



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

Detección de Heroína por Medio de la Cromatografía de Gases

TESIS

que para obtener el título de

QUIMICO FARMACEÚTICO BIOLÓGO

presenta:

Mauricio Rodrigo López Mendoza

Asesor: M. en C. Rodolfo Carreón Sánchez

México D.F.

Abril de 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Detección de Heroína por Medio de la Cromatografía de Gases

Agradecimientos

Agradezco todo el apoyo brindado para la realización de esta tesis a mi asesor M. en C. Rodolfo Carreón Sánchez.

Así también deseo expresar mi sincero agradecimiento al Q.F.B Víctor Hugo Becerra López, a la Q.F.B Lilia Tequianes Bravo, Q.F.B Carolina Jiménez López y Q.F.B Ma. Cirenía Sandoval López quienes amablemente colaboraron en la revisión de esta tesis.

Agradecimientos

Agradezco a mi madre Evangelina Mendoza el principal motor de mi vida que me impulso a terminar la carrera, que creyó en mí, que gracias a su amor y cariño logro impulsarme además de estar siempre conmigo en las buenas y en las malas. A mi padre Rodrigo López que gracias a su exigencia pude lograr la terminación de esta carrera. A mis cuatro hermanos, Claudia, Diego, Mariana, y Ana Laura, que con su ayuda y comprensión engrandecieron mis objetivos.

También agradezco a todos mis amigos y compañeros por su apoyo, los cuales fui conociendo a lo largo de esta difícil carrera, que me ayudaron en las buenas y en las malas, en fin mil gracias.

En especial agradecimiento a Anay Soto de la Llave, que gracias a su apoyo, paciencia, exigencia y sobre todo su amor hicieron posible este trabajo.

INDICE

1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
3. Objetivos	3
4. Problema de Investigación	4
5. Importancia del Estudio.....	5
6. Limitación del Estudio	6
7. Tipo de Estudio	6
8. Marco Teórico	7
8.1 Drogas.....	10
8.2 Heroína	12
8.3 Historia de la Cromatografía	14
8.4 Fundamento del Cromatógrafo de Gases	15
8.5 Elementos del Cromatógrafo de Gases	16
8.5.1 Gas Transportador.....	17
8.5.2 Sistemas de Inyección	18
8.5.3 Columnas	20
8.5.4 Detectores.....	21
8.5.5 Dispositivo Registrador	23
8.5.6 Horno	23
8.5.7 Cromatograma	23
8.6 Método de Análisis para la Heroína	25
9. Discusión de Resultados.....	26
10. Conclusiones.....	27
11. Bibliografía	28

1. RESUMEN

En este trabajo se realizó una revisión bibliográfica en diferentes centros de información, para conocer la aplicación de la metodología de cromatografía de gases.

Una de las técnicas utilizadas para la separación de drogas se ha impuesto en los campos analíticos y preparativos por su simple fundamento y desarrollo, el cual lleva a la separación y precisión de los componentes satisfactoriamente.

Dentro de la cromatografía de gases la fase móvil está integrada por la mezcla a resolver y, en la mayoría de los casos por un gas inerte adicional como el helio, argón, nitrógeno e hidrógeno, argón-metano, que sirven para llevar en sí la mezcla y los componentes después de su separación.

La cromatografía de gases es aplicable para la determinación de heroína en muestras biológicas para investigar problemas que puedan generar ilícitos, y problemas de salud.

2. INTRODUCCIÓN

En el mundo existen alrededor de 1000 compuestos o más de diferentes drogas, en México existe una incidencia progresiva en el consumo, ya sea como drogas de abuso o como medicamentos de manera general por lo que su identificación y cuantificación es de suma importancia para la química legal.

La cromatografía agrupa un conjunto importante y diverso de metodologías, que permite separar componentes estrechamente relacionados de mezclas complejas, lo que en muchas ocasiones resulta imposible por otros medios.

La cromatografía de gases se puede usar para realizar búsquedas de otras drogas (screening), también es una magnífica técnica de confirmación de los inmunoensayos y de los procedimientos de cromatografía en capa delgada para heroína.^{1,2}

La cromatografía de gases es una de las técnicas que mayor utilidad ha tenido para la práctica de las ciencias forenses y en los análisis como: en la identificación de drogas de abuso, que para el establecimiento de las pruebas de tráfico ilícito de drogas se necesitan métodos rápidos y sensibles; generalmente estas drogas se encuentran mezcladas con otras sustancias, lo que hace necesario el análisis selectivo de la materia sospechosa, así como para la investigación toxicológica en delitos.

La heroína que es una droga altamente adictiva e ilegal en la mayoría de los países del mundo. Pertenece a los opiáceos, y es una de las drogas donde existe un mayor abuso, además de ser la droga que tiene una acción más rápida. La heroína se prepara a partir de la morfina, sustancia que se encuentra naturalmente en los conductos lactíferos de la cápsula de la *Papaver somniferum* o adormidera, de donde se extrae mediante cortes superficiales por donde supura látex (opio).

3. OBJETIVOS

Objetivo General

- Proporcionar información confiable sobre la importancia de la técnica analítica de Cromatografía de Gases en la detección de heroína con el fin de demostrar su aplicación en las ciencias forenses.

Objetivos Específicos

- Estudiar la metodología de análisis cuantitativo para determinar heroína.
- Describir la metodología de cromatografía de gases.
- Proporcionar información clara y sencilla de la técnica de cromatografía de gases en la determinación de heroína.

4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El uso de la técnica de cromatografía de gases es algo complejo debido a que existen diferentes variables que pueden afectar o favorecer un estudio de detección de drogas, como la toma de la muestra, el manejo de las mismas, si las personas que realizan el análisis tienen los conocimientos básicos para realizar el análisis, además de que las muestras deben contener compuestos muy volátiles y muy polares entre otras cosas. Por tal motivo es importante tener la información necesaria para conocer la técnica analítica cuantitativa y los componentes principales para el análisis de las muestras, tales como los detectores, las soluciones de referencia, el tipo de columna, el tipo de droga, etc.

5. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

El presente estudio tiene el carácter de ser informativo respecto a la detección de la heroína por medio de la técnica de cromatografía de gases, con el fin de agrupar información clara y concisa, que pueda ser utilizada para su estudio, debido a que el consumo de drogas de abuso es un problema social de gran importancia y algunas de sus consecuencias están relacionadas con actos delictivos, por eso es primordial que se analicen y evalúen las técnicas analíticas que se emplean para la identificación y cuantificación de esta droga en individuos que presuntamente han cometido un ilícito o en situaciones donde se lleva a cabo a una investigación forense, por solicitud del médico para seguimiento de un tratamiento o de la misma investigación.

6. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

Para el desarrollo de la tesina se obtuvo sólo información bibliográfica de interés científico para drogas de abuso, principalmente a la heroína, del año 1990 al año en curso. Para lo cual se realizó la búsqueda de información en donde la misma se llevó a cabo mediante:

- Libros relacionados con el tema.
- Revistas de carácter científico.
- Páginas de Internet con información de carácter científico y con bases fundamentadas.

Y donde se recopiló información básica acerca del tema, con definiciones y fundamentos claros para su comprensión.

7. TIPO DE ESTUDIO

Es una tesina de carácter informativo en donde el tipo de estudio será bibliográfico, descriptivo y documental de interés científico que ayude a entender mejor la cromatografía de gases para la detección de heroína.

8. MARCO TEÓRICO

La cromatografía, es un método físico de separación, en el cual los componentes de una muestra son separados como consecuencia de la diferente distribución entre una fase móvil y una fase estacionaria. Las distintas combinaciones de estas fases nos proporcionan diferentes clases de cromatografía; por ejemplo si la fase móvil es un gas tenemos la Cromatografía de Gases (CG), la cual puede ser gas-sólido y gas-líquido según la naturaleza de la fase estacionaria.^{1,3,4,5,6}

La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido dispuesto sobre un sólido que actúa como soporte, de gran área superficial. La fase móvil es un fluido (puede ser gas, líquido o fluido supercrítico) que se usa como portador de la mezcla.⁷

La muestra que va a ser analizada es introducida en el puesto de inyección por medio de un dispositivo automático o en forma manual con una microjeringa;⁷ así se pueden analizar sólidos, líquidos y gases. En el puerto de inyección la muestra es vaporizada en forma instantánea, por tanto, las muestras deben ser volátiles y térmicamente estables.^{1,3,5,6}

La muestra vaporizada es transportada por la fase móvil hacia la columna (fase estacionaria);⁵ aquí de acuerdo a la afinidad de cada componente por esta fase se va a lograr la separación cromatográfica. Los compuestos separados llegan al detector cuya función es “sentir” la presencia de los diferentes compuestos y registrarla por la variación de alguna propiedad, según el principio de operación de cada detector (UV-Visible, Espectrofotometría de Masas (EM), Infrarrojo (IR), Detector de Ionización de Llama (FID, Flame Ionization Detector), Detector de Conductividad Térmica (TCD, Thermal Conductivity Detector), entre otros.^{2,3} La señal producida, transformada y ampliada, va a alimentar un registrador o una estación de datos.

El registro gráfico obtenido se conoce como cromatograma, donde idealmente cada componente va a estar representado por una banda o pico de forma gaussiana³; esta serie de picos sirven como base para los análisis cualitativo y cuantitativo.^{1,5,6}

En las determinaciones cuantitativas se pueden obtener muy buenos resultados, si se emplean las técnicas adecuadas. Este análisis se basa en que el área bajo los picos es proporcional a la cantidad de compuesto en la muestra;^{2,8} sin embargo, se debe tener en cuenta que el detector no da igual respuesta a la misma cantidad de diferentes compuestos y es necesario hacer correcciones y/o curvas de calibración con estándares, para lograr una cuantificación confiable.

Las ventajas de la CG, sobre otras técnicas son:

1. **La velocidad:** un análisis completo puede realizarse en tiempos relativamente cortos (30 min.), proporcionando información para los análisis cualitativo y cuantitativo.^{1,3,5,8}
2. **La resolución:** es la capacidad de separar componentes; usando las condiciones analíticas adecuadas se pueden hacer separaciones imposibles de realizar por otros métodos.^{1,3,5,8,9}
3. **La sensibilidad:** esta es la mejor razón par utilizar esta técnica. Utilizando detectores selectivos se han logrado detectar cantidades hasta de 10-12 nanogramos.^{1,3,8,9,10}

Los opiáceos normalmente constituyen un grupo muy adictivo de las drogas prescritas. Normalmente los que más se prescriben son los compuestos como la hidrocodeína, la dihidrocodeína, la codeína, hidromorfina, oxicodina, y morfina.¹²

Estos compuestos pueden tener efectos severos para la salud, entre los cuales se incluyen el adormecimiento, el vértigo, hipertensión, inconsciencia, entre muchas otras cosas que conllevan a un deterioro mental.¹²

En el análisis por CG de estos compuestos se presentan problemas puesto que es necesario hacer reacciones de derivatización en algunos casos, que conducen a resultados cuantitativos erróneos debido a las interferencias causadas por los agentes de relleno, con los que generalmente están mezclados;^{4,9,10} también dichos compuestos pueden ser determinados en matrices biológicas y no biológicas y de manera directa e indirecta, por lo tanto tenemos cuatro modalidades de análisis en química forense que podemos resumir de la manera siguiente:

1.- Los Análisis Directos en Fluidos Biológicos: Esta modalidad implica la aplicación de procedimientos de extracción y determinación específicas para una determinada sustancia. Se lleva a cabo cuando los antecedentes del caso apuntan hacia la misma o si se quieren hacer determinaciones cuantitativas.¹³

2.- Los Análisis Indirectos en Fluidos Biológicos: Esta modalidad implica la aplicación de una búsqueda (Screening) para descartar el mayor número de tóxicos posibles e incluir un número reducido de ellos, hasta lograr la identificación, pudiendo posteriormente aplicar una técnica directa para aumentar la eficiencia de los análisis. Este procedimiento de búsqueda (Screening) puede variar dependiendo de la muestra biológica de que se trate.¹³

3.- Los Análisis Directos 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.¹³

4.- Los Análisis Indirectos en muestras No Biológicas: Como las muestras pueden ser tan diferentes, existen varios procedimientos de búsqueda

(Screening) dependiendo del estado físico de la sustancia, solubilidad, y de la naturaleza químico-física de la muestra en cuestión.¹³

La técnica también tiene sus limitaciones en lo que se refiere a características de la muestra para análisis y la incertidumbre en la identificación de los componentes.⁸ Para superar las dificultades en los análisis de muestras poco volátiles, en la actualidad se está utilizando la cromatografía líquida de alta resolución.

