esencialmente dos objetivos fundamentales²¹:

- a) Diagnóstico del consumo de una droga de abuso en el marco de un proceso judicial.
- b) Diagnostico clínico en toxicología clínica y en tratamientos de rehabilitación.

5.6.2. Muestras utilizadas con mayor frecuencia en el laboratorio de química forense.

1. **Contenido Gástrico.** Los líquidos del lavado gástrico (primeros 500 mL) son muestras que deben remitirse al laboratorio siempre que sea posible. Estas muestras son esenciales en el monitoreo general de tóxicos, ya que no presentan problemas técnicos en su utilización, siendo bastante fácil la separación del compuesto tóxico. De cualquier forma, los resultados obtenidos con esta muestra no son representativos del grado de intoxicación, puesto que se refieren al tóxico no absorbido. Este debe ser conservado en frío, si la muestra no se va a analizar inmediatamente debe conservarse en frío a 4 C°.
2. **Sangre.** Es una de las muestras más útiles para la identificación de tóxicos y especialmente para el análisis cuantitativo. La sangre se utiliza normalmente para



el monitoreo de tóxicos ácidos y neutros, cuyas concentraciones en caso de intoxicación son elevadas, así como para el estudio de sustancias volátiles, siempre que se conserven en recipientes cerrados herméticamente. Una consideración digna de mención es la referente a la conveniencia de obtener muestras de sangre que fluyan libremente en cavidad cerrada (p. ej., vena femoral) sin necesidad de presionar ningún tejido para obtener la muestra suficiente, la razón es que, si se presiona, se recogerá también fluido hístico que puede tener concentraciones bastante diferentes del tóxico, introduciendo así modificaciones importantes en la concentración del tóxico detectado en la sangre. En general tampoco se recomienda el uso de sangre recogida en la autopsia de cavidades abiertas, por la posibilidad de que se contamine con otros fluidos que pueden tener un efecto de concentración o dilución del tóxico. También debe tenerse en cuenta el hecho de la distribución del tóxico en la totalidad de la sangre donde se asegura que tanto los tóxicos que se concentran en los eritrocitos como los que se unen a las proteínas van a estar presentes en la muestra analizada. Sin embargo, el plasma resulta más cómodo, ya que posee menos interferencias y pigmentos de la sangre y se evita la formación de emulsiones con los disolventes orgánicos, como sucede frecuentemente con la totalidad de la sangre. Las muestras de sangre post mortem están a menudo hemolizadas y putrefactas, pero son las únicas disponibles, en estos casos puede dejarse la muestra en reposo y utilizarse cualquier porción de la misma próxima a la superficie, que será rica en



plasma. La muestra sanguínea debe conservarse en refrigeración y de ser posible agregar un anticoagulante (en caso de que la muestra sea de una persona viva).

3. **Orina.** La orina representa una muestra idónea para realizar una gran variedad de ensayos preliminares en el monitoreo de tóxicos. Las mayores ventajas de esta muestra son que la concentración de un tóxico en este fluido puede llegar a ser 100 veces mayor que en la sangre y además, la orina está exenta de proteínas, por lo que las interferencias son mínimas. Una desventaja es que muchos tóxicos se eliminan prácticamente en su totalidad como metabolitos, que a veces son comunes a varias sustancias, por lo que en estos casos la identificación del tóxico requerirá el análisis de otro fluido o tejido. Por otra parte, si la muerte se produce rápidamente, como en el caso de la inyección de un analgésico narcótico o por inhalación de ácido cianhídrico, la detección del tóxico o sus metabolitos en orina será imposible. A pesar de todo, la orina sigue siendo la muestra de elección para la detección de drogas de abuso, ya que puede obtenerse fácilmente y en cantidades suficientes, y generalmente contienen concentraciones detectables de tóxicos, incluso cuando se han administrado a dosis terapéuticas. Es aconsejable no añadir conservadores que podrían interferir en el análisis posterior.
4. **Humor vítreo.** Su fácil accesibilidad, hacen que este fluido sea sumamente útil para el análisis de alcohol y otras drogas, ya que se dispone de 2 mL en cada ojo, además de no contener demasiadas proteínas y estar aislado de la circulación general, por lo que posee pocas enzimas y es más resistente a la contaminación



bacteriana, esta muestra al igual que las anteriores debe ser conservada en frío hasta su análisis.

5. **Hígado.** El hígado es el lugar donde se lleva a cabo la biotransformación de la mayoría de los tóxicos y de hecho, los niveles de tóxico en este tejido son en general superiores a los de la sangre. En ocasiones el hígado puede ser el único tejido donde se encuentre una sustancia tóxica en concentración adecuada para su identificación y cuantificación. Todo ello unido a su gran tamaño determina su utilidad en los análisis toxicológicos post mortem. Este tejido ha sido valorado clásicamente como la muestra más importante para la detección de cualquier tipo de tóxico, sobre la base de las consideraciones anteriores. Sin embargo, en la actualidad su uso ha decrecido, a medida que se ha incrementado la sensibilidad de las técnicas analíticas, los cuales permiten trabajar satisfactoriamente con sangre. No obstante, el hígado es de gran utilidad cuando se trata de cuerpos exhumados o en un avanzado estado de descomposición, casos en los que es de gran dificultad obtener muestras de sangre. Al extraer el hígado, es importante evitar la contaminación por bilis, por lo que es aconsejable extraer la vesícula biliar antes de proceder a tomar la muestra de hígado. Al igual que con otras muestras de tejido, no deben adicionarse conservadores que puedan contaminar o producir interferencias en el análisis, debiendo mantenerse, en la medida de lo posible, a bajas temperaturas.
6. **Cerebro.** El cerebro es muy útil cuando se trata de muertes por inhalación de solventes debido a las altas concentraciones que alcanzan estas sustancias en el



tejido cerebral, donde además, son retenidas tras la muerte. Se debe mantener en refrigeración hasta su respectivo análisis.

7. **Riñón.** Es el tejido de elección en intoxicaciones por metales y otros tóxicos que se acumulan específicamente en él.
8. **Vesícula Biliar.** La bilis es interesante para el análisis de sustancias que se eliminan por vía biliar. Es particularmente útil en las muertes por sobredosis de opiáceos, ya que contienen altas concentraciones de los glucurónidos de dichos compuestos. Se mantiene en frío para evitar su descomposición.
9. **Cabellos, uñas y huesos.** Deben recogerse estas muestras cuando se sospechan intoxicaciones crónicas por arsénico, talio, uranio, berilio, estroncio o fluor.

La tabla V nos muestra los diferentes tipos de drogas y el tipo de muestra orgánica que se utiliza para su búsqueda²².



Tabla V: Muestras de mayor interés para la investigación de los grupos de tóxicos que se especifican.

Tóxico	S.	O.	C. G.	C.	H.	R.	B.	H. U y P	M.S.I.
Drogas de Abuso	X	X			X	X	X		X
Alcohol Etílico	X		X						X
Disolventes Orgánicos	X	X	X	X					X
Medicamentos	X	X	X	X	X	X			X
Plaguicidas	X	X	X	X	X	X	X		X
Metales	X	X	X	X	X	X		X	X
CO y gases	X	X							

S. = Sangre; **O.** = Orina; **C. G.** = Contenido Gástrico; **C.** = Cerebro; **H.** = Hígado; **R.** = Riñón; **B** = Bilis; **H. U. y P.** = Huesos, Uñas y Pelos; **M. S. I.** = Muestras Sin Identificar.

5.7. Análisis Químico Toxicológico.

5.7.1. Generalidades.

Una vez que la muestra ha llegado al laboratorio²³, comienza la investigación toxicológica propiamente dicha, en la que pueden darse dos situaciones diferentes:

- Que se conozca la naturaleza del tóxico implicado
- Que el tóxico consumido no sea especificado.



En el primer caso se pueden utilizar directamente métodos específicos para la identificación y cuantificación del tóxico, con el consiguiente ahorro de tiempo, esfuerzo y dinero. Sin embargo, es mucho más frecuente encontrarse frente a una muestra en la que no se conoce si contiene alguna sustancia tóxica, lo cual exige seguir una metodología completa y en muchos casos compleja, para llevar a buen término el análisis toxicológico.

En términos generales se pueden distinguir las siguientes fases de un análisis toxicológico:

1. Separación o extracción del tóxico de la muestra.
2. Detección e identificación del tóxico.
3. Cuantificación del tóxico (solamente cuando este sea requerido).

La primera de ellas constituye, en general, el paso previo a toda determinación analítica y es quizá la más importante de las tres etapas consideradas. La mayoría de las técnicas analíticas requieren; en efecto, que el tóxico se encuentre perfectamente aislado, libre de impurezas.

En esencia, la extracción tiene una doble finalidad: el aislamiento y purificación del tóxico, y la determinación de la concentración de dicho tóxico en el extracto obtenido. Gracias a estos dos fines se facilitará la detección en los pasos siguientes del análisis toxicológico²⁴.

La segunda etapa corresponde al análisis cualitativo. Admitiendo que la extracción se haya realizado correctamente, el siguiente paso consiste en detectar la presencia de alguna sustancia tóxica en el extracto. En general se requieren métodos sensibles y que



abarquen el mayor número posible de tóxicos (monitoreo), a fin de descartar su presencia o detectar alguno de ellos.

En ocasiones la tercera y última etapa del análisis toxicológico, la cuantificación, es también de máxima importancia en toxicología forense. Aunque hay algunos tóxicos cuya sola presencia en una muestra son indicativos de una intoxicación, son muy frecuentes las intoxicaciones con productos que se usan normalmente con otros fines (terapéuticos, dietéticos, etc.), cuya detección no es suficiente para pensar en una intoxicación y mucho menos, para atribuirles la causa de la muerte.

Cuando se trata de tóxico ingeridos, el contenido del estómago y de los intestinos debe ser analizado, primero por la gran cantidad de tóxicos no absorbidos que pueden existir. En segundo lugar se analizará la orina por ser el riñón el órgano principal de excreción para la mayoría de los tóxicos. En tercer término conviene procesar el hígado, sitio de la biotransformación de la teoría de las sustancias tóxicas, absorbidas por vías digestivas. De manera general, en toxicología analítica es preferible la muestra de sangre por ser más representativa de la concentración del tóxico en el sitio del receptor. Los niveles sanguíneos son cuantitativos mientras los niveles en orina tienen un carácter cualitativo²⁵.

Cuando la concentración de tóxico en la sangre es demasiado baja para ser determinadas por los métodos convencionales deben preferirse las muestras de orina; tal es el caso de tóxicos que tienen rápida eliminación o grandes volúmenes de concentración, como la fenotiacinas, barbitúricos, bezodiacepinas, antidepresivos tricíclicos y antihistamínicos.



El adecuado conocimiento de la toxicocinética permitirá la selección de muestras específicas. Los análisis pueden complicarse debido a los cambios químicos que produce la descomposición del cadáver. Las sustancias que así se originan pueden interferir en el aislamiento y en la identificación de los tóxicos sospechosos, por ejemplo; la concentración de cianuro y etanol, así como la saturación sanguínea de monóxido de carbono, pueden modificarse según el grado de putrefacción. Otros tóxicos como el arsénico, barbitúricos, mercurio y estricnina son muy estables y pueden identificarse aún años después de la muerte²⁶.

El laboratorio forense emplea una variedad de procedimientos analíticos. Primero realiza pruebas inespecíficas que determinan la presencia o ausencia de grupos de sustancias tóxicas en las muestras. Las muestras positivas son sometidas a un procedimiento analítico que identifica a un tóxico específico. La segunda prueba debe basarse en principios químicos o físicos diferentes de la primera.

En la actualidad se considera que las determinaciones de cromatografía de gases (CG) y las espectrometrías de masas (EM) proporcionan una identificación inequívoca para la mayoría de los tóxicos, aunque debe aclararse que tienen sus limitaciones.

5.7.2. Orientación del análisis toxicológico.

Dada la complejidad de los problemas analíticos toxicológicos y el gran número de tóxicos que en la práctica dan lugar a intoxicaciones, es necesario facilitar al perito toxicólogo todos los datos que tiendan a simplificarlos. Con este fin debe remitirse al



laboratorio de análisis toxicológicos, información detallada de todos los antecedentes que puedan orientar la investigación²⁷.

Se incluirán los antecedentes, los datos anatomopatológicos resultantes de la autopsia médico legal, la sintomatología con que cursó la presunta intoxicación, el diagnóstico clínico del médico que trató al enfermo y el tratamiento instaurado, los hallazgos en el lugar en que se encontró la víctima y las declaraciones de familiares, compañeros o vecinos del presunto intoxicado. Incluso si el médico forense ha llegado a un diagnóstico provisional del tóxico responsable, debe hacerse constar. Todos estos datos facilitarán de forma considerable la investigación toxicológica, dirigiéndose de modo preferente la marcha analítica hacia el tóxico o el grupo de tóxicos, entre los que se halla probablemente la solución del problema planteado.

5.7.3. Interpretación de los análisis toxicológicos.

Uno de los problemas más difíciles con que se encuentra el toxicólogo forense es la interpretación de los resultados analíticos²⁸. Hay que tener en cuenta que el resultado de un análisis toxicológico no debe tomarse en un sentido matemático absoluto, sino que debe interpretarse de acuerdo con el conjunto de datos y circunstancias que acompañan cada caso particular. En la interpretación cabe considerar, en primer lugar, la posibilidad de que no se detecte el tóxico responsable de la intoxicación. Esto puede deberse a tres causas:

1. Defectos del método analítico utilizado, principalmente en la extracción y también en la detección si las técnicas no eran suficientemente sensibles.



2. La degradación del tóxico durante el almacenamiento de las muestras.
3. Que el tóxico se haya eliminado antes de producir la muerte y recogerse las muestras.

El primer paso en la interpretación consiste normalmente en comparar los niveles del tóxico detectado con valores terapéuticos y letales existentes en la bibliografía o acumulados de la propia experiencia. Este procedimiento puede dar una primera indicación sobre las consecuencias de la presencia de un tóxico en un organismo. Es fácil comprobar que existen discrepancias importantes entre los valores para las dosis tóxicas estimadas por diferentes autores y el estado clínico de un sujeto.

Estas discrepancias obedecen a algunas de las siguientes causas:

- Insuficiente soporte estadístico de los datos referentes a concentraciones tóxicas y letales.
- Diferencias en los valores de concentraciones tóxicas en las distintas muestras: sangre total, plasma, suero, hígado, etc. En este sentido, es necesario precisar con exactitud la zona de donde se obtuvo la muestra si se quiere hacer una correcta interpretación del resultado analítico. Es bien conocido el fenómeno denominado redistribución post mortem de los tóxicos, según el cual las concentraciones sanguíneas post mortem varían en función del sitio donde se toma la muestra. También se ha evidenciado una dependencia temporal en las concentraciones sanguíneas post mortem, si bien el mecanismo exacto de estos cambios se conoce con claridad.



- Diferencias individuales en la sensibilidad a un tóxico, por causas genéticas, metabólicas o circunstanciales.
- Interacciones entre tóxicos. Este factor representa un obstáculo importante para la interpretación del análisis toxicológico, ya que existe la posibilidad de que haya una potenciación de efectos (sinergismo) o disminución de los mismos (antagonismo).
- Diferencias de sensibilidad y exactitud en las técnicas empleadas.

5.7.4. Extracción de tóxicos.

Desde el punto de vista analítico, la extracción de los tóxicos²⁹ se puede dividir en las siguientes categorías, que dependen de sus propiedades físico-químicas:

- a) Extracción de tóxicos volátiles.
- b) Extracción de tóxicos orgánicos e inorgánicos.

El método de extracción a elegir debe tener en cuenta los siguientes factores:

- Determinación analítica que se precisa: detectar dosis letales o tóxicas; detectar el tóxico sin transformar o también sus metabolitos, etc.
- Tipo de muestra: en cuanto a cantidad y de donde fue obtenida.
- Posibilidades del laboratorio: de instrumental, equipo y de personal.
- Naturaleza del tóxico: conocida o desconocida; uno solo o una mezcla compleja; un producto bien conocido en cuanto a su analítica o un producto nuevo que necesite la implementación de un método adecuado para su extracción.



Cuando no se tiene información sobre el tóxico que puede contener una muestra biológica, ni siquiera si ese supuesto tóxico está presente, que es la situación más frecuente, hay que recurrir a métodos generales de extracción para conseguir separar de la forma más eficiente cualquier tóxico de la muestra.

5.7.4.1. Métodos no extractivos.

En los últimos tiempos han aparecido varios métodos que intentan reducir y, a ser posible, eliminar los procesos de extracción. Excepto para el grupo de tóxicos volátiles, el número de estas técnicas es bastante limitado³⁰. A continuación se describen los métodos no extractivos:

- a) Técnica inmunoquímica. Su problema principal es que suelen ser tests específicos y no sirven para monitoreo.
- b) Análisis directo por espectrometría de masas. Este procedimiento no se utiliza normalmente porque con él aparecen muchas interferencias, pero si se cuenta con un excelente equipo es una herramienta muy útil.
- c) Cromatografía líquida de alta resolución aplicada a la separación de metabolitos de drogas de abuso.
- d) Cromatografía de gases, para los tóxicos volátiles.

Con todo, en la mayoría de los 4 casos se hace uso de un método de extracción del que existen variantes específicas para cada tipo de tóxicos.



5.7.4.2. Detección e identificación de tóxicos.

En la actualidad existe una gran variedad de técnicas a disposición del toxicólogo para la detección, identificación y cuantificación del tóxico³¹, que abarcan desde los métodos clásicos no instrumentales hasta los métodos instrumentales más sofisticados. Los primeros utilizan en el caso de análisis cualitativos la precipitación, extracción o destilación para separar el o los tóxicos para después tratarse con reactivos dando productos que se identifican por el color, olor, solubilidad, punto de fusión y punto de ebullición entre otros, o bien, si el análisis es cuantitativo, cantidad de analito se determina por medidas gravimétricas o volumétricas. Los métodos instrumentales se basan en mediciones de las propiedades físicas de los analitos como conductividad, potencial de electrodo, absorción o emisión de luz, razón masa/carga y fluorescencia entre otros.

El análisis químico ha experimentado un considerable desarrollo, caracterizado esencialmente por el empleo de instrumentos capaces de medir propiedades físicas o químicas que permiten la identificación de los compuestos químicos³². Estas técnicas instrumentales presentan ciertas ventajas sobre los métodos clásicos, aunque tienen ciertas limitaciones que delimitan su campo de aplicación.

Todos los compuestos extraños o xenobióticos pueden ser determinados de manera directa e indirecta. Por lo tanto tenemos cuatro modalidades de análisis en química forense que podemos resumir de la manera siguiente:

- 1- Análisis directo en fluidos biológicos:** Implica la aplicación de procedimientos de extracción y determinación específicas para una determinada



sustancia que se quiere buscar y se lleva a cabo cuando los antecedentes del caso apuntan hacia la misma o si se quieren hacer determinaciones cuantitativas.

2- Análisis indirecto en fluidos biológicos: Esta modalidad implica la aplicación de un monitoreo para descartar el mayor número de tóxicos posibles e incluir un número reducido de ellos, hasta lograr la identificación, pudiendo aplicar posteriormente una técnica directa para aumentar la eficiencia de los análisis. Este Procedimiento de monitoreo puede variar dependiendo de la muestra biológica de que se trate.

3- Análisis directo en muestras no biológicas: Como en el primer caso la determinación se lleva a cabo mediante una técnica ya probada y utilizando como patrones de referencia las sustancias sospechosas, debido a que los antecedentes del caso así lo requieren.

4- Análisis indirecto en muestras no biológicas: Como las muestras pueden ser tan disímiles, existen varios procedimientos de monitoreo dependiendo del estado físico de la sustancia, solubilidad, y de la naturaleza químico-física de la muestra en cuestión.

5.8. Metodología general para el estudio químico toxicológico.

Se abordará el análisis de drogas en fluidos biológicos, independientemente de la modalidad de los análisis³³. De manera generalmente se describen cinco pasos fundamentales cuya comprensión es de extrema importancia para obtener buenos



resultados, y cada uno de ellos representa prácticamente un campo dentro de la toxicología analítica:

- 1- Preparación de la muestra:** Este paso es crucial en los análisis. Generalmente involucra la homogeneización de las muestras, ajustes de pH, pesaje, procedimientos de hidrólisis (ácida, básica o enzimática), precipitación, centrifugación, etc. Debido a la complejidad de las muestras biológicas este paso adquiere significado especial.
- 2- Aislamiento del analito:** El método de aislamiento dependerá de la naturaleza del tóxico que se quiere buscar. En el caso de las drogas la tendencia ha sido desde la extracción con cloruro de n-butilo, que fue uno de los primeros solventes declarados como extractores selectivos de drogas, después las extracciones con sales y con solventes, hasta la cada vez mas empleada extracción en fase sólida la cual presenta muchas ventajas con respecto a todas las anteriores: mayor selectividad, ahorro de solventes y tiempo, extractos mas limpios y mayor porcentaje de recuperación de los analitos.
- 3- Concentración del extracto:** El objetivo de este paso es colocar el analito en el menor volumen posible para de esta manera aumentar la sensibilidad de los análisis. En el caso de las drogas es importante conocer que la concentración de los extractos debe realizarse en condiciones controladas, aunque las condiciones ideales son concentrar a temperatura ambiente y en corriente de nitrógeno o de aire.



4- Identificación del analito: En la identificación del analito existen diferentes niveles de complejidad dependiendo de las técnicas que se utilicen para la detección de las mismas. Así tenemos un nivel primario que utiliza técnicas de identificación como la cromatografía en capa fina y la espectroscopía UV, además de reacciones de coloración para la orientación, etc. Un nivel secundario involucra técnicas tales como la cromatografía de gases y la líquida de alta resolución ya sea para monitoreo, como para la determinación directa y un nivel terciario que utiliza la espectrometría de masas acoplada con una cromatografía separativa tal como la cromatografía de gases y la líquida de alta resolución. Antes de la aplicación de la cromatografía de gases, la derivatización de los grupos funcionales es esencial para la detección de drogas a bajos niveles. La derivatización mejora la especificidad, la sensibilidad y la precisión de los análisis, además las llamadas colas en los cromatogramas se eliminan considerablemente con la aplicación de procedimientos de derivatización y mejora considerablemente la separación de sustancias conteniendo grupos funcionales tales como $-\text{COOH}$, $-\text{NH}$, $-\text{NH}_2$ o $-\text{OH}$. Los procedimientos de derivatización mas utilizados son la silanización (con N,O-bis-trimetilsililfluoroacetamida BSTFA), la acilación con anhídrido pentafluoropropiónico (PFPA), alquilación/acilación, etc.

5- Cuantificación del analito: Una vez identificado el analito la cuantificación del mismo se puede realizar por una técnica directa, bien ajustada y utilizando patrones de referencia puros para análisis. Esta técnica directa generalmente es



una técnica cromatografía gas- líquida o líquida-líquida y la espectrometría de masas acoplada a estas dos anteriores.



6. Principales técnicas aplicadas en la detección de tóxicos en el laboratorio de química forense de la Procuraduría General de Justicia del Estado de Hidalgo.

Las técnicas que a continuación se mencionan son las que principalmente se utilizan el laboratorio de química forense de la Procuraduría General de Justicia del Estado de Hidalgo, para la detección de alcohol etílico y drogas de abuso más comunes (anfetaminas, benzodiazepinas, cocaína y marihuana).

