

DIVISIÓN DE ESTUPEFACIENTES
Viena

MÉTODOS RECOMENDADOS PARA EL ENSAYO DE COCAÍNA

MANUAL PARA USO
DE LABORATORIOS NACIONALES
DE ESTUPEFACIENTES



NACIONES UNIDAS
Nueva York, 1986

ST/NAR/7

INDICE

	<u>Página</u>
INTRODUCCION	1
I. DESCRIPCION DE LOS COMPUESTOS PUROS	4
II. PRODUCCION DE COCAINA ILICITA	6
III. ASPECTO FISICO Y CARACTERISTICAS QUIMICAS DE LA HOJA DE COCA Y MATERIALES ILICITOS QUE CONTIENEN COCAINA	8
A. Hoja de coca	8
B. Pasta de coca	8
C. Cocaína	8
IV. ANALISIS DE MATERIALES QUE CONTIENEN COCAINA	
A. Muestreo	10
1. Muestreo de productos contenidos en un solo paquete	10
2. Muestreo de productos contenidos en más de un paquete o envase	11
3. Muestreo de materiales que contengan partículas grandes	12
B. Análisis de la hoja de coca	13
1. Identificación física	13
2. Análisis químico de la hoja de coca (entera o pulverizada)	15
C. Análisis de la pasta de coca y de la cocaína	16
1. Ensayos presuntivos para determinar la cocaína	16
a) Ensayo del color	16
b) Ensayo del olor	17
c) Ensayo de microcristales	18
2. Ensayos para determinar la presencia de aniones asociados a la cocaína	19
a) Ensayos de solubilidad	19
b) Ensayos de precipitación	19
3. Cromatografía de capa delgada (CCD) de la cocaína ...	21
a) Técnica normal	21

INDICE (cont.)

	<u>Página</u>
4. Cromatografía de gas-líquido de la cocaína	26
a) Técnica de la columna de relleno	26
b) Técnica de la columna capilar	27
5. Cromatografía líquida de gran rendimiento (CLGR) para la determinación de la cocaína	29
6. Espectroscopia infrarroja de la cocaína	31
7. Análisis de enantiómeros de cocaína	33
a) Ensayo microcristalino para diferenciar enantiómeros de la cocaína	33
b) Métodos alternativos para diferenciar los enantiómeros de la cocaína	34

INTRODUCCION

Antecedentes

En los últimos años, se ha venido registrando un aumento considerable del número de sustancias sometidas a fiscalización internacional. Este aumento refleja una rápida diversificación de las drogas consumidas, y el consiguiente aumento de las medidas reguladoras supone a su vez un mayor número de sustancias fiscalizadas y mejores, pero asimismo más rigurosas, disposiciones legislativas y resoluciones judiciales nacionales. Al mismo tiempo, el volumen de drogas que ya estaban sometidas a fiscalización, como los opiáceos, la cocaína y la pasta de coca, los productos de cannabis, las anfetaminas y compuestos afines, también ha registrado en ciertas regiones un aumento alarmante y sin precedentes. Esta nueva situación, que entraña un aumento de la frecuencia y del volumen de los decomisos, constituye un desafío no sólo a los servicios de seguridad nacionales, sino también al personal técnico y científico de los laboratorios forenses.

Debido a la ingeniosidad de los productores y de los promotores ilegales, aparecen en el mercado ilícito, de modo imprevisto, nuevas drogas o combinaciones de drogas ilícitas, lo que hace necesarias una rápida y adecuada actuación, así como ingeniosidad, por parte de los químicos forenses. Análogamente, el mayor número de sustancias y de disposiciones legislativas con ellas relacionadas supone una presión adicional sobre los laboratorios forenses y de estupefacientes nacionales, así como sobre su personal. Los analistas han de ser capaces de ocuparse de más sustancias y preparados y de utilizar métodos de identificación y de análisis más rápidos, más específicos y de mayor precisión. Además, dado el carácter internacional del tráfico de drogas, es necesario que los laboratorios y los servicios de seguridad puedan intercambiarse rápidamente datos analíticos tanto a nivel nacional como a nivel internacional. El desarrollo de métodos de ensayo internacionalmente aceptables contribuiría considerablemente al logro de esos objetivos, posibilidad que se viene considerando desde hace algún tiempo.