8.1 Drogas

Popularmente, el término droga suele utilizarse comúnmente para referirse a las sustancias de uso ilegal y que producen psicoactividad. El concepto farmacológico y médico de la palabra droga se define como cualquier sustancia química capaz de modificar el funcionamiento biológico o químico de un ser vivo. Este concepto se refiere a que la modificación puede ser perjudicial o beneficiosa para el ser vivo, como el alterar intencionalmente la conciencia, aumentar la resistencia física entre otras cosas, y que depende del tiempo de administración, de la dosis y de las características del propio ser.¹⁴

Para que una sustancia sea considerada como droga debe cumplir con ciertas condiciones, las cuales son:

- Ser sustancias que introducidas en un organismo vivo son capaces de alterar o modificar una o varias funciones psíquicas de éste (carácter psicótropo o psicoactivo).
- Inducen a las personas que las toman a repetir su autoadministración por el placer que generan.
- El cese en su consumo puede dar lugar a un gran malestar somático y/o psíquico (dependencia física y/o psicológica).
- No tienen ninguna aplicación médica y si la tienen, pueden utilizarse con fines no terapéuticos¹⁵.

Existen varios tipos de drogas y aunque sus efectos pueden variar, el daño integral siempre es el mismo, es necesario destacar entre el uso de sustancias químicas con fines médicos y el abuso en su consumo, con fines adictivos.

Hay drogas legales, socialmente admitidas y promovidas y otras ilegales. Entre las legales están el tabaco, el café, las bebidas alcohólicas, los disolventes industriales y los fármacos. Entre las ilegales están la marihuana, la cocaína, la heroína, las anfetaminas, etc.

Según los efectos en el organismo, las sustancias adictivas pueden ser estimulantes, depresivas, narcóticas o alucinógenas.

Entre las principales drogas estimulantes están la: cocaína, las anfetaminas, las metilfenidas, la fenometrazina y otras que, ya sean inhaladas, fumadas o inyectadas, producen incremento en la alerta, excitación, euforia, aumento del pulso cardíaco y la presión sanguínea, insomnio e inapetencia.¹⁵

Las sustancias depresivas, como los barbitúricos, las benzodiazepinas, el alcohol y las metacualonas, provocan dificultad al hablar, desorientación, tambaleo al caminar y embriaguez.¹⁵

Los narcóticos son utilizados en la medicina, entre ellos están el opio, la morfina, la codeína, la heroína, la metadona y otros más y entre sus efectos, están la euforia, el mareo, la disminución del ritmo respiratorio y las náuseas.^{14,15}

Los alucinógenos son sustancias que producen espejismos, alucinaciones, percepciones alteradas del cuerpo y de la realidad y mucha excitación emocional. Entre los más utilizados están el LSD, los hongos, la mezcalina, el peyote y otros más.^{14,15}

Otro tipo de sustancias adictivas son los cannabinoides, como la marihuana, que ocasionan euforia, desinhibición, incremento del apetito, deterioro de la memoria y de la atención.

8.2 Heroína

Encontramos que los opiáceos son las drogas con mayor poder adictivo, porque entran en el cerebro rápidamente. Entre los efectos que producen estas drogas están la analgesia, somnolencia, cambios del estado de ánimo, depresión respiratoria, náusea, vómito, "miosis" (constricción pupilar) y disminución de la motilidad del tubo digestivo. Estas drogas son derivados preparados a partir de la goma de opio (*Papaver Somniferum*).^{14,15}

Dentro de los narcóticos-opiáceos encontramos a los:

- De Origen Natural: Opio, Heroína, Morfina, Codeína.
- De Origen Sintético: Demerol, Metadona

En 1883, un químico, aisló un opiáceo nuevo gracias a la acetilación del clorhidrato de morfina, obteniendo diacetilmorfina, que es el nombre científico de la heroína. En principio se pensó en la heroína como un sustituto de la morfina, la cual producía gran adicción, y por ese motivo se eligió su nombre. En poco tiempo se demostró que la adicción generada por utilizar este compuesto era mucho más intensa en comparación con la morfina.

Existen muchos mitos alrededor de la heroína como el que produce alta satisfacción, que evita el estrés y provoca sentimientos de poder. La realidad en cambio, es que genera un estado inmediato de insatisfacción y frustración al pasar su efecto. Provoca altos estados de ansiedad y atención y genera una devaluación total de la persona.^{14,15}

La heroína (figura 1) es una de las drogas más adictivas e ilegal en la mayoría de los países del mundo. Esta es químicamente la diamorfina o diacetilmorfina. Es un opiáceo semi-sintético, producido a partir de la morfina,

a través de un proceso químico y es aproximadamente tres veces más fuerte que la morfina. Esta sustancia se encuentra naturalmente en los conductos lactíferos de la cápsula de la planta *Papaver Somniferum* o adormidera, desde donde se extrae mediante cortes superficiales por donde supura látex (opio). Generalmente se vende en forma de polvo blanco o marrón, o como una sustancia negra pegajosa conocida en las calles como "goma" o "alquitrán negro".^{14,15}

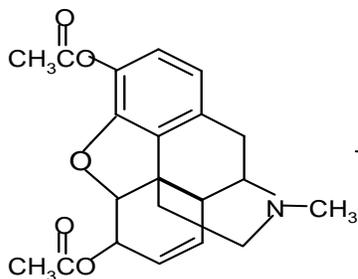


Figura 1. Estructura de la heroína

La heroína se puede administrar: fumada, inhalada o por inyección intravenosa. Los efectos son siempre los mismos, pero varía su intensidad y la rapidez de acción. Cada vía de administración conlleva una serie de riesgos para la salud: al fumarla penetra en el organismo de forma gradual. La inyección es la forma de administración que más riesgos implica ya que se pueden contraer numerosas infecciones, septicemia y enfermedades como: hepatitis, SIDA, etc.

