



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**IDENTIFICACIÓN DE MORFINA EN CABELLO MEDIANTE
EL ANÁLISIS DE CROMATOGRFIA DE GASES.**

T E S I N A

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

EDITH HERNÁNDEZ GIRÓN.

ASESOR:

M. EN C. RODOLFO CARREÓN SÁNCHEZ



MÉXICO, D.F.,

SEPTIEMBRE 2009.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

*Aprendí que no se puede dar marcha atrás,
que la esencia de la vida es ir hacia adelante.
La vida, en realidad, es una calle de sentido
único.*

*Agatha Christie (1891-1976)
Novelista inglesa.*

A mis padres...

CONTENIDO

	Pág
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.- La toxicología.....	7
8.2.- Los aspectos clínicos de las intoxicaciones.....	7
8.3.- Los opiáceos.....	8
8.4.- Extracción y preparación de los opiáceos.....	10
8.5.- La morfina.....	14
8.6.- Mercados legales e ilícitos.....	15
8.7.- El pelo.....	16
8.8.- Determinaciones de interés forense: el pelo como indicio...	19
8.9.- Cromatografo de gases.....	27
9.- Análisis de cabello por cromatografía de gases.....	41
10.- Discusión de resultados.....	44
11.- Conclusiones.....	45
12.- Referencias.....	46

1. Resumen

La morfina es una de las drogas opioides que ha generado un abuso en su consumo por lo cual el químico forense debe de estar actualizado en cuanto a las técnicas analíticas para la detección de estas drogas.

La técnica de cromatografía de gases se aplica en la determinación de sustancias de interés toxicológico, con el fin de destacar su importancia y tener una mayor comprensión en su uso. En este caso, se investigará el análisis y aplicación de la técnica para identificar a la morfina.

En el presente trabajo, se realizará una revisión de la toxicología de la morfina, la técnica de cromatografía de gases para su identificación, así como las ventajas y desventajas a considerar por el químico forense durante su estudio.

2. Introducción

La morfina es una de las drogas con mayor poder adictivo, debido a que entran en el cerebro rápidamente, actuando sobre los mismos receptores del SNC que los péptidos endógenos opioides: endorfinas, dinorfinas y encefalinas. Los receptores se agrupan en familias que se designan como: mu, kappa, delta y epsilon, sobre ellos pueden actuar agonistas, antagonistas y agonistas/antagonistas produciendo distintos efectos en el organismo según sea mayor o menor su afinidad por los receptores.

Entre los efectos que producen estas drogas están el de analgesia, somnolencia, cambios del estado de ánimo, depresión respiratoria, náusea, vómito, miosis (constricción pupilar) y disminución de la motilidad del tubo digestivo.

Hoy en día, el análisis del pelo se reconoce por ser una herramienta útil para la detección de drogas de uso o abuso. Es posible detectar la historia del uso de la droga de varios meses haciendo el análisis segmentario del cabello, cuando es suficientemente largo.

Las muestras de pelo más adecuadas son las del cuero cabelludo de la parte posterior de la región parietal debido a su índice de crecimiento constante. Una vez tomada la muestra se proseguirá a lavar para posteriormente hacer su análisis de acuerdo a la técnica de cromatografía de gases.

3. Objetivos

Objetivo general

- Realizar una revisión bibliográfica detallada de la toxicología y la técnica de cromatografía de gases para la identificación de la morfina como droga de abuso con el fin de mostrar su aplicación en las ciencias forenses.

Objetivos particulares

- Presentar los usos y el daño toxicológico de la morfina en la salud de quienes la consumen.
- Presentar la utilidad, confiabilidad y ventajas del cabello como muestra biológica en la detección de morfina en el análisis toxicológico forense.
- Mostrar en forma clara y sencilla la técnica de cromatografía de gases (CG) en la determinación de morfina en cabello.

4. Problema de investigación

En la actualidad, el abuso del consumo de drogas ha ido en aumento, lo que obliga al químico forense a desarrollar nuevas técnicas para su identificación y cuantificación, con la finalidad de detectarlas en los fluidos biológicos a niveles que en el pasado no se habían alcanzado requiriendo cada vez mayor precisión y sensibilidad para la detección de las mismas en un menor tiempo posible.

Actualmente una metodología alternativa para llevar a cabo este análisis aún después de haber pasado semanas e incluso meses, es el cabello, además de ser un análisis de mucho valor judicial, ya que muchas veces es motivo de delitos y violencia en la sociedad.

Aunque hay información analítica disponible para la determinación de drogas de abuso en cabello, ésta no se encuentra agrupada, por lo que es necesario actualizarla y difundirla en documentos accesibles a todo aquel interesado en este tipo de estudio.

5. Importancia del estudio

El presente estudio, tiene el carácter de ser informativo con respecto a la detección de morfina por medio de la técnica de cromatografía de gases debido a que el consumo de drogas de abuso es un problema social que ha tenido un auge de gran importancia en el cual algunas de sus consecuencias están relacionadas con actos delictivos, es primordial que se analicen y evalúen las técnicas que se emplean para la determinación de la presencia de diferentes drogas en individuos que presuntamente han cometido un ilícito o se realiza una investigación forense.

A diferencia con los fluidos biológicos (sangre, orina, saliva), el pelo posee características únicas como son: resistencia a la putrefacción, conservación de su estructura aún después de un tiempo prolongado, absorción e impregnación de olores, que pueden permitir llevar a cabo un análisis de este tipo, incluso un año después de haber consumido la droga, razón por la cual actualmente se ha convertido en una de las técnicas con mayor auge y crecimiento en los laboratorios de investigación.

El análisis de morfina en cabello por cromatografía de gases, puede ser una buena opción como auxiliar en la investigación de delitos relacionados con el consumo de este tipo de droga. Además de que el consumo de morfina es muy frecuente, por lo que se convierte en un problema grave de salud, a nivel nacional e internacional. Por lo antes expuesto, el presente trabajo, pretende proporcionar los elementos teóricos que se deben de tomar en cuenta para la elaboración de una metodología de análisis adecuado para la detección de morfina en cabello por cromatografía de gases.

6. Limitación del estudio

Para el desarrollo de la tesina se obtuvo información bibliográfica de interés científico y en donde se limitó al estudio de drogas y abuso de la morfina, del año 1994 al presente año.

7. Tipo de estudio

Se realizó una tesina de carácter informativo en donde el tipo de estudio fue monográfico, bibliográfico, longitudinal, descriptivo y documental de interés científico que ayude a entender mejor la técnica de cuantificación de morfina.

8.- Marco teórico

8.1- Toxicología

La toxicología es una rama de la medicina que estudia los efectos nocivos de los agentes químicos y de los agentes físicos (agentes tóxicos) en los sistemas biológicos y que establece, además, la magnitud del daño en función de la exposición de los organismos vivos a dichos agentes. Se ocupa de la naturaleza y de los mecanismos de las lesiones y de la evaluación de los diversos cambios biológicos producidos por los agentes nocivos.¹

El objetivo de determinar la toxicidad de una determinada sustancia, es importante para poder determinar la cantidad o concentración de esa sustancia a la que un organismo puede ser expuesto. Algunas sustancias con pequeñas cantidades tienen un efecto nocivo sobre el cuerpo y se vuelven peligrosas cuando se toman en mayor concentración.²

La prueba toxicológica se fundamenta en la identificación del tóxico a concentraciones letales.^{3, 4}

El concepto de dosis letal (DL), es relativo y obliga a la consideración de ciertas particularidades: Vía de administración del tóxico y su frecuencia, tiempo transcurrido hasta la muerte, respuesta individual (idiosincrasia), alteraciones post mortem del tóxico, interacción con otros tóxicos y lugar de la muestra.^{3, 4, 5}

8.2.- Aspectos clínicos de las intoxicaciones

Las intoxicaciones son cuadros frecuentemente tratados en los servicios médicos y las causas que llevan al individuo a demandar estos servicios son múltiples, provocadas por los síntomas y características específicas del tóxico empleado, entre los que se encuentran:

- El color de la orina: verde oscuro (fenol, creosota, resorcinol), rojo (antipirina, trional), café o negro (pirogalol), amarilla (fenacetina, ácido pícrico).
- El olor del aliento: alcohólico (alcohol), aliáceo (fósforo), pera (cloral), betún (nitrobenceno), almendras amargas (cianuro).
- Las misceláneas (más de 1 síntoma): hipotermia (salicilatos, quinina, acetanilida), dolor, alteraciones gastrointestinales, prurito e hiperacusia (estricnina), zumbidos (salicilatos), silbidos (quinina).^{3, 4, 5}

8.3.- Opiáceos

Conocidos como "Narcóticos" (que significa adormecimiento), se utilizan principalmente para combatir el dolor. Son legales para uso médico, por sus propiedades analgésicas.⁶

Son derivados preparados a partir de la goma de opio (*Papaver Somniferum*), misma que se obtiene a partir del jugo extraído de los bulbos de la amapola.⁶

En 1803, se aisló un alcaloide del opio al que se le llamó morfina por el Dios griego del sueño "Morfeo", que es diez veces más potente que el opio y posteriormente se desarrollaron otros derivados como la codeína que actúa como antitusivo y la heroína (1874), que es diez veces más potente que la morfina. Su nombre viene por ser la droga "heroica" en las guerras.^{6, 7}

Hasta 1914 la morfina y el opio eran legales en los Estados Unidos, pero al ver que su uso producía: tolerancia, dependencia física, psicológica, y también síndrome de abstinencia, cuando se suspendía bruscamente, se prohibieron definitivamente a partir de ese año.⁷

Dentro de los narcóticos-opiáceos, se encuentran:

De origen natural: opio, heroína, morfina, codeína.

De origen sintético: demerol, metadona.⁸

Los opiáceos son las drogas con mayor poder adictivo, debido a que entran en el cerebro rápidamente, actuando sobre los mismos receptores del SNC (sistema nervioso central) que los péptidos endógenos opioides: endorfinas, dinorfinas y encefalinas. Los receptores se agrupan en familias que se designan como: mu, kappa, delta y epsilon. Sobre ellos pueden actuar agonistas, antagonistas y agonistas/antagonistas produciendo distintos efectos en el organismo según sea mayor o menor su afinidad por los receptores. Entre los efectos que producen estas drogas, están el de analgesia, somnolencia, cambios del estado de ánimo, depresión respiratoria, náusea, vómito, miosis (constricción pupilar) y disminución de la motilidad del tubo digestivo.⁹

Cómo actúan los opiáceos en el cerebro

Los opiáceos como la heroína o morfina, pueden ser inyectados, fumados, inhalados, o tomados oralmente. Cuando se administra por vía intravenosa, se distribuye rápidamente al SNC. Cuando son inhalados, se absorben por vía pulmonar alcanzando concentraciones en la sangre en mayor tiempo que por vía intravenosa de donde se difunden al SNC. En cambio, cuando se esnifa (aspirar droga en polvo a través de la nariz) se difunde al torrente sanguíneo a través de las mucosas distribuyéndose a todo el organismo incluido el SNC en donde producirá su efecto máximo que consiste en: alteraciones del estado mental, con cambios en la personalidad y estado de ánimo, modificación y tolerancia al dolor que conlleva a la euforia. Si es ingerido oralmente, se distribuyen lentamente al SNC, aunque se absorben bien en el estómago pero son metabolizados por enzimas hepáticas provocando que no se alcancen concentraciones efectivas en el organismo.^{10, 11}

El opiáceo, se adhiere a los receptores opiáceos en las neuronas, (La razón por la que algunas neuronas tengan receptores especiales para los opiáceos probablemente es porque hay sustancias opioides endógenas en el SNC).