En su octavo período extraordinario de sesiones, celebrado en febrero de 1984, la Comisión de Estupefacientes pidió al Secretario General "que estudie la posibilidad de llegar a un acuerdo en los planos regional e interregional sobre métodos recomendados de análisis de drogas decomisadas del tráfico ilícito". La Comisión opinó que un examen más profundo y una armonización de la gran variedad de métodos analíticos utilizados a nivel nacional no sólo facilitarían la tarea del personal de instituciones nacionales, sino también el intercambio de información a los niveles regional e interregional.

Finalidad del manual

Atendiendo a la petición de la Comisión, y por invitación de la República Federal de Alemania, la División de Estupefacientes celebró en Wiesbaden, en octubre de 1985, una reunión a la que asistieron 15 expertos. El presente manual, preparado por la División de Estupefacientes de las Naciones Unidas, refleja las conclusiones del grupo de expertos y tiene por objeto proporcionar asistencia práctica a

las autoridades nacionales describiendo a tal fin métodos recomendados a los laboratorios forenses para la identificación y el análisis de productos de coca ilícitos. El manual también puede servir de guía a las autoridades nacionales para evaluar los métodos actualmente utilizados en los laboratorios estatales y de las universidades. Este manual es el segundo de una serie de publicaciones afines que tratan de la identificación y del análisis de diversos grupos de drogas sometidas a fiscalización internacional; le ha precedido un manual sobre análisis de la heroína (ST/NAR/6), e irá seguido de una publicación análoga que tratará del análisis de productos de cannabis ilícita.

Estos manuales sugieren métodos que pueden ayudar al analista forense a elegir una técnica apropiada a la muestra que vaya a examinar. El analista podrá seguir cualquiera de los métodos descritos en el manual, pues cada método permitirá obtener información analítica fiable con respecto a las muestras a que se aplique. Cada método viene siendo utilizado desde hace varios años por laboratorios forenses conocidos y ha sido publicado en la literatura científica. Al identificar estos métodos, el grupo de expertos reconoció sin embargo que existen muchos otros métodos eficaces y aceptables que permiten al analista forense efectuar análisis útiles y obtener información interesante; también reconoció que en la literatura científica forense figuran otras varias opciones aceptables.

Utilización del manual

Pocos métodos son perfectos, sobre todo en el análisis forense de drogas, en que los materiales objeto de examen pueden variar de manera importante en cuanto a su forma física y a su composición química. La elección de la metodología y del enfoque para efectuar los análisis sigue dependiendo del analista que trabaja en su propio país. Únicamente el analista ha visto el material sospechoso y es el que está en mejores condiciones de conocer el enfoque correcto del problema planteado. Por otro lado, la elección de los métodos puede que dependa necesariamente de la disponibilidad de materiales de referencia y de instrumentos.

No es necesario aplicar todos los métodos indicados a todas las muestras sospechosas de contener cocaína. Los requisitos pueden variar, por ejemplo, como resultado de las tendencias locales en cuanto a las muestras obtenidas, los servicios e instalaciones disponibles, y el patrón de prueba aceptable en el sistema de enjuiciamiento en el que el analista realiza su labor. Los métodos más complejos sólo son necesarios para ciertos requisitos forenses, como la comparación de muestras o el desarrollo de una tipología.