El inyectarse constantemente es uno de los mayores riesgos ya que puede dañar las venas provocando trombosis y abscesos, aparte que es la forma más agresiva del consumo de esta droga.^{14,15}

Los efectos de la heroína comienzan entre los 3 y los 5 minutos después de haber sido inyectada o inhalada y duran entre tres o cuatro horas, la vida media de la heroína en la sangre es de 20 minutos. Se distribuye ampliamente en el cerebro, hígado, riñón, sangre y pulmón, en los cuales es desacetilada y transformada en 6-monoacetil-morfina. Luego la 6-monoacetil-morfina es hidrolizada a morfina.^{14,15}

A causa de su elevada liposolubilidad llega antes al cerebro que la morfina, alcanzando allí concentraciones mayores; lo que puede explicar su gran acción euforizante. Ocupa los receptores opioides, principalmente los receptores μ (mu) que funcionan en el área de la analgesia y deprimen la respiración; y los receptores δ (delta) que, según teorías recientes, pueden estar más vinculados con el estado anímico que con la analgesia.¹⁶

8.3 Historia de la Cromatografía de Gases

El cromatógrafo de gases es una de las tecnologías que mayor utilidad ha tenido para la práctica de las ciencias forenses, pero en realidad no es nada nueva. El Instituto Finlandés para la Verificación de la Convención sobre Armas Químicas (Verifin) se atribuyó el crédito de haber desarrollado el primer cromatógrafo de gases, como parte de un proyecto iniciado en 1973 para el análisis de agentes químicos. Para 1977, indica un resumen histórico divulgado por la propia institución, fue elaborado el prototipo de un instrumento de medición precisa. “Un cromatógrafo de gases fue construido, y el aparato fue posteriormente comercializado por la industria finlandesa”.^{17,18}

No obstante, la técnica de la cromatografía fue atribuida al científico ruso Mikhail Semenovich Tswett, aunque no fue reconocida mundialmente debido a que solamente publicó sus trabajos en su idioma madre. Otros avances fueron realizados por los países occidentales durante la década 1940-1950, impulsados por la segunda guerra mundial.^{17,18}

Esta técnica permite la separación de sustancias que se encuentran en una mezcla. El nombre de cromatografía se debe a que las primeras separaciones se llevaron a cabo con pigmentos de plantas, los cuales se observaban como bandas coloridas. Se puede decir que la cromatografía es un proceso de migración diferencial en el cual los componentes de una mezcla son transportados por una fase móvil (gas o líquido), y retenidos selectivamente por una fase estacionaria que puede ser un líquido o un sólido.^{17,18}

De acuerdo a la naturaleza de las fases y a los mecanismos de separación la cromatografía se divide en (Cuadro 1):

Cuadro 1. Cromatografía de gases

Mecanismo de separación	Tipo de muestra
Gas-Líquido (partición)	Fase de vapor
	Líquida
Gas-Sólido (adsorción)	Fase de vapor
	Líquida

8.4 Fundamento del Cromatógrafo de Gases

El proceso cromatográfico, aparentemente simple en práctica, es en realidad una compleja unión de fenómenos tales como hidrodinámica, cinética, termodinámica, química de superficie y difusión.

Ocurren dos fenómenos muy importantes y que son prácticamente los rectores del proceso de separación: **la adsorción y la absorción**.^{1,2}

La adsorción es la retención de una especie química en los sitios activos de la superficie de un sólido, quedando delimitado el fenómeno a la superficie que separa las fases o superficie interfacial.^{1,3}

Esta retención superficial puede ser física o química. La adsorción depende de la naturaleza de la sustancia adsorbida, de la temperatura, de la naturaleza y estado de subdivisión del adsorbente, y de la concentración.

La absorción es la retención de una especie química por parte de una masa y depende de la tendencia que tiene ésta a formar mezclas o reaccionar químicamente con la misma.^{1,3}

En la cromatografía de gases, la fase móvil es un gas y la estacionaria es un sólido (cromatografía gas-sólido) o un líquido (cromatografía gas-líquido).

En la cromatografía gas-sólido el proceso de separación se lleva a cabo por la adsorción entre el gas que transporta al soluto y el soporte, que puede ser alúmina, sílica gel, carbón, etc. En la cromatografía de gas-líquido la partición se lleva a cabo entre la fase estacionaria líquida que cubre un sólido inerte, como sílica, vidrio, etc. y el gas que transporta al soluto.²

La cromatografía de gases es una de las técnicas cromatográficas en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. Cuando se introduce una sustancia en la corriente del gas, esta se volatiliza por la elevada temperatura y de esta manera es transportada por el gas transportador a lo largo de una columna donde se distribuye entre las fases sólida y líquida, la elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte.

A diferencia de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna.^{2,19}

8.5 Elementos del Cromatógrafo de Gases

El cromatógrafo de gases consta de diversos componentes como el gas portador, el sistema de inyección de muestra, la columna (generalmente dentro de un horno), el detector y el dispositivo registrador (figura 2) ¹⁵.