La estimulación mu produce miosis, analgesia, euforia y depresión respiratoria; la interacción kappa da lugar a analgesia y sedación.

El receptor sigma hoy en día no se considera como tal, puesto que no es antagonizado por naloxona, aunque sobre él actúan algunos opiáceos produciendo efectos psicógenos.

Esto causa que la cantidad de dopamina en las hendiduras sinápticas de las neuronas se incrementen notablemente. Las drogas opiáceas causan este aumento en la dopamina, pero una teoría dice que cuando los opiáceos saturan a los receptores en la neurona, esa neurona libera menos GABA (Ácido gamma aminobutírico) que es un neurotransmisor que inhibe la dopamina. (Si hay menos GABA, por consiguiente, hay más dopamina.)^{10, 11}

El incremento de la dopamina produce sentimientos de intenso placer para la persona que toma la droga opiácea. Desgraciadamente, el uso prolongado de opiáceos causa que el cerebro se adapte, para que tenga que depender de la presencia de la droga para funcionar normalmente. Entonces, si la persona deja de usar la droga, tiene experiencias contrarias al placer--ansiedad, irritabilidad y mal humor. Los síntomas inmediatos, se conocen como síndrome de abstinencia, el cual incluye síntomas físicos y psicológicos, entre los cuales se manifiesta: náusea, fríos, calambres, y exudado. Incluso después de un periodo largo que la persona ha dejado de usar opiáceos, las anormalidades cerebrales pueden persistir, causando sensaciones de incomodidad y pidiendo más de la droga para presentar estas sensaciones.^{10, 11}

8.4.- Extracción y preparación de opiáceos

Se basan en la diferente solubilidad de los alcaloides en forma de bases y sales lo que nos permite separarlo de otros compuestos.¹²

El opio es una droga analgésica narcótica que se extrae de las cabezas verdes de la adormidera (*Papaver somniferum*), (figura 1), La adormidera (parecida a una amapola común), es una planta que puede llegar a crecer un metro y medio y con flores blancas, violetas o fucsia. Es una planta anual, que puede comenzar su ciclo en otoño aunque lo habitual es a partir de enero, florece siempre a finales de mayo y es cuando se puede proceder a la recolecta del opio. El opio crece principalmente en Turquía e India.¹²



Figura 1. Adormidera con sus flores.

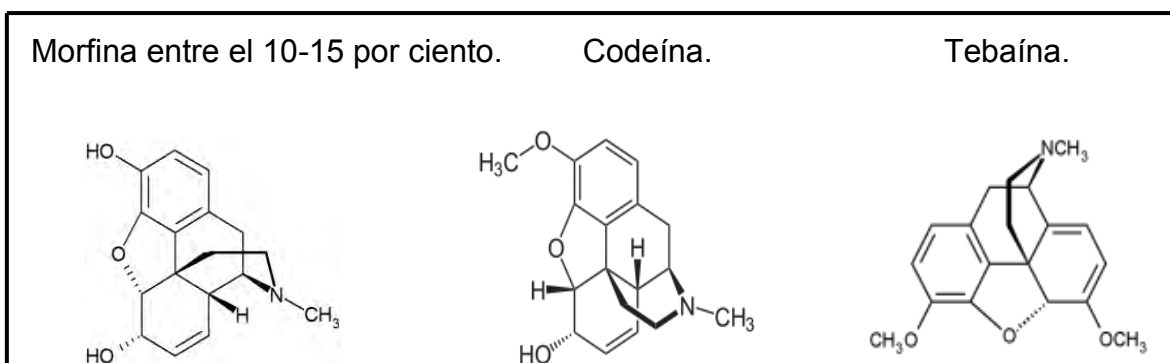
El opio se extrae realizando incisiones superficiales en las cabezas, todavía verdes de la adormidera unos días después de caerse los pétalos de las flores (figura 2). Los cortes exudan un látex blanco y lechoso, que al secarse se convierte en una resina pegajosa marrón. Esta resina se raspa de las cabezas obteniéndose así el opio en bruto, al dejar secar éste durante más tiempo se convierte en una piedra más oscura y cristalina a la vez que pierde agua y se concentran los alcaloides.¹²



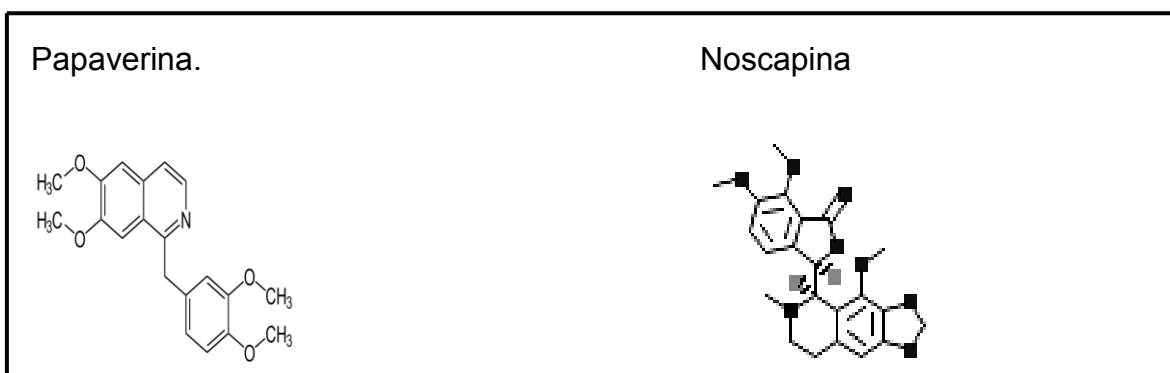
Figura 2. Cabeza de adormidera a la que ya se le han caído los pétalos

El opio contiene los siguientes alcaloides:

- **Fenantrenos**



- **Benzilisoquinolinas**



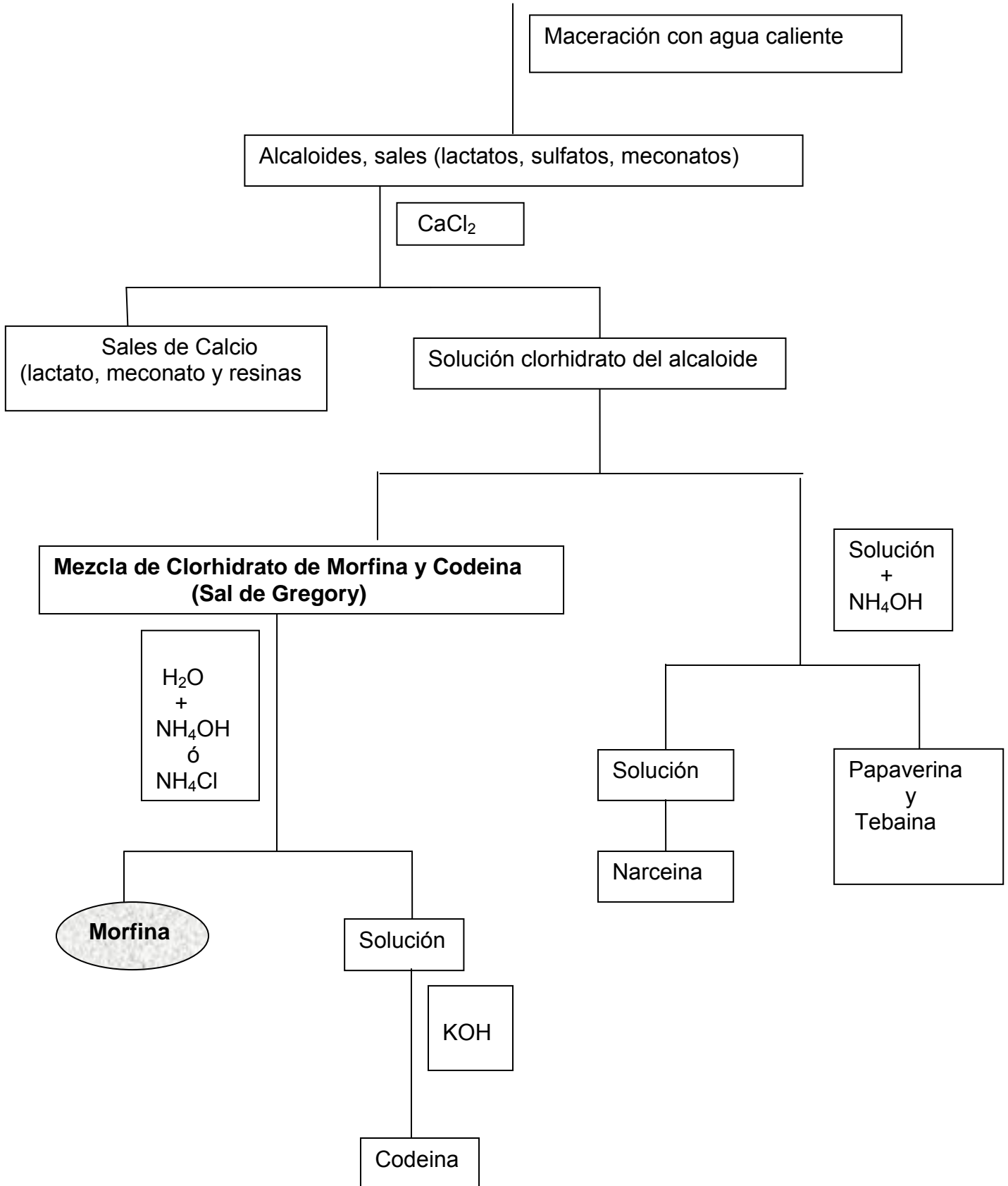
Una vez seca la planta, las cabezas contienen centenares de semillas redondas de un 1mm de diámetro, que salen de manera natural por las aperturas de la parte superior de la planta debajo de la corona. Las semillas no contienen, o en cantidad insignificante, ningún alcaloide.¹²