A fin de establecer la identidad de cualquier droga sometida a fiscalización, se sugiere que los criterios a emplear sean como mínimo dos parámetros analíticos independientes. En cualquier caso concreto, al seleccionar esos parámetros deberá tenerse en cuenta la droga en cuestión y los recursos de laboratorio de que disponga el analista. Por ejemplo, dos sistemas no correlacionados de cromatografía de capa delgada (CCD) contarían como dos parámetros. En este contexto, sistemas no correlacionados de CCD significa que los sistemas disolventes o el revestimiento de las placas son completamente distintos. Siempre que sea posible, deben utilizarse tres técnicas analíticas completamente

distintas; por ejemplo: ensayo del color, cromatografía de capa delgada (CCD), de gas-líquido (CGL) o cromatografía líquida de gran rendimiento (CLGR), y espectroscopia infrarroja (IR) o ultravioleta (UV). La elección de los parámetros se deja, en realidad, a la discreción del químico.

También se subraya la importancia vital de disponer de libros de texto sobre drogas objeto de uso indebido y técnicas analíticas. Por otro lado, el analista debe estar continuamente al corriente de las tendencias en el campo del análisis, y leer asiduamente publicaciones actuales sobre la ciencia forense y analítica. A tal fin, conviene tener en cuenta el Diccionario Multilingüe de los estupefacientes y de las sustancias sicotrópicas sometidos a fiscalización internacional (ST/NAR/1), instrumento de vital importancia para los laboratorios forenses, así como el Manual sobre necesidades de personal calificado y de equipo básico para los laboratorios de estupefacientes (ST/NAR/2), publicados ambos por la División de Estupefacientes. Esta última publicación contiene referencias bibliográficas, así como una selección de revistas muy conocidas en este campo.

Una estrecha relación con los servicios de seguridad y las autoridades judiciales nacionales, así como entre los laboratorios nacionales de estupefacientes y los que funcionan a nivel regional, puede permitir un mayor conocimiento de las últimas tendencias en cuanto a la presentación de drogas, el tráfico ilícito, las técnicas de contrabando y la preparación de pruebas para su presentación a los tribunales. Estos, a su vez, deberán ofrecer un mayor número de opciones en cuanto a técnicas analíticas para su aplicación a las últimas muestras presentadas.

Es igualmente importante que toda información que se obtenga sobre cambios operados en las drogas objeto de tráfico ilícito sea rápidamente difundida. A menudo, puede que esto haya que hacerlo antes de la publicación de esos cambios en publicaciones periódicas especializadas en análisis forenses y otros análisis químicos, habida cuenta de que la comunidad forense sólo dispone de esas publicaciones unos dos o tres años después de haberse conocido tales cambios. Nunca se insistirá demasiado en la importancia que tiene el publicar con frecuencia informes nacionales sobre los últimos cambios registrados en materia de drogas y sobre la labor que se esté realizando, y los resultados analíticos obtenidos, en los distintos laboratorios.

La División de Estupefacientes está a disposición del lector para cualquier observación que desee hacer sobre el contenido y la utilidad del presente manual. Los comentarios y sugerencias deberán enviarse a:

División de Estupefacientes
Oficina de las Naciones Unidas en Viena
Centro Internacional de Viena
P.O. Box 500
A-1400 Viena, Austria

I. DESCRIPCION DE LOS COMPUESTOS PUROS

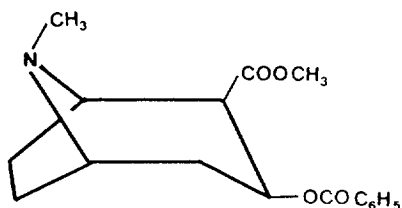
COCAINA

l-cocaína
betacocaína
Metilbenzoilecgonina
Benzoilmetilecgonina

Puntos de fusión (°C)

<u>Base</u>	<u>Clorhidrato</u>
98	157 (200-202)

Solubilidades (lg/ml)



	<u>Base</u>	<u>Clorhidrato</u>
Agua	1300	0,5
Etanol	7	4,5
Eter dietílico	4	Casi insoluble
Cloroformo	0,5	18

C₁₇H₂₁NO₄
Peso molecular = 303,4

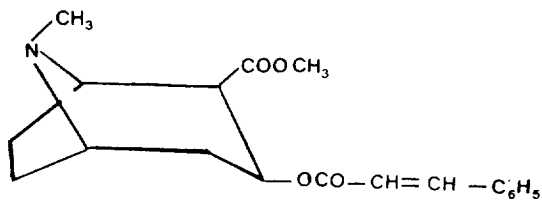
CINAMOILCOCAINA

Cinamoilmetilecgonina
Cinamilcocaína
Metilbenzoilecgonina
Benzoilmetilecgonina

Puntos de fusión (°C)