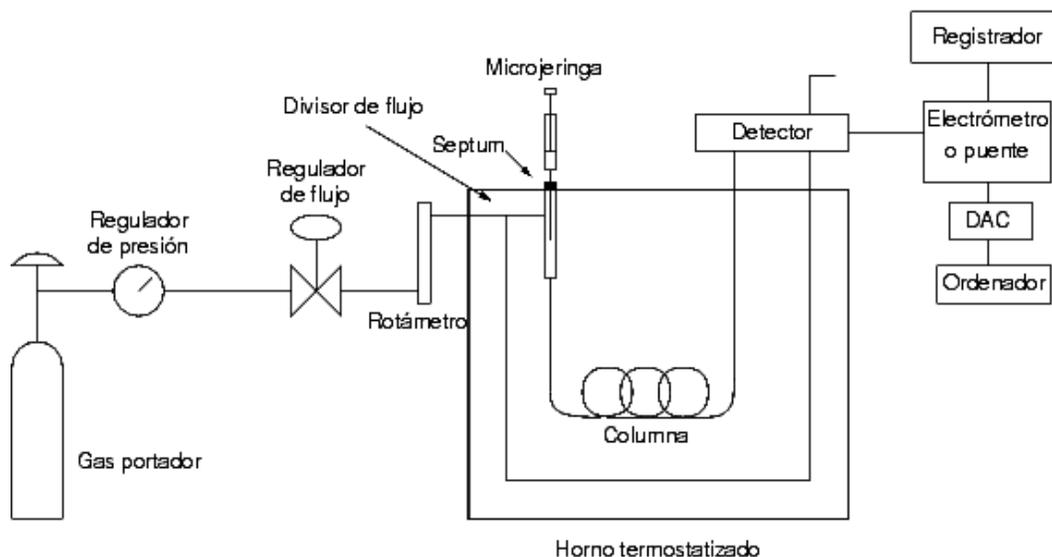


Figura2. Diagrama de un cromatógrafo de gases

8.5.1 Gas Transportador

Los gases transportadores típicos son el helio, nitrógeno o hidrógeno, estos se utilizan dependiendo de la columna y el tipo de detector que se utiliza. El gas cumple básicamente dos propósitos: Transportar los componentes de la muestra, y crear una matriz adecuada para el detector. Luego tenemos un sistema de manómetros y reguladores de flujo para garantizar un flujo estable y un sistema de deshidratación del gas, como puede ser un tamiz molecular.³

Generalmente la regulación de la presión se hace a dos niveles: un primer manómetro se sitúa a la salida de la bala o generador del gas y el otro a la entrada del cromatógrafo, donde se regula el flujo. Las presiones de entrada varían entre 10 y 25 psi, lo que da lugar a caudales de 25 a 150 mL/min en columnas de relleno y de 1 a 25 mL/min en columnas capilares. Para comprobar el caudal se puede utilizar un rotámetro o un simple medidor de pompas de jabón, el cual da una medida muy exacta del caudal volumétrico que entra a la columna.³

Un gas transportador debe reunir ciertas condiciones:

- Debe ser inerte para evitar interacciones (tanto con la muestra como con la fase estacionaria)
- Debe ser capaz de minimizar la difusión gaseosa
- Fácilmente disponible y puro
- Económico
- Adecuado al detector a utilizar

8.5.2 Sistemas de Inyección

El sistema de inyección de la muestra es un punto crítico, ya que se debe inyectar una cantidad adecuada, y debe introducirse de tal forma (como un "tapón de vapor") que sea rápida para evitar el ensanchamiento de las bandas de salida; este efecto se da con cantidades elevadas de analito. Los sistemas de inyección más comunes para la introducción de muestras de gas son válvulas de muestra de gas con sistema automático o manuales de inyección con jeringa.^{15,19,20}

Inyección directa con jeringa

Las muestras gaseosas y líquidas pueden inyectarse con una jeringa. En la forma más simple la muestra primero se inyecta en una cámara calentada donde se evapora antes de transferirse a la columna. Cuando se utilizan las columnas empacadas, la primer parte de la columna a menudo sirve como cámara de inyección, calentada separadamente a una temperatura adecuada. Para columnas capilares se utiliza una cámara de inyección separada (split-injection) donde solamente una pequeña parte de la muestra vaporizada / gaseosa es transferida a la columna. Esto es necesario para no sobrecargar la columna con volumen de muestra (figura 2).^{15,20}

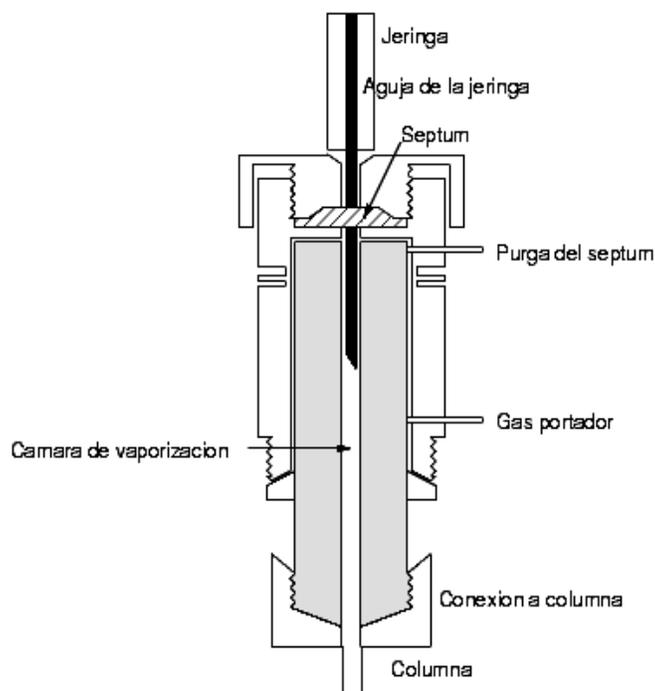


Figura 2. Sistema de inyección con jeringa.