Para la extracción de los principios activos del opio (morfina, codeína, papaverina, tebaína y noscapina) se utiliza el método Gregory, recogiendo toda la planta, excluyendo raíces y hojas (paja de adormidera), triturándola y diluyéndola en medios ácidos, tratándola después con un proceso ácido/base, este método fue creado en el Reino Unido durante la Segunda Guerra Mundial.¹²

MÉTODO DE GREGORY

EXTRACCION DE LOS ALCALOIDES DEL OPIO

OPIO (*Papaver somniferum*)



8.5.- Morfina

La morfina es una potente droga opiácea usada frecuentemente en medicina como analgésico. La morfina fue denominada así por el farmacéutico alemán Friedrich Wilhelm Adam Sertürner en honor a Morfeo, el Dios griego de los sueños.¹²

La morfina es un alcaloide de la familia de los fenantrenos del opio. La morfina, esta clasificada por la LGS (Ley General de Salud) como un estupefaciente por considerarla con gran potencia adictiva, independiente de su uso clínico; anestesia, analgesia, tratamiento del dolor asociado a la isquemia miocárdica y para la disnea asociada al fracaso ventricular izquierdo agudo y edema pulmonar. La morfina es un polvo blanco, cristalino, inodoro y soluble en agua (figura 3).^{12, 13}

En sus inicios la morfina fue administrada primero por vía oral, posteriormente por vía ID (Intradérmica), finalmente por vía VI (Intravenosa) gracias a la invención de la jeringa de Prava siendo esta última la más popular debido a su uso masivo por parte de los militares durante la guerra. A partir de 1951 fue posible la síntesis química y de derivados morfínicos.¹³

Actualmente, la morfina sigue siendo el analgésico clásico más eficaz para aliviar los dolores agudos, pero su utilización va decreciendo a medida que aparecen nuevas drogas sintéticas, las cuales se supone son menos adictivas y permiten que personas alérgicas a la morfina puedan aliviar igualmente sus dolores.¹³

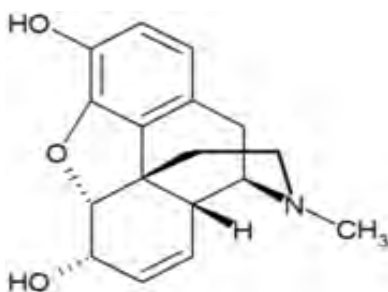


Figura 3. Molécula de la Morfina.¹³

8.6.- Mercados legales e ilícitos

En la actualidad en la mayoría de los países del mundo, esta droga esta catalogada en las del grupo I, por lo que está rigurosamente prohibido su comercio y posesión con fines lucrativos.¹⁴

La morfina puede ser extraída o fabricada legalmente y utilizada bajo control médico. Puede también ser desviada hacia el mercado ilícito y ser objeto de un uso fuera del control médico. Finalmente, la morfina puede ser extraída de manera totalmente ilícita.¹⁴

En el mercado legal, la morfina esta acondicionada en empaques farmacéuticos (tabletas, ampollitas). En el mercado clandestino, la morfina es vendida a menudo en paquetes, como la heroína.¹⁴

- **Uso en forma legal de la morfina**

La morfina esta indicada para el control del dolor severo y se usa en premedicación, analgesia, anestesia, tratamiento del dolor asociado con isquemia miocárdica, y/o disnea asociada con el fallo ventricular izquierdo agudo y edema pulmonar.¹⁴

La morfina es utilizada como producto alternativo para el tratamiento del dolor oncológico (tratamiento farmacológico utilizando como analgésicos y adyuvantes). El tratamiento actual se basa en el concepto de una “escala analgésica” de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que propone una estrategia secuencial para el uso de analgésicos y que constituye básicamente un marco de principios más que un protocolo rígido.¹⁴

Su distribución y consumo en forma legal se adecua a la reglamentación médico-farmacéutica de cada país. Y su principal función es analgésica, es decir, la disminución o erradicación del dolor.¹⁴

Hay tres maneras principales de consumir la morfina:

- 1.- Como producto para fumar (Chandoo): requiere una manipulación que pasaría por secar el producto, disolverlo y someterlo a un proceso de fermentación durante aproximadamente un año con el hongo *Aspergillus niger*. Este uso sería mayoritario.^{14, 15}
- 2.- También, puede ingerirse sin transformarse en chandoo, tal como ocurre en los países musulmanes.^{14, 15}
- 3.- A veces se llega a comer directamente la planta, como es el caso del *kenaar persa*.^{14, 15}

- **Uso en forma ilícita de la morfina**

Cabe mencionar que la producción de morfina en México en su totalidad esta contemplada como absolutamente ilegal dado que en nuestro país no se producen medicamentos que contengan morfina.¹⁵

8.7.- El pelo

Morfología y el crecimiento del pelo

Nuestro cabello es una matriz compleja, principalmente formada por fibras de queratina (sustancia formada por macromoléculas constituidas por largas cadenas de aminoácidos unidos entre sí) constituidas por una raíz y una base que se forma en el folículo piloso de la piel. Dentro de esta base se encuentra la zona papilar, compuesta de tejido conjuntivo y vasos sanguíneos los cuales proporcionan al pelo las sustancias necesarias para su crecimiento. Unidas a cada fibra de pelo se encuentran un grupo de fibras musculares lisas, las que al contraerse hacen que éste se “erice”, cambiando su ángulo con respecto a la piel, incrementando su capacidad aislante ante cambios de la temperatura.¹⁶

El tallo del pelo esta compuesto por tres capas (figura 4). En la médula, la primera de ellas, se encuentran las células queratinizadas junto con los espacios intercelulares llenos de aire, presentes solo en los pelos más gruesos.^{16,17}

La médula está rodeada por la segunda capa, llamada corteza, donde se fijan la mayoría de los gránulos de pigmento. ¹⁷

Por último, en la capa más externa, se encuentran las células adheridas o separadas en las porciones terminales formando escamas superpuestas que apuntan hacia la punta del pelo, formadas por células especialmente queratinizadas, que forman de 6 a 8 capas. ¹⁷

En el bulbo del pelo, se encuentra la papila del pelo con un paquete capilar, donde las drogas y los venenos se transportan de la sangre a las células de pelo. Las células son queratinizadas durante su crecimiento. En este procedimiento, las drogas y venenos se incorporan en el pelo, dando por resultado su almacenaje estable en él. ^{16, 17}

Además de la queratina, nuestro cabello está compuesto de uno a un nueve por ciento de lípidos, 0,1 a 5 por ciento de pigmentos (melanina) y de pequeñas cantidades de elementos traza, polisacáridos y agua. ¹⁷

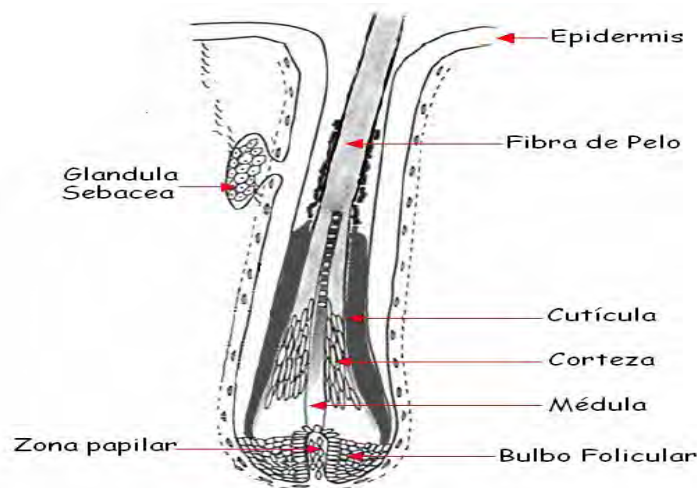


Figura 4. Morfología del Pelo

El ciclo de crecimiento del pelo consiste de tres etapas, (figura 5) y se describen a continuación:

Fase Anagénica (o etapa de crecimiento): en el folículo se desarrolla y se produce la fibra del pelo. Esta fase puede durar entre 7 y 94 semanas, dependiendo de la región anatómica donde se encuentre y crece a razón de 0,22-0,52 mm por día ó 0,6-1,4 cm por mes.¹⁷

Fase Catagénica (o etapa de regresión): cuando la actividad del bulbo folicular se detiene y la zona papilar se contrae mientras el folículo alcanza la fase de descanso ó etapa Telogénica.¹⁷

Fase Telogénica (o etapa de caída): En esta etapa el pelo deja de crecer completamente y comienza a caerse. Luego de ésta, el pelo entra a un nuevo ciclo de crecimiento, el cual se ve afectado por factores tales como la raza, deficiencias nutricionales y la edad. El pelo de la cabeza de un adulto esta un 85 por ciento del tiempo en fase anagénica y el 15 por ciento restante en fase de descanso.¹⁷

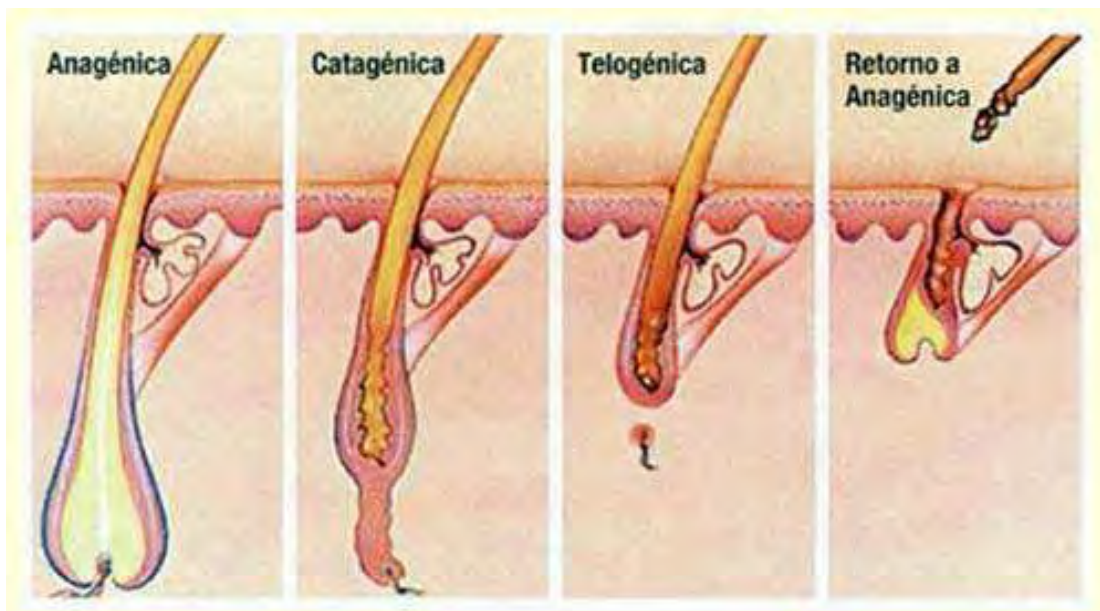


Figura 5. Ciclo de Crecimiento del Pelo.