<u>Base</u>	<u>Clorhidrato</u>
121	

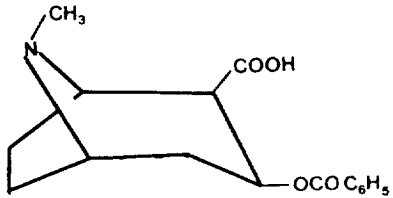
Solubilidades (lg/ml)



	<u>Base</u>	<u>Clorhidrato</u>
Agua	casi insoluble	soluble
Etanol	soluble	soluble
Eter dietílico	soluble	soluble
Cloroformo	soluble	ligeramente

C₁₉H₂₃NO₄
Peso molecular = 329,4

BENZOLECGONINA
Ester benzófico de
la ecgonina



$C_{16}H_{19}NO_4$
Peso molecular = 289,34

Puntos de fusión (°C)

Base Clorhidrato

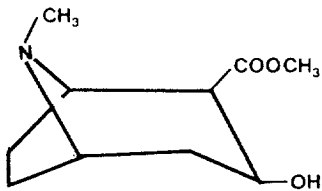
195 (anhidro) (dec.) 200
86-92 (tetrahidrato)

Solubilidades (lg/ml)

Base Clorhidrato

Agua (hirviente) soluble soluble
Etanol soluble soluble

METILECGONINA
Ester metílico de
la ecgonina



$C_{10}H_{17}NO_3$
Peso molecular = 199,3

Puntos de fusión (°C)

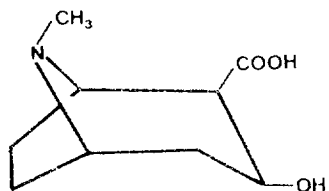
Base Clorhidrato

aceite 215

Solubilidades (lg/ml)

Base Clorhidrato

ECCONINA



Puntos de fusión (°C)

<u>Base</u>	<u>Clorhidrato</u>
198 (205)	241 (240-275)

Solubilidades (lg/ml)

	<u>Base</u>	<u>Clorhidrato</u>
Agua	5	soluble
Etanol	67	ligeramente
Metanol	20	soluble
Acetato de etilo	75	

$C_9H_{15}NO_3$
Peso molecular = 185,22

Para más detalles en relación con las sustancias, véase el "Diccionario multilingüe de los estupefacientes y de las sustancias sicotrópicas sometidos a fiscalización internacional" (SI/NAR/1), así como al ampliamente utilizado Índice de Merck.

II. PRODUCCION DE COCAINA ILICITA

Los detalles que aquí se proporcionan se refieren a uno de los métodos de producción de cocaína ilícita, que puede obtenerse de varias maneras. En la producción ilícita, cabe esperar variaciones en cuanto a técnicas, reactivos y cantidades. Sin embargo, no sería irrazonable suponer que el método general es análogo al que a continuación se indica.

1. Las hojas de coca se mezclan con agua y con un material tal como la cal, a fin de producir una reacción alcalina en la pasta resultante. La mezcla se tritura, se agrega queroseno (o un hidrocarburo equivalente) y se remueve.
2. Se separa el queroseno y se desecha la hoja de coca tras habersele extraído el alcaloide. Con el queroseno se reparte o distribuye agua acidulada, extrayéndose los alcaloides de la capa acuosa. Si se desea obtener pasta de coca, el agua se alcaliniza con cal, amoníaco, o un equivalente, que precipite los alcaloides más básicos. El precipitado, que a menudo contiene sales inorgánicas mixtas y cocaína bruta, se separa y se seca. El resultado es la pasta de coca.
3. Para producir clorhidrato de cocaína, la pasta de coca se disuelve en ácido sulfúrico diluido. En esta fase puede añadirse permanganato potásico hasta que la solución adquiera un color rosado. El permanganato potásico se añade para destruir los isómeros de cinamoilcocaína presentes como impureza en la cocaína. La solución se deja reposar y posteriormente se filtra. El filtrado se basifica con amoníaco, precipitando cocaína base y otros alcaloides. El precipitado se filtra, se lava con agua y se seca.
4. La cocaína base bruta se disuelve en éter dietílico. Se filtra la solución y se agregan ácido clorhídrico concentrado y acetona. El clorhidrato de cocaína precipitado se filtra y se seca.