6.1. Alcohol etílico.

6.1.1. Introducción.

El alcoholismo se ha convertido en uno de los problemas sociales más importantes que tienen la mayoría de los países del mundo. La acción principal del alcohol etílico se ejerce sobre el sistema nervioso central y la mayoría de los órganos tiene su reflejo en alteraciones de la conducta y en una amplia y variada morbilidad y mortalidad³⁴.

La droga se utiliza por los médicos como hipnótico ligero, y los efectos relajantes de una bebida alcohólica al tiempo de acostarse en pacientes de edad avanzada con enfermedades crónicas suele ser beneficioso.

El alcohol no es un anestésico general, ya que las concentraciones anestésicas se hallan demasiado cerca de las concentraciones mortales, y se necesita mucho tiempo para que el cuerpo metabolice y excrete el alcohol. Incluso en dosis pequeñas, el alcohol dificulta la ejecución de tareas mecánicas y nubla el entendimiento. Además de su acción sobre la conducta y el conocimiento, el alcohol influye en las funciones cardiovasculares, gastrointestinales y renales.



6.1.2. Fuentes de la intoxicación alcohólica.

Las fuentes de intoxicación alcohólica³⁵ están constituidas por las bebidas espirituosas o alcohólicas que, según su grado de concentración en alcohol, se dividen en tres grupos:

1. **Bebidas débilmente alcohólicas.** El porcentaje de alcohol oscila entre el 1 y el 8%. Resultan de la fermentación de jugos vegetales que contienen almidones o azúcares pocos fermentables: cerveza y sidra.
2. **Bebidas medianamente alcohólicas.** El grado de alcohol oscila entre el 10 y 20%. Proceden de la fermentación de los mostos de uva, cuyo alto contenido en glucosa les hace fermentar fácilmente. Vinos ordinarios de mesa (10-12) hasta la de los vinos generosos jerez, oporto, vermuth, Málaga (15-20).
3. **Bebidas fuertemente alcohólicas.** En la obtención de estas bebidas, se suceden dos fases, una primera de fermentación, seguida de una destilación del producto de la fermentación, con lo que se enriquece considerablemente la concentración alcohólica. Se parte de jugos vegetales muy diversos obteniéndose así: coñac, ron, whisky, vodka, aguardientes, cremas, etc. El grado alcohólico alcanza hasta el 40-50%.

Hay que tomar en cuenta que cualquiera que se a la bebida, cada vaso ingerido representa mas o menos la misma cantidad de alcohol puro ingerido.

- 1 vaso de vino (100 mL) a 12° de alcohol = **10 g de alcohol puro.**
- 1 vaso de cerveza rubia (250 mL) a 5° de alcohol = **10 g de alcohol puro.**



- 1 vaso de Whisky o ginebra (30 mL) a 40° de alcohol = **10 g de alcohol puro.**
- 1 vaso de porto (80 mL) a 16° de alcohol = **10 g de alcohol puro.**

6.1.3. Clasificación Legal.

El etanol es un fármaco de consumo legal que se encuentra contenido en las bebidas alcohólicas. Como producto de uso médico el etanol es utilizado como antiséptico externo de baja potencia, por lo que no se encuentra clasificado por la Ley General de Salud como fármaco³⁶. Para una mayor información acerca de la toxicología del alcohol, ver anexo 2, página 129.

6.1.4. Diagnóstico médico-legal de la embriaguez.

Para responder a las diversas exigencias judiciales respecto a la embriaguez, el perito debe establecer no sólo la naturaleza del cuadro clínico y su profundidad, si no también su origen. Para ello dispone de métodos clínicos y bioquímicos³⁷. Aunque existe una correlación entre niveles de alcohol en cerebro y síntomas clínicos, a la hora de tener una expresión en forma de conducta puede admitir grandes variantes, sobre todo en unas tasa de alcoholemia comprendidas entre 0.5 y 2.0 g/1000 mL, dependiendo de los individuos: susceptibilidad, grado de acostumbamiento, patología previa, etc. (ver tabla VI).



Tabla VI. Valoración de datos respecto a la concentración de alcohol en sangre.

Concentración de alcohol	Síntomas clínicos
1 g/1000 mL	El 10% de la población presenta síntomas y signos de embriaguez
1.2 g/1000 mL	20%
1.5 g/1000 mL	50%
1.75 g/1000mL	75%
2.0 g/1000 mL	100%
4.0 g/1000 mL	El coma toxico es constante
> 5.0 g/1000 mL	Muerte por embriaguez aguda

6.1.4.1. Métodos clínicos para el diagnóstico de la embriaguez en seres vivos.

Para el diagnostico clínico de la embriaguez nos encontramos con varias dificultades, ante todo, no existe ningún síntoma aislado que sea peculiar del alcohol. Por otra parte, la resistencia individual es muy variable, por lo que el juicio, en cada caso concreto, debe ser prudente y nunca generalizador³⁸.

Para los efectos medico-legales debe considerarse *embriagada* la persona que se encuentra bajo la influencia del alcohol en grado tal, que haya llegado a perder el control de sus facultades, de modo que resulte incapaz de ejecutar con acierto su ocupación habitual. Para establecer dicha influencia, deben aplicarse pruebas clínicas que determinen los siguientes puntos:

1. Si la persona de referencia ha consumido alcohol recientemente.
2. Si la misma está bajo la influencia del alcohol en tal grado que haya perdido el control de sus facultades.



3. Si este estado puede ser debido, total o parcialmente, a una condición patológica que origine síntomas análogos o similares a los de la intoxicación alcohólica.

6.1.4.2. Métodos bioquímicos para el diagnóstico de la embriaguez en seres vivos.

Consiste en la regulación del alcohol en la sangre o en los humores orgánicos, de donde deducir la impresión alcohólica del organismo. Ciertamente la correlación entre el estado clínico y el grado de impregnación alcohólica no es absoluta, en virtud de ciertas diferencias individuales, tanto en el sentido de una mayor susceptibilidad a los efectos del alcohol en unos sujetos como en una tolerancia superior a la media en otros.

Pese a todos, las múltiples determinaciones realizadas han permitido comprobar que tales diferencias son, en general escasas, por lo que no afectan sensiblemente los resultados. Por otra parte, la interpretación de estos se hace de una forma suficientemente amplia para cubrir las mayores diferencias individuales. Estos métodos recaen en la orina, la saliva, el aire expirado por citar algunos ejemplos³⁹.

6.1.5. Pruebas de consumo reciente de alcohol.

La única prueba práctica a este respecto es el olor a líquidos alcohólicos en el aliento y en las materias vomitadas en su caso. Tiene, sin embargo, las siguientes salvedades⁴⁰:

1. El olor que exhalan los alcohólicos no dependen del etanol, si no de los otros componentes de las bebidas y de los metabolitos de oxidación del alcohol etílico.



2. La intensidad del olor variaría mucho con la naturaleza del líquido consumido, así como con el tiempo transcurrido desde la ingestión.
3. Algunas sustancias pueden desfigurar, atenuar o intensificar tal olor.
4. Por último, dicha percepción depende de la sensibilidad olfatoria de quien lo explora.

Pese a estas reservas, si no hay olor a líquido alcohólico en el aliento de un sujeto reconocido dentro de un plazo razonable después de su arresto, es improbable que haya consumido alcohol recientemente.

La rapidez, especificidad y sencillez de la técnica cromatográfica de partición en fase gaseosa justifican que este método se haya impuesto en la dosificación del alcohol etílico en sangre. En diferentes países se ha adoptado como método oficial para la determinación de la alcoholemia en los conductores que se sospechaba conducían bajo la influencia del alcohol. Es un método de gran especificidad en el que no interfieren otras sustancias reductoras.

La cromatografía gaseosa es capaz de separar el etanol del resto de los alcoholes que con frecuencia están presentes en las muestras de fluidos biológicos. La posibilidad de acoplar distintos sistemas de inyección y detección facilita la labor analítica y la respetabilidad y reproducibilidad del análisis. Entre los sistemas de inyección utilizados destacan los denominados del tipo Headspace. Este sistema de inyección calienta y presuriza los viales sellados en los que se introducen las muestras problema inyectando una pequeña porción de la fase gaseosa del vial. En dicha porción los agentes volátiles



se encuentran en equilibrio con respecto a su concentración en la fase líquida del vial, favoreciendo por tanto la posterior separación e identificación cromatográfica ⁴¹.

6.1.5.1. Técnica para la detección de alcohol por cromatografía de gases.

En un vial modelo B010-4236 de la marca Perkin Elmer® de 10 mL totalmente limpio se coloca 0.500 ± 0.1 g de muestra hemática o gástrica, al cual se le agrega 0.1 mL estándar interno (en el laboratorio de Química Forense del Estado de Hidalgo se utiliza una solución de terbutanol 0.25% como estándar interno) y 0.1 mL de agua destilada, enseguida se coloca una tapa de aluminio la cual va a contener una estrella del mismo material y una septa de goma a para que quede perfectamente sellado por medio de unas pinzas engargoladoras y no halla fugas provocando falsos negativos (ver figura 2); terminada la preparación de la muestra se procede a colocarse en el cromatógrafo de gases el cual contiene una curva de calibración con los parámetros y condiciones que se mencionan posteriormente (ver tablas VII y VIII) y se procederá a correr la muestra en la espera de los resultados. En la figura 3 se muestra un cromatograma de una muestra hemática la cual nos indica la presencia de alcohol etílico y el estándar interno.



Tabla VII.- Condiciones Instrumentales del cromatógrafo de gases para el análisis de alcoholemia.

Condiciones	Instrumentales
Instrumento	Autosystem XL con HS40 Perkin Elmer®
Software	Total Chrom Workstation versión 6.3.1 .2006 Perkin Elmer
Columna	Perkin Elmer Fase elite-5
Longitud de columna	30 m, con ID 0.53 y FD 0.5
Eluyente orgánico de la fase móvil	Helio 5.01 de ultra alta pureza
Flujo de gas acarreador	85 mL/min
Porcentaje de fluidez	85 PSI generan 4.3 mL/min
División proporcional	85 mL/min
Temperatura del Horno	45 °C por 5 min
Temperatura de inyección	120 °C

Tabla VIII.- Valores de la curva de calibración del equipo de gases, para el análisis de alcoholemia.

Nivel	Cantidad (etanol)	Área	Peso	ISTD de cantidad	ISTD de respuesta	No. De replicas
1	39.5000	84994.68	31198.75	158.0000	0.2383	1
2	79.000	197830.49	72412.03	316.0000	0.4882	1
3	118.5000	311907.84	114140.69	474.0000	0.6943	1
4	158.0000	455729.73	166819.24	632.0000	0.9853	1
5	197.5000	586594.72	212827.52	790.0000	1.2765	1
6	237.0000	712604.78	256448.57	948.0000	1.4946	1
7	316.0000	1008835.09	363290.35	1264.0000	2.0394	1
8	395.0000	1218909.60	444275.00	1580.0000	2.5834	1

Curva de calibración: $y = (-0.033297) + (0.001639) x + (0.00000) x^2 + (0.00000) x^3$ $R = 0.999024$

6.1.5.2. Prueba del alcoholímetro.

Su funcionamiento utiliza la tecnología del sensor dual, la cual se basa en la medida de la absorción de energía IR y la célula electroquímica. La combinación de ambas tecnologías origina un procedimiento muy exacto y específico para la determinación de etanol en el aliento, con validez evidencial a efectos de sanción⁴².



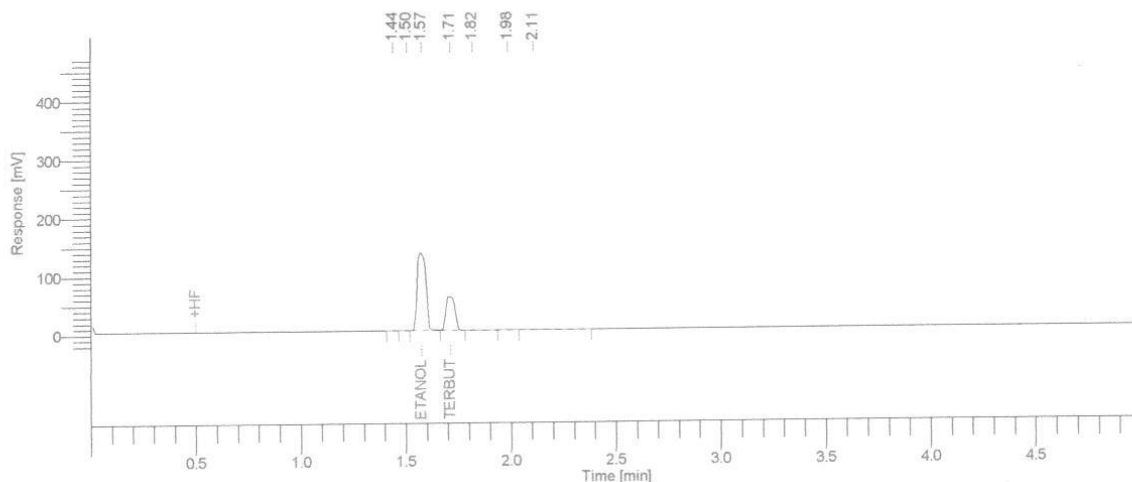
El instrumento monitoriza el flujo y volumen del aliento y utiliza un sensor IR para ofrecer información continua de la concentración de alcohol en el aire espirado, esto se denomina análisis en tiempo real de la muestra. Primero tiene lugar un autochequeo y un ensayo cero automáticos en el instrumento; después la muestra se introduce en el equipo a través de un tubo hasta la célula IR. La muestra es analizada en serie por los dos métodos diferentes. Una pequeña parte de la muestra llega a la célula electroquímica y es analizada automáticamente. El resultado de un análisis se confirma con el otro. De nuevo se realiza un autochequeo y un ajuste de cero, y solo entonces aparece impreso en pantalla el resultado. Si durante la autocomprobación se detecta algún error o el resultado de un análisis no es confirmado por el otro, el instrumento indicará “error” y abortará de forma inmediata el análisis.



Figura 2. Material utilizado para el análisis de alcoholemia por medio de cromatografía de gases.



Sequence File : C:\PenExe11\cws\liverb.3.1\Examples\etanol2.seq



DETERMINACIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO

Peak #	Time [min]	NOMBRE DEL COMPUESTO	Area [$\mu V \cdot s$]	Height [μV]	Area [%]	CONCENTRACION mg/100ml
3	1.574	ETANOL	384985.25	142019.91	69.79	357.50
4	1.711	TERBUTANOL	166620.06	61057.52	30.21	-----
			551605.31	203077.43	100.00	357.50

Figura 3. Ejemplo de un cromatograma de una muestra positiva para alcohol etílico en sangre.

6.1.6. Diagnostico de la intoxicación alcohólica en muestras de cadáver.

Probablemente el análisis del alcohol es el más solicitado en Toxicología Forense y las cifras de alcoholemia⁴³, las que con más frecuencia deben ser interpretadas. A este respecto existen polémicas que se basan en los siguientes puntos:



1. **Fluido que hay que analizar y lugar de la toma.** En el proceso metabólico del alcohol hay tres fases que se pueden expresar gráficamente en una curva denominada de alcoholemia (ver figura 4).

- a) *Fase de absorción.* Que dura de 30 a 60 minutos y que estará concluida con toda certeza a las 3 horas.
- b) *Fase de equilibrio o meseta de Grehant.* En la que se alcanza la máxima concentración de alcohol en sangre. Normalmente este momento es instantáneo, aunque puede ser una meseta cuando absorción-difusión y metabolismo-eliminación están en equilibrio.
- c) *Fase descendente o de desintoxicación.* Que desde Widmark se entendió que era una línea recta y uniforme, lo que permitiría realizar cálculos retrospectivos.

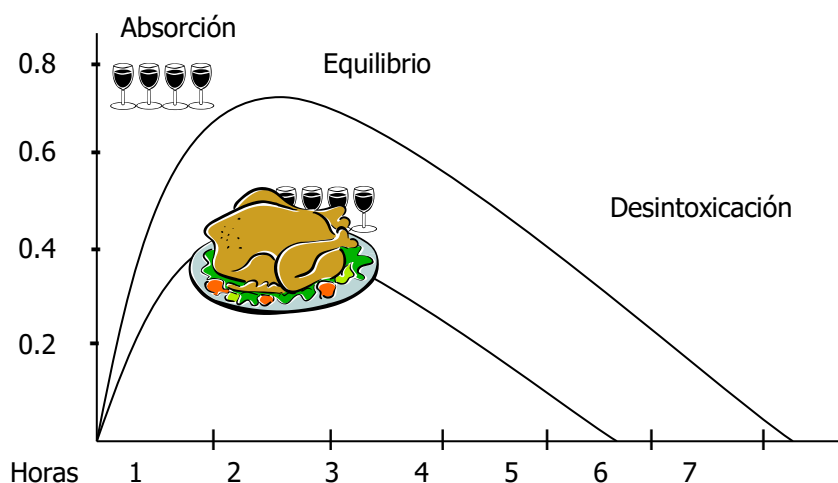


Figura 4.- Curva de alcoholemia.



Una vez que se haya alcanzado la fase de equilibrio, las concentraciones de alcohol en sangre y en los tejidos dependerán de sus concentraciones en agua, pero también de la riqueza en enzimas catalizadoras. De ahí que la concentración de alcohol en hígado sea menor de lo que teóricamente le corresponde en función de su contenido en agua dada su riqueza en alcohol deshidrogenasa (ADH)⁴⁴.

En el sujeto vivo se puede saber con mayor o menor exactitud en que fase de la curva nos encontramos; generalmente 2 horas después de la última ingesta se ha concluido la fase de absorción y se ha producido el equilibrio, con lo cual la alcoholemia refleja el alcohol etílico que habrá en los otros tejidos u órganos y se puede extrapolar con pequeños errores al cerebro, el órgano destino.

En el cadáver no ocurre esto. Por que se puede encontrar con un cadáver que pudo morir cuando aún estaba en el periodo de absorción, con lo que las cifras de alcohol en sangre no reflejarían las de otras estructuras⁴⁵.

En Toxicología forense se recomienda tomar las muestras para los análisis de alcoholemia de humor vítreo, estómago, corazón y vena femoral.

2. **Tipos de intoxicación alcohólica.** En la experiencia de cualquier toxicólogo se puede encontrar casos particulares de gran tolerancia al alcohol frente a otros de gran sensibilidad: personas que con alcoholemias de 3.5 g/1000 mL entran por su pie en el hospital o pueden conducir un vehículo, mientras que otras con alcoholemias bajas (inferiores a 1.2 g/1000 mL) presentan embriaguez clínica franca. En este medio la muerte por sobredosis de alcohol es un fenómeno poco frecuente, excepto que se añadan otras circunstancias que favorezcan la muerte.



Cuando el patólogo forense toma la sangre del cadáver, ignora la dinámica del proceso.

6.2. Drogas de abuso.

Muchas de las sustancias que producen adicciones hoy en día se llevan utilizando desde hace miles de años por la humanidad con diversos fines. Así sustancias como el alcohol, ciertos hongos alucinógenos, resinas de plantas (como el hachís) y otras sustancias estimulantes y relajantes que se obtienen de ciertas plantas (cocaína, opio, etc.) han sido empleadas en momentos determinados de la historia con fines religiosos, espirituales y médicos⁴⁶. En tiempos remotos, y aún hoy, en prácticamente todas las sociedades primitivas que subsisten, la medicina, la religión y los ritos espirituales han estado siempre unidas, lo cual suponía que el brujo, el chamán o el sacerdote conocían los efectos de estas sustancias, y las empleaba en ocasiones concretas y para fines muy concretos. En el mundo industrial las drogas se emplean también como forma de ocio socialmente aceptado o no. La razón de que las denominadas drogas actúen de la forma que lo hacen, produciendo efectos placenteros dispares, es que reproducen en el cerebro la acción de unas sustancias propias (denominadas “drogas endógenas”), que el organismo utiliza como soporte de la neurotransmisión de experiencias con las que recompensa ciertos comportamientos imprescindibles para la vida del individuo y el mantenimiento de la especie. Estas “drogas endógenas” se segregan de forma natural cuando se está satisfecho o se siente placer en sus distintas formas. Sin embargo las “drogas exógenas” (que vienen de fuera del organismo) o drogas propiamente dichas,



tienen una potencia mucho más elevada que las endógenas, y tomadas repetidamente acaban por alterar gravemente e inhibir conductas básicas normales de quien las consume, hasta el punto de que sólo pueda obtener satisfacciones a través de dichas drogas y de que su conducta acabe por encaminarse principal o exclusivamente a conseguirlas⁴⁷.

6.2.1. Anfetaminas.

La **efedrina** es el principio activo de la planta efedra (*Ephedra vulgaris*, en chino *ma huang*), la cual es conocida por sus propiedades estimulantes y broncodilatadoras desde hace varios miles de años⁴⁸. A principios de los años treinta, por razones comerciales, se introdujo la anfetamina como una alternativa a la efedrina para el tratamiento el asma y la narcolepsia. Unos 10 años más tarde se introdujo un derivado suyo, la metanfetamina. Son sustancias derivadas de la “beta-fenil-isopropil amina” (ver figura 5). Son drogas medicamentosas, adictivas (moderada-alta) y neurotóxicas. Son un fuerte estimulante y se relaciona inadecuadamente con todos los deportes para disminuir la sensación de fatiga. Una de sus aplicaciones mas usuales es como auxiliar en la reducción de peso.

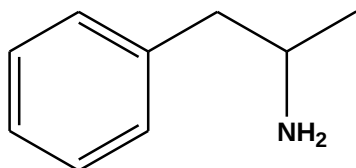


Figura 5. Estructura de la beta-fenil-isopropil-amina (anfetamina).



6.2.1.1. Clasificación legal.

El fenproporex (Delhafen), fentermina (Diminex), anfepramona (Tenuate), mefenorex, trihexifenidilo (Artane) y el metilfenidato (Ritalin) se clasifican en el grupo II de la Ley General de Salud. En el grupo III se clasifican a la propilhexedrina (Colloidine), mazindol (Diestet) y fenfluramina (Diomeride).

En el anexo 3, página 131 se presenta mayor información sobre anfetaminas.

6.2.1.2 Técnica de extracción para anfetaminas.

Una muestra de 10 mL de orina se alcaliniza con 0.5 mL de hidróxido de potasio (KOH) 10 N y se mezclan. Posteriormente se adiciona 2 mL de una mezcla 1:2 de ciclohexano-éter y se centrifuga a 3000 r.p.m. se separa la fase orgánica (la fase acuosa se desecha) y se extrae en 2 ocasiones más con 3 mL de ciclohexano-éter 1:2, repitiendo el procedimiento anterior, se reúnen las 2 fases orgánicas extraídas, se agrega sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) para eliminar los restos de agua y se evapora a sequedad, se reconstituye con éter, una parte se pliega a una cromatoplaaca y se desarrolla en una mezcla metanol-hidróxido de amonio (100:1.5), la otra parte se inyecta al cromatógrafo de gases acoplado a masas o espectrofotómetro de infrarrojo o ultravioleta visible (ver figura 7)⁴⁹.

Espectro de ultravioleta⁴⁹: ácido-acuosa —251, 257 nm ($A_{11}^{11}=14a$), 263 nm.