Clasificación del pelo

En los humanos, generalmente se habla de **cuatro tipos de pelo**, caracterizados principalmente por su textura y su longitud.¹⁸

El lanugo es fino, suave y poco pigmentado, y carece de médula central. Existen dos capas de lanugo, una que cubre al feto y se cae justo antes del nacimiento, y otra que crece después del nacimiento y se cae durante el tercer o cuarto mes de vida.¹⁸

El vello alcanza generalmente una longitud de menos de un centímetro. Crece en los niños pequeños tras la caída del lanugo y se trata de un cabello fino, poco pigmentado y medulado. El vello sigue creciendo durante toda la vida y generalmente, entre el 6 y el 25 por ciento del cabello del cuero cabelludo es de este tipo.^{18, 19}

El intermedio tiene aproximadamente un centímetro de longitud y se forma en el cuero cabelludo de los niños entre los 3 y los 7 meses de edad. Puede durar hasta 2 años.^{18, 19}

El terminal crece mucho más de un centímetro y es más denso y más grueso que los otros tipos de cabello. Crece en el cuero cabelludo, las cejas y las pestañas antes de la pubertad. El cabello sexual secundario, como el pelo púbico o el pelo de la barba en los varones, también es cabello terminal.^{18,19, 20}

8.8.- Determinaciones de interés forense: el pelo como indicio

El pelo relacionado con un hecho delictivo debe ser levantado con una cadena de custodia, que permita posteriormente relacionarlos con las etapas del hecho ó circunstancias del mismo.^{19, 20}

El pelo puede encontrarse sobre la víctima, en las ropas de ésta, debajo de las uñas, entre los dedos, en ropas de cama, peines, cepillos. Etc.¹⁹

El pelo había sido utilizado para detectar su exposición a los metales pesados por análisis químico de los años 50. Hoy en día, el análisis del pelo se

reconoce para ser una herramienta útil para la detección de drogas de uso o abuso. Es posible detectar la historia del uso de la droga de varios meses haciendo el análisis segmentario del pelo, cuando es suficientemente largo.^{18, 19}

Cadena de custodia

Es el procedimiento de control que se aplica al indicio relacionado con el delito, iniciándose desde su localización por parte de una autoridad, hasta que ha sido valorado por los órganos de administrar justicia y deja de ser útil al proceso, y que tiene como fin evitar alteraciones, daños, sustitución, contaminación, destrucción, o cualquier acción que varíe su significado original.²⁰

Las diferentes etapas que la constituyen son:

***Resoluciones y actos previos**, a partir del momento en que el Ministerio Público o la Policía Judicial tengan conocimiento de un delito, se iniciará una serie de actos de investigación para llevar a cabo el estudio o allanamiento de la escena del crimen.²⁰

***Hallazgo y custodia del escenario**, es el punto de partida de la investigación penal-judicial donde inicia la cadena de custodia y de donde se obtendrá las evidencias físicas o indicios materiales relacionados en forma directa o indirecta con el delito, objeto de investigación, razón por la cual es indispensable aislar adecuadamente la escena del crimen; brindando entre otras cosas, una custodia inmediata del sitio para evitar contaminación o pérdida de elementos probatorios.²⁰

Una forma sencilla de proteger la escena del crimen es el acordonado, mediante el uso de cinta, mecates y barreras naturales.

***Inspección preliminar y búsqueda de indicios**, la inspección preliminar permite generar algunas hipótesis, que junto con algunos de los testimonios que se recogen en un principio, permiten sistematizar su procesamiento, es necesario contar con técnicas de rastreo adecuadas que permitan la detección

de indicios de interés; con base en esto, se establece el primer tipo de rastreo que se describe a continuación:

Rastreo de punto a punto, consiste en ubicar indicios por su cercanía en el espacio, pero además por su relación en el desarrollo de los hechos y sobre todo por la dirección y ruta de los involucrados dentro del área.²⁰

Rastreo por franjas, consiste en recorrer zonas en forma lineal y regresar paralelamente de igual manera, puede ser realizado en áreas pequeñas por un solo oficial o bien en zonas amplias por varios oficiales colocados a no más de un metro de distancia entre cada uno. Es el clásico "peinado" de la zona como comúnmente se denomina.²⁰

Rastreo en espiral, consiste en realizar una búsqueda de indicios partiendo del punto crítico de la escena del crimen en forma circular y alejándose paulatinamente hacia fuera, formando una espiral. También se puede ejecutar en forma inversa, es decir de afuera hacia adentro. El procedimiento estándar es siempre en dirección a las agujas del reloj.²⁰

Rastreo dividiendo en cuadrantes, sirve para organizar la búsqueda sistemática de indicios por zonas. Consiste en dividir el área en cuatro cuadrantes a los cuales se les asigna un número o letra y dentro de ellos se aplican otros métodos de rastreo (franjas, punto a punto, espiral, etc.).²⁰

***Fijación de la evidencia**, esta etapa permite determinar con exactitud la ubicación y estado de los indicios que facilita la reconstrucción de los hechos, por medio de recursos audiovisuales y documentales.²⁰

Hay varios tipos de fijación:

Fijación fotográfica, consiste en el registro fotográfico del estado de las cosas. Normalmente se realiza siguiendo una secuencia lógica que va de lo general a lo particular, y de lo particular al detalle.²⁰

Fijación escrita, consiste en hacer un registro escrito de la forma en que se encuentran las cosas, su ubicación y aspecto incluso de apreciación.²⁰

Fijación planimétrica, es el registro mediante un plano del estado de las cosas. Éste complementa, sobre todo, la fotografía, pues agrega varios elementos importantes, entre ellos las dimensiones, trayectorias, disposición de los elementos y su relación.²⁰

Fijación por video grabación, la tecnología ha permitido el uso de otras técnicas para lograr el objetivo que busca la fijación. El elemento visual, el movimiento y la narración se unen en uno solo con el video.²⁰

***Recolección de los indicios**, es fundamental realizar el levantamiento de materiales, que sirvan como prueba del hecho delictivo, bajo procedimientos que no contaminen ni alteren con factores externos la evidencia.²⁰

Los métodos de recolección de indicios están dados según las características de cada uno. Por otra parte, los indicios ya recolectados, deben ser clasificados e individualizados cuidadosamente, así como inventariados, ya que de esta manera hay un control sobre cada uno de ellos y se evita que se confundan entre sí, adquiriendo con este procedimiento mayor credibilidad y confianza cuando sean valorados en relación con el hecho que se pretende probar.²⁰

Las recomendaciones en general para el **levantamiento de pelo** son las siguientes:

- Se evitará recolectarlos utilizando las manos en forma directa.
- Se toma cada pelo con pinzas (limpias o desechables).
- Se deberá embalar cada uno de los indicios por separado.
- Las muestras de pelo deberán ser siempre arrancadas, nunca cortadas.
- Se recogerán siempre pelos de la víctima y de o los sospechosos.
- Se remitirán al laboratorios los pelos en bolsas de plástico transparente, de cierre hermético o en tubos de ensayo perfectamente limpios y cerrados.
- Nunca se utilizará adhesivos ni pegamentos para preservar los pelos.
- El levantamiento de los pelos en el sitio del suceso debe hacerse con todas sus adherencias y jamás deben limpiarse.²⁰

***Embalaje de la evidencia,** mediante el adecuado empaque, lacrado y etiquetado, se debe individualizar y garantizar la integridad del elemento probatorio.²⁰

El embalaje presenta la siguiente estructura:

a) Embalaje interno: tiene como objetivo que el indicio material no sea objeto de algún tipo de contaminación, pérdida, alteración de sus características las cuales van a ser objeto de análisis pericial.²⁰

b) Embalaje externo: se le denomina embalaje final el cual debe estar sellado o lacrado para que constituya una garantía de la integridad legal de la evidencia física (indicio).²⁰

c) Lacrado o sellado: es la operación de sellado del embalaje externo. Es importante el uso de una cinta adhesiva de manera que se pueda realizar escritura sobre la misma. La cinta debe ser colocada en cada una de las aberturas del recipiente, sea caja, bolsa, sobre, entre otros.²⁰

En la cinta, se escribe el nombre de la persona que se encargó de realizar el levantamiento del indicio material. Es importante que la escritura abarque tanto la cinta como la estructura del recipiente protector y demás para efectos de seguridad que el empaque no sea violentado, se debe colocar un trozo de cinta adhesiva transparente como medio de protección.²⁰

d) Etiquetado: por medio de este procedimiento se logra identificar e individualizar el indicio material.²⁰

e) Bolsas de evidencia: son bolsas plásticas con cadena de custodia impresa.²⁰

***Transporte y entrega de la evidencia,** es necesario que el indicio cuente con una custodia segura hasta su destino y en la medida de lo posible, de forma inmediata para evitar alteraciones en el mismo.²⁰

La entrega controlada se inicia desde el momento en que el recolector se desprende por primera vez del indicio y lo deja en custodia de otra persona,

para lo cual se usa un registro donde se anotan los datos de quien la entrega y la recibe, con fecha y hora.²⁰

***Análisis pericial**, durante esta fase se debe describir detalladamente el estado en el que se reciben los indicios y garantizar resultados válidos y confiables, al ser sometidos a estudio y análisis, previa solicitud de dictamen criminalístico formulado por la autoridad judicial.²⁰

Los análisis periciales a los cuales debe someterse el pelo son los siguientes:

Examen microscópico, consta de dos etapas .primero; se procede a la identificación del pelo, si es de origen animal o humano y luego se compara con pelos de origen conocido.²⁰

Examen de la anatomía, es importante verificar las características microscópicas del pelo para poder reconocer a que región del cuerpo pertenece, además es útil observar el cabello rasgado o arranchado o si corresponde a un cabello que ha caído naturalmente.²⁰

Determinación racial, es posible determinar a que raza corresponde el cabello analizado, así es posible diferenciar los cabellos provenientes de un sospechoso de origen caucásico, asiático o de raza negra.²⁰

Análisis del ADN, la determinación del sexo del sospechoso se puede realizar en cabellos gracias a que en la zona proximal o bulbo el pelo presenta células nucleadas totalmente activas que contienen ADN.²⁰

***Devolución o destrucción**, según lo ordene la autoridad competente se deben devolver o destruir los indicios, de acuerdo a los requerimientos legales que cada uno de estos procedimientos implica.²⁰