III. ASPECTO FISICO Y CARACTERISTICAS QUIMICAS DE LA HOJA DE COCA Y MATERIALES ILICITOS QUE CONTIENEN COCAINA

Conviene señalar que no existen dos muestras de hoja de coca, de pasta de coca o de clorhidrato de cocaína que tengan exactamente el mismo aspecto físico.

A. Hoja de coca

Las hojas de coca tienen cierto parecido con las del Laurus nobilis. Diferentes especies Erythroxylon producen hojas de distintos tamaños y aspectos. En todas las especies, la cara superior de la hoja es más oscura que la cara inferior, que puede ser de color gris verdoso. En la cara inferior de la hoja se aprecian dos líneas paralelas al nervio central, y que se consideran características de la hoja de coca.

Las hojas de Erythroxylon coca Lam. son característicamente grandes y gruesas, en forma de ancha elipse, más o menos puntiagudas en el ápice y de color verde oscuro. Las hojas de Erythroxylon novogranatense (Morris) Hieron son más pequeñas, más estrechas, más delgadas y redondeadas en el ápice. Son de color amarillo verdoso brillante. Las hojas de Erythroxylon novogranatense var. truxillense (Rusby) Plowman son incluso más pequeñas y más estrechas. Sin embargo, son más gruesas que los otros tipos y tienen un vivo color verde.

B. Pasta de coca

Polvo de color blanco mate, cremoso o pajizo. Raramente fino, suele contener agregados y es generalmente húmedo. A menos que los agregados sean cristalinos (lo que es raro), suelen disgregarse bajo una ligera presión. Tiene un olor característico.

C. Cocaína

Aunque fabricada a partir de un producto natural un tanto variable, por un proceso discontinuo susceptible de amplias variaciones, la cocaína varía relativamente poco si se la compara, por ejemplo, con los productos de heroína. Sin embargo, no existen dos muestras ilícitas de cocaína que sean exactamente idénticas. En su mayor parte, es un polvo blanco o blanco mate a menudo fino y raramente húmedo. Tiene un olor característico.

Su adulteración es relativamente rara (pero no desconocida) en los países en desarrollo y es objeto de tráfico internacional con una pureza que llega a ser a menudo del 80 al 90% (como el clorhidrato de cocaína). Su ulterior adulteración y transformación con fines de tráfico en los países económicamente desarrollados entraña la adición de algún anestésico sintético local no fiscalizado (por ejemplo, lidocaína, procaína o benzocaína), o un carbohidrato (por ejemplo, manitol, lactosa o glucosa). En cualquier caso, el aspecto físico sólo se modifica ligeramente, pues virtualmente todos los adulterantes son también polvos blancos finos y secos.

La pureza típica de la cocaína objeto de tráfico en los países económicamente desarrollados es de aproximadamente el 30%; el material objeto de tráfico a nivel internacional es adulterado con un diluyente cuyo peso viene a ser tres veces superior.

Ocasionalmente, la cocaína se presenta en forma de grandes cristales a veces incoloros ("cocaína de roca"), que pueden ser muy duros. De ordinario, algunas de tales muestras, si no la mayor parte, son de un material análogo a la cocaína en polvo o corriente.

Si el material sometido a examen forense no tiene ninguna relación física con la descripción que aquí se hace, eso no significa, desde luego, que no sea cocaína o un producto que la contenga.