Cuando se hallan trazas de la muestra, la inyección llamada inyección en columna puede usarse para CG capilar. La muestra líquida es inyectada directamente en la columna con una jeringa. Se deja entonces que el disolvente se evapore para producir la concentración de los componentes de la muestra. Si la muestra es gaseosa la concentración se efectúa por medio del método criogénico. Los componentes de la muestra se concentran y separan de la matriz por condensación en una cámara de enfriamiento antes de la separación cromatográfica.¹⁵

Inyección con válvula de muestreo / loop

La inyección 'loop' es a menudo utilizada en el control de procesos, donde las muestras gaseosas o líquidas fluyen continuamente a través de un bucle. El bucle de muestra se llena en posición fuera de línea (off-line) con una jeringa o una bomba automática. Por lo tanto, el loop es conectado en serie con la columna y la muestra es transferida a la fase móvil. El uso del sistema de inyección loop se utiliza para transferir grandes fracciones de eluyente, además

tiene dos desventajas claras: la primera es que los tiempos de transferencia de grandes volúmenes son largos debido al paso lento de los grandes volúmenes de vapores de disolvente a través de la columna de CG capilar. La segunda, es que el ajuste de condiciones que permitan una evaporación simultánea global del disolvente se hace más difícil.¹⁵

8.5.3 Columnas

Las columnas son el lugar donde ocurre la separación. Se dice que es el “corazón” de un cromatógrafo. En CG se emplean dos tipos de columnas: las *empaquetadas* o *de relleno* y las *tubulares abiertas* o *capilares*. Estas últimas son más comunes en la actualidad debido a su mayor rapidez y eficiencia. La longitud de estas columnas es variable, de 2 a 50 metros. Los materiales con los cuales generalmente se pueden elaborar las columnas son: cobre, aluminio, acero inoxidable, vidrio ó teflón. Debido a su longitud y a la necesidad de ser introducidas en un horno, las columnas suelen enrollarse en una forma helicoidal con diámetros de 10 a 30cm, dependiendo del tamaño del horno.³

Columnas de relleno

Las columnas de relleno consisten en unos tubos de vidrio, metal (inerte de ser posible como el acero inoxidable, cobre, aluminio o teflón), de una longitud de 2 a 3 metros y un diámetro interno de unos pocos milímetros, típicamente de 2 a 4. El interior se rellena con un material sólido, finamente dividido para tener una máxima superficie de interacción y recubierto con una capa de espesores entre 50nm y 1µm. Para que puedan introducirse en el horno, se enrollan convenientemente.^{15,19,20}

El material de relleno ideal consiste en pequeñas partículas, esféricas y uniformes, con una buena resistencia mecánica, para tener una máxima superficie donde interaccionar la fase estacionaria y el analito. El material preferido actualmente es la tierra de diatomeas natural, debido a su tamaño de poro natural.

Columnas capilares

Las columnas capilares son de dos tipos básicos: las de pared recubierta (WCOT) y las de soporte recubierto (SCOT). Las WCOT son simplemente tubos capilares donde la pared interna se ha recubierto con una finísima capa de fase estacionaria. Las columnas SCOT tienen en su parte interna una fina capa de material adsorbente como el empleado en las columnas de relleno (tierra de diatomeas) donde se ha adherido la fase estacionaria. Las ventajas de las SCOT frente a las WCOT es la mayor capacidad de carga de esta última, ya que en su fabricación se emplean mayores cantidades de fase estacionaria, al ser la superficie de intercambio mayor. Por orden de eficacia, en primer lugar están las WCOT, luego las SCOT y por último las columnas de relleno.

Las columnas WCOT se fabrican a partir de sílice fundida, conocidas como *columnas tubulares abiertas de sílice fundida* (FSOT). Estas columnas se fabrican a partir de sílice especialmente pura, con apenas contenido de óxidos metálicos. Debido a la fragilidad inherente a este material, en el mismo proceso de obtención del tubo se recubre con una capa de poliamida, de esta forma la columna puede enrollarse con un diámetro de unos pocos centímetros. Estas columnas, con propiedades como baja reactividad, resistencia física y flexibilidad, han sustituido a las WCOT clásicas.

8.5.4 Detectores

Un detector es un dispositivo para revelar la presencia de las sustancias eluidas a la salida de la columna cromatográfica, el detector es capaz de convertir una propiedad física, no medible directamente, en una señal elaborable y ofrecernos información sobre la naturaleza y magnitud de la propiedad física. Podemos expresar que el detector son los "ojos" de un cromatógrafo.^{3,19,20}

En cromatografía un detector funciona comparando una propiedad física entre el gas transportador puro y el mismo gas transportador llevando cada uno de los componentes que previamente se han separado en la columna, esta acción se traduce en una señal tipo eléctrica, que posteriormente se amplificará mediante un registrador gráfico ó integrador permitiendo indicar el momento en que salen de la columna los componentes.^{3,19,20}

Las características de un detector ideal son:

- La sensibilidad: Es necesario que pueda determinar con precisión cuándo sale analito y cuándo sale sólo el gas portador. Tienen sensibilidades entre 10^{-8} y 10^{-15} g/s de analito.
- La respuesta lineal al analito con un rango de varios órdenes de magnitud.
- El tiempo de respuesta corto, independiente del caudal de salida.
- El amplio intervalo de temperatura de trabajo, por ejemplo desde temperatura ambiente hasta unos 350-400°C, temperaturas típicas de trabajo.
- No debe destruir la muestra.
- La estabilidad y reproducibilidad, es decir, a cantidades iguales de analito debe dar señal iguales salidas de.
- La alta fiabilidad y sencillo manejo, o a prueba de operadores inexpertos.
- Respuesta semejante para todos los analitos.
- Respuesta selectiva y altamente predecible para un reducido número de analitos.

Algunos tipos de detectores:

- Detector de ionización de llama (FID, Flame Ionization Detector).
- Detector de conductividad térmica (TCD, Thermal Conductivity Detector).
- Detector termoiónico (TID, Thermionic Detector).
- Detector de captura de electrones (ECD, Electron-Capture Detector).
- Detector de emisión atómica (AED, Atomic Emission Detector).