Manipulación del pelo

Waldeyer¹⁹, observó muy apropiadamente: "La suciedad adherida al cabello es a menudo más importante que el mismo cabello" Por lo tanto, cuando se encuentra un cabello, no se debería tomar entre los dedos. El uso de una lente ayuda en muchos casos a determinar la dirección de la punta y de la raíz del cabello.^{19, 21}

Gross, recomienda que el cabello debe ser colocado sobre un papel y fijado mediante dos tiras engomadas y sus extremos marcados con la letra "a" para la raíz y la letra "b" para la punta.^{19, 20, 21}

En países donde hay una población mixta, esto se hace difícil, porque todo el cabello no puede montarse sobre una hoja de papel, ya que el de mulatos raramente lo permitiría, cabello de tal tipo se preserva en papel blanco o en pequeñas bolsas de papel o polietileno.^{19, 21}

Examen del pelo en criminalística

Se recomienda guardar el pelo en frascos con tapa de vidrio esmerilado, para no alterar su olor característico. Lo mejor es examinar el pelo al encontrarlo. Se debe tomar el espécimen con pinzas y colocarlo sobre un porta objetos, cubrirlo con un cubre objeto y examinarlo bajo el microscopio. Luego sin haber hecho una limpieza del ejemplar, agregar agua destilada y examinarlo cuidadosamente. Este procedimiento permite a menudo descubrir manchas de sangre, esperma, pus, etc. Después de haber verificado esta observación preliminar, se procede a limpiar el pelo.^{19, 20, 21}

Limpieza y eliminación de partículas extrañas

Para lavar el pelo se emplea solución jabonosa o carbonato de potasio 10 por ciento indistintamente, luego se deshidrata con alcohol, se pasa por xilol y se observa en el microscopio en medio acuoso o glicerinado, puede emplearse bálsamo de Canadá.^{19, 21}

Si fuese muy oscuro, puede emplearse una de las siguientes soluciones agua oxigenada, perhidrol caliente, ácido acético, solución de hipoclorito de sodio, solución alcohólica de cloro o ácido nítrico. Se obtienen buenos resultados con agua oxigenada. Solución de hidróxido de sodio. En general la decoloración del pelo se cumple en aproximadamente 15 minutos, no alterando la estructura de los ejemplares.^{19, 20, 21}

Aspectos Periciales

Las cuestiones periciales que se presentan con el cabello ó el pelo, son las siguientes:

1. Diagnóstico específico.
2. Lugar del cuerpo del cual proceden.
3. Si el pelo es cortado o arrancado o caído.
4. Edad del sujeto.
5. Sexo.
6. Si procede de un ser vivo o muerto.
7. Determinar si están teñidos o decolorados.
8. Raza.
9. Si el pelo corresponde a un individuo de determinada profesión.
10. Traumatología del pelo.
11. La distancia desde la cual el tiro fatal fue disparado, en los casos de muerte por arma de fuego.
12. La posible existencia de veneno en el sujeto del cual proceden.
13. El índice escamoso del pelo en estudio.
14. El grupo sanguíneo del individuo del cual proviene.
15. Si es un cabello sano o padece alguna enfermedad que permita su tipificación.
16. Contenido de trazas de elementos inorgánicos metálicos.
17. Realizar los ensayos serológicos que permitan fenotipar isoenzimas para individualizar el pelo en el estudio.¹⁹

En el laboratorio, se debe examinar toda la evidencia en un área limpia y sin corriente de aire, por separado para evitar que se mezclen.

Hacer una descripción escrita de cada objeto de evidencia, resaltando características físicas y método de embalaje.¹⁹

El pelo es un buen espécimen para la detección de largo plazo de drogas y de venenos; es posible analizar un compuesto de muchos días más adelante. Sin embargo, debemos tener presente que el uso de la droga en el plazo de tres días no se puede detectar en el pelo.^{20, 21}

8.9.- Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es una técnica en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. 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.²²

Existen dos tipos de cromatografía de gases (CG): la cromatografía gas-sólido (CGS) y la cromatografía gas-líquido (CGL), siendo esta última la que se utiliza más ampliamente, y que se puede llamar simplemente cromatografía de gases. En la CGS la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos en ella se produce mediante el proceso de adsorción. Precisamente este proceso de adsorción, que no es lineal, es el que ha provocado que este tipo de cromatografía tenga aplicación limitada, ya que la retención del analito sobre la superficie es semipermanente y se obtienen picos de elución con colas. Su única aplicación es la separación de especies gaseosas de bajo peso molecular. La CGL utiliza como fase estacionaria moléculas de líquido inmovilizadas sobre la superficie de un sólido inerte.^{22, 23}

La CG se lleva a cabo en un cromatógrafo de gases. Éste consta de diversos componentes como el gas portador, el sistema de inyección de muestra, la columna (generalmente dentro de un horno), y el detector (figura 6).²³

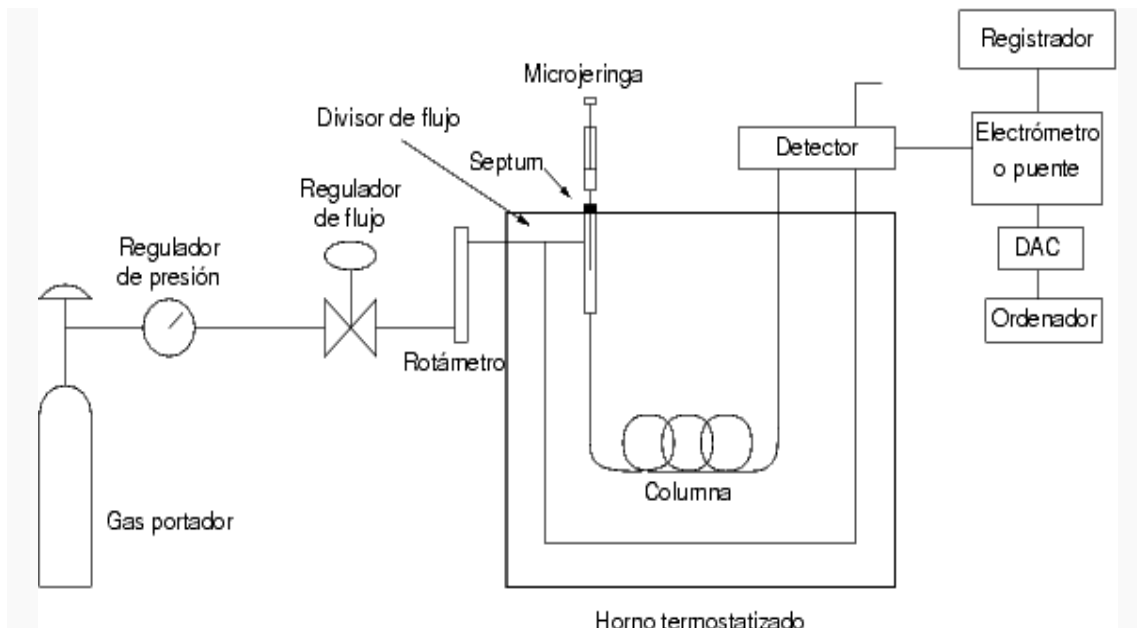


Figura 6. Diagrama de cromatógrafo de gases.

Gas portador

El gas portador debe ser un gas inerte, para prevenir su reacción con el analito o la columna. Generalmente se emplean gases como el helio, argón, nitrógeno, hidrógeno o dióxido de carbono, y la elección de este gas en ocasiones depende del tipo de detector empleado. El almacenaje del gas puede ser en balas normales o empleando un generador, especialmente en el caso del nitrógeno y del hidrógeno. 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, que es un material que contiene poros pequeños de un tamaño preciso y uniforme que se usa como agente adsorbente para gases y líquidos. Las moléculas que son lo suficientemente pequeñas para pasar a través de los poros son adsorbidas, mientras que las moléculas mayores no. A diferencia de un filtro, el proceso opera a un nivel molecular.²³

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.^{23, 24}

Sistema de inyección de muestra

La inyección de muestra es un apartado 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. El método más utilizado emplea una microjeringa (capacidad de varios microlitros) para introducir el analito en una cámara de vaporización instantánea. Esta cámara está a 50°C por encima del punto de ebullición del componente menos volátil, y está sellada por una junta de goma de silicona septa o *septum* (figura 7).^{23, 24}

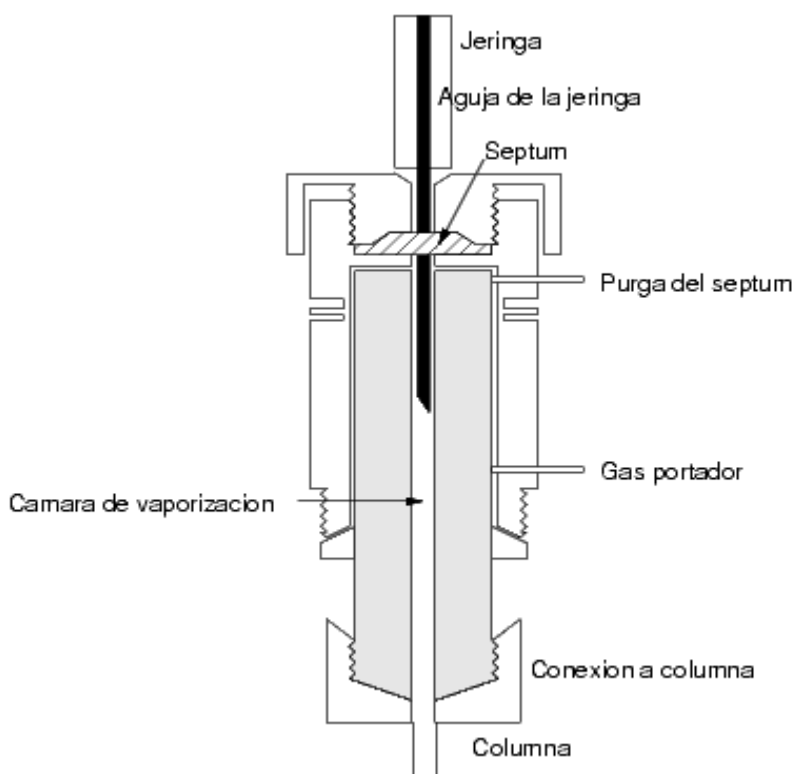


Figura 7. Inyector de muestra para un CG.