IV. ANALISIS DE MATERIALES QUE CONTIENEN COCAINA

A. Muestreo

La principal razón del muestreo es efectuar un análisis químico correcto y útil. Debido a que la mayoría de los métodos -cualitativos y cuantitativos- utilizados en laboratorios forenses para el examen de drogas requieren proporciones alícuotas de material muy pequeñas, es de vital importancia que esas pequeñas proporciones alícuotas sean enteramente representativas de la masa de que hayan sido extraídas. El muestreo debe realizarse con arreglo a los principios de la química analítica expuestos, por ejemplo, en las farmacopeas nacionales o establecidos por organizaciones tales como la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales.

Puede haber casos en que, por razones legales, las reglas normales de muestreo y de homogeneización no puedan observarse si, por ejemplo, el analista desea conservar parte de una muestra como prueba visual. Por otro lado, puede que sea necesario realizar ensayos separados de dos productos pulverulentos, en lugar de combinar los polvos antes de efectuar un solo ensayo de la mezcla, porque cada uno de ellos haya sido separadamente presentado por el oficial que haya efectuado el decomiso, y el régimen jurídico en que se desenvuelva la labor del analista requiera resultados individuales de cada material a presentar ante los tribunales.

A fines de ahorrar recursos y tiempo valiosos, los analistas forenses deben tratar de utilizar, siempre que sea posible, un sistema de muestreo aprobado para reducir así el número de determinaciones cuantitativas necesarias. Con objeto de facilitar ese método, el analista forense puede que precise discutir determinados casos tanto con los oficiales que hayan efectuado el decomiso como con el personal de los servicios jurídicos con quien trabaje.

En la mayoría de los casos, la cocaína se presenta en forma de polvo fino, aunque algunas presentaciones contienen agregados que pueden ser duros o blandos. Los agregados pueden ser de cualquier tamaño. En los decomisos de cocaína se observa que unas veces el material va en un solo envase o paquete, y otras distribuido entre varios.

1. Muestreo de productos contenidos en un solo paquete

Cuando el muestreo resulta más sencillo es en aquellos casos en que el material va en un solo paquete (en el caso de la cocaína, lo más normal es que ésta sea en polvo). El producto debe sacarse de su envase o envoltura y colocarse en una bolsa limpia de plástico transparente, registrándose su peso neto. El producto debe homogeneizarse perfectamente antes de someterlo a los correspondientes ensayos químicos, aunque en esta fase pueden efectuarse ensayos presuntivos si se considera que el muestreo o el proceso de homogeneización llevará tiempo y existen dudas respecto de la identidad del producto. La forma más simple de homogeneizar un polvo es agitarlo bien en la bolsa de plástico transparente. Si el polvo contiene agregados, éstos pueden disgregarse haciéndolos pasar por tamices de mallas cada vez más finas, o triturándolos en un mortero con un pistilo, o bien mediante el empleo de una máquina batidora o elaboradora de alimentos de las que se encuentran en el comercio debidamente adaptada.

También puede aplicarse la técnica de cuarteo por amontonamiento, para lo cual se mezcla el producto de muestra agitándolo o removiéndolo. Si es necesario, los fragmentos grandes se reducen y el material se vierte a continuación sobre una superficie plana hasta formar un cono. El "cono" se aplasta y el material se divide en ángulos rectos, formando cuartas partes. Las cuartas partes opuestas se toman como muestra, y el resto del material se devuelve al receptáculo de que fue sacado. Si se desea efectuar otro cuarteo por amontonamiento para reducir el tamaño de la muestra, se procede a una mayor reducción del tamaño de las partículas, se mezcla perfectamente el material, se vierte sobre una superficie plana y se vuelve a dividir como antes.

2. Muestreo de productos contenidos en más de un paquete o envase

El analista debe examinar visualmente el contenido de todos los envases, y, a ser posible, efectuar un simple ensayo del color, o cromatografía de capa delgada, para determinar lo siguiente:

1. Si todos los paquetes contienen cocaína o material que contenga cocaína, y/o
2. Si uno o más paquetes contiene material diferente al de la mayoría de los paquetes. El indicador más sencillo es el aspecto físico del polvo. Si el contenido de uno o más paquetes difiere claramente, deberán separarse y someterse a análisis individuales.