Espectro de infrarrojo: Principales bandas en numero de ondas (cm^{-1}) 700, 740, 1495, 1090, 1605, 825 (pastilla de KBr)

Espectro de masas: Principales iones en m/z **44**, 91, 40, 42, 65, 45, 39, 43

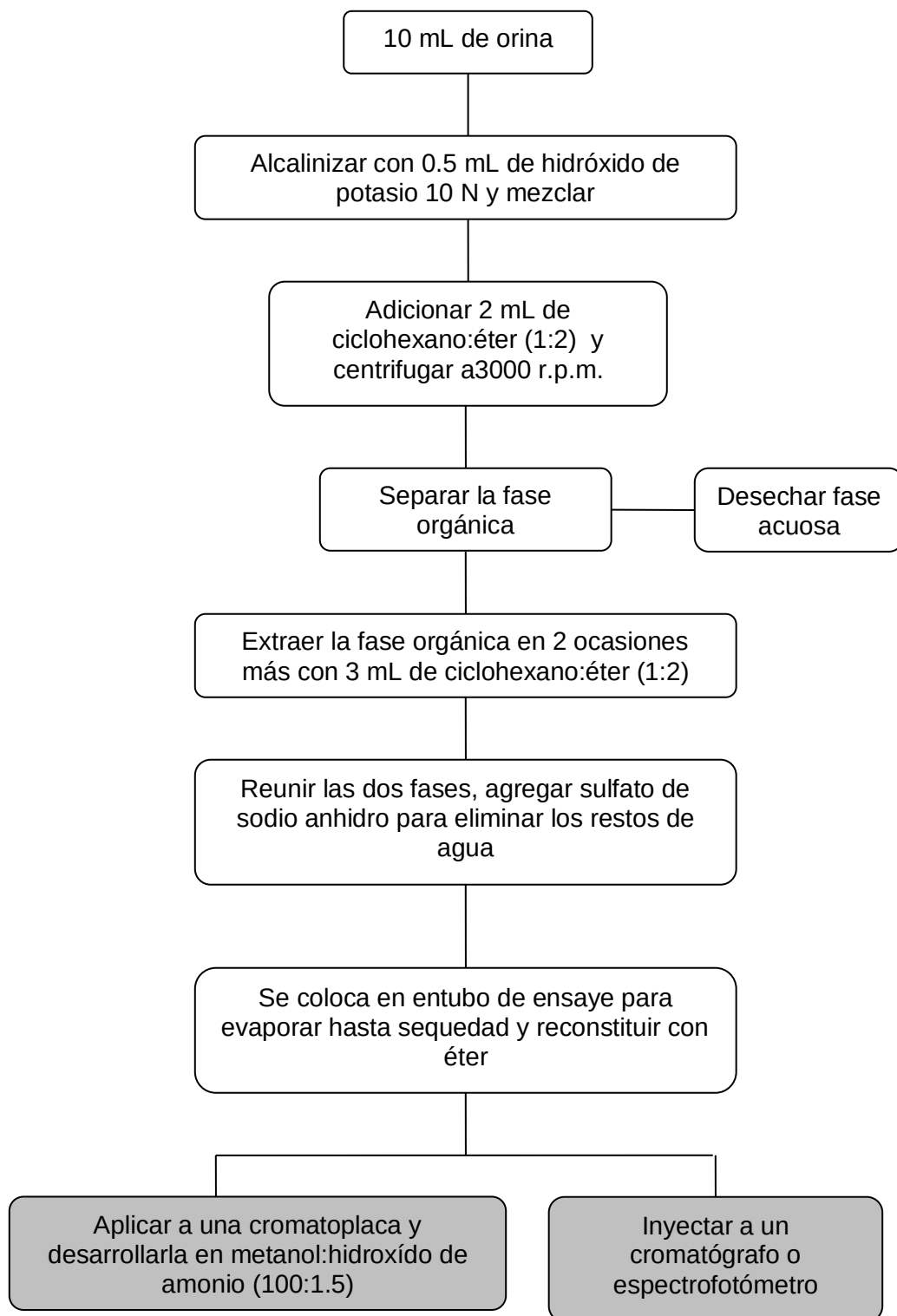


Figura 6. Marcha analítica para la extracción de anfetaminas.



6.2.2. Benzodiacepinas.

Las benzodiacepinas (BZ) (benzo 1,4 diacepinas) (ver figura 7), son psicofármacos sintéticos ansiolíticos cuyo uso clínico farmacológico comenzó en la década de 1960 con el primer agente, clordiacepóxido. Desde entonces se sintetizaron más de 2000 diferentes BZ aunque sólo algunas de ellas alcanzaron uso clínico. Poseen en común las siguientes propiedades farmacológicas: son ansiolíticas, sedativas, hipnóticas, miorrelajantes, anticonvulsionantes⁵⁰.

6.2.2.1. Clasificación Legal

Los depresores del SNC se encuentran clasificados por la Ley General de Salud en los grupos II (benzodiacepinas) y III (barbitúricos) y su venta requiere receta médica. En el anexo 4, p. 134 existe mayor información sobre las benzodiacepinas.

6.2.2.2. Técnica colorimétrica para identificación de Benzodiacepinas.

A una muestra de 10 mL de orina, suero ó plasma, se le agrega hidróxido de sodio (NaOH) al 20%, hasta pH: 10. Extraer 2 veces con 3 mL de éter etílico, cada vez. Lavar los extractos con agua destilada, filtrar y secar los mismos con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4). Tomar 2-3 mL del extracto etéreo, agregar 0.5 ml de ácido clorhídrico (HCl) concentrado. Calentar en baño de agua hasta obtener 1 mL y enfriar. Agregar 1 mL de nitrito de sodio (NaNO_2) 0.1%, sobre baño de hielo y agitar. Dejar en reposo 5 minutos, agregar 1 mL de sulfamato de amonio ($\text{NH}_4\text{OSO}_2\text{NH}_2$) 0.5%, agitar y nuevamente dejar en reposo 5 minutos, finalmente agregar 1 mL de clorhidrato de naftiletildiamina



($C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$) al 0.5 %, agitar, un color rojo ó púrpura indica la presencia de benzodiacepinas (ver figura 8)⁵¹.

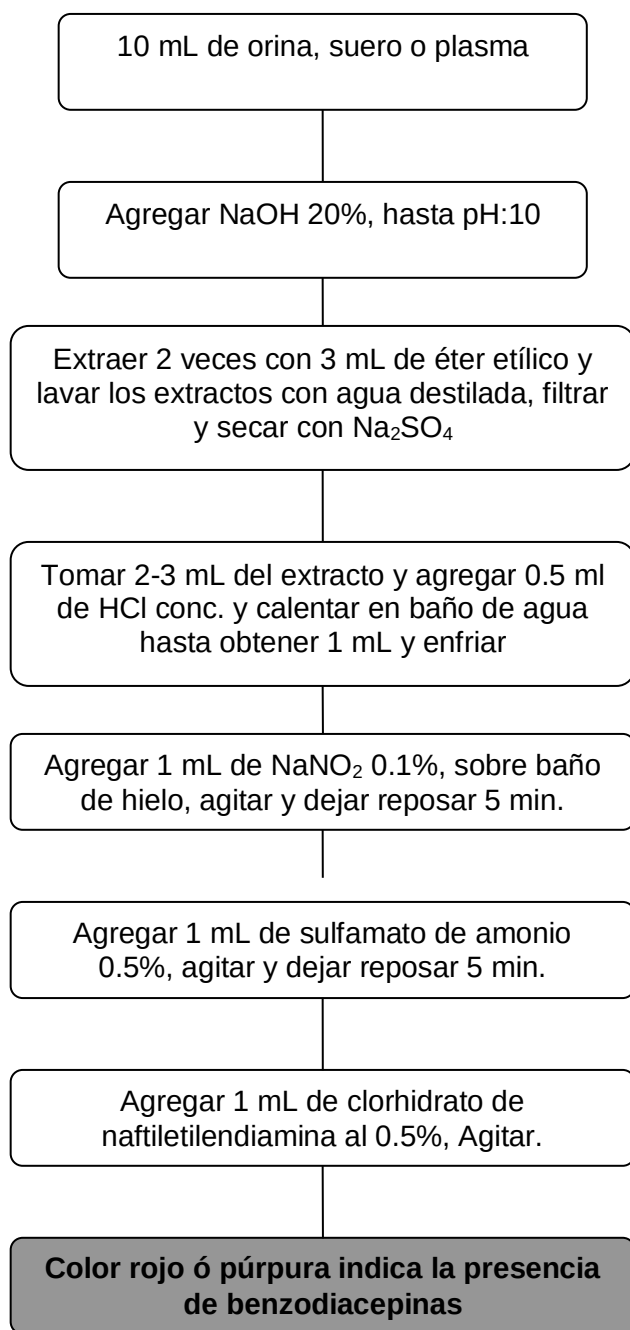


Figura 7. Marcha analítica para la identificación de Benzodiacepinas (método colorimétrico).



6.2.2.3. Técnica de extracción para Benzodiacepinas.

A una muestra de 20 mL de orina se acidifica con 3 mL de ácido clorhídrico 1 N y se coloca en baño María por espacio de 15 minutos dejándose enfriar a temperatura ambiente y se le agregan 10 mL de éter de petróleo agitándose continuamente por espacio de 5 minutos y se centrifuga a 3000 r.p.m. formándose dos fases, se separa la fase orgánica y se coloca en baño María hasta su total sequedad, posteriormente se reconstituye con 2 mL de metanol. 1 mL se aplica a una cromatoplaça y se desarrolla en una mezcla cloroformo-acetona (4:1). El resto se inyecta al cromatógrafo de gases acoplado a masas o espectrofotómetro de infrarrojo o ultravioleta visible. (Ver figura 9)⁵².

Espectro de ultravioleta: ácido-acuosa —242 (A_1^{1020a}), 284, 366 nm

Espectro de infrarrojo: Principales bandas en numero de ondas 1681, 1313, 705, 840, 1125, 740 cm^{-1} (pastilla de KBr)

Espectro de masas: Principales iones en m/z 256, 283, 284, 285, 257, 255, 286.

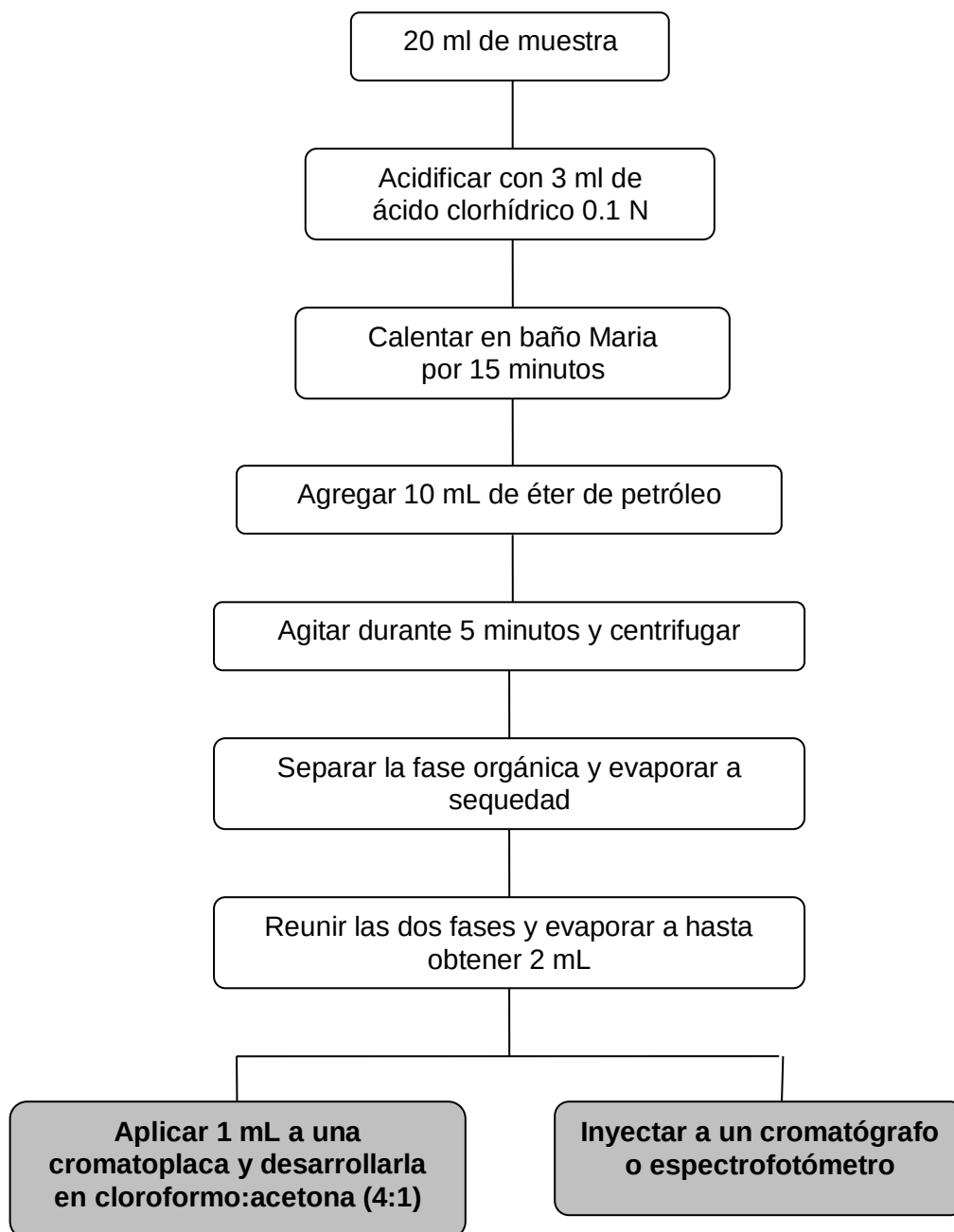


Figura 8. Marcha analítica para la extracción de Benzodiazepinas.



6.2.3. Cocaína.

La cocaína es la sustancia psicoactiva de más amplia gama de posibilidades de consumo: puede ser inhalada, fumada, inyectada, bebida en infusiones, aplicada en las mucosas, y también puede mezclarse con otras drogas. La misma se metaboliza rápidamente y la benzoilecgonina (BE) que es su principal metabolito es considerado como marcador del consumo de cocaína⁵³.

En la figura 10 se muestran la cocaína en sus diferentes presentaciones.



Figura 9. Cocaína en sus diferentes presentaciones planta, polvo y crack.

6.2.3.1 Clasificación Legal.

Dado que se trata de un psicotrópico tanto de producción como de consumo ilegal, la cocaína no se encuentra clasificada en la Ley General de Salud como sustancia de uso médico. Ver anexo 5, p. 137 para mayor información sobre cocaína.

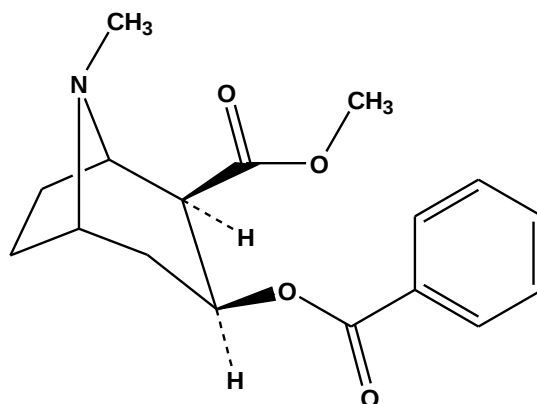


Figura 10. Estructura general de la cocaína.

6.2.3.2 Método de Sweeney W. y cols. para la extracción del metabolito de la cocaína benzoilecgonina (BE).

Se prepara una mezcla de 5 g de bicarbonato de Sodio (NaHCO_3) y carbonato de potasio (K_2CO_3) (2:1), adicionándose a 10 mL de orina, y se extrae con una mezcla (5 mL) de cloroformo: isopropanol (1:0,05). La fase orgánica se reextrae con 4 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.1N y se evaporan hasta obtener 2 mL aproximadamente, una alícuota de 1 mL se aplica a una cromatoplaque, y el resto se lee en el espectrómetro de UV (233 nm). De esta forma se puede detectar concentraciones de BE del orden de 1.25 $\mu\text{g/mL}$ (ver figura 12)⁵⁴.

Benzoilecgonina (BE)

Espectro de ultravioleta: ácido-acuosa —233 nm ($A_1^1=430a$), 275 nm.

Espectro de infrarrojo: Principales bandas en numero de ondas 1710, 1738, 1275, 1110, 712, 1037 cm^{-1} (pastilla de KBr)

Espectro de masas: Principales iones en m/z 124, 82, 168, 77, 105, 42, 94, 83.



Cocaína

Espectro de ultravioleta: ácido-acuosa –233 nm

Espectro de infrarrojo: Principales picos en numero de ondas 1710, 1738, 1275, 1110, 712, 1037 (pastilla de KBr)

Espectro de masas: Principales iones en m/z **82**, **182**, 83, 105, **303**, 77, 94, **96**; benzoilecgonine 124, **82**, 168, **77**, 105, 42, 94, 83.

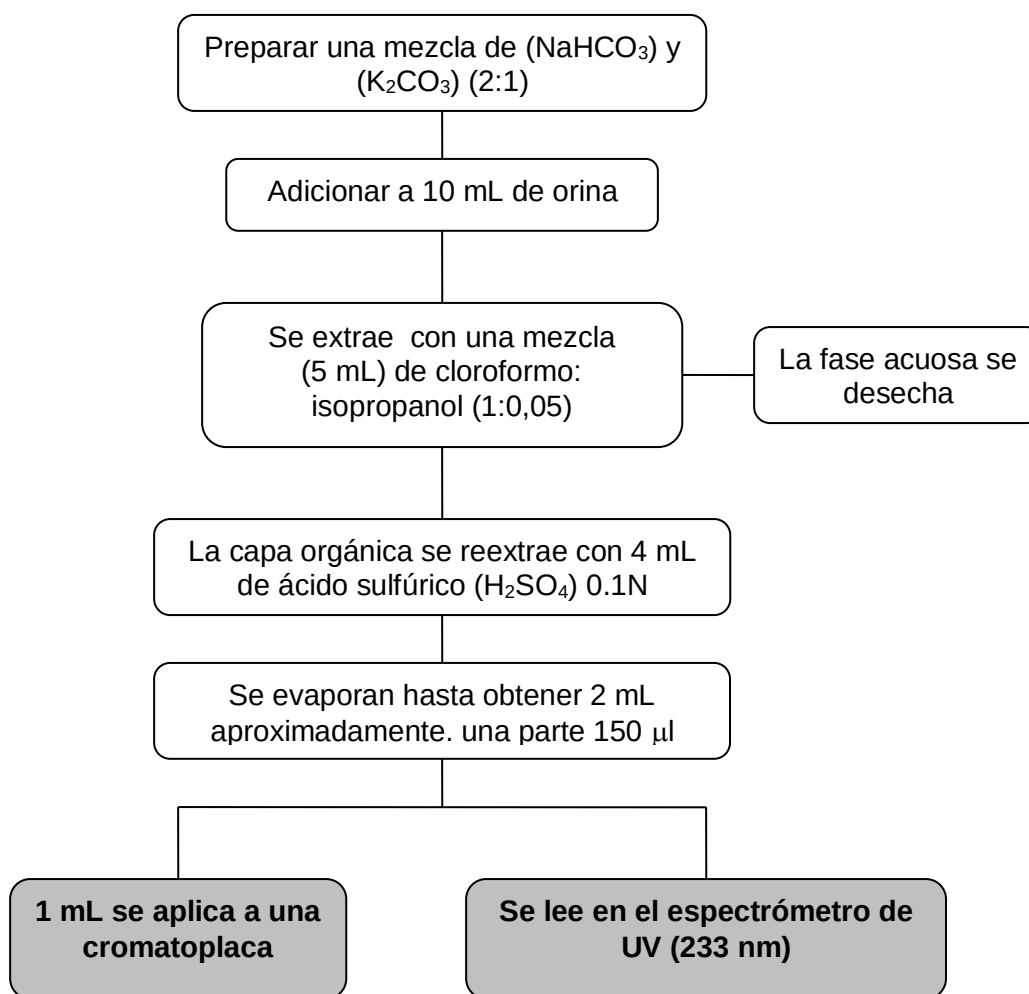


Figura 11. Marcha analítica para la extracción del metabolito de la cocaína benzoilecgonina (BE).



6.2.4. Marihuana.

La marihuana es una combinación de flores, hojas, tallos y semillas de la planta *Cannabis sativa* (ver figura 12). Puede ser de color verde, café o gris, es usualmente fumada en cigarrillos. Según la OMS la marihuana produce dependencia psíquica de moderada a fuerte y dependencia física casi nula. Presenta también un cierto grado de tolerancia con el paso del tiempo, necesitándose aumentar la dosis con el paso destiempo⁵⁵.



Figura 12. Plantas y hojas de marihuana.

6.2.4.1 Clasificación Legal

Pese a los efectos populares referidos a la sustancia, la marihuana no es un fármaco registrado para su control para fines médicos en los artículos 126 y 127 de la Ley General de Salud, por ser una sustancia de producción y consumo ilegal en la mayoría de los países de mundo. Se presenta una mayor información sobre la marihuana en el anexo 6, p. 139.



No existe una técnica específica para la extracción de los metabolitos de la marihuana en fluidos biológicos por lo que se realiza una extracción general para la identificación de fármacos se identifica por las diferentes técnicas Espectrofotométricas.

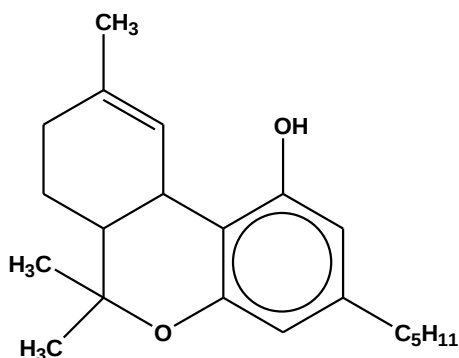


Figura 13. Estructura general del Δ^9 Tetrahydrocannabinol (principal metabolito de la marihuana).

Marihuana (Δ^9 Tetrahydrocannabinol)

Espectro de ultravioleta: etanol –278 nm

Espectro de infrarrojo: Principales bandas en número de ondas 1580, 1040, 1620, 1180, 1130, 1050 cm^{-1} (pastilla de KBr)

Espectro de masas: Principales iones en m/z 299, 231, 314, 43, 41, **299**, 55, 271

6.2.5. Técnica de extracción clorofórmica para la separación de fármacos en fluidos biológicos.

A la muestra problema 5 mL, se le agregan unos 2 mL de agua destilada, a continuación se le agregan unas gotas de hidróxido de amonio concentrado (NH_4OH), paso siguiente se le agrega 5 mL de cloroformo (CHCl_3) y se agita vigorosamente. La



fase orgánica se separa y se le agrega sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) para eliminar los restos de agua que hayan quedado. Posteriormente la muestra se evapora a baño María hasta concentrar la muestra (1 mL aproximadamente). A continuación se coloca para su estudio en placa fina colocando muestras testigos de las diferentes drogas de abuso para su identificación o se lee en un espectrofotómetro de infrarrojo, espectrofotómetro de ultravioleta-visible o espectrómetro de masas (figura 14)⁵⁶.