Si es necesaria una reproducibilidad del tamaño de muestra inyectada, se puede usar una válvula de seis vías o válvula de inyección, donde la cantidad a inyectar es constante y determinada por el tamaño del bucle de dicha válvula.²³

Si la columna empleada es ordinaria, el volumen a inyectar será de unos 20 μL , y en el caso de las columnas capilares dicha cantidad es menor, de 10^{-3} μL . Para obtener estas cantidades, se utiliza un divisor de flujo a la entrada de la columna que desecha parte del analito introducido.^{23, 24}

En caso de muestras sólidas, simplemente se introducen en forma de disolución, ya que en la cámara de vaporización instantánea el disolvente se pierde en la corriente de purga y no interfiere en la elución.²⁵

Sistemas de control de temperatura

La temperatura es una variable importante, ya que de ella va a depender el grado de separación de los diferentes analitos. Para ello, debe ajustarse con una precisión de décimas de grado. Dicha temperatura depende del punto de ebullición del analito o analitos, y por lo general se ajusta a un valor igual o ligeramente superior a él. Para estos valores, el tiempo de elución va a oscilar entre 2 y 30-40 minutos. Si tenemos varios componentes con diferentes puntos de ebullición, se ajusta la llamada rampa de temperatura con lo cual ésta va aumentando ya sea de forma continua o por etapas. En muchas ocasiones, el ajustar correctamente la rampa puede significar separar bien o no los diferentes analitos. Es recomendable utilizar temperaturas bajas para la elución ya que aunque a mayor temperatura la elución es más rápida, se corre el riesgo de descomponer el analito.²⁶

Detectores

El detector es la parte del cromatógrafo que se encarga de determinar cuándo ha salido el analito por el final de la columna. Las características de un detector ideal son: Sensibilidad: Es necesario que pueda determinar con precisión cuándo sale analito y cuando sale sólo el gas portador. Tienen sensibilidades entre 10^{-8} y 10^{-15} g/s de analito. Respuesta lineal al analito con un rango de varios órdenes de magnitud.²⁶

Tiempo de respuesta corto, independiente del caudal de salida. Intervalo de temperatura de trabajo amplio, por ejemplo desde temperatura ambiente hasta unos 350-400°C, temperaturas típicas de trabajo. No debe destruir la muestra.

Tiene estabilidad y reproducibilidad, es decir, a cantidades iguales de analito debe dar salidas de señal iguales. Alta fiabilidad y manejo sencillo, o a prueba de operadores inexpertos. Respuesta semejante para todos los analitos, o respuesta selectiva y altamente predecible para un reducido número de analitos.²⁶

Otros detectores minoritarios, son el **detector fotométrico de flama** (PFD), empleado en compuestos como pesticidas e hidrocarburos que contengan fósforo o azufre. En este detector se hace pasar el gas eluido por una llama hidrógeno/oxígeno donde parte del fósforo se convierte en una especie HPO, la cual emite a $\lambda = 510$ y 526 nm, y simultáneamente el azufre se convierte en S₂, con emisión a $\lambda = 394$ nm. Dicha radiación emitida se detecta con un fotómetro adecuado. Se han podido detectar otros elementos, como algunos halógenos, nitrógeno, estaño, germanio y otros.²⁶

En el **detector de fotoionización** (PID), el gas eluido al final de la columna se somete a una radiación ultravioleta con energías entre 8,3 y 11,7 eV, correspondiente a una $\lambda = 106$ -149 nm. Mediante la aplicación de un potencial a la celda de ionización se genera una corriente de iones, la cual es amplificada y registrada.²⁶

El **detector de ionización de flama** (FID), consiste de una llama de hidrógeno-aire y una placa colectora (figura 8). El efluente de la columna pasa a través de la llama, que ioniza las moléculas orgánicas. Los iones se recogen en un electrodo de polarización negativa y producen una señal eléctrica. El FID es extremadamente sensible y es el detector más ampliamente utilizado, su desventaja es que destruye la muestra.^{26, 27}

Empleado para hidrocarburos, poco sensible a compuestos muy oxidados.

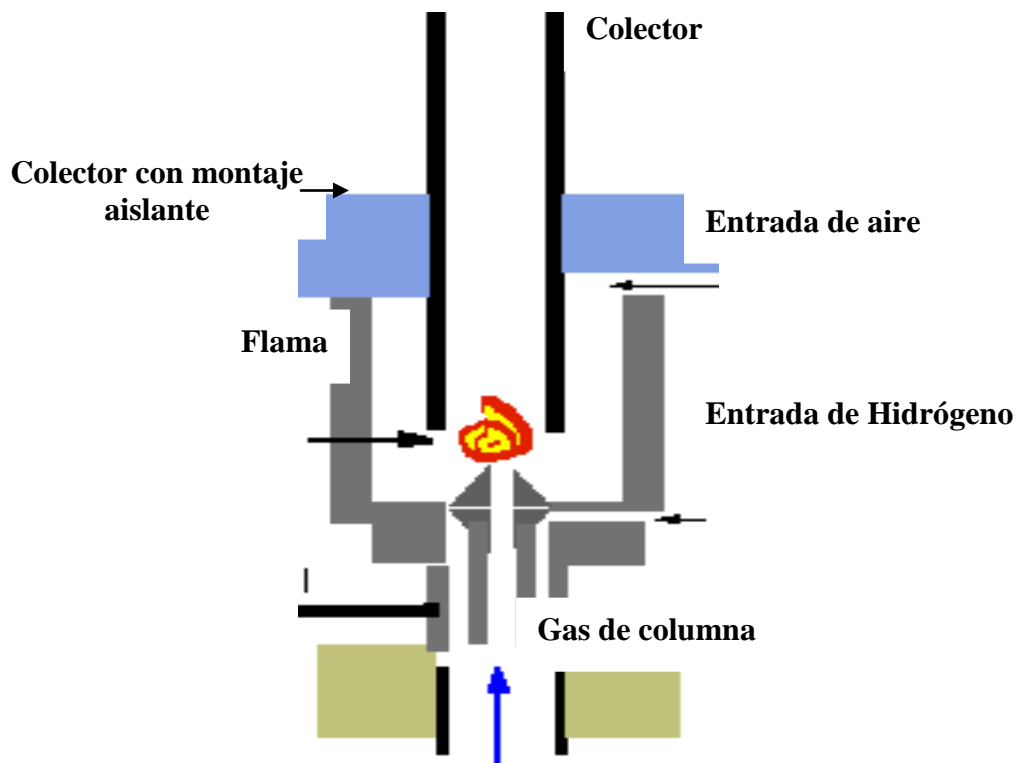


Figura 8. Detector de Ionización de Flama (FID).

El **detector de captura de electrones**, (ECD), utiliza un emisor beta radioactivo (electrones) para ionizar parte del gas portador y para producir una corriente entre un par de electrodos (figura 9).

Cuando las moléculas orgánicas que contienen grupos funcionales electronegativos, tales como halógenos, fósforo y grupos nitro, pasan por el detector, capturan algunos de los electrones y reducen la corriente medida entre los electrodos.

Empleado frecuentemente para compuestos halogenados.²⁷

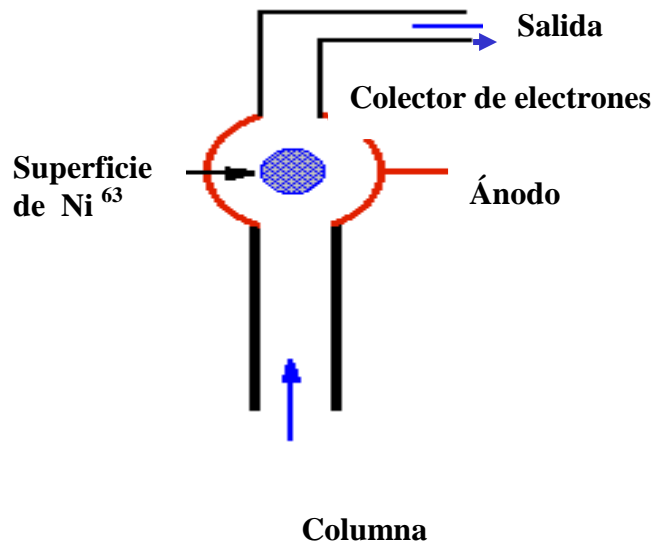


Figura 9. Detector de captura de electrones (ECD).

El **detector de conductividad térmica**, (TCD), Utilizado particularmente con columnas empacadas (figura 10) detecta H₂O, CO, CO₂ y H₂. Mide la conductividad térmica de un analito en un gas acarreador.

La velocidad de pérdida de calor de un cuerpo caliente hacia un cuerpo más frío es proporcional a la conductividad térmica del gas que separa estos cuerpos.²⁷

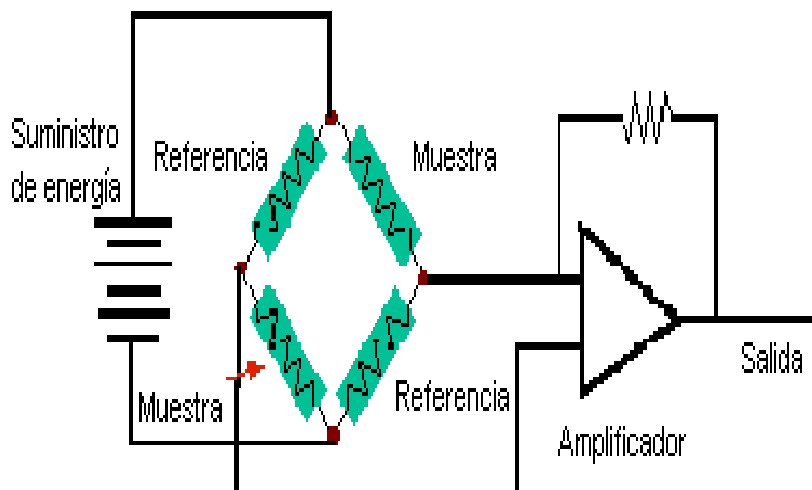


Figura 10. Detector de conductividad térmica (TCD).

Columnas

Es donde ocurre la separación de los componentes. En CG se emplean dos tipos de columnas: las *empaquetadas* o *de relleno* y las *tubulares abiertas* o *capilares*²⁶.