Con el producto contenido en varios envases o paquetes se procede de la siguiente manera:

- a) Si hay menos de 10 paquetes, todos ellos deberán someterse a muestreo.
- b) Si hay entre 10 y 100 paquetes, deberán seleccionarse al azar 10 de ellos.
- c) Si hay más de 100 paquetes, deberá seleccionarse al azar un número de ellos igual a la raíz cuadrada del número total de paquetes redondeado al número entero inmediato superior.

Si todos los polvos son iguales, deberá entonces procederse a combinar el contenido de varios paquetes; el material a granel combinado puede homogeneizarse entonces en, por ejemplo, una procesadora de alimentos de las que se encuentran en el comercio debidamente adaptada. Por otro lado, el material a granel también puede someterse al procedimiento de cuarteo por amontonamiento.

Quando se identifiquen diferentes tipos de material en diversos paquetes, con cada subgrupo deberá procederse de manera idéntica a la anteriormente indicada.

En los métodos cuantitativos, los errores de muestreo se reducen si grandes partes alícuotas del material se someten a dilución secuencial mediante el disolvente. Este método puede adoptarse si el tamaño de la muestra total es grande. Sin embargo, cuando se utilicen grandes

cantidades de material para la primera disolución, puede que sea necesario agregar el disolvente mediante una pipeta, a fin de evitar errores debidos a los materiales insolubles. Será raro encontrar grandes cantidades de materiales insolubles en las muestras de cocaína decomisada en los países económicamente en desarrollo o en los puntos de importación de los países económicamente desarrollados. Sin embargo, los adulterantes insolubles pueden presentarse con frecuencia en las muestras aprehendidas en la calle en los países desarrollados.

3. Muestreo de materiales que contengan partículas grandes

Si las partículas pueden reducirse a polvo fácilmente, deberá utilizarse este método y el procedimiento del muestreo antes indicado. La reducción a polvo puede efectuarse triturando las partículas en un mortero con un pistilo, mediante una máquina batidora/elaboradora de alimentos, o bien mediante una trituradora industrial. Si el material no puede disgregarse fácilmente, deberán extraerse entonces partículas de tamaños aleatorios de por lo menos tres partes diferentes del producto. Debe reunirse como mínimo 1 gramo del producto, utilizando para ello una balanza de precisión, y someterlo a análisis.

B. Análisis de la hoja de coca

La hoja de coca, por ser un producto vegetal, requiere un método analítico diferente al utilizado con el material al que ya se le ha extraído el alcaloide, ya sea pasta de coca impura o la cocaína más pura. Los métodos de muestreo pueden utilizarse con la hoja de coca decomisada, siempre que el analista varíe el procedimiento de muestreo teniendo en cuenta la diferente constitución física del material en hojas en comparación con el producto en polvo. La metodología de muestreo y los métodos analíticos descritos son igualmente aplicables, con una pequeña modificación, a la pasta de coca o a la cocaína.

El tráfico de la hoja de coca es raro (pero no desconocido) fuera de los países del mundo en desarrollo en que la coca se cultiva. Por ello, esta sección se ha incluido en el presente manual para ayudar al analista en aquellas raras ocasiones en que se vea obligado a ocuparse de este material.

La identificación de la hoja de coca entera y de los polvos de hoja de coca debe efectuarse mediante un proceso doble: botánico y químico. Lo ideal sería que el analista estuviera capacitado en botánica y en química y dispusiera de material de referencia estándar para ambas técnicas.

1. Identificación física

1. Hoja de coca entera

Este material se describió en la página 8. Para el ensayo de identificación o confirmación debe utilizarse la microscopia.