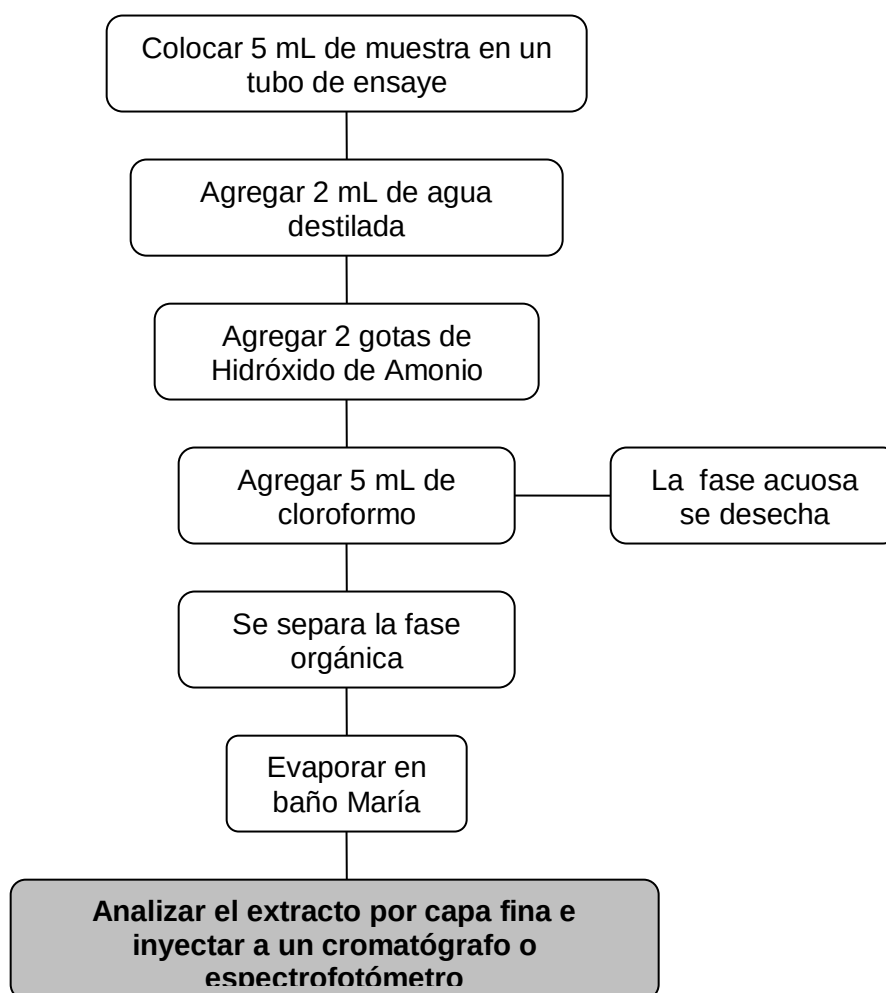
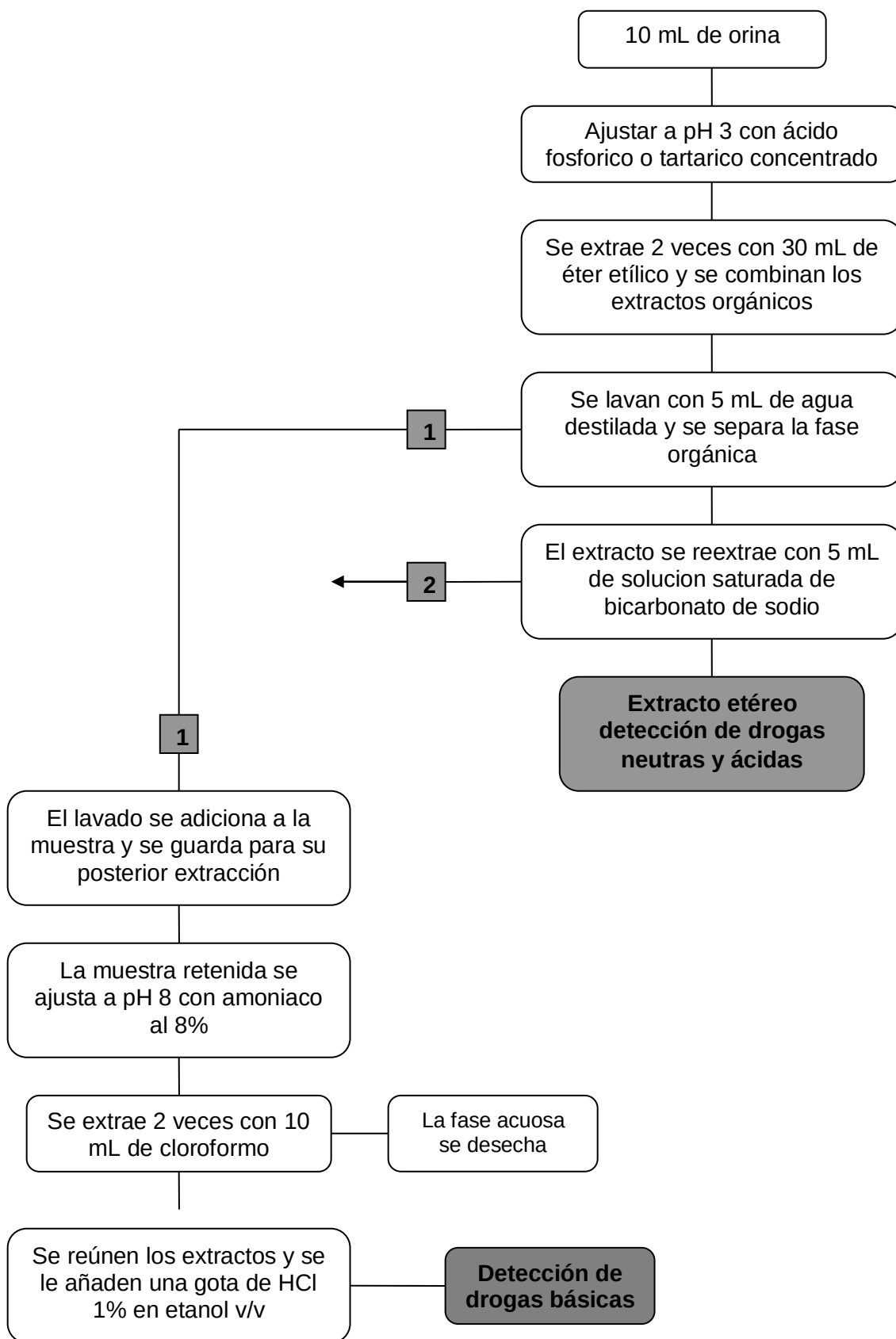


Figura. 14. Marcha analítica para la separación de fármacos por extracción cloroformica.



6.2.6. Técnica de extracción de drogas en orina.

10 mL de orina se ajusta a pH 3 con ácido fosfórico ó tartárico concentrado, se extrae dos veces con 30 mL de éter etílico y se combinan los extractos, se lava con 5 mL de agua, el lavado se adiciona a la muestra y se retiene para posterior extracción. El extracto etéreo se reextrae con 5 mL de solución saturada de bicarbonato de sodio, y dicha solución después de separada se conserva para el análisis de posibles salicilatos. En el extracto etéreo se pueden encontrar **drogas neutras y ácidas**. La muestra inicial retenida se ajusta a pH 8 con amoníaco al 10% y se extrae dos veces con 10 mL de cloroformo, se reúnen los extractos y se le añade unas gotas de ácido Clorhídrico al 1% en etanol v/v, para evitar la pérdida de drogas volátiles. Este extracto puede contener las **drogas básicas**. La muestra inicial que resultó del paso anterior se somete a hidrólisis ácida (con ácido clorhídrico concentrado y se calienta a 100C° por 30 minutos) y se extrae con dos porciones de 10 mL de éter etílico, se combinan los extractos y se lavan con 5 mL de NaOH 1M. El extracto etéreo puede contener **benzofenonas**. La fase acuosa se ajusta a pH 9 y se extrae con una mezcla de acetato de etilo: isopropanol 9:1. Este extracto orgánico puede contener **opiáceos** que después de la hidrólisis quedaron libres a continuación se coloca para su estudio en placa fina o en un espectrofotómetro de infrarrojo, espectrofotómetro de ultravioleta-visible o espectrofotómetro de masas (ver figura 15)⁵⁷.



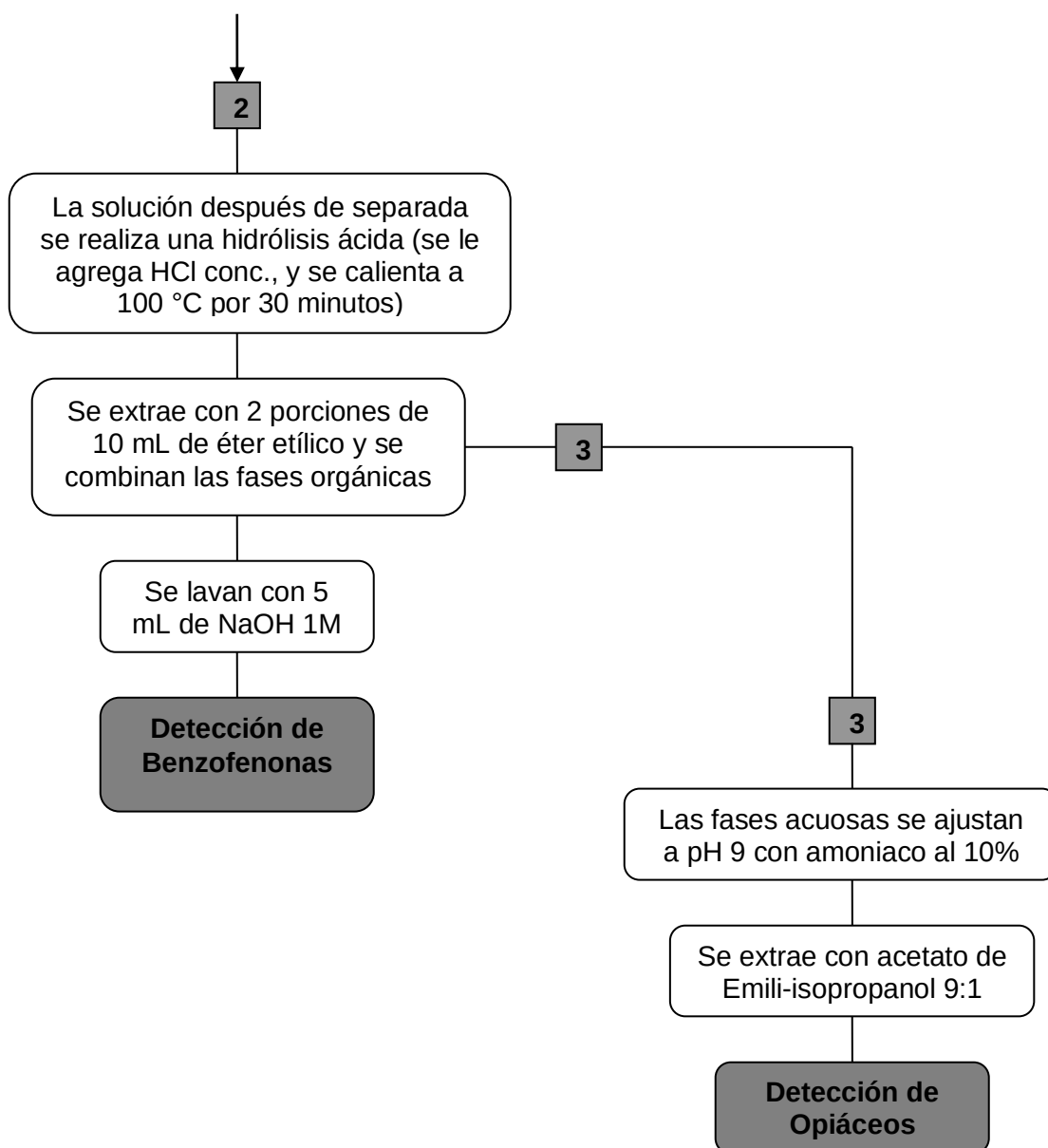


Figura 15. Marcha analítica para extracción de drogas en orina.



6.2.7. Técnica de 3 vías para la extracción de drogas en fluidos biológicos.

A 5 mL de muestra se le adiciona 4 volúmenes de agua, se agita y se le agregan 2 gotas de ácido clorhídrico (HCl) para acidificar la muestra, a continuación se le agregan 4 volúmenes de éter etílico y se separan las fases, orgánica (1) y acuosa (2). La fase 1 se extrae dos veces con 1 volumen saturado de bicarbonato de sodio (NaHCO_3), formándose dos capas, a la capa orgánica (éter etílico) se le agrega sulfato de sodio (Na_2SO_4) para eliminar todo el exceso de agua, se coloca en baño María para concentrar la muestra (**extracto 1 drogas ácido débiles y neutras**), a la fase del NaHCO_3 , se acidifica con 2 gotas de HCl concentrado y se extrae con 2 volúmenes de éter etílico, se le agrega Na_2SO_4 para eliminar todo el exceso de agua, se coloca en baño María para concentrar la muestra hasta 1 mL aproximadamente (**extracto 2 drogas ácido fuertes**). La fase 2 se alcaliniza con NH_4OH y se extrae con 4 volúmenes de CHCl_3 , formándose 2 capas la fase acuosa se elimina y la fase orgánica (cloroformo) se le agrega Na_2SO_4 para eliminar todo el exceso de agua se coloca en baño María para concentrar la muestra hasta 1 mL aproximadamente (**extracto 3 drogas alcalinas**), a continuación se coloca para su estudio en placa fina o en un espectrofotómetro de infrarrojo, espectrofotómetro de ultravioleta-visible o espectrómetro de masas (ver figura 16)⁵⁸.

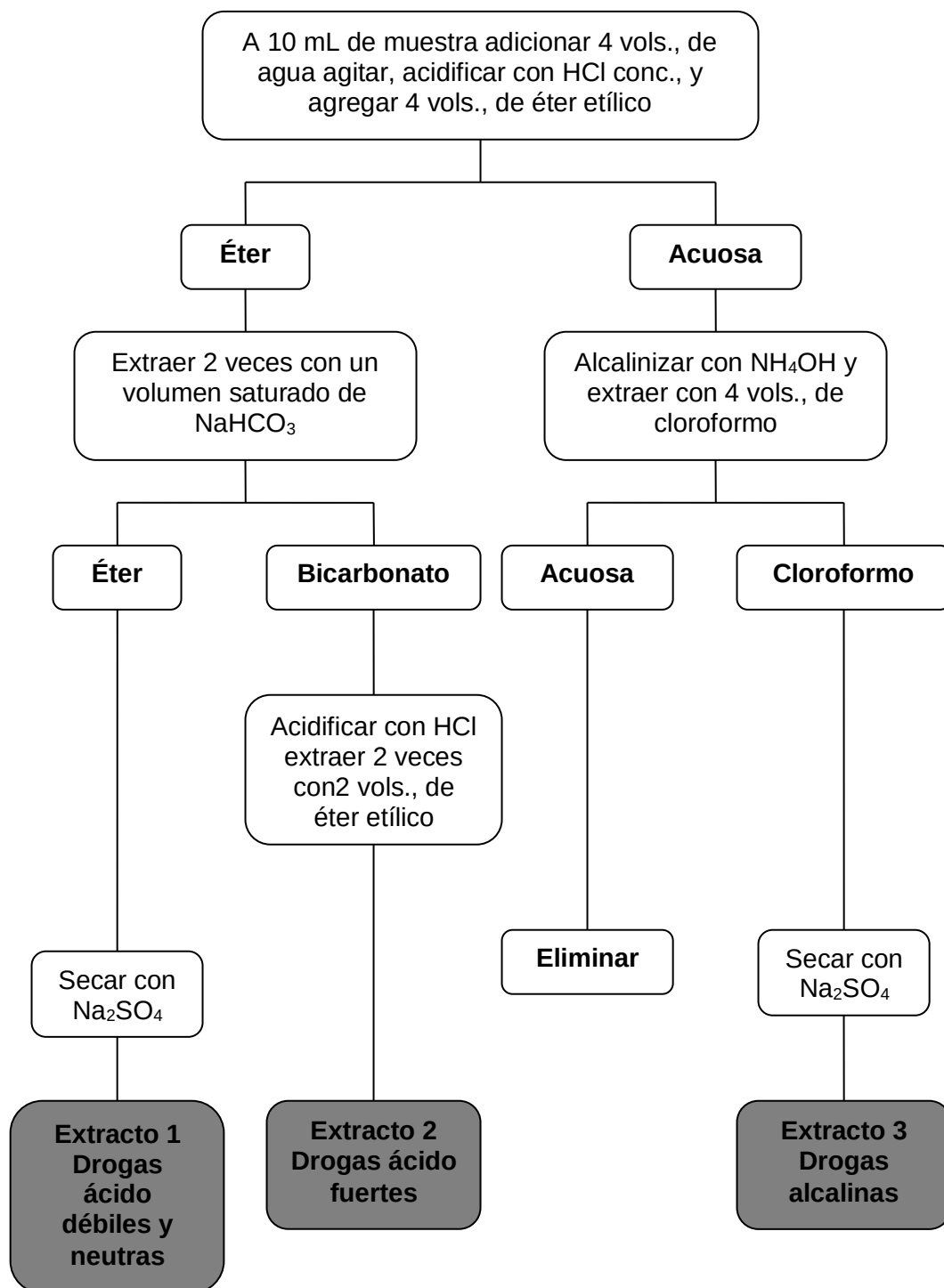


Figura 16. Marcha analítica de 3 vías para la extracción de drogas en fluidos biológicos.



Se han omitido los estudios acerca de pesticidas, tóxicos volátiles, gases tóxicos e intoxicación por metales, ya que se realizan en un porcentaje mínimo durante todo el año, por parte del personal del laboratorio de Química Forense de la Procuraduría de Justicia del Estado de Hidalgo.



7. Conclusiones.

Los avances en la medicina forense y mas específicamente en su rama de investigación toxicológica, se ha dado gracias al desarrollo que han alcanzado los métodos de separación e identificación de tóxicos.

Dentro de los métodos analíticos que se han empleado para la identificación de tóxicos, la espectroscopia ultravioleta visible e infrarroja, son técnicas que se han empleado con bastante éxito, ambas técnicas son excelentes herramientas en el análisis químico toxicológico en medicina forense, sin embargo, la espectroscopia infrarroja tiene mayor aplicación en el análisis cualitativo, debido a la baja probabilidad que existe de que dos compuestos orgánicos cualesquiera, tengan espectros infrarrojos idénticos. Aunque el espectro de infrarrojo puede ser el mejor método para la identificación de sustancias, presenta un doble problema, por un lado, requiere una gran pureza de la muestra y por otro, se necesita una cantidad de muestra algo elevada, no por falta de sensibilidad de la técnica, sino por la dificultad de la manipulación de dicha muestra. A medida que los métodos espectroscópicos avancen, la química forense se verá más beneficiada.

Las dificultades que han de abordar los laboratorios de toxicología forense vienen predeterminadas normalmente por el compromiso de establecer un buen equilibrio entre la celeridad con que en ocasiones ha de dar respuesta a los casos judiciales y mantener un buen nivel de exhaustividad y rigurosidad en la analítica. En la misma dirección aparecen las limitaciones económicas, que afectan tanto a la capacidad de mantener



una buena plantilla de profesionales, como de abordar una instrumentación de buena calidad con las tecnologías más adecuadas, modernas y eficaces.

El futuro que se prevé para los laboratorios de toxicología forense, ira de la mano del desarrollo de las técnicas analíticas, cada vez más sensibles y resolutivas. Se cosecharan así mejores resultados analíticos acerca de sustancias químicas complejas y sus metabolitos.

El estudio toxicológico en el laboratorio de química forense en el estado de Hidalgo es bastante extenso, por lo que en este trabajo se ha pretendido abarcar los principales estudios (alcoholemia y toxicológico, que son los servicios mas solicitados a lo largo del año) y técnicas que se emplean, así como una breve introducción a los fundamentos de las mismas. Se da a conocer acerca de los equipos analíticos con los que cuenta este laboratorio como parte auxiliar para el buen desempeño del trabajo, así como los fundamentos de cada uno de estos equipos

Se esquematizan las principales muestras y tipos de drogas, así como la metodología más adecuada para llevar a cabo los análisis requeridos por el sistema de justicia del estado de Hidalgo.



8.- Bibliografía.

1. Goth A., Farmacología Médica., Editorial Interamericana, S. A.; 7ª edición. México D. F. **1989**.
2. Escohotado A. Historia de las Drogas de abuso, Alianza Editorial, Madrid, **1999**.
3. Quiroz Cuarón A., Medicina Forense. Editorial Porrúa, Séptima edición, México, **1993**.
4. Ladrón de Guevara J., Moya P. V., Toxicología Médica. Clínica y Laboral; Interamericana McGraw-Hill. 1a edición. Madrid, **1995**.
5. Lubian y Arias R., Dactiloscopia; Editorial Reus; 3a Edición; Madrid, **2002**.
6. Galnares Yscern A., Medicina Forense; Editorial Alhambra; Sevilla España. **2001**.
7. Heber Leon M., Flight Characteristics and Stain Patterns of Human Blood, **1970**.
8. Quenu M. Applications au traitement de leangle incarne. Bull Soc Chirug (Paris) 13:252-5. En: Mac Glamry. Comprehensive textbook of food surgery. Williams & Wilkins, Baltimore. **1987**, 1:19-38.
9. Pitz Wu. Fisher, R. S; Medicolegal investigation of death. Charles C. Thomas. Springfield. U.S.A, **1980**.
10. Casas Sánchez J. D. y Rodríguez Albarrán Manual de Medicina Legal y Forense., MS. Colex. Madrid, **2000**.