Columnas de relleno

Las columnas de relleno o empacadas consisten en unos tubos de vidrio, metal inerte (como el acero inoxidable, Níquel, Cobre o Aluminio) o teflón, de longitud de 2 a 3 metros y un diámetro interno de unos pocos milímetros, típicamente de 2 a 4 mm. 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 50 nm y 1 μm . Para que puedan introducirse en el horno, se enrollan convenientemente.^{26, 27}

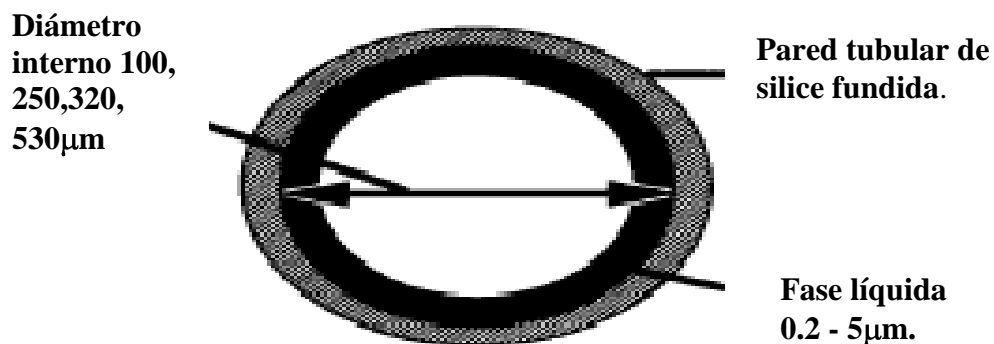
El material de relleno ideal consiste en pequeñas partículas, esféricas y uniformes, con una buena resistencia mecánica, para tener una máxima superficie donde interaccionar la fase estacionaria y el analito. La superficie específica mínima debe ser de 1 m^2/g . Como todos los componentes de columnas para CG, debe ser inerte a altas temperaturas ($\sim 400^\circ\text{C}$) y humectarse uniformemente con la fase líquida estacionaria durante el proceso de fabricación. El material preferido actualmente (a partir del año 2005) es la tierra de diatomeas natural, debido a su tamaño de poro natural. Estas especies, ya extinguidas, utilizaban un sistema de difusión molecular para tomar nutrientes del medio y expulsar sus residuos. Por tanto, debido a que el sistema de adsorción superficial del analito y la fase estacionaria es parecida, son materiales especialmente útiles.^{26, 27}

El tamaño es crítico a la hora de darse el proceso de interacción del analito, y a menores tamaños la eficacia de la columna es mejor. Pero existe el problema de la presión necesaria para hacer circular un caudal estable de gas portador por la columna, ya que dicha presión es inversamente proporcional al cuadrado del diámetro de dichas partículas. Así, el tamaño mínimo para usar presiones máximas de 50 psi es de 250 a 149 μm .²⁷

Columnas capilares

Son más comunes en la actualidad (a partir del año 2005) debido a su mayor rapidez y eficiencia. La longitud de estas columnas es variable, de 2 a 50 metros, y están construidas en acero inoxidable, vidrio, sílice fundida o 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 30 cm, dependiendo del tamaño del horno.²⁶

Las columnas capilares son de dos tipos básicos: las de pared recubierta (WCOT) y las de soporte recubierto (SCOT) (figura 11 y 12). 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.^{26, 27}



Columna capilar de pared recubierta.

Figura 11. Columna WCOT. (*Wall Coated Open Tubular*).



Columna capilar de soporte recubierto.

Figura 12. Columna SCOT. (*Support Coated Open Tubular*).

Las columnas WCOT se fabrican a partir de sílice fundida, conocidas como *columnas tubulares abiertas de sílice fundida* o FSOT, (figura 13). Estas columnas se fabrican a partir de sílice especialmente pura. Debido a la fragilidad inherente a este material, en el mismo proceso de obtención del tubo se recubre con una capa de poliimida, 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.^{26, 27}

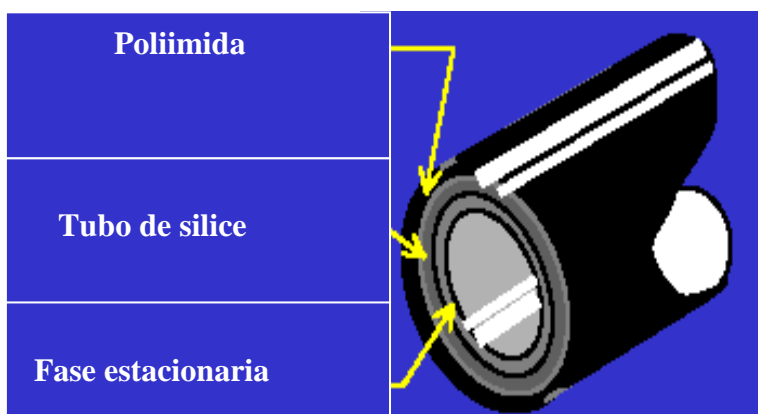


Figura 13. Columna FSOT. (*Fused Silica Open Tubular*).

Las columnas FSOT tienen diámetros internos variables, entre 250 y 320 μm (para columnas normales) y 150-200 μm para columnas de alta resolución. Estas últimas requieren menor cantidad de analito y un detector más sensible, al eluir menor cantidad de gas. Existen asimismo columnas *macrocapilares* con diámetros de hasta 530 μm , que admiten cantidades de analito comparables a las de relleno pero con mejores prestaciones.²⁶

En estas columnas existe un problema debido a la adsorción del analito sobre la superficie de la sílice fundida, adsorción debida a la presencia de grupos silanola (Si-OH), los cuales interaccionan fuertemente con moléculas polares orgánicas. Este inconveniente se suele resolver inactivando la superficie por sililación con dimetilclorosilano (DMCS). La adsorción debida a los óxidos metálicos se ve paliada en gran parte por la elevada pureza de la sílice empleada.^{26, 27}

La fase estacionaria

Las propiedades necesarias para una fase estacionaria líquida inmovilizada son:

- Características de reparto: factor de capacidad κ' y factor de selectividad α , adecuados al analito.
- *factor de capacidad κ'* , es una medida del tiempo transcurrido en la fase estacionaria en relación el tiempo transcurrido en fase móvil.
- *factor de selectividad α* , es la habilidad del sistema para separar los picos.
- *Baja volatilidad*, el punto de ebullición de la fase estacionaria debe ser al menos 100°C mayor que la máxima temperatura alcanzada en el horno.
- *Baja reactividad*.
- *Estabilidad térmica*, para evitar su descomposición durante la elución.²⁵

Existen al menos una docena de disolventes con estas características. Para elegir uno, debe tenerse en cuenta la polaridad del analito, ya que a mayor polaridad del analito, mayor polaridad deberá tener la fase estacionaria.

Algunas fases estacionarias utilizadas actualmente (a partir del año 2005) son: Polidimetilsiloxano, fase no polar de uso general para hidrocarburos, aromáticos, polinucleares, drogas, esteroides y PCBs. Poli(fenilmetildifenil)siloxano (10 por ciento fenilo), para ésteres metílicos de ácidos grasos, alcaloides, drogas y compuestos halogenados. Poli(fenilmetil)siloxano (50 por ciento fenilo), para drogas, esteroides, pesticidas y glicoles. Poli(trifluoropropildimetil)siloxano, para aromáticos clorados, nitroaromáticos, bencenos alquilsustituídos. Polietilenglicol, sirve para compuestos polares, también para compuestos como glicoles, alcoholes, éteres, aceites esenciales. Poli(dicianoalildimetil)siloxano, para ácidos grasos poliinsaturados, ácidos libres y alcoholes.^{26, 27}

Generalmente, en columnas comerciales, la fase estacionaria se presenta enlazada y entrecruzada para impedir su pérdida durante las operaciones de elución o lavado. De esta forma se obtiene una monocapa adherida químicamente a la superficie de la columna.²⁷

La reacción implicada suele ser la adición de un peróxido al líquido a fijar, iniciándose una reacción por radicales libres que tiene como resultado la formación de un enlace carbono-carbono que además incrementa su estabilidad térmica. Otra forma es la irradiación con rayos gamma.²⁷

Otro tipo de fase estacionaria son las quirales, la cual permite resolver mezclas enantioméricas. Este tipo de fases suelen ser aminoácidos quirales o algún derivado adaptado al trabajo en columna.^{27, 28}

El grosor de la película varía entre 0,1 y 5 μm ; el grosor depende de la volatilidad del analito. Así, un analito muy volátil requerirá una capa gruesa para aumentar el tiempo de interacción y separar más efectivamente los diferentes componentes de la mezcla.²⁸

Para columnas típicas (diámetros internos de 0,25 o 0,32 mm) se emplean grosores de 0,25 μm , y en las columnas macrocapilares el grosor sube hasta 1 μm . El grosor máximo suele ser de 8 μm .^{27, 28}

Dispositivo registrador

Las estaciones de datos reciben la señal de los detectores y calculan áreas de los picos y alturas máximas e imprimen el cromatograma completo con los parámetros de las corridas y los picos. Los datos cromatográficos pueden almacenarse y reprocesarse, con la capacidad de realizar cambios en la integración y otras variables de cálculo según sea necesario.^{27, 28}

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.^{27, 28}

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 siguientes términos son los que se encuentran dentro de un cromatograma con los cuales se puede interpretar un cromatograma:

- Base del pico
- Área del pico
- Altura del pico
- Ancho del pico
- Ancho del pico a mitad de la altura
- Pico cromatográfico

En el cromatograma se da la integración del inicio y fin del pico, al tener una buena integración los resultados son más reproducibles y se obtendrá una buena cuantificación.^{27, 28}

Aplicaciones

La CG tiene dos importantes campos de aplicación. Por una parte su capacidad para separar mezclas orgánicas complejas, compuestos organometálicos y sistemas bioquímicos. Su otra aplicación es como método para determinar cuantitativa y cualitativamente los componentes de la muestra. Para el análisis cualitativo se suele emplear el tiempo de retención, que es único para cada compuesto dadas algunas condiciones (mismo gas portador, rampa de temperatura y flujo), o el volumen de retención.^{29, 30}

En aplicaciones cuantitativas, integrando las áreas de cada compuesto o midiendo su altura, con los calibrados adecuados, se obtiene la concentración o cantidad presente de cada analito.³⁰

Otra forma de clasificar las aplicaciones en la cromatografía de gases es en áreas de interés:

- a) Comida, sabores y fragancias: Productos naturales y las feromonas, análisis de pesticidas.³⁰
- b) Petróleo y químicos: Ácidos grasos; combustibles sintéticos, carbón y aceites.³⁰
- c) Ambientales: Contaminantes de agua, aire y tierra; halometanos en el agua hasta dioxinas en suelo; análisis de pesticidas.³⁰
- d) Médicas y biológicas: Ácidos grasos; niveles de alcohol y drogas en la sangre; análisis de pesticidas.³⁰

9. Análisis de cabello por cromatografía de gases

Dentro de las metodologías empleadas para la determinación de morfina en cabello está la cromatografía de gases, de manera general, la muestra tiene que pasar por todo un proceso para la realización del análisis que va desde:

Recolección de la Muestra, La *Society Hair Testing*, ha realizado una serie de recomendaciones para el análisis del cabello en casos forenses, en el cual menciona que la muestra debe ser cortada de la región vértice posterior de la cabeza, lo más cercano al cuero cabelludo. Hay que hacer notar si es que el cabello ha sido sometido a algún tratamiento capilar (decoloración, teñido, etcétera) ya que esto podría interferir en el análisis. Con un mechón de aproximadamente 5 mm de diámetro y una longitud de 2 a 4 cm es suficiente para la realización del análisis.³¹

Eliminación de impurezas no deseadas, el cabello tiene que pasar por una proceso de lavado para eliminar residuos o impurezas (polvo, grasa, etcétera) que pudieran interferir en el análisis, lo cual se puede realizar con jabón neutro y enjuagar con agua destilada . o desionizada hasta eliminar el jabón que haya quedado, posteriormente se procede a secar.³¹

Extracción, para extraer la morfina del cabello se emplea una extracción sólido-líquido, ésta es favorecida en un medio alcalino ya que se incrementa la solubilidad de la morfina, el compuesto más usado es Hidróxido de Sodio (NaOH). Posteriormente, se realiza una extracción líquido-líquido para la cual existe una variedad de disolventes orgánicos que pueden ser empleados ya sean solos o combinados.³¹

Derivatización, el uso de compuestos derivados en cromatografía de gases es de suma importancia ya que permite mejorar el comportamiento fisicoquímico del compuesto a analizar.