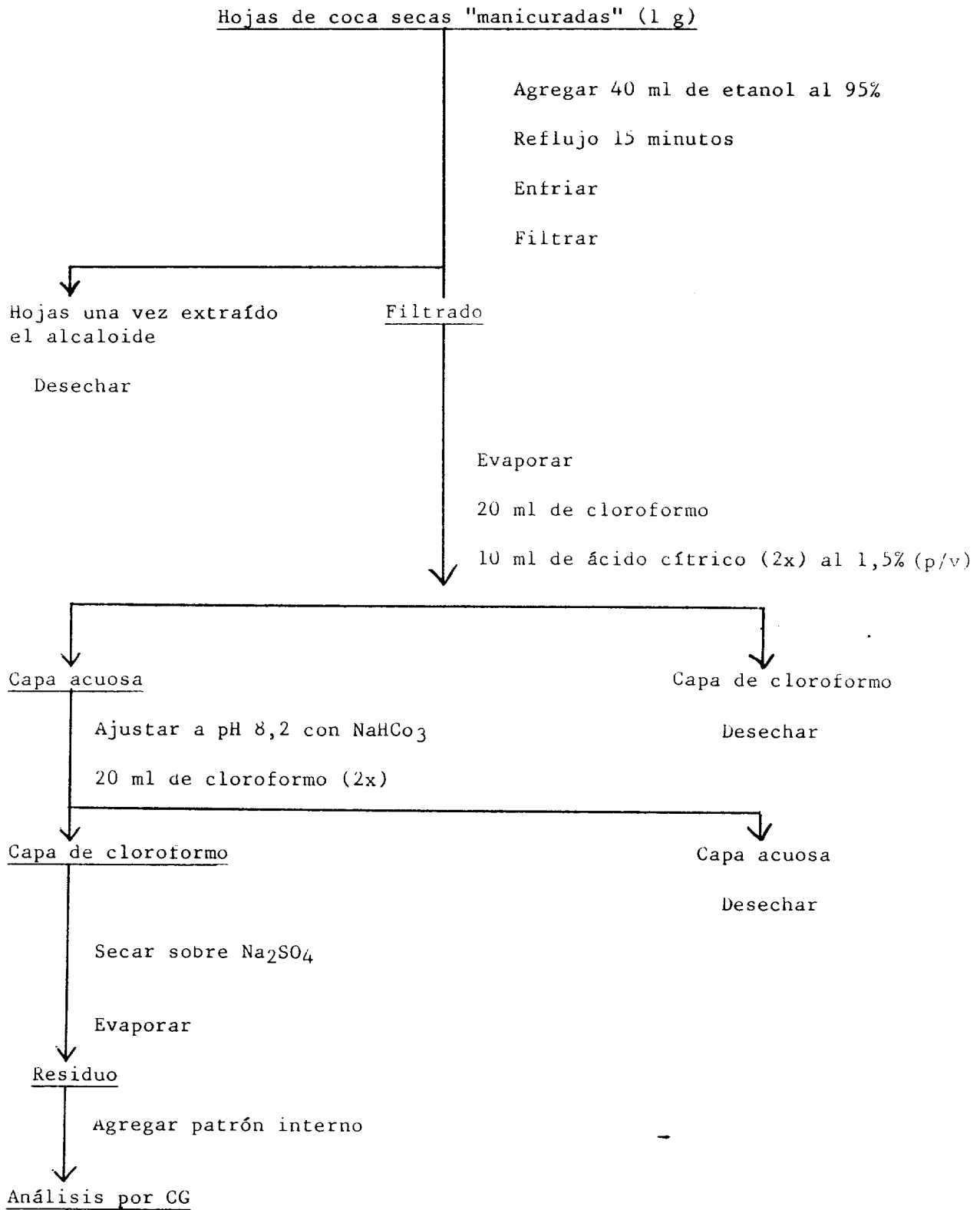
2. Polvo de hoja de coca

Este puede identificarse mediante la microscopia. Los libros de texto clásicos que se ocupan de las drogas vegetales en polvo contienen una sección dedicada a la hoja de coca (por ejemplo, "Powdered Vegetable Drugs", Jackson, B.P. y Snowden, D.W., Churchill, Londres, 1968