11. Patricia M. C. Manual de Química Forense. Ediciones la Roca, Buenos Aires Argentina. **2004.**
12. Wingard L. B., Brody, T. M., j. Y. Schwartz, Human Pharmacology. Molecular to clinical. Wolfe Publishing Limited, U.S.A. **1999.**
13. Cela Torrijos R., Notas del curso Validación y Calidad en el Laboratorio. Universidad de Santiago de Compostela, España. **1997.**
14. Flanagan R. J., Braithwaite R. A., Basic analytical toxicology. Geneva World Health Organization. London. **1995.**
15. García-Segura, Gavilanes et al/ Técnicas instrumentales de análisis en bioquímica. Editorial. Síntesis, Madrid. **1996.**
16. Done A. K. Clinical Pharmacology, Clin. Pharmacol. & Therap., **1961.**
17. Finkle B., Forensic Toxicology in the 1980`s. The role of the analytical chemist. *Analyt. Chem.*, 54, 433A. **1982.**
18. Prescott L. F. Toxicological monitoring, in *Therapeutic Drug Monitoring*, Richens, A., and Marks, V., Eds., Churchill Livingstone. Edinburgh. **1982.**
19. Albert L. A. Curso Básico de Toxicología, México: ECO OPS OMS, **1998.**
20. Campbell D. B., Separation Drugs from Body Fluids, Ed., North-Holland, Amsterdam, **1986.**
21. Wilson C., Fundamento de Hematología. Editorial. Interamericana. México, D.F. **1995.**
22. Medved L. I. y Kagan J. S. Toxicology, Ann Rev. Pharmacol., **1966.**



23. Hollister L., Clinical Pharmacology of Psychotherapeutic Drugs. Churchill Livingstone. New York, **1975**.
24. Bryce T. A. and Burrows J. L. Determination of Drugs in Biological Fluids, *Clin Pharmacol. Ther.*, 23,613, **1975**.
25. Zbinden G., Experimental and Clinical aspects of Drug toxicity. En Garattini, S. Y. shore, P. A. (dirs.), Advances in Pharmacology, Vol. 2, New York, **1963**, Academic Press, Inc.
26. Repetto M., Toxicología de la Drogadicción, ediciones Díaz de Santos. Madrid. **1985**.
27. HandBook of Forensic Science. FBI. Washington D. C. USA. **2008**.
28. Moreno Gonzáles R. L. Los Indicios Biológicos del Delito. Editorial INACIPE. Mexico. **2000**.
29. Ramsey J. and Campbell, D. B., An ultra rapid method for extraction of drugs from biological fluids. *J. Chromatogr.*, 63, 303, **1971**.
30. Trevor A., Rowland M., and Way E. L., Techniques for studying drug disposition in vivo. in *Fundamentals of Drugs Metabolism and Drug Disposition*. La Du. B. N., Mandel, H. G., and Way, E. L., Eds., Williams & Wilkins, U.S.A. **1972**.
31. Bruce B., Harold A. Deadmen, Randall S. Murch and F. Samuel Baechtel. An Introduction to the Methods of Analysis Under Investigation in the FBI Laboratory. Quántico VA. USA. **1996**.



32. Pattió J. A., Lossetti O., Trezza F., Guzmán C. y Stingo N., Tratado de Medicina Legal y Elementos de Patología Forense. Editorial Quorum. Buenos Aires, **2003**.
33. Vives J. L., Aguilar J. L., Manual de técnicas de Laboratorio en Hematología; 2ª edición; Editorial Doyma; Barcelona. **1997**.
34. Álvarez F. J., Prade R., y Del Rio M. C. Alcohol y conducción de vehículos. Jano. Madrid. **1993**.
35. Backer R. C., Pisano R. V. y Sopher I. M., The comparison of alcohol concentration in postmortem fluids and tissues. J. Forensic. Sci, 25, 327-331, **1980**.
36. Ley General de salud, Tomo I, Editorial Porrúa, México, **2006**.
37. Arif A.; Westermeyer J. Manual of Alcohol And Drug Abuse. Guidelines for Teaching in Medical and Health institutions. Ed. Plenun Press, U.S.A. **1998**.
38. Davis V. E. y Walhs M. J. Alcohol amines and alkaloids: A possible biochemical basis for alcohol addiction. Science, Bay College of Medicine, Houston, Texas. 167, 1005-1007, **1970**.
39. Goldstein D. B., Absorption, distribution and elimination of etanol. En pharmacology of alcohol. Oxford University Press, London. **1993**.
40. Isselbacher K. J. y Greenberger N. J., Metabolic effects of alcohol on the liver, New England J. Med., 270:251, **1964**.



41. Losowsky M. S., Jones D. P., Davidson, C. S. y Lieber, C. S., Studies of alcohol hyperlipemia and its mechanism, *Am. J. Med.*, 35:794, **1963**.
42. Draeger H. Manual de análisis de alcohol en el aire espirado. Ed. Díaz-Santos, Madrid. **2000**.
43. Mardones J., The alcohols. En Root, W. S. y Hofmann, F. G.(dirs.), *Physiological Pharmacology*, vol. 1, New York, **1963**, Academic Press, Inc.
44. Roe O., The metabolism and toxicity of methanol, *Pharmacol. Rev.*, 7:399, **1955**.
45. Solon J., Watkins J. and Mikkelsen L., Automated analysis of alcohol's in blood; *J Forensic Sci*, Vol. 17, No. 3, **1972**.
46. Córdoba D., Toxicología, Editorial Manual Moderno, Cuarta Edición, Córdoba, España. **2000**.
47. Goodman G, Alfred et all: Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica, 9va. edición, Panamericana, Argentina, **1998**.
48. Katzung B. Farmacología básica y clínica, Manual Moderno, 9ª edición, México, **2007**.
49. Muñoz L., Pascual J. R., Sacasa L. manual de farmacología. León:Editora Universitaria. Madrid. **1982**.
50. Moffat A. C., Jackson J. V., Moss M. S. and Widdop B., Clarke's Isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids, and post-mortem material, Third edition, The Pharmaceutical Press, London, **2003**.



51. Gisbert Calabuig J. A., Medicina Legal y Toxicología; Editorial Masson. 6a edición; Madrid. **2004**.
52. Ariens E. J. Introducción a la Toxicología México: Diana, **1998**.
53. Sogorb M. Y Vilanova E. Técnicas analíticas. Aplicaciones toxicológicas. Editorial Díaz de Santos, Madrid. **2004**.
54. Jenkins A.J. and Goldberger B.A. Identification of unique cocaine metabolites and smoking by-products in post-mortem blood and urine specimens. J. Forensic Sci., **1997**.
55. Bello Gutiérrez J. y López de Cerain Salsamendi, A. Fundamentos de ciencia Toxicológica, Madrid, Ediciones Díaz de Santos S. A., **2001**.
56. Curci O. H. & col. Toxicología. López Libreros 2ª edición. Buenos Aires, Argentina. **1994**.
57. Cabrera B. R., Torrecilla J. M. Manual de drogas. Madrid: Editorial Cauce, **1998**.
58. Ellenhorn M. Medical Toxicology. Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. Second edition. William and Wilkins, U.S.A. **1997**.
59. Sunshine I., Jatlow PI. Methodology for analytical toxicology. Volumen II. CRC Press. Boca Raton. **1992**.
60. Luque De Castro M. Analytical determination of drugs in biological specimen's extraction techniques. Editors, Appleton-Century, Crofts,



Department of Chemistry and Biochemistry, South Dakota State University,
Brookings, South Dakota **1998**.

- 61.** Varcárcel M., Principios de química analítica, Editorial Springer. Barcelona. **1999**.
- 62.** Higson S. Química analítica. McGraw-Hill / Interamericana de México. **2007**.
- 63.** Rouessac F. Análisis químico. Métodos y técnicas instrumentales. Editorial McGraw-Hill/Interamericana. Sevilla España. **2000**.
- 64.** R. A. Day, Jr., A. L. Underwood. Química analítica, 5a edición. Prentice-Hall Hispanoamericana. España. **1989**.
- 65.** Hobart H. W., Métodos instrumentales de análisis. Grupo editorial Iberoamérica, México. **1991**.
- 66.** Harris, D. C., "Análisis Químico Cuantitativo", Grupo Editorial Iberoamérica, S.A. de C.V., México, **1992**.
- 67.** R. M. Silverstein, F. X. Webster, Spectroscopic Identification of Organic Compound, Wiley, 6ª ed., **1998**.
- 68.** D. H. Williams, I. Fleming, Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, McGraw-Hill, 5ª ed., **1995**.
- 69.** Pretsch E., Bühlman P., Affolte C., Herrera A., Martínez R., Tablas para la determinación estructural por métodos espectroscópicos, Springer-Verlag Ibérica, **2001**.



70. Haaland D. M. Methods applied to quantitative FT-IR analyses, in Ferraro J. R. and Krishnan K. (Ed.) Practical Fourier transform infrared spectroscopy, Academic Press, New York, **1999**.
71. Freitag R. Modern advances in spectroscopy. Wiley-Interscience. U.S.A. **1999**.
72. Koenig J. L., Snively, C. M. Spectroscopy infrared, Marcel Dekker. U.S.A. **1998**.
73. Ewing G. W., "Métodos Instrumentales de Análisis Químicos", McGraw-Hill de México. **1998**.
74. Willard H. H., Merrit L., Dean A., "Métodos Instrumentales de Análisis C.E.C.S.A., México, **2000**
75. Pavia D. L., G. M. Lampman, G. S. Kriz, Jr. "Introduction to Spectroscopy, A Guide for Students of Organic Chemistry". Philadelphia, USA, **1999**
76. Olsen E.D., "Modern Optical Methods of Analysis", Mc Graw-Hill Book Company, **1995**.
77. Abbott D. y Andrews, R. S. Introducción a la Cromatografía. 3ra. Edición. Colección Exedra. Editorial Alhambra. España. **1973**.
78. Waldi D. Chromatography, 2a Edición. E. Merck AG, Darmstadt **1993**.
79. Miller J. M. Chromatographic: Concepts and Contrasts. Wiley-Interscience. USA. **1998**.
80. Katz E. Quantitative Analysis using Chromatographic Techniques. Separation Science Series. John Wiley & Sons. USA. **1987**.



81. Scott Raymond P. W. Techniques and Practice of Chromatography, Vol. 70. Chromatographic Science Series. Marcel Dekker. USA. **1995**.
82. Reactivos de Coloración para Cromatografía en Capa Fina y en Papel. Merck. Alemania. **1980**.
83. Domínguez X. A., Cromatografía en Papel y en Capa Delgada. Serie de Química. Organización de los Estados Americanos. Nº 16. U.S.A. **1975**.
84. Storch de Gracia, J. M. Fundamentos de la Cromatografía de Gases. 2ª Edición. Serie Química. Colección Exedra. Editorial Alhambra. España. **1975**.
85. Perry, John A. Introduction to Analytical Gas Chromatography: History, Principles and Practice. Vol. 14. Chromatographic Science Series. Marcel Dekker. **1981**.
86. Oehme F. W. Practical introduction to gas chromatography analysis. 2nd ed. CRC Press Inc. U.S.A. **1998**.
87. Burget C. A., Green I. E., Bonelli E. J. Chromatography methods in gas analysis. Hewlett Packard. U.S.A. **1999**.
88. Cazes J. Chromatography Theory. John Wiley & sons. U.S.A. **2002**.
89. Ewing G. Instrumental Methods of Chemical Analysis. 3rd Edition. McGraw-Hill. U.S.A. **2000**.
90. Gasco L. Teoría y Práctica de la Cromatografía en Fase Gaseosa. Ediciones J.E.N. España. **1998**.



91. Hoffman H. F. A Handbook on drug and alcohol abuse. The Biomedical aspects. Second edition, Oxford University Press, **1983**.
92. Garriot J. C. Medico-legal aspects of alcohol determination in biological specimens, PSG. **1987**.
93. Ellenhorn M. Medical Toxicology. Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. Second edition. William and Wilkins, **1997**.
94. Casarett L. y Doull J. Manual de Toxicología. La ciencia básica de los tóxicos, 5a edición. MacGraw-Hill Interamericana. México **1999**.
95. Córdoba D. Toxicología et al, 4a ed. – Bogota, Editorial El manual moderno S. A., **2000**.
96. Karlix J. and Bertholf R. L. Detection of cocaine and its metabolites in amniotic fluid and umbilical cord tissue. J. Anal. Toxicol, 1997.
97. MacDonnel J. Bloodstain Patter interpretation. Laboratory of Forensic Science, Corning, New York. **1999**.
98. Foggie S. Cocaine addiction and treatment. Can 28 Drug treatment programs survive the 90's. Bench notes. Special report. J. NIH. Res. **1999**.
99. Katagi M., Nishioka H., Nakajima K., Tsuchihashi H. Analysis of abused drugs in human's urine with commercial enzyme immunoassay reagents. Jpn. J. Toxicol. Environ. Health, 42, 159, **1996**.



- 100.** Soriano C., Guerra J. M., Carreras D., Rodriguez C., Rodriguez A. F. Cortes R. Automated analysis of drugs in urine. *J. Chromat. B*, **1996**.
- 101.** Harris D. C. Chemical analysis of drug abuse in urine. CRC Press Inc. U.S.A. **2002**.
- 102.** Carmen del Rio M., Gomez J., Sancho M., Alvarez F. J. Alcohol, illicit drugs and medicinal drugs in fatally injured drivers, *Forensic Sci Int*. **2002**.
- 103.** Vanbinst R, Koenig J, Di Fazio V, Hassoun A. Bile analysis of drugs in post-mortem cases. *Forensic Sci Int*, **2002**.
- 104.** Daniel S. Isenschmid, M.S. and Yale H. Caplan, Ph. D; Incidence of Cannabinoids in Medical Examine Urine Specimens; *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, Vol. 33, No. 6, Nov. **1988**.



Anexo 1.

Técnicas espectroscópicas.

Fundamento.

Las técnicas espectroscópicas⁵⁹ se basan en la capacidad que tienen las moléculas y los átomos de absorber radiaciones de diferente longitud de onda, características de cada sustancia, utilizando la energía de dichas radiaciones ($h\nu$) para producir cambios energéticos en su estructura.

En los átomos estos cambios se refieren exclusivamente a transiciones electrónicas. En las moléculas los cambios energéticos son debidos a movimientos electrónicos, así como a movimientos de vibración y rotación de la molécula. Dentro de este grupo destacan las técnicas reseñadas en la tabla IX:

Tabla IX.- Principales técnicas espectroscópicas empleadas en la PGJH.

Técnicas	Compuestos	Análisis
Espectroscopía de UV visible	Orgánicos	Cuali/Cuantitativo
Espectroscopía Infrarroja	Orgánicos	Cualitativo

Luz visible.

La luz visible es un conjunto de energía radiante que forma parte del espectro electromagnético (figura 17). Todas las radiaciones de este espectro, tienen una



velocidad de 3×10^{10} cm/seg aproximadamente (Tabla X); poseen propiedades mixtas, de onda y de corpúsculo, y se propagan en línea recta en todas direcciones desde su fuente de origen⁶⁰.

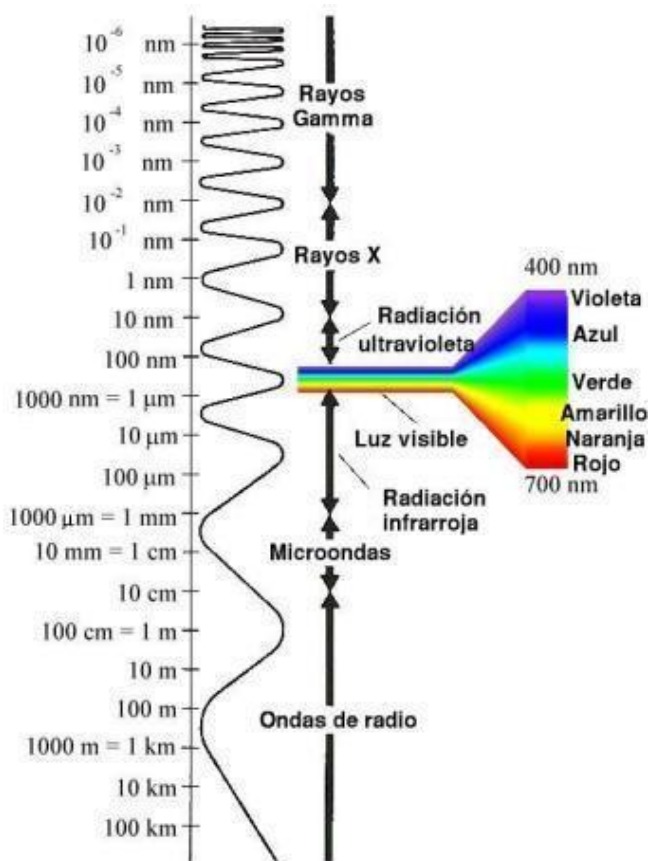


Figura 17.- Espectro Electromagnético.

Soluciones coloreadas.

Algunas soluciones tienen color, porque absorben la luz de cierta longitud de onda (λ) y dejan pasar la de otras longitudes de onda, esta propiedad puede aprovecharse



para determinar λ o la concentración de acuerdo a la Ley de Lambert-Beer. Una solución roja debe su color a que transmite el color, cuya λ se encuentra entre 650 y 750 nm, en tanto que absorbe la luz de λ más corta. Las soluciones que no absorben la luz visible, viéndose incoloras, pueden absorber en el infrarrojo o el ultravioleta⁶¹.

Ley de Lambert-Beer.

La ley de Beer relaciona la cantidad de luz absorbida con la concentración del componente absorbente⁶². *En condiciones adecuadas, la cantidad de luz absorbida por una solución, cuando se ilumina con luz de longitud de onda monocromática, es directamente proporcional a la concentración del analito absorbente; $A = abc$, donde a = coeficiente de absortividad, b = longitud del trayecto luminoso y c = concentración del componente coloreado.*

Longitud del trayecto luminoso. Depende del tamaño del tubo o de la cubeta que se utiliza; si emplea el mismo tubo o la misma cubeta para todas las mediciones, se puede descartar este factor también. Bajo estas condiciones, la ley de Beer-Lambert se escribe $A \propto c$ (absorbancia proporcional a concentración).

Absorbancia. La absorbancia puede definirse como el logaritmo negativo de la transmitancia o el logaritmo del recíproco de la transmitancia (ver figura 2).

$$A = -\log T \text{ ó } A = \log 1/T$$

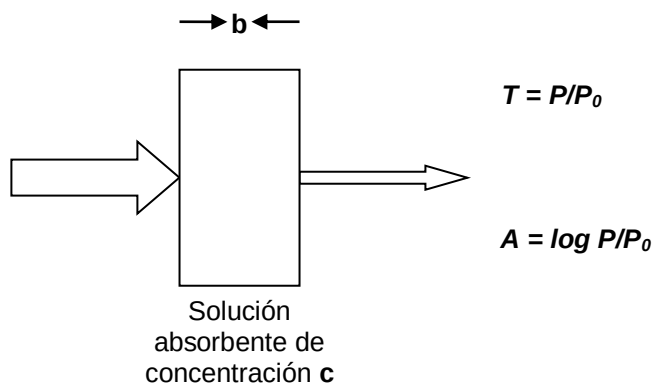


Figura 18. Atenuación de un haz de luz de radiación por una solución absorbente.

Transmitancia. La transmitancia puede definirse como la relación entre la luz transmitida P (luz que sale de la solución) y la luz incidente P_0 (luz que entra a la solución).

$$T = P/P_0$$

Espectroscopía Ultravioleta Visible.

Fundamento.

La absorción de energía radiante por un compuesto da origen a transiciones electrónicas en las moléculas de manera que la frecuencia de la absorción está relacionada con la diferencia de energía entre el orbital ocupado originalmente por el electrón y el que ocupa después de ser excitado⁶³ (Fig.19):

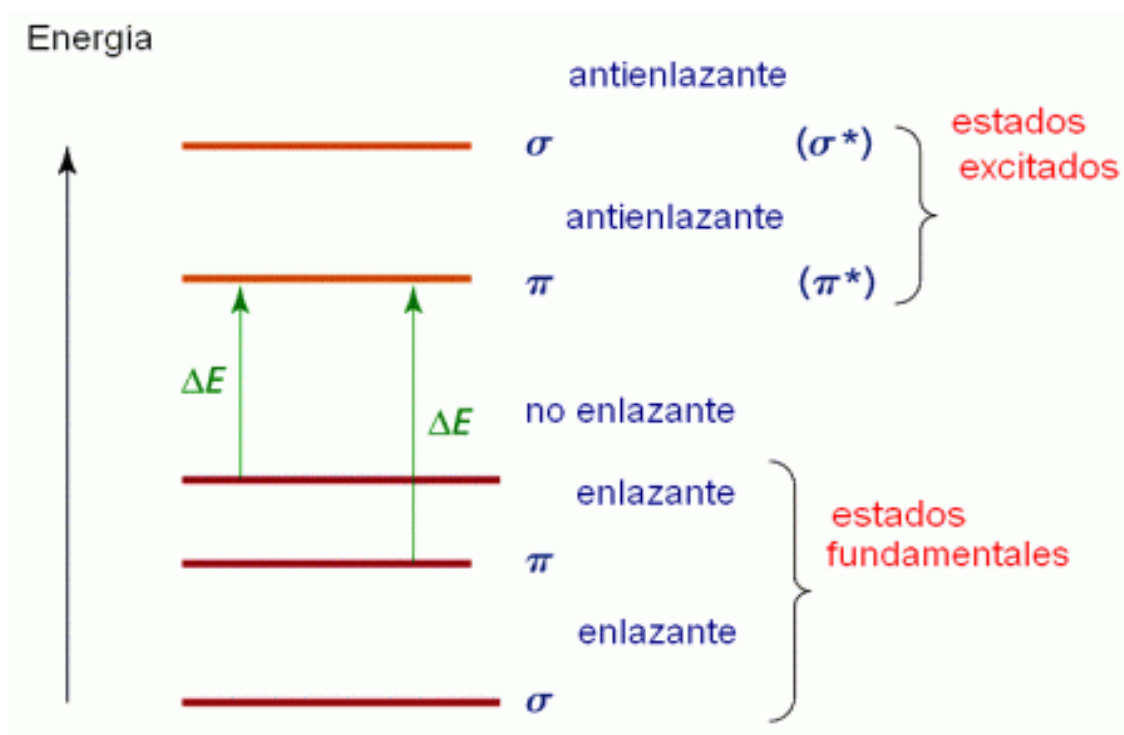
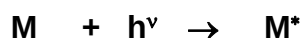


Figura 19. Transiciones electrónicas.

La absorción de radiación ultravioleta y visible por una especie **M**, puede considerarse como un proceso en dos etapas, la primera de las cuales corresponde a la excitación indicada por la ecuación:



Donde **M*** representa la partícula atómica o molecular en su estado electrónico excitado que se produce como resultado de la absorción del fotón $h\nu$. Este estado excitado tiene un tiempo de existencia muy breve, y desaparece a través de algunos de los diferentes procesos de relajación.



La absorción de la radiación ultravioleta o visible, se produce por lo general como consecuencia de la excitación de los electrones de enlace; debido a esto, la longitud de onda de los picos de absorción se puede correlacionar con los tipos de enlace existentes en la especie que se estudia⁶⁴. Por lo tanto, la espectroscopia de absorción resulta valiosa para la identificación de los grupos funcionales en una molécula, también proporciona un método bastante selectivo para el análisis cuantitativo.

La espectroscopia de ultravioleta visible utiliza la radiación del espectro electromagnético cuya longitud de onda está comprendida entre los 100 y los 800 nm ⁶⁵.

El análisis de UV es conveniente para detectar una droga específica o confirmar compuestos detectados por otras técnicas. Se realiza un barrido espectral entre 390- y 220 nm en solución acuosa ácida (ácido clorhídrico 1% o ácido sulfúrico 0.1 N), para extracto alcalino y solución acuosa alcalina (hidróxido de amonio 0.5 N) para extracto ácido o con solución neutra (metanol), de esta forma se obtiene información adicional mediante el estudio de los picos de absorción máxima ya que muchas drogas varían su absorción al UV (ϵ máxima) por cambio de pH. El barrido UV es poco específico a menos que la droga problema sea aislada por otro procedimiento como TLC (cromatografía en capa delgada) o por metodologías que reducen las interferencias espectrales de los líquidos orgánicos y de otras drogas.

Algunos compuestos pueden presentar espectro UV similares o superpuestos requiriendo otras técnicas de confirmación. El aspecto típico de un espectro UV es el que se muestra en la figura 20:



Los máximos de absorción se deben a la presencia de cromóforos en la molécula, en este caso existen dos absorciones a 245 y 255 nm, pero para caracterizar dichas absorciones además de la longitud de onda máxima para cada absorción debemos recordar la ley de Lambert-Beer.

Cuando la radiación incide sobre una sustancia no toda ella se ve afectada por la misma; al átomo o conjunto de átomos que absorben radiación se le denominaba **cromóforo**⁶⁶. En las moléculas existen también átomos o grupos de átomos que no absorben radiación, pero hacen que se modifique alguna de las características de la absorción del cromóforo, se denominaban a tales grupos **auxocromos**.

De acuerdo con los anteriores modos de excitación en la tabla X se muestran algunos cromóforos simples.

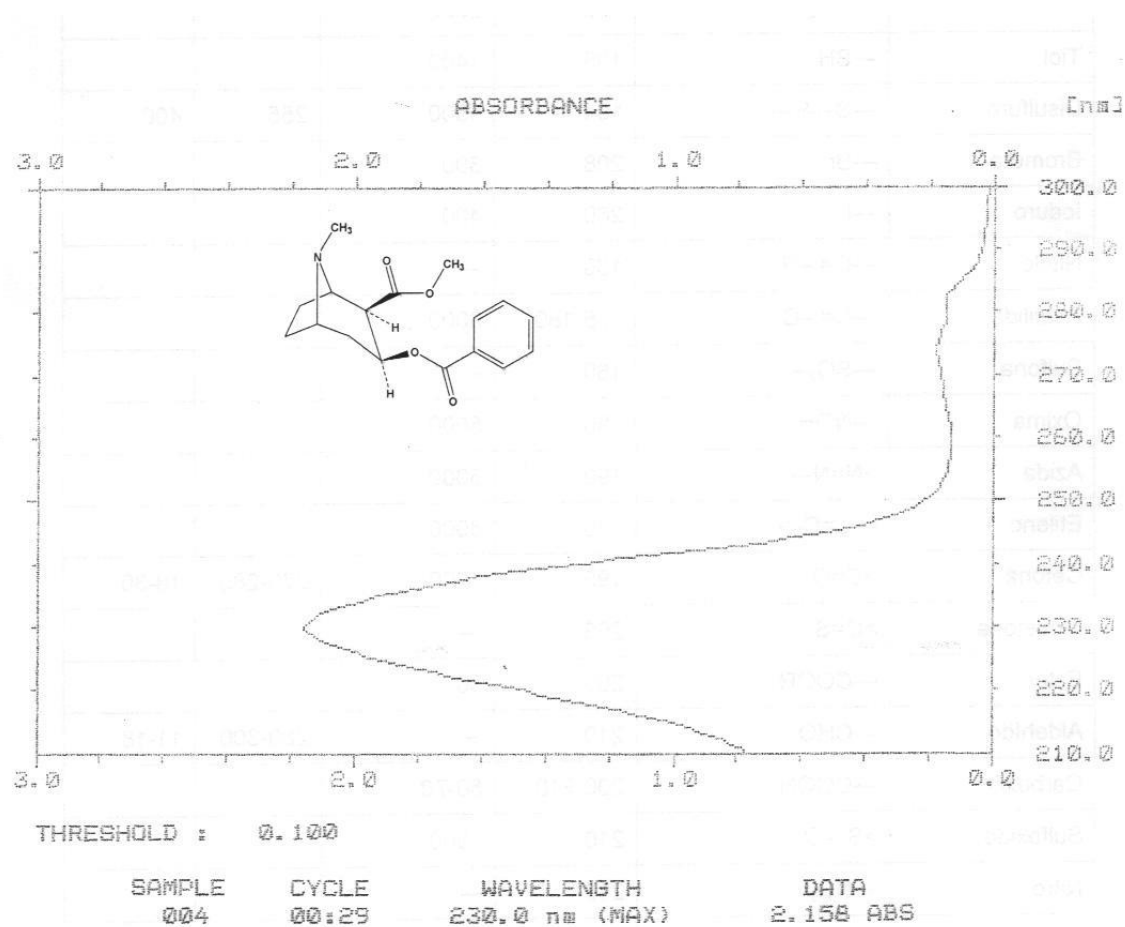


Figura 20. Ejemplo de un espectro de ultravioleta de la cocaína.



Tabla X. Tipos de cromóforos.

Cromóforo	Configuración química	λ max (nm)	ϵ max (L/m/cm)	λ max (nm)	ϵ max (L/m/cm)
Éter	—O—	185	1000		
Tioeter	—S—	194	4600	215	1600
Amino	—NH ₂	195	2800		
Tiol	—SH	195	1400		
Disulfuro	—S—S—	194	5500	255	400
Bromuro	—Br	208	300		
Ioduro	—I	260	400		
Nitrilo	—C= —N	160	—		
Acetilida	—C= —C—	175-180	6000		
Sulfona	—SO ₂ —	180	—		
Oxima	—NOH	190	5000		
Azida	>N=N—	190	5000		
Etileno	—C=C—	190	8000		
Cetona	>C=O	195	1000	270-285	18-30
Tiocetona	>C=S	205	—		
Ester	—COOR	205	50		
Aldehído	—CHO	210	—	280-300	11-18
Carboxilo	—COOH	200-210	50-70		
Sulfóxido	>S—O	210	1500		
Nitro	—NO ₂	210	—		
Nitrilo	—ONO	220-230	1000-2000	300-400	10
Azo	—N=N—	285-400	3-25		
Nitroso	—N=O	302	100		



Nitrato	$-\text{ONO}_2$	270	12		
Aleno	$-(\text{C}=\text{C})_2-$ (cíclico)	210-230	21000		
Aleno	$-(\text{C}=\text{C})_3-$	260	35000		
Aleno	$-(\text{C}=\text{C})_4-$	300	52000		
Aleno	$-(\text{C}=\text{C})_5-$	330	118000		
Aleno	$-(\text{C}=\text{C})_2-$ (alicíclico)	230-260	3000-8000		
Etileno/acetileno	$\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$	219	6500		
Etileno/amida	$\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{N}$	220	23000		
Etileno/carbonilo	$\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$	210-250	10000-20000		
Etileno/nitro	$\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{NO}_2$	229	9500		

Instrumentación ultravioleta y visible.

Fundamento.

Todos los instrumentos para medir absorbancia poseen los mismos componentes básicos: fuente de luz, dispositivo para monocromía, soporte para las muestras, detectores fotosensibles y aparatos de medición⁶⁷ (ver Figura 21).

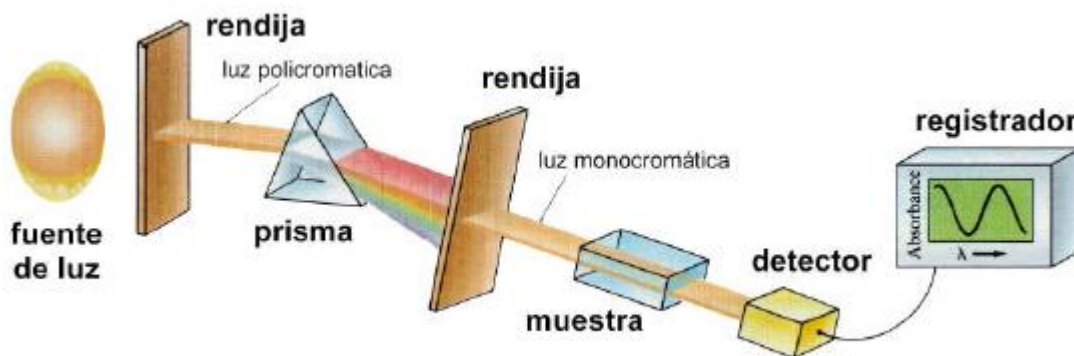


Figura 21. Componentes de un espectrofotómetro de ultravioleta visible.



- **Fuente de luz.** Cuando se trabaja con luz visible y ultravioleta lejana, se emplea un foco con filamento de tungsteno, mientras que en la gama del ultravioleta, se necesita una lámpara de deuterio.
- **Dispositivo de monocromía.** Algunos espectrofotómetros emplean rejillas de difracción. Las celdas de vidrio, satisfactorios para la luz visible, no pueden usarse para la luz ultravioleta, pues el vidrio absorbe casi todas las radiaciones. En los instrumentos de mayor costo, suelen usarse celdas de cuarzo, que transmiten con la misma eficacia el rango de los ultravioletas y en el visible.
- **Portamuestras.** Los portamuestras pueden ser tubos redondos o cubetas de paredes planas. En los colorímetros y espectrofotómetros para longitudes de onda en el visible se utiliza vidrio por su menor costo, con longitudes onda en el ultravioleta, se necesitan cubetas de cuarzo.
- **Detectores fotosensibles.** Un detector produce una señal eléctrica cuando es golpeado por fotones en el cual un fototubo emite electrones desde una superficie fotosensible cargada negativamente. Cuando inciden sobre ella radiaciones de luz visible o UV, los electrones atraviesan el vacío hasta un colector cargado positivamente, cuya corriente es proporcional a la intensidad de la radiación.
- **Aparatos de medición.** En muchos instrumentos, se utilizan galvanómetros o miliamperímetros de lectura directa, calibrados en unidades de absorbancia o transmitancia. En otros instrumentos, existe un sistema de punto cero, que utiliza un potenciómetro calibrado en absorbancia o en porcentaje transmitancia; en este



caso, el voltaje del tubo fotónico se equilibra con una fuente multiplicadora de electrones (FEM) patrón. La resistencia que se necesita para lograr el equilibrio constituye una medición de la absorbancia de la solución que se analiza.

En la tabla XI se resumen los símbolos y la terminología utilizados en espectrofotometría.

Tabla XI.- Símbolos utilizados en espectrofotometría.

Símbolos	Nombre y definición	Otros nombres y definiciones
B	Longitud del trayecto luminoso en cm	L
c	Concentración en g/litro	
M	Concentración en moles/litro	
I_0	Intensidad incidente	I^0
I	Intensidad transmitida	I
T	Transmitancia = P/P_0	Transmisión
T%	Transmitancia por 100 = $100 (P/P_0)$	Transmisión por 100
a	Absorbancia = $\log 1/(P/P_0) = \log P/P_0$	Densidad óptica (DO o D) Extinción (E)
A	absorción específica = A/bc	Coeficiente de extinción (k)
ε	Absorción específica molar = A/bM	Coeficiente de extinción molar (a_M)

En química forense la espectroscopia de ultravioleta visible se utiliza en la identificación de drogas de abuso, identificación de ácido hipúrico (componente principal de la identificación de solventes en orina), y en la identificación y cuantificación de monóxido de carbono en sangre.



Espectroscopia Infrarroja.

Fundamento.

Es uno de los métodos más usados para la identificación de grupos funcionales. Un espectro infrarrojo puede obtenerse en menos de 2 minutos y la muestra no es alterada ni destruida. Cada compuesto produce un espectro diferente, de forma que un espectro infrarrojo es equivalente a una “huella dactilar” de la sustancia examinada⁶⁸ (Ver figura 23). Todos los compuestos orgánicos absorben radiación en la región infrarroja del espectro electromagnético.

En el caso de la región infrarroja, como tiene menos energía, no va a poder modificar los niveles energéticos en las moléculas. En la figura 22, se puede observar que los niveles energéticos electrónicos necesitan un contenido de energía bastante grande, es decir, para pasar de un nivel basal E_0 , al primer nivel excitado E_1 electrónico. Sin embargo entre este nivel E_0 y el nivel E_1 , existen varios niveles de excitación vibracionales, los cuales van a tener menos energía que los niveles electrónicos. Estos niveles vibracionales son los que necesitan la cantidad de energía que puede ser dada por el IR; y entre estos niveles vibracionales, va a haber una serie de niveles rotacionales, o sea, para provocar la rotación, se necesita menor energía que para provocar vibración y menos que para provocar cambios electrónicos.

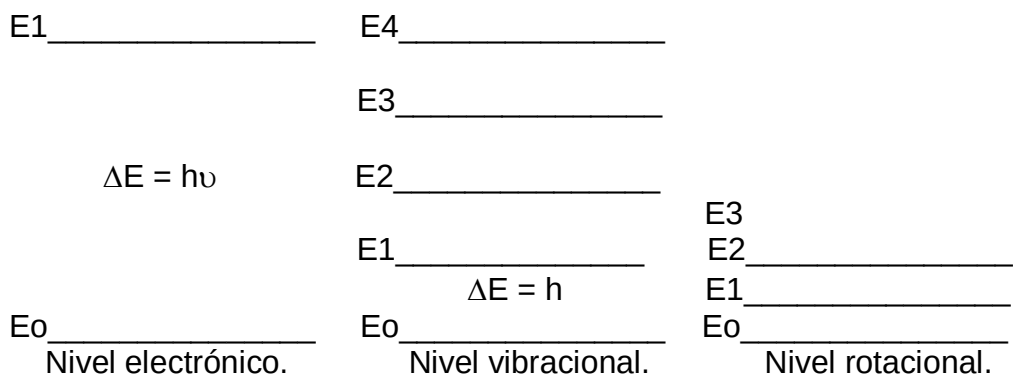


Figura 22. Niveles energéticos.

Dentro del infrarrojo que se ha dividido en cercano, medio y lejano, el más utilizado es el IR medio, que va de 4000 a 690 cm^{-1} ; la razón porque se ha escogido esa parte, es que en esa región aparecen las vibraciones de casi todos los grupos funcionales ⁶⁹.

Si un grupo funcional existe, va a estar vibrando; solamente que al absorber energía, va a pasar de su nivel basal, al primer nivel excitado, y para eso absorbió una cantidad definida de energía.

En moléculas donde existen interacciones entre materia y luz IR, se puede observar que cada variación en fuerza de unión o en masa de átomos, provocará cambios en la energía que necesita para vibrar.

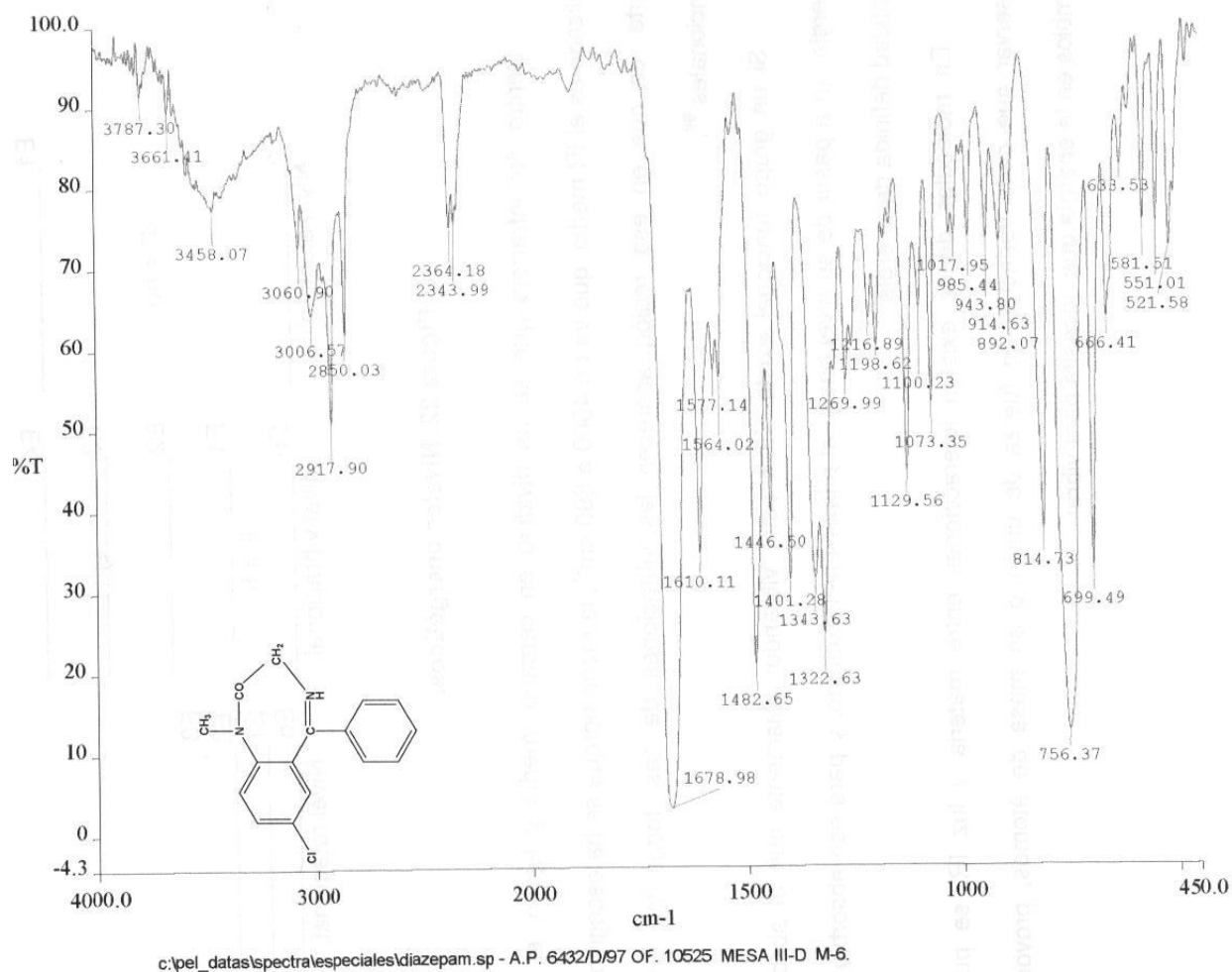


Figura 23. Ejemplo de un espectro de infrarrojo, de una benzodiacepina (Valium [Diazepam] ó 7-cloro-1,3-dihidro-1-metil-1-5-fenil-2H-1,4-benzodiacepina.



Grados de libertad.

Se ha dicho que las radiaciones IR provocan vibraciones o cambios en niveles vibracionales, la libertad que tienen las moléculas de movimiento va a depender de que tan fácilmente se les pueda definir, en cuanto a posición en un eje de coordenadas imaginario. Esta libertad que tienen para moverse se conoce como grado de libertad⁷⁰.

Hay 3 grados de libertad o 3 tipos diferentes de movimiento:

1. El movimiento transnacional.
2. El movimiento rotacional.
3. El movimiento de vibración.

Estos tres grados de libertad, van a ser para uno, dos, tres o n átomos, siempre y cuando se encuentren unidos; de tal manera, que si son 3 los grados de libertad para un átomo, para n átomos, serán $3n$ grados de libertad.

Tipos de vibraciones.

Las vibraciones se pueden dividir en dos grandes grupos: valencia ó stretching (estiramiento) y deformación ó bending (flexión); Las vibraciones stretching son aquellas en las que los átomos de un enlace oscilan alargando y acortando la distancia del mismo sin modificar el eje ni el ángulo de enlace y Las vibraciones bending son aquellas que modifican continuamente el ángulo de enlace. Para diferenciar un tipo un tipo del otro se acostumbran a usar las letras griegas ν y δ para las vibraciones de valencia (Stretching) y de deformación (Bending) respectivamente⁷¹.



Dentro de los grupos mencionados hay varios subgrupos de vibraciones: simétricas y asimétricas, de tijera, abanico, giro y péndulo.

Además de las vibraciones fundamentales, pueden aparecer en el espectro sobretonos los cuales están dados por las combinaciones de dos frecuencias o bien por múltiplos de una frecuencia. En términos generales, se puede decir, que todas aquellas moléculas cuya vibración produce un cambio en el momento dipolar, van a ser IR activas.

Identificación de sustancias.

El espectro infrarrojo es característico de cada sustancia, como el punto de fusión o algún otro parámetro físico⁷². En general, cuando los espectros de dos sustancias A y B son idénticos, se puede suponer que es altamente probable que se trate de un mismo compuesto, sin embargo, esto no quiere decir que podamos tener la certeza absoluta de ello, ya que hay compuestos diferentes que tienen espectros idénticos; por ejemplo, los isómeros ópticos en solución, mientras que en estado sólido los espectros pueden ser diferentes. Muchas veces es imposible diferenciar el espectro de polímeros n ó $n+1$ elementos estructurales. En otros casos en cambio, se pueden usar las intensidades de algunas bandas para encontrar el número de elementos estructurales presentes en la molécula. En pocas palabras el análisis de los espectros nos permite como regla general (con algunas excepciones), identificar una sustancia.

Es importante tomar en cuenta los siguientes puntos:



- a. Se deben comparar los espectros tomando concentraciones iguales y en el mismo medio. En caso de soluciones es importante usar el mismo disolvente.
- b. Se deben comparar espectros obtenidos a diferentes concentraciones para poder resolver los picos de baja intensidad y los de alta.
- c. Cuando los espectros sean de diferentes concentraciones, la relación de las intensidades de los picos del espectro debe ser igual en uno y en otro, si es que se trata de la misma sustancia.

Usar cuando sean posibles estándares, en caso de no tenerlos, emplear los compendios de espectros que existen y obtener los espectros de la sustancia que se quiere identificar en las condiciones de los espectros de comparación. Por otra parte, cuando dos muestras tienen diferentes espectros IR obtenidos en iguales condiciones si podemos afirmar con absoluta certeza que se trata de sustancias distintas⁷³.

El análisis de una estructura molecular está basado en la identificación de grupos funcionales a través de sus bandas características de absorción.

Cada grupo funcional químico tendrá unas frecuencias características que servirán para identificarlos en una sustancia desconocida. Estas frecuencias características se denominan “frecuencias de grupo”. Por ello un espectro infrarrojo puede dar con rapidez información sobre la presencia o ausencia de ciertos grupos funcionales, o características estructurales, presentes en un compuesto desconocido. En la tabla XII se muestran los diferentes grupos funcionales y su número de onda en que se localizan en el espectro de infrarrojo.



Tabla XII. Intervalo de frecuencias, tipos de vibración y enlaces en que se localizan en el espectro de infrarrojo.

Intervalo de frecuencias (ν cm^{-1})	Tipos de vibración	Enlace
3500-3200	Tensión	O-H, N-H
3300-3000	Tensión	=C-H, $\equiv$ C-H, Ar-H
3500-2500	Tensión	O-H + C-H (ácido)
3000-2800	Tensión	CH ₃ , -CH ₂ -, C-H, O=C-H
2400-2100	Tensión	C $\equiv$ C, C $\equiv$ N
2000-1650	Vibraciones secundarias	Procedentes del Ar-H deformación (3-4 bandas)
1800-1650	Tensión	C=O (ácidos, cétonas, aldehidos, amidas, ésteres)
1675-1500	Tensión	C=C, C=N (alifáticos y aromáticos)
1650-1550	Deformación	N-H
1475-1300	Deformación	C-H
1300-1100	Tensión	C-O (ésteres)
1300-1050	Tensión	C-O (ésteres) (2 bandas)
1000-600	Deformación	C=C-H, Ar-H (fuera del plano)

Los componentes de un espectrofotómetro de infrarrojo, los cuales se presentan en la figura 24 son los siguientes:

- 1) Una fuente de energía radiante continua que cubre la región del espectro en la cual opera el instrumento.
- 2) Un monocromador, que es una parte del instrumento que aísla una banda angosta de longitud de onda de todo el espectro emitido por la fuente.
- 3) Un recipiente para la muestra.



- 4) Un detector que es un *transductor* que convierte la energía radiante en una señal eléctrica.
- 5) Un amplificador y un circuito asociado que traduce la señal eléctrica a la lectura apropiada.
- 6) Un sistema de lectura de la medición que pone de manifiesto la magnitud de la señal eléctrica.

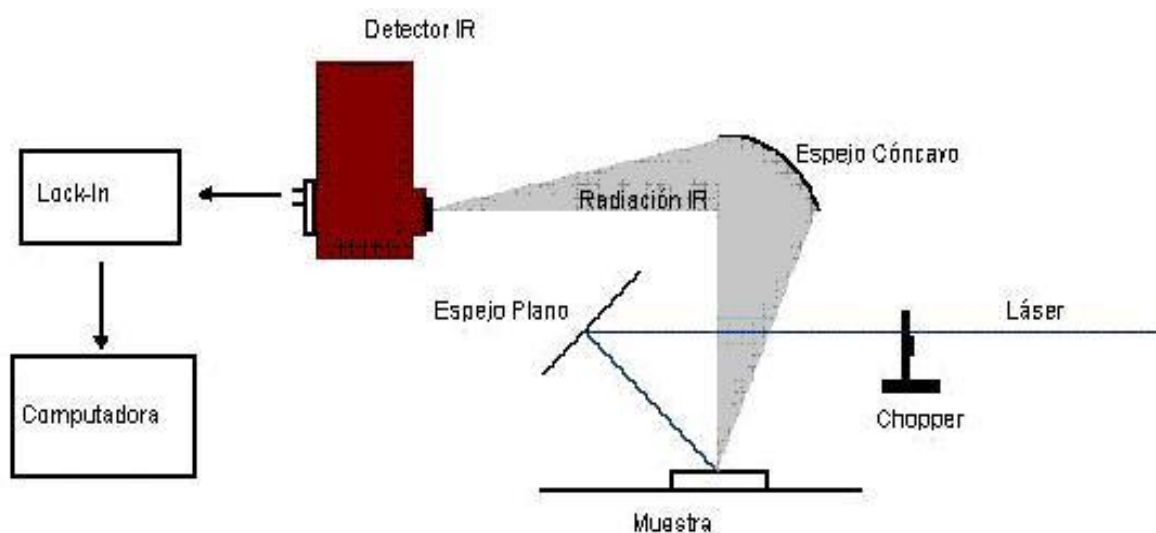


Figura 24. Componentes de un espectrofotómetro de infrarrojo.

La aplicación fundamental de la espectrofotometría infrarroja es el análisis cualitativo. Aunque el espectro infrarrojo puede ser el mejor método para la identificación de una sustancia, presenta un doble problema: por un lado, requiere una gran pureza de la muestra y por otro, se necesita una cantidad de muestra algo elevada, no por falta de sensibilidad de la técnica, sino por la dificultad de la manipulación de dicha muestra. Por todo ello, en la actualidad el uso de esta técnica en toxicología forense, encuentra su mayor aplicación en combinación con la cromatografía de gases⁷⁴.



En el laboratorio de química forense la espectroscopia de infrarrojo se utiliza principalmente en la identificación de metabolitos de drogas de abuso, identificación de fármacos y pastillas así como también en combinación con el microscopio criogénico, nos es de gran utilidad en la identificación y comparación de pinturas, tintas y fibras.

Cromatografía.

Fundamento.

La cromatografía es la técnica que separa una mezcla de solutos, está basada en la velocidad de desplazamiento de los mismos que se establece al ser arrastrados por una fase móvil (líquida o gaseosa) a través de un lecho cromatográfico que contiene la fase estacionaria que puede ser sólida o líquida. Es un método analítico empleado ampliamente en la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas⁷⁵. Ningún otro método de separación es tan poderoso y con tantas aplicaciones.

Es difícil definir con rigor al término cromatografía por que el concepto se ha aplicado a una gran variedad de sistemas y técnicas. Sin embargo, todos estos métodos tienen en común el empleo de una fase estacionaria y una fase móvil.

El método cromatográfico resuelve con notable éxito el problema de la separación e identificación de los componentes de un grupo de sustancias químicamente parecidas⁷⁶, este tipo especial de separación forma parte del equipo habitual de casi cualquier investigador, su gran sencillez permite adaptarlo a los problemas de investigación de cualquier laboratorio.



Cromatografía en columna.

En la *cromatografía en columna*, se llena un tubo vertical estrecho con un polvo muy fino⁷⁷, llamado fase estacionaria; este polvo puede ser de distintos materiales, desde el yeso en polvo del trabajo inicial de Tswett⁷⁸, sobre clorofilas, hasta albúmina, azúcar, celulosa, gel de sílice, carbón, talco y otros muchos, (el método de cromatografía debe su nombre a las distintas bandas *coloreadas* que obtuvo Tswett a partir de mezclas de clorofilas). La fase estacionaria representa principalmente un adsorbente que proporciona una superficie activa, frente a la cual los distintos componentes de la mezcla de sustancias tienen afinidades diferentes. Si se hace bajar una solución de la mezcla por una de estas columnas, los distintos componentes quedan adsorbidos sobre las partículas. Los componentes que se adsorben más intensamente quedan en la parte superior de la columna, y los demás ocupan posiciones cada vez más inferiores conforme disminuye su afinidad por las partículas de la columna. Si los componentes de un cierto grupo, formaran una serie de bandas o zonas coloreadas. Después de este tipo de separación todos los componentes del grupo pueden ser eludidos por separado, haciendo pasar por la columna diferentes solventes o amortiguadores de distinto pH, o también extrayendo la columna y cortando los fragmentos que contiene la sustancia de interés. Además, es posible utilizar la columna en otra forma, basándose en el principio de partición. Cuando una sustancia se distribuye entre dos líquidos inmiscibles entre sí o ligeramente miscibles, la relación de las concentraciones de dicha sustancia en las dos fases será constante, independientemente de la cantidad de soluto que se disuelva o del volumen de líquido empleado.



Esta distribución está sujeta a las siguientes condiciones:

- a) El reparto se debe efectuar a temperatura constante durante todo el proceso, puesto que la temperatura influye sobre la cantidad de soluto disuelta en cada líquido, de forma que para cada temperatura de trabajo el equilibrio de distribución del soluto en los distintos disolventes será distinto.
- b) No debe producirse ninguna reacción química entre ninguno de los componentes del sistema, ya que si se forma un nuevo producto, esto falsearía los datos referidos a las concentraciones del soluto inicial.
- c) Las disoluciones deben ser diluidas. A altas concentraciones aparecen interacciones entre soluto y disolventes que interfieren en la proporción en la que el soluto se distribuye en las distintas fases.

Bajo estas condicionantes podemos formular la siguiente ley de distribución que podemos considerar un caso particular de la Ley de Henry⁷⁹.

$$K = C_s/C_m$$

C_s = Concentración del soluto en la fase estacionaria

C_m = Concentración del soluto en la fase móvil

K = Constante adimensional denominada Coeficiente de Reparto (también se le puede denominar constante de Distribución o de Partición). A efectos prácticos, esta ley permitiría predecir la concentración final de soluto en las distintas fases, siempre y cuando conozcamos el valor del Coeficiente de Reparto para un sistema determinado y estemos trabajando bajo las condicionantes en las cuales se cumple esta ley de distribución⁸⁰.



La extracción por cromatografía en columna es aplicable a todo tipo de muestra. El fenómeno físico es la adsorción del analito sobre la fase estacionaria y posterior elución. Estas columnas están rellenas con sílices modificadas. En sus grupos silanoles se presentan sustituyentes capaces de interactuar con el analito por intercambio catiónico, aniónico o debido a un determinado grado de hidrofobicidad, permitiendo así la separación de drogas ácidas, neutras y alcalinas. En el laboratorio de química forense la extracción por columna se utiliza para la separación y purificación de los metabolitos de drogas abuso, así como para purificar e identificar plaguicidas. En la figura 25 se muestra un ejemplo de una cromatografía en columna.

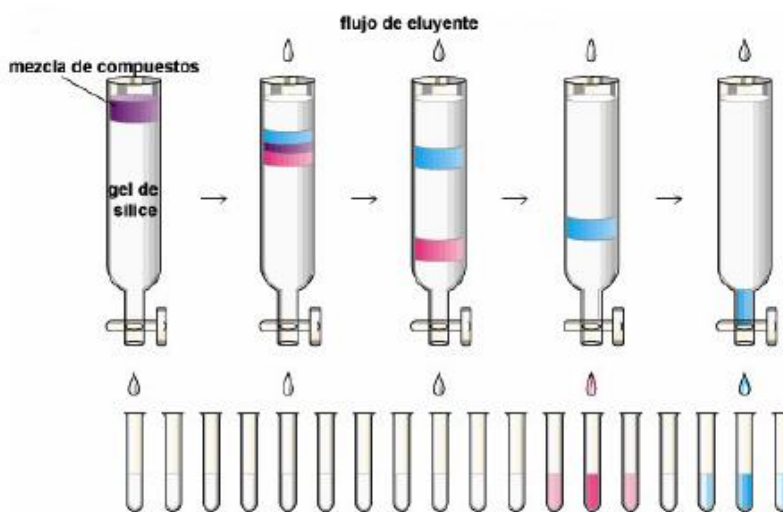


Figura 25. Columna para cromatografía.



Cromatografía en papel.

En muchos casos, el químico está interesado en establecer la presencia de una sustancia, no en medir su concentración; con este fin, es más flexible la *cromatografía en papel*⁸¹. Las fuerzas que actúan para la separación de sustancias en el papel incluyen el reparto, pues el agua adsorbida en las fibras del papel actúa como una de las fases solventes. Además, pueden intervenir fuerzas de adsorción e intercambio, por alguna reacción entre las moléculas de la sustancia en la fase móvil y las moléculas del soporte de papel.

Las variaciones en las técnicas incluyen la cromatografía ascendente (ver figura 26), en la cual el solvente asciende por una tira o una hoja de papel filtro, por fenómenos de capilaridad; la cromatografía descendente, en cuyo caso la fase móvil proviene de un frasco a nivel del borde superior del papel; la cromatografía circular o radial, en la cual el solvente llega al centro del papel filtro circular, por una mecha o un tubo capilar, la cromatografía en dos dimensiones⁸². En este último método, la solución de las sustancias que se estudian se aplica bajo forma de mancha en una esquina de un cuadrado de papel filtro. Una de las mezclas solventes recorre el papel en una cierta dirección; luego se seca el papel, se gira a 90 grados, y se hace pasar el segundo solvente en una dirección perpendicular a la que siguió el primero. Escogiendo los solventes de separación, las sustancias que no se separan unas de otras durante el primer paso pueden hacerlo en el segundo solvente. Se identifica la sustancia midiendo la distancia que recorren en solventes específicos en condiciones preestablecidas mediante la relación:



$$\frac{\text{Distancia recorrida por la substancia } (\Delta x)}{\text{Distancia recorrida por el disolvente } (\Delta y)} = (R_f)$$

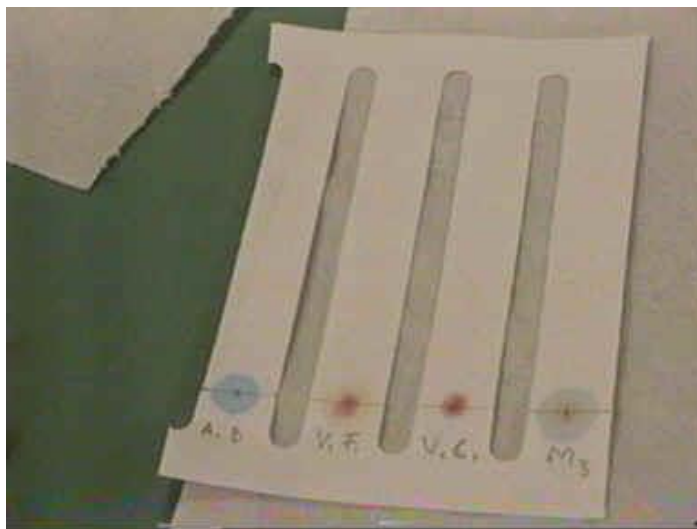


Figura 26. Ejemplo de una cromatografía en papel.

Cromatografía en capa fina.

Fundamento.

Algunas desventajas de la cromatografía en papel, como la baja velocidad de desplazamiento del solvente, las diferencias de calidad y características del papel, las limitaciones inherentes a los reactivos que pueden emplearse para la identificación, y la falta de un control preciso sobre las capacidades de separación del medio de soporte desaparecen con el uso de la *cromatografía en capa fina*⁸³.

Se utiliza un soporte inerte, generalmente gel de sílice, cuyas propiedades de adsorción pueden regularse hasta cierto punto, y se acelera la separación extendiendo



dicho soporte en una capa fina (de 100 a 500 m μ de espesor) sobre una placa de vidrio, aluminio o una hoja de plástico. En esta capa delgada, los solventes se desplazan rápida y homogéneamente, la dispersión de la “mancha” puede regularse, y es posible aplicar reactivos de identificación a base de ácidos y bases fuertes. Incorporando sulfato de calcio al gel de sílice, la capa delgada se adhiere firmemente a la base de vidrio, aluminio o plástico. En algunos sistemas se incluye un indicador fluorescente en la capa delgada, lo que permite localizar muy fácilmente las sustancias después de su separación, pues aparecen como manchas oscuras cuando se ilumina con luz ultravioleta de longitud de onda adecuada. En la figura 27 se presenta un comparativo de una cromatografía en placa o papel con respecto a un cromatograma.

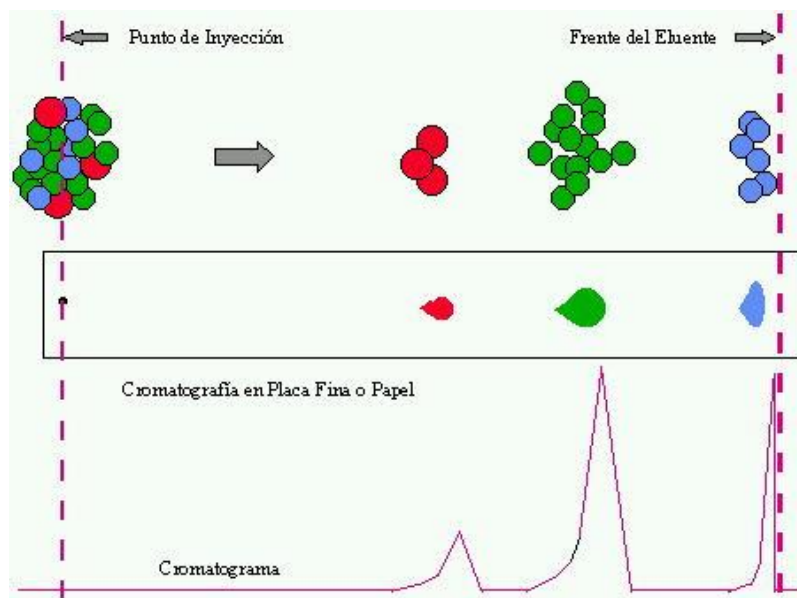


Figura 27. Comparativo de una placa de cromatografía y un cromatograma.



La cromatografía en placa fina es una técnica muy importante para la separación rápida y el análisis cualitativo de muestras en pequeña cantidad. Se utiliza en la identificación de drogas ácidas (barbitúrico, hidantoína, primidona, salicilatos) o básicas (benzodiazepinas, anorexígenos, alcaloides, neurolépticos, antidepresivos, cocaína, marihuana, etc.) y su objetivo es obtener tanta información como sea posible en un tiempo corto y con un mínimo de muestra.



Figura 28. Ejemplo de una cromatografía en placa fina.

Cromatografía de gases.

Fundamento.

Se basa en la diferencia de velocidades de migración de los componentes de una mezcla al ser arrastrados por un gas inerte a través de un tubo relleno de un material adecuado⁸⁴.

El método de cromatografía de gases fue iniciado por los científicos ingleses A. T. James y A. J. P. Martín en 1941. Comenzó a usarse en varios laboratorios a partir de 1950 y la construcción de equipos comerciales comenzó en 1955.



Los cromatógrafos de gases se emplean en gran escala en el análisis de mezclas orgánicas complejas, como las que se encuentran comúnmente en derivados del petróleo, aceites esenciales, perfumes, sabores, sustancias de origen biológico, insecticidas, pesticidas, ácidos grasos, etc., en el laboratorio de química forense de la PGJH, se utiliza en la identificación y cuantificación de alcohol en sangre y contenido gástrico así como en la identificación de solventes en diferentes muestras⁸⁵. El tiempo de análisis varía y puede ser de minutos a horas, siendo para la gran mayoría de los análisis entre 5 y 15 minutos. El tamaño de la muestra también varía entre unos pocos microlitos hasta varios mililitros.

La cromatografía de gases se puede emplear para analizar mezclas de compuestos que vaporicen o se volatilicen a temperaturas entre por debajo de 0° C hasta 450° C, y para cualquier sustancia que pueda calentarse dando una presión de vapor de unos 30 milímetros de mercurio sin alterarse o descomponerse⁸⁶.

Un cromatógrafo de gases (ver figura 29), esta constituido normalmente por los siguientes componentes:

1. Un suministro y una entrada de gas portador
2. Puerto de inyección
3. Columna, normalmente localizada en el interior de una cámara termostaticada (horno)
4. Detector



5. sistema computarizado para analizar, registrar e imprimir el cromatograma.

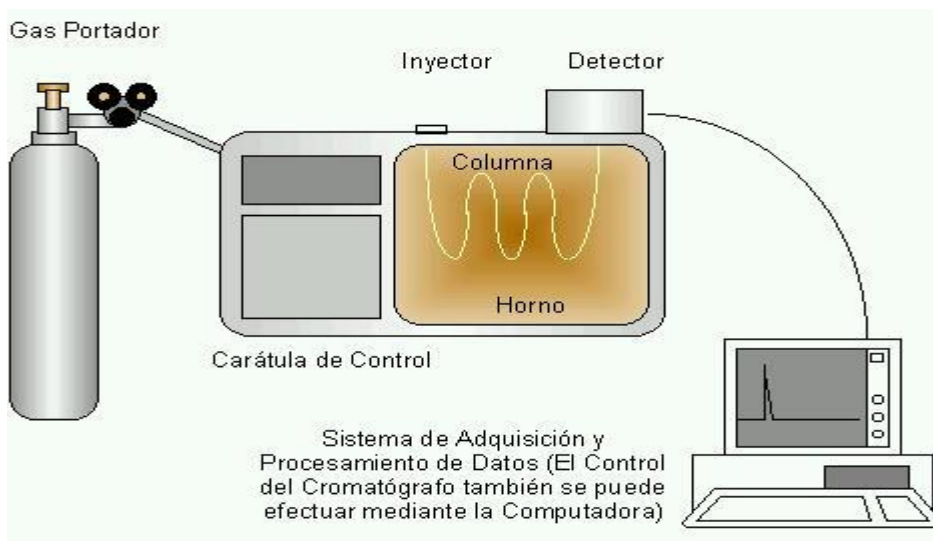


Figura 29. Componentes de un cromatógrafo de gases.

El sistema es enormemente sensible, y permite identificar cantidades del orden de un microlito, puede distinguir incluso entre varios isómeros. Se aplica el método, en análisis clínicos, a la separación y medición de esteroides, barbitúricos y lípidos. En el laboratorio de química forense se utiliza en la detección alcohol en sangre y contenido gástrico, así como en la búsqueda de solventes en diferentes muestras.

La cromatografía de gases es la técnica a elegir para la separación de compuestos orgánicos e inorgánicos térmicamente estables y volátiles. La disponibilidad de detectores versátiles y específicos, y la posibilidad de acoplar el cromatógrafo de gases a un espectro de masas o a un espectrofotómetro de infrarrojo, amplían aún más la utilidad de la cromatografía de gases.



Espectrometría de masas.

Fundamento.

El primer espectrómetro de masas data del trabajo hecho en Inglaterra por J. J. Thompson en 1912 y por F. W. Aston en 1919, pero el instrumento que sirvió como modelo para los más recientes fue construido en 1932. El espectrómetro de masas produce partículas cargadas que consisten en ion progenitor y fragmentos iónicos de la molécula original, y separa estos iones de acuerdo con su proporción masa/carga⁸⁷. El espectro de masa es un registro de las diferentes clases de iones, los números relativos de cada uno son característicos de cada compuesto. Los requerimientos de tamaño de muestra para sólidos y líquidos van desde unos cuantos miligramos hasta décimas de microgramo, siempre y cuando el material pueda existir en estado gaseoso a la temperatura y presión de operación de la fuente de iones.

De los espectrómetros de masas puede obtenerse una abundante información concerniente a la composición de las mezclas de compuestos orgánicos y para el análisis elemental de muestras en estado sólido.

Una detallada interpretación del espectro (ver figura 31) de masas frecuentemente hace posible discernir la colocación de los grupos funcionales dentro de ciertas áreas de la molécula y ver como están conectados entre si. En espectrómetros mas sofisticados el peso molecular se puede determinar directamente, aun para diezmilésimas de una unidad de masa. Por consiguiente, la espectrometría de masas es una técnica esencial para el uso de isótopos estables en la investigación de mecanismos de reacción y en el trabajo con trazadores⁸⁸. Además, la espectrometría de masas ha contribuido



notablemente a la comprensión mas profunda de la cinética y de los mecanismos de la descomposición unimolecular de las moléculas.

Componentes de los espectrómetros de masas.

No existe un espectrómetro de masas universal. Algunos diseños y configuraciones se prestan mejor que otros a la resolución de ciertos problemas.

Sin embargo, todos los instrumentos tienen cuatro unidades comunes:

- 1) El sistema de alimentación de la muestra.
- 2) La fuente de iones.
- 3) El sistema electroestático de aceleración.
- 4) El detector y dispositivo de lectura.

Además debe existir un sistema para mantener el alto vacío en todo el espectrómetro desde la alimentación hasta el detector. Por lo general, es conveniente contar con un acoplamiento del espectrómetro de masas con un cromatógrafo de gases⁸⁹. En la figura 30 se muestra los componentes de un espectrómetro de masas.

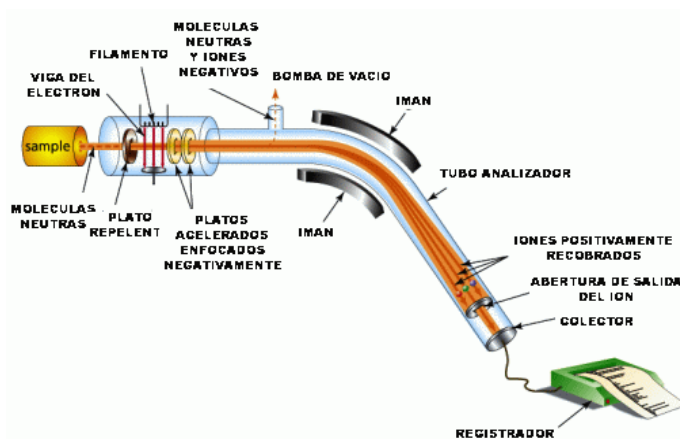


Figura 30. Componentes de un espectrómetro de masas de un haz.

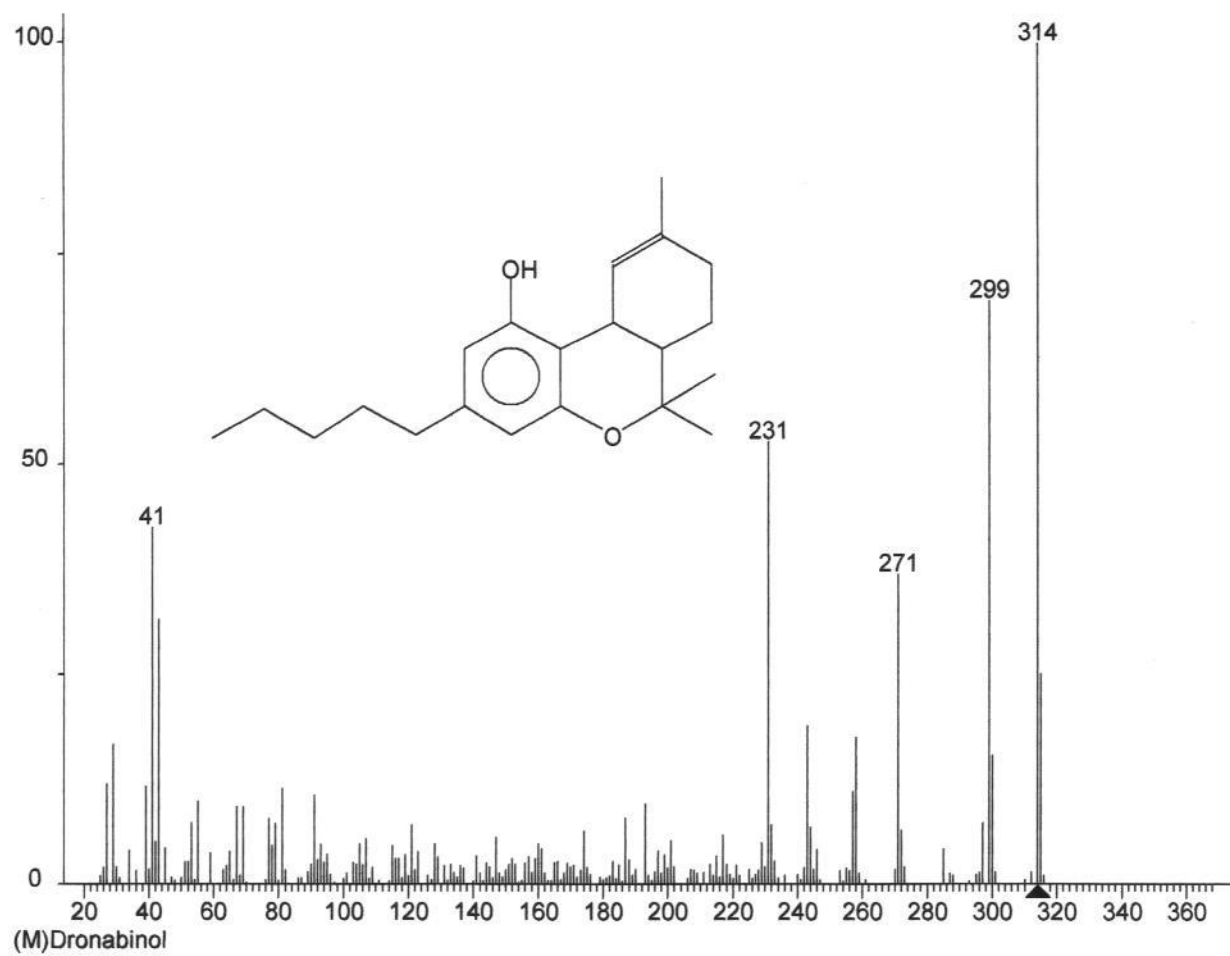


Figura 31. Ejemplo de espectro de masas del delta-9-tetrahidrocannabinol metabolito principal de la marihuana.



En tabla XIII se incluyen las masas de los fragmentos más característicos y frecuentes que aparecen en los espectros de masas, hay que tener en cuenta que dichos fragmentos son característicos de iones pero también de pérdidas del ión molecular:

Tabla XIII. Masas de los fragmentos más característicos y frecuentes que aparecen en los espectros de masas

MASA DEL IÓN	ASIGNACIÓN
29	Etilo (C_2H_5), formilo (CHO)
30	Nitroso (NO)
31	Metoxilo (CH_3O), hidroximetilo (CH_2OH)
39	Ciclopropenilo (C_3H_3)
41	Alilo ($CH_2CH=CH_2$)
43	Propilo (C_3H_7), acetilo (CH_3CO)
45	Carboxilo ($COOH$)
46	Nitro (NO_2)
55	Butenilo (C_4H_7)
56	C_4H_8
57	t-Butilo (C_4H_9), Propanoilo (CH_3CH_2CO)
60	Acido acético
65	Ciclopentadienilo (C_5H_5)
77	Fenilo (C_6H_5)
91	Bencilo (tropillo, $Ph-CH_2$)
92	Metilenpiridina (azatropilio, $C_5H_5N-CH_2$)
105	Benzoilo ($Ph-CO$)
127	Yodo (I_2)



Cromatografía de Gases acoplado a Masas.

Fundamento

El objetivo de un sistema de acoplamiento gases-masas es el de operar simultáneamente un cromatógrafo de gases y un espectrómetro de masas para aprovechar el poder de resolución del cromatógrafo de gases y la detección del cromatógrafo de masas sin degradar el funcionamiento de ninguno de estos dos instrumentos⁹⁰. La cromatografía de gases es ideal para separaciones, mientras que la espectrometría de masas no tiene igual para identificaciones. Ambos instrumentos tienen una importante característica en común: la cantidad de material que puede manejarse es del mismo orden. Por consiguiente, el acoplamiento de los dos instrumentos debe atenuar el gas transportador a una presión aceptable; sin embargo, suele ser conveniente transferir al espectrómetro de masas todo el material que pasa por el cromatógrafo. Además, el acoplamiento no debe introducir un ensanchamiento del pico del cromatógrafo de gases.

Este cromatógrafo se utiliza en el laboratorio de química forense de la PGJH, para la identificación y cuantificación de los metabolitos de drogas de abuso previa separación y purificación de la muestra a analizar en la búsqueda de fármacos.



Anexo 2

Alcohol etílico.

El alcohol es etílico un alcohol alifático que se obtiene de la fermentación de diversos granos, frutos y plantas, y se encuentra contenido en diferentes proporciones en las bebidas alcohólicas. La mayor parte de los vinos de mesa contienen 10-12%. La cerveza contiene entre 4-6%, y los vinos fuertes y destilados de granos poseen concentraciones que varían del 20-60% de alcohol. El alcohol etílico puede dar lugar a una intoxicación común, accidental o voluntaria, y a una intoxicación profesional⁹¹.

Toxicología.

Los efectos tóxicos del alcohol mantienen relación con las concentraciones de la sustancia en la sangre; de esa forma, cuando el nivel de etanol en sangre (NAS) no rebasa los 15 mg/100 mL prácticamente no se produce ninguna alteración en el sujeto⁹². Cuando las concentraciones alcanzan los 30 mg/100 mL pocos son los efectos que se observan en las personas que no han desarrollado aún tolerancia al etanol. A los 50 mg/100 mL las respuestas y reacciones se lentifican y los procesos mentales integrativos comienzan a alterarse. A una concentración de entre 100-150 mg/100 mL la mayor parte de las personas muestran signos evidentes de intoxicación, exhibiendo ataxia y un lenguaje disártrico. Es importante mencionar que esta es la dosis farmacológica que define el estado de intoxicación etílica. Si la ingestión continúa, las funciones físicas y cognitivas se alteran, pudiendo llegar al deceso tras el estado de coma. Este ocurre a dosis de aproximadamente 400 mg/100 mL y la muerte puede producirse en la mayor



parte de los casos cuando el NAS rebasa los 600 mg/100 mL. Información reciente sobre la cantidad de alcohol que beben las mujeres durante su preñez, señala que la posible secuencia teratógena no se presenta cuando la embarazada consume un máximo de 1-2 tragos al día durante el primer trimestre (dosis habitual de 1 onza, equivalente a 30 c.c. de alcohol), ni esta posibilidad resulta mayor a la de aquellas mujeres que no son bebedoras.

En la Tabla XIV nos señala como ha sido comprobado estadísticamente la alcoholemia y su afectación en las personas.

Tabla XIV. Datos estadísticos comprobados entre la alcoholemia y su afectación.

Alcoholemia (mg/mL)	Estado	Síntomas clínicos
30	Sobrio	No aparentes, solo test especiales
30 - 100	Euforia	Sociabilidad, hablador, autoconfianza, perdida de eficiencia delicada
100 – 150	Excitación Embriaguez	Inestabilidad emocional, disminución de atención, juicio, control, nistagmo, sueño
150 – 200	Confusión Borrachera	Trastornos de memoria y comprensión, exageración emocional, ataxia, incoordinación de movimientos, deseos de dormirse
200 – 300	Estupor	Apatía, inercia, vomito, ataxia marcada, disminución de la conciencia
300-400	Coma	Inconsciencia, anestesia, dificultades cardiacas y respiratorias
Mayor a 400	Posible Muerte	Parálisis respiratoria



Anexo 3

Anfetaminas.

El amplio grupo de sustancias que componen los derivados de la estructura fenilisopropilamina se encuentra en un estado de continua renovación debido al auge del consumo y tráfico ilícito de drogas como el éxtasis (MDMA), MDA, STP, DOI, etc... El estudio de su mecanismo de acción implica la participación de neurotransmisores como Dopamina, Serotonina y Catecolaminas, con un complejo comportamiento que da lugar a una difícil interpretación de los múltiples efectos aparecidos durante su consumo. Así mismo, los derivados anfetamínicos que se conservan en el arsenal terapéutico con fines anorexígenos, presentan todas las propiedades estimulantes de la molécula inicial, con el mismo riesgo implícito que cualquiera de las de tráfico ilegal.

Hasta los años ochenta, las especialidades farmacéuticas que contenían anfetaminas fueron ampliamente consumidas en el mundo occidental como fármacos antifatiga y para el control de la obesidad, generalmente al margen de la prescripción médica. Durante la década de los sesenta y los setenta también se extendió su consumo con fines recreativos. Paralelamente, la metanfetamina (o *speed*) ha sido la principal anfetamina sintetizada en laboratorios químicos clandestinos, los cuales, en las últimas décadas, nunca han dejado desabastecido el mercado de psicoestimulantes, sobre todo el dirigido a los consumidores de opioides por vía parenteral.

La anfetamina pertenece a la familia de los fármacos adrenérgicos. A nivel central es más potente el isómero *d*. Se absorbe bien en el tracto gastrointestinal y por vía oral sus efectos aparecen a los 30- 60 min. Atraviesa con rapidez la barrera



hematoencefálica. Es hidrolizada y desmetilada en el hígado, eliminándose en la orina como p-hidroxiefedrina y norefedrina, y en parte sin metabolizar⁹³. Su excreción urinaria aumenta al acidificar la orina. Su tiempo de vida media es de unas 10 horas. Diversos análogos de la anfetamina presentan potencial de abuso; entre ellos destaca, sobre todo, la metanfetamina, cuyos efectos duran unas 5 horas. Una forma fumable de metanfetamina (el *ice*) presenta un potencial de abuso comparable al de la cocaína base.

Toxicología.

Los efectos adversos de estos fármacos son en principio, extensiones de sus efectos en los receptores cardiovasculares y del SNC. Los primeros, incluyen elevaciones notables en la tensión arterial, que pueden producir edema pulmonar o hemorragia cerebral⁹⁴. Asimismo, pueden precipitar un episodio de *angor pectoris* o infarto del miocardio. Las anfetaminas actúan principalmente incrementando la neurotransmisión catecolaminérgica:

- Promueve la liberación de catecolaminas (dopamina, epinefrina y norepinefrina) por las neuronas presinápticas.
- Bloquean la degradación de las catecolaminas por la enzima monoaminoxidasa (MAO).
- Inhiben la recaptura de las catecolaminas por las neuronas presinápticas.
- Liberan serotonina (especialmente la metanfetamina con posible capacidad para degenerar las células o terminales serotoninérgicas, según han reportado los resultados de experimentación animal.



Cuando el SNC se ve afectado, el paciente presenta inquietud, temblor, insomnio y ansiedad. Concentraciones muy altas, pueden inducir estados de paranoia. Si las dosis son francamente tóxicas, se produce dificultad en la respiración, cianosis, temblor, ataxia, disminución o pérdida de las funciones sensoriales, tetania, convulsiones tónico-clónicas, disminución de la conciencia y estado de coma. En la tabla XV se muestran algunos tipos de anfetaminas.

Tabla XV. Algunos tipos de anfetaminas.

Nombre común	Nombre comercial
Anfetamina	Benzedrina
Dextroanfetamina	Dexamyl
Metanfetamina	Desoxyn
Benzfetamina	Didrex
Clorfentermina	Pre-Sate
Clortermina	Voranil
Dietilpropion	Tenuate
Fenfluramina	Diomeride
Tartrato de Fendimetrazina	Plegina
Fenmetrazina	Preludin
Fentermina	Ionamin
Metilfenidato	Ritalin
Pemolina	Cylert
Fenproporex	Delhafen
Anfepramona	Tenuate
Trihexifenidilo	Artane
Propilhexedrina	Colloidine
Mazindol	Diestet
Fenfluramina	Diomeride



Anexo 4

Benzodiazepinas.

Son un grupo de fármacos que producen enlentecimiento de las funciones nerviosas, por lo que producen relajación o sensación de calma⁹⁵. El núcleo común es el anillo *benzodiazepínico*. La mayoría posee los N del anillo benzodiazepínico en posición 1 y 4, pero algunas los tienen en posición 1 y 5, como el clobazam. Todas poseen un radical en posición 7, generalmente Cl⁻ (diazepam, flurazepam y oxazepam, temazepam, etc.) o NO₂ (nitrazepam, Flunitrazepam y clonazepam). En posición 1, algunas incluyen un radical metilo (diazepam y temazepam); con frecuencia existe un grupo carbonilo en posición 2. Pueden estar hidroxiladas en posición 3 (oxazepam y lorazepam). Mediante la introducción de anillos adicionales se han obtenido series derivadas como las triazolobenzodiazepinas (alprazolam). Las diversas sustituciones provocan cambios en el espectro farmacológico relativo, en la potencia farmacológica con que ejercen un efecto determinado y en las propiedades farmacocinéticas, que influyen de manera decisiva en la distribución del producto y en la duración de su efecto.

Podemos diferenciar entre un grupo de benzodiazepinas que son de acción corta (entre 2 y 10 horas) y de acción larga (de 12 a 100 horas) en su efecto. Por ello el Triazolam (2- 4 horas) se usa como inductor del sueño y, sin embargo, debemos utilizar otra en la falta de sueño por despertar prematuro.



Toxicología.

La toxicidad, tanto de las benzodiacepinas como de los barbitúricos, tiene relación directa con la dosis ingerida, la producción de metabolitos activos, la vida media de éstos y las características individuales de los sujetos que ingieren los fármacos.

Una dosis aplicada única entre 100-200 mg de benzodiacepinas es suficiente para producir un cuadro clínico de intoxicación⁹⁶. Dosis entre 0.4-0.7 mg de pentobarbital pueden causar un estado comatoso ligero. El pico máximo graficado del efecto de las benzodiacepinas ocurre a los primeros 90 minutos de la administración de pentobarbital. La intoxicación disminuye dentro de las 2 primeras horas, después de que la sustancia es administrada. Tras de 4-5 horas los síntomas clínicos de intoxicación desaparecen, para dar lugar a la manifestación de sintomatología de abstinencia. La dosis de benzodiazepinas capaces de producir síntomas de intoxicación varían de un individuo a otro. En el caso del diazepam (Valium) puede ser de 10-20 mg o su equivalente, tratándose de otras benzodiacepinas. El margen de seguridad de los benzodiacepínicos es en general muy amplio, aunque dosis mayores a 700 mg -dosis superlativa- pueden causar la muerte. En la tabla XVI se muestran algunos tipos de benzodiacepinas.



Tabla XVI. Algunos tipos de benzodiazepinas.

Nombre Genérico	Nombre Comercial
Clordiazepóxido	Librium
Clonazepam	Rivotril
Diazepam	Valium
Oxazepam	Bonare
Flunitrazepam	Rohypnol
Lorazepam	Ativan
Triazolam	Halcion
Clorazepato dipotasico	Tranxene
Alprazolam	Tafil



Anexo 5

Cocaína.

La cocaína es un alcaloide que se extrae de las hojas de la planta de coca (*Erythroxylon coca*) de la familia de las eritroxiláceas⁹⁷. Es un arbusto o arbolillo de hojas simples ovatooblongas de bordes enteros, casi siempre alternas, estipuladas, de color verde intenso, mate en el envés y 2 nervios salientes que recorren toda la hoja siguiendo el borde. Las flores, solitarias o en inflorescencias, presentan un cáliz con 5 sépalos y la corola con 5 pétalos; 10 estambres, ovario trilobular con 1-2 óvulos por cavidad, de los que solo madura uno ver figura 32. El fruto es una drupa de color rojo oscuro. Las hojas contienen dos tipos de alcaloides:

1. Los derivados de la antropina, como son cocaína, truxilina, tropacocaína y cinamilcocaína.
2. Los derivados del pirrol (higrina y cuskigrina).



Figura 32. Planta de la coca.



El alcaloide se puede extraer de las hojas secas de *Erythroxylon coca* y otras especies de Eritroxiláceas, u obtener por síntesis a partir de la ecgonina.

La cocaína se ha consumido habitualmente en forma de clorhidrato, inhalada por vía intranasal o fumada en cigarrillos con tabaco. Recientemente se ha empezado a consumir mediante la inhalación de cocaína base (*crack*) mediante unos canutillos o pipas de agua⁹⁸.

Las formas de abuso de la cocaína son de gran interés toxicológico, ya que condicionan la farmacocinética, la actividad farmacológica, la toxicidad y el grado de adicción de la droga. La cocaína desaparece con rapidez de la sangre y de los órganos. Los distintos investigadores citan sus efectos en diferentes tiempos para la cocaína desde 40 minutos hasta 90 minutos.

Toxicología.

El perfil toxicológico de esta sustancia está determinado en gran parte, por la relativa facilidad de absorción y la más lenta capacidad de excreción. Por ello, se considera que es un psicotrópico que puede resultar muy tóxico, aun a dosis de 20 mg pueden presentarse reacciones tóxicas severas⁹⁹.

Las altas concentraciones de la sustancia que aparecen en la sangre en un tiempo relativamente breve, mantienen relación con el incremento de las complicaciones cardiovasculares y pulmonares, así como los accidentes mortales.



Anexo 6

Marihuana.

La *Cannabis sativa* contiene más de 400 sustancias químicas, las cuales pueden agruparse así: cannabinoides, alcaloides, hidrocarburos, derivados y otros. Se han estudiado más de 60 cannabinoides y se ha encontrado que entre 10 y 15 de ellos tienen actividad psicotrópica, siendo el Delta 9 Tetrahidrocannabinol (Δ^9 - THC) el principal agente psicoactivo¹⁰⁰.

Se trata de una planta de origen asiático que puede actuar como alucinógeno en función de la dosis y que ahora se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo. Se reconocen tres especies: *Cannabis Indica*, *ruderalia* y *sativa*.

De la cannabis derivan la marihuana y el hashish. Esta planta contiene una resina capaz de producir efectos sobre el estado de ánimo, la percepción, los procesos cognitivos y el estado de conciencia. La marihuana contiene más de 400 ingredientes químicos activos, de los cuales 70 son cannabinoides. Tales sustancias son los elementos químicos de la planta que poseen propiedades psicotrópicas que varían dependiendo de la forma de preparación, dosis, vía de administración y personalidad de quien la consume. La marihuana resulta de una cierta cantidad de hojas de la planta puestas a secar, que pueden llegar a contener hasta 3% de tetrahidrocannabinol (THC). El *hashish* 3.6%, se obtiene de las flores secas y prensadas y de la resina de las plantas, que contiene hasta 28% del delta-9-tetrahidroncannabinol. El *hashish* es un producto sólido y resinoso, cuyo extracto crudo en aceite contiene un 43% de THC de cuyo efecto se espera mucha más potencia que de la marihuana¹⁰¹.



Se trata de una planta de origen asiático que puede actuar comoalucinógeno en función de la dosis y que ahora se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo. Se reconocen tres especies: *Cannabis Indica*, *ruderalia* y *sativa*. De la cannabis derivan la marihuana y el hashish. Esta planta contiene una resina capaz de producir efectos sobre el estado de ánimo, la percepción, los procesos cognitivos y el estado de conciencia. La marihuana contiene más de 400 ingredientes químicos activos, de los cuales 70 son cannabinoides¹⁰². Tales sustancias son los elementos químicos de la planta que poseen propiedades psicotrópicas que varían dependiendo de la forma de preparación, dosis, vía de administración y personalidad de quien la consume. La marihuana resulta de una cierta cantidad de hojas de la planta puestas a secar, que pueden llegar a contener hasta 3% de tetrahidrocannabinol (THC). El *hashish* 3.6%, se obtiene de las flores secas y prensadas y de la resina de las plantas, que contiene hasta 28% del delta-9-tetrahidroncannabinol. El *hashish* es un producto sólido y resinoso, cuyo extracto crudo en aceite contiene un 43% de THC de cuyo efecto se espera mucha más potencia que de la marihuana.

El THC tiene propiedades analgésicas, antieméticas, anticonvulsivas y musculorrelajantes y se ha utilizado fuera del campo médico alopático para tratar el reumatismo, el asma, la dismenorrea, la migraña, el glaucoma y Delirium Tremens alcohólico. En la actualidad los usos médicos de este fármaco son considerados de tipo experimental en el contexto de la tradición popular y el folklore de distintos grupos sociales. Por lo tanto su uso médico con fines experimentales se encuentra restringido y se usa excepcionalmente en el área de la oftalmología. El Delta-9-THC es principalmente



el fármaco responsable de los efectos experimentados durante la intoxicación con marihuana¹⁰³.

Tras inhalar el humo de un cigarrillo de marihuana o de hachís, los efectos son inmediatos, alcanzan su máximo a los 20-30 min y pueden durar 2-3 horas. Por vía oral, los efectos son más diferidos, más prolongados y menos intensos (en parte, por un gran fenómeno de primer paso), siendo cualitativamente distintos. Los cannabinoides desaparecen con rapidez del plasma y del cerebro pero, al ser muy liposolubles, tienden a acumularse en el tejido adiposo, eliminándose lentamente del organismo. Por ello, varias semanas después del consumo de cannabinoides es posible detectarlos en orina¹⁰³. El D9-THC se metaboliza principalmente en el sistema microsómico hepático, originando gran variedad de metabolitos. Entre ellos destacan el 11-hidroxi-THC, con actividad semejante a su precursor, y el 9-carboxi-THC, que se elimina en su mayor parte por la orina y se utiliza como marcador biológico del consumo de cannabinoides. La mayoría de los metabolitos se eliminan por las heces.

Toxicología

Cuando el, THC se inhala, la dosis efectiva media en el hombre es de 3-3.5 mg, cuando el tóxico es ingerido la dosis capaz de producir intoxicación varía entre 8.4-33 mg. Un cigarrillo promedio puede contener entre 2.5-5 mg de THC.

La dosis letal de THC es tan grande como 10,000 mg./Kg. en el perro. En el humano esa dosis parece ser similar, por lo que no se han reportado muertes debido a una ingestión masiva¹⁰⁴.