Algunos de los compuestos más empleados para la derivatización son los siguientes:

- Hexametildisilano (HMDS)
- Trimetilclorosilano (TMCS)
- Anhídrido Pentafluoropropionico (PFPA)
- Anhídrido Trifluoroacético (TFA)
- N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA)

En algunos casos, no es necesaria la formación de un compuesto derivado, ya que la extracción con Hidróxido de Sodio proporciona una extracción satisfactoria.³¹

Análisis por cromatografía de gases

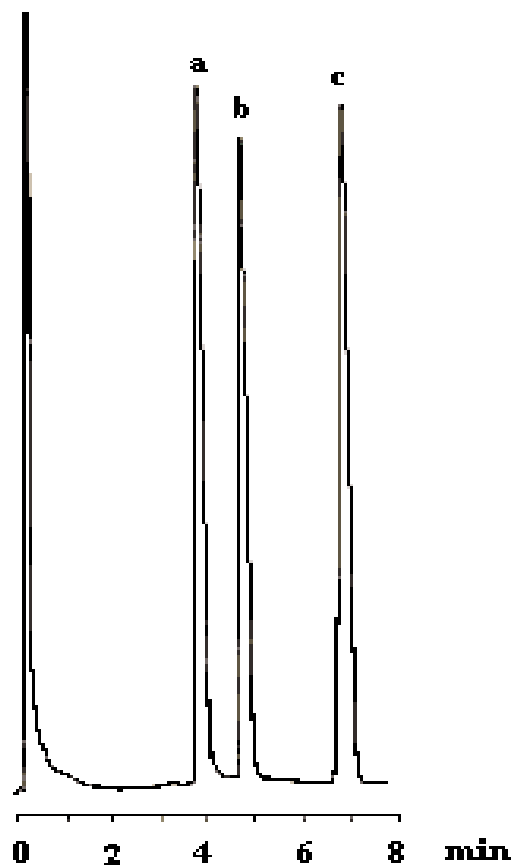
Para el análisis de morfina en cabello es necesario contar con una muestra tomada de la parte posterior del vértice de la cabeza, lo más cercano al cuero cabelludo de 10 a 50 mg como mínimo para después realizar el lavado y eliminar las impurezas presentes con agua, jabón neutro y algún disolvente orgánico como el diclorometano. La matriz pilosa es destruida con la digestión alcalina permitiendo “liberar” la morfina de esta matriz.

Posteriormente, la morfina se obtiene por medio de una extracción líquido-líquido de la fase acuosa con diclorometano. A la fase orgánica se le agrega ácido clorhídrico para formar el clorhidrato y se le elimina el disolvente en el rotavapor, al sólido obtenido se le coloca con el agente derivatizante (trimetilclorosilano) disuelto con diclorometano, la mezcla se calienta con agitación constante durante algunos minutos.

El compuesto derivatizado se disuelve en diclorometano para inyectarlo al cromatógrafo de gases, el volumen de inyección oscila entre 1 μL y 5 μL .

Una de las ventajas del análisis por cromatografía de gases, es el hecho de ser bastante rápido, ya que el tiempo de análisis es relativamente corto (14 a 19 minutos).^{31, 32} (figura 14).

Muestra de un cromatograma donde se pueden observar tres picos, los cuales corresponden a las siguientes muestras; a. Morfina, b. 6-Acilmorfina, c. Diacilmorfina.³³



**Figura 14. Cromatograma de morfina y dos derivados: 6-acilmorfina y diacilmorfina (heroína).
Identificación de los picos: a. Morfina, b. 6-Acilmorfina, c. Diacilmorfina.**

Discusión de resultados

La revisión bibliográfica de las distintas fuentes consultadas nos permitió darnos cuenta de la importancia que está tomando actualmente el análisis de pelo para drogas de abuso, pues el interés del químico forense para utilizar este método se basa en que el pelo puede demostrar la cantidad y tipo de droga que se administra o consume una persona.

El estudio de drogas en el pelo, es una técnica que hasta hace algún tiempo no se usaba en México, pero que ha ido tomando auge debido a la confiabilidad que arroja en sus resultados haciéndola una de las técnicas más novedosas usadas en la actualidad.

En cuanto a la cromatografía de gases, se sabe que es una de las técnicas de mayor uso en el análisis toxicológico forense, pues tiene un índice de eficacia muy alto.

Conclusiones

La importancia del pelo como elemento de estudio forense radica en su resistencia a la descomposición, manteniendo sus características intactas durante mucho tiempo, por lo que es una de las muestras biológicas que se conservan durante periodos largos haciendo posible su estudio, tales como la integración de drogas en el pelo por un consumo excesivo.

Un análisis de pelo por medio de la técnica de cromatografía de gases es una de las técnicas que se emplean con resultados confiables ya que nos va permitir saber la cantidad de morfina que se ha consumido o administrado en el cuerpo.

Por lo tanto, el uso de esta técnica nos da una opción útil y confiable en la detección de morfina en cabello en el análisis toxicológico forense.

REFERENCIAS

1. Mencias R. E., Mayero F L M., *Manual de Toxicología Básica*, Díaz de Santos. Madrid, **2000**.
2. Bello G. J., *Fundamento de Ciencia Toxicologica*. 2ª ed. Díaz de Santos. Madrid. **2002**.
3. Frederick P. Smith. *Handbook of Forensic Drug Analysis*, Elsevier Academic Press. Madrid. **2005**.
4. Wong R. C., Tse H. Y., *Drugs of Abuse Body Fluid Testing*. Department of Immunology and Microbiology, Wayne State University School of Medicine, Detroit. **2005**.
5. Jenkins A. J. *Drug Testing in Alternate Biological Specimens*. Humana Press, Totowa, New Jersey. **2008**.
6. Suzuki O., and Watanabe K. *Drugs and Poisons in Humans A Handbook of Practical Analysis*. Springer. Tokio. **2002**.
7. Mozayani A, Raymon L. P., *Handbook of Drug Interactions a Clinical and Forensic Guide*. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey. **2004**.
8. Mozayani A. and Noziglia C. *The Forensic Laboratory Handbook: Procedures and Practice*. Humana Press Inc., Totowa, New Jersey. **2006**.
9. Flores J, Araujo J. A. *Farmacología Humana*, 4a. ed, Elsevier Barcelona **2005**.
10. Gisbert C.J, Villanueva C. E., *Medicina Legal y Toxicologica*, Elsevier, Barcelona. **2005**.

11. Brizuela P. Sang F. R. Quiroz M. K M. *Curso de Medicina Legal*. Madrid **2002**.
12. Soto Vázquez M J. *Introducción a los Alcaloides*. Trujillo-Pisco. **2007**.
13. McMurry J, *Química Orgánica*, 6ª ed. Thomson, México. **2005**.
14. Shulguin, Alexander: *La Legalización de Ciertas Drogas Debería de ir Acompañada de Educación*, Muy Interesante, Año XVI, No. 2, México, **1999**.
- 15.- Säwe J, Dahlström B *Plantas Medicinales* 2ª. ed, Publicaciones Cultural S. A. **1994**.
16. Deedrick D. W., Hairs, Fibers, Crime, and Evidence *Forensic Sci. Commun*, Vol 2, **2000**. 1-20.
17. Siegel J., Knupfer G., Saukko P. *Encyclopedia of Forensic Sciences*, Vol.3 Set, 1-3. Elsevier. Barcelona. **2000**.
18. Kronstrand R., Drug Incorporation into Hair. *Analytical and Practical Aspects of Drug Testing in Hair*. CRC Press, **2007**. 1-23.
19. Cartmell L., Weems C., Chungará (Arica), *Overview of Hair Analysis*. A report of Hair Analysis from Dakhleh Oasis, Cairo. **2001**. Vol. 33, 289-292.
20. Kintz P. Value of Hair Analysis in Postmortem Toxicology *Forensic Sci. Int*: **2004**. 142: 127–134.
21. Skoog, D. A. y Leary, J. J. *Análisis Instrumental*, McGraw-Hill Madrid, **1994**.
22. Salas, M. *Manual de recolección de indicios*. Departamento de Publicaciones e Impresos, Poder Judicial, Costa Rica. **2004**.

23. Storch de G., J.M. *Fundamentos de la Cromatografía de Gases.*, 2ª ed. Manuales Uteha. México. **1994**.
24. Bogusz Maciej J. *Handbook of Analytical Separations – Vol. 2* Elsevier Science, Madrid. **2002**.
- 25.-Dyson N. Towards a Quantitative Definition Of Perfection in Chromatographic. *J. Anal. Chrom. A.* **2000**. 868: 305-312.
26. Storch de G. *Fundamentos de la Cromatografía de Gases.* 2ª ed. Serie Química. Colección Exedra. Alhambra. Barcelona. **1995**.
27. Rubinson, K. A., y Rubinson, J. F. *Análisis Instrumental*. Prentice Hall, Madrid. **2004**.
28. Sogorb S. M.A. V G. E *Técnicas Analíticas de Contaminantes Químicas: Aplicaciones Toxicológicas, Medio-Ambientales y Alimentarias*. Díaz de Santos. Madrid. **2004**.
29. Rouessac F. *Analisis Quimico*. McGraw-Hill. Madrid. **2003**.
30. Katime I. Katime O. y Katime D. *Cromatografía Líquida: Teoría y Aplicaciones*. Universidad de Guadalajara, México. **1998**.
31. These Areas were Addressed in a Previous Consensus from the Society of Hair Testing/Forensic Science International **1997**; 84: 3-6.
32. Skender, L., Karacic, V., Brcic, I., *Quantitative Determination of Amphetamines, Cocaine, and Opiates in Human Hair by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. *Forensic Sci. Int.* **2002**; 125: 120-126.
33. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. *Determinación de drogas de abuso*. **2006**; 40 (3): 347-82.