8.5.5 Dispositivo Registrador

Las estaciones de datos reciben la señal de los detectores y calculan áreas de los picos y las alturas máximas, e imprimen el cromatograma completo con los parámetros de la corrida y de los picos. Los datos cromatográficos pueden almacenarse y reprocesarse, con la posibilidad de realizar cambios en la integración y otras variables de cálculo según sea necesario. Estos dispositivos de datos también se ocupan para programar la cromatografía, controlando casi todas las variables operativas del sistema.^{19,20}

8.5.6 Horno

El horno es una cámara calentada de volumen suficiente y fácil acceso para instalar la columna. Permite una subida rápida y controlada de la temperatura, y además se mantiene muy estable. Mediante cambios de temperatura en esta cámara, se consigue alcanzar la temperatura óptima para cada compuesto o fracción que se quiera separar.^{19,20}

8.5.7 Cromatograma

El cromatograma es un registro producido por el cromatógrafo de gas. Es también una medida del funcionamiento del instrumento, y se da por la señal que produce un detector en cuanto responde a la presencia de un analito.

La presencia de una serie de picos es igual al número de compuestos separados. A partir del cromatograma se obtienen datos analíticos cualitativos y cuantitativos.

Los picos de las muestras pueden ser asignados tentativamente a los compuestos por comparación del tiempo de retención de los estándares analizados bajo las mismas condiciones, sin embargo es posible que la

identificación pueda ser errónea debido a que pueden existir problemas de co-elución, esto es, que dos o mas compuestos tengan el mismo tiempo de retención.⁵

Los tiempos de retención son indicadores sensibles de varios factores de pre-detección incluyendo⁵:

- Sincronización inadecuada entre la salida en el análisis y salida de colección de los datos.
- Técnica de inyección irreproducible.
- Variaciones en las condiciones de la columna (presión, temperatura, composición de la fase).
- Variación de la fase móvil (control de flujo, composición de la fase, fugas).
- Variación de la distribución de la zona del pico, debido a variaciones en la inyección o de las condiciones de la columna.

Los siguientes términos son los que se encuentran dentro de un cromatograma típico y recomendados por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC*), con los cuales se pueden interpretar los resultados:

- Línea Base
- Pico Cromatográfico
- Base del Pico
- Área del Pico
- Altura del Pico
- Ancho del Pico
- Ancho del Pico a la mitad de la Altura

En el cromatograma se da la integración del inicio y fin del pico, el tiempo de retención, entre otras cosas que se mencionan anteriormente, al tener una buena integración los resultados son más reproducibles y se obtendrá una buena cuantificación.

8.6 Método de Análisis para la Heroína

Debido a la naturaleza química variable de los compuestos (carácter básico, fenólico o anfotérico), los métodos de extracción son un punto crítico. Para el análisis general, se prefiere la extracción líquido-líquido el cual es diseñada en orina en toxicología forense y clínica. Para análisis en sangre para drogas específicas se usa frecuentemente extracción en fase sólida.¹¹

La heroína al absorberse pasa rápidamente a la sangre y atraviesa la barrera hematoencefálica. Se distribuye rápidamente en el cerebro, hígado, riñón, sangre y pulmón, en los cuales es desacetilada y transformada en 6-monoacetilmorfina (6-MAM). Luego, la 6-MAM es hidrolizada a morfina. La detección de la 6-MAM indica la presencia de la droga.

El procedimiento de extracción que es compatible con casi todas las drogas, es con metanol (5-18h) en un baño ultrasónico. Como disolvente orgánico disuelve compuestos neutros y lipofílicos. Este tipo de extracción es conveniente para drogas sensibles a hidrólisis tales como la heroína.¹⁰

Cuando el nivel de impureza en el extracto es relativamente alto se recomienda una segunda extracción ya sea líquido/líquido o en fase sólida.²¹

La extracción con ácidos o soluciones buffer es aplicada para drogas básicas, estos extractos son mucho más puros que los extractos de metanol; los opiáceos son extraídos por HCl acuoso 0.01-0.5M o con buffer de fosfato pH= 6.4 o 7.6 debido a la protonación.²¹

En CG la derivatización suele ser necesaria para mejorar el comportamiento de los compuestos¹¹. Para la derivatización de opiáceos se utilizan una amplia variedad de reactivos para la silación o acetilación. Sin embargo, debido a que el anhídrido acético convierte a la morfina y a la 6-MAM a diacetilmorfina no puede ser utilizado, a menos que sea deuterado. El ácido propiónico también convierte a los opiáceos a derivados relativamente estables permitiendo distinguir entre la morfina, 6-MAM y la heroína.^{16,21}

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Aunque se reconoce a la cromatografía como una opción para confirmar las pruebas presuntivas con resultados positivos para las drogas de abuso el análisis de cromatografía tiene limitaciones, ya que pueden presentarse casos en los que se tengan resultados falsos positivos, debido al similar tiempo de retención de compuestos parecidos o diferentes por lo que el conocimiento de la técnica es fundamental y también la experiencia del personal.

Las técnicas cromatográficas solas o simples, no son capaces de facilitar una identificación irrefutable de un compuesto particular por lo que es necesario en algunos casos la confirmación por técnicas específicas como la espectrometría de masas que es a menudo obligatoria.

Así podemos decir que la técnica es adecuada para la identificación de la heroína ya que la extracción de esta en los fluidos se logra muy satisfactoriamente. Por lo tanto al analizar la muestra en el cromatógrafo de gases se logra identificar más fácilmente, aunque para lograr esto es importante tener en cuenta que tanto los tipos de columnas como los detectores influyen en la calidad del análisis, así también puede ser necesario la implementación de otras técnicas de acoplamiento como la espectrometría de masas para confirmar su presencia y así evitar los falsos positivos.

10. CONCLUSIONES

- El método de cromatografía de gases es uno de los más utilizados como prueba confirmatoria para la heroína, la cual puede ser cuantitativa y cualitativa.
- El problema del abuso de drogas entre niños, jóvenes y adultos es un tema que afecta muchos sectores, como los sociales, económicos, laborales, etc. Los cuales acarrear otros problemas como el de infecciones, robo, pandillerismo, etc. Por lo que la identificación y detección de las drogas es fundamental, ya que con esto se podría realizar una detección temprana sobre todo en niños y jóvenes, y así poder ayudarlos en su rehabilitación antes de que causen mucho mas problemas.
- Los métodos de detección están influenciados por la naturaleza química de la droga

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Baugh PJ. Gas Chromatography, A Practical Approach. Oxford University Press, California, **1993**.
2. Morales PAL. Química, MSc. Universidad de Colombia. Alcances y Limitaciones de la Cromatografía de Gases y Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia en los Análisis Forenses **2007**.
3. Dallüge J, Beens J, Brinkman UA. Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography: A Powerful and Versatile Analytical Tool, *J. Chromatogr A* **2003**, (1000): 69–108.
4. Toennes SW, Fandiño AS, Kauert G. Gas Chromatographic–Mass Spectrometric Detection of Anhydroecgonine Methylester (methylecgonidine) in Human Serum as Evidence of Recent Smoking of Crack *J. Chromatogr B* **1999**; 735: 127–132.
5. Dyson, N. Towards a Quantitative Definition of Perfection in Chromatographic Analyses *J. Chromatogr A* **2000**; 868: 305–312.
6. Segura J, Stramesi C, Redón A, Ventura M, Sánchez CJ, González G, San L, Montagna M. Immunological Screening of Drugs of Abuse and Gas Chromatographic–Mass Spectrometric Confirmation of Opiates and Cocaine in Hair. *J. Chromatogr B* **1999**; 724: 9–21.
7. Cárdenas S, Gallego M, Valcárcel M. Gas Chromatographic–Mass Spectrometric Confirmation of Selected Benzophenones from Benzodiazepines in Human Urine following Automatic Screening *J. Chromatogr A* **1998**; 823: 389–399.

8. Deconinck E, Ates H, Callebaut N, Gyseghem EV, Heyden YV. Evaluation of Chromatographic Descriptors for the Prediction of Gastro-Intestinal Absorption of Drugs *J. Chromatogr A* **2007**; 1138: 190–202.
9. Liu JT, Liu RH. Enantiomeric Composition of Abused Amine Drugs: Chromatographic Methods of Analysis and Data Interpretation. *J Biochem Biophys Meth* **2002**; 54: 115–146.
10. Višja K, Ljiljana S. Analysis of Drugs of Abuse in Urine by Gas Chromatography/Mass Spectrometry: Experience and Application. *Institute for Medical Research and Occupational Health*; **2000**; 389-390.
11. Moeller MR, Steinmeyer S, Kraemer T. Determination of Drugs of Abuse in Blood *J. Chromatogr B.* **1998**; 713: 91–109.
12. Lewis RJ, Johnson RD, Hatstrup RA. Simultaneous Analysis of Thebaine, 6-MAM and Six Abused Opiates in Postmortem Fluids and Tissues Using Zymark® Automated Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *J. Chromatogr B.* **2005**; 822: 137–145
13. Joakim J, Strandberg A, Fredrik C, Kugelberg A, Kanar A, Anna G, Kolbjørn Z, Olav S, Henrik D. Toxicological Analysis in Rats Subjected to Heroin and Morphine Overdose, *Toxicology Letters.* **2006**; 166: 11–18.
14. Knight B. Medicina Forense de Simpson, El Manual Moderno, México D.F. **1991**.
15. Vargas E. Medicina Legal, Editorial Trillas, México. **1996**.
16. Iruin A, Aizpurua I, Apodaka J, Zapirain E, Aizpuru A. Revisión de la Evidencia Científica Sobre las Alternativas a la Metadona en el Tratamiento Psicofarmacológico de la Dependencia a Opiáceos. *Rev Esp Salud Pública.* **2001**;75:207-220.
17. Jennings W, Mittlefehldt E, Stremple P. Analytical Gas Chromatography, 2nd. Edn. Academic Press, California. **1997**.

18. Storch JM. Fundamentos de la Cromatografía de Gases, 2ª ed, Alambra, Barcelona. **1968**.
19. United States of Pharmacopeia (USP), 30, vol. 1, Español, Cromatografía de Gases. **2007**.
20. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), 8ª ed. Vol. 1, MGA 0241 Cromatografía. **2004**.
21. Pragst F, Balikova MA. State of the Art in Hair Analysis for Detection of Drug and Alcohol Abuse. *Clinica Chimica Acta*. **2006**; 370: 17–49.
22. Kueh AJ, Marriott PJ, Wynne PM, Vine JH. Application of Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography to Drugs Analysis in Doping Control. *J. Chromatogr A*. **2003**; 1000:109–124.
23. Li Z, Jacobus LJ, Wuelfing WP, Golden M, Martin GP, Reed RA. Detection and Quantification of Low-Molecular-Weight Aldehydes in Pharmaceutical Excipients by Headspace Gas Chromatography, *J. Chromatogr A*. **2006**, 1104: 1–10.
24. Pirnay S, Ricordel I, Libong D, Bouchonnet S. Sensitive Method for the Detection of 22 Benzodiazepines by Gas Chromatography–Ion Trap Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr A*. **2002**; 954: 235–245.
25. Praisler M, Bocxlaer JV, De Leenheer A, Massart DL. Chemometric Detection of Thermally Degraded Samples in the Analysis of Drugs of Abuse with Gas Chromatography–Fourier-Transform Infrared Spectroscopy. *J. Chromatogr A*. **2002**; 962:161–173.
26. Strano-Rossi S, Molaioni F, Rossi F, Botrè F. Rapid Screening of Drugs of Abuse and Their Metabolites by Gas Chromatography/Mass Spectrometry: Application to Urinalysis. *Rapid Communications Mass Spectrometry*. **2005**; 19: 1529–1535.

27. Song D, Zhang S, Kohlhof K. Determination of a Trace Amount of Cocaine on a Bank Note by Gas Chromatography-Positive-Ion Chemical-Ionization Mass Spectrometry. *J. Chromatogr A*. **1996**; 731: 355-360.
28. Verenitch SS, Lowe CJ, Mazumder, A. Determination of Acidic Drugs and Caffeine in Municipal Wastewaters and Receiving Waters by Gas Chromatography-Ion Trap Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr A* **2006**; 1116: 193-203.
29. Satinder A. Chromatography of Pharmaceuticals Natural, Synthetic and Recombinant Products. American Chemical Society, Washington D.C. **1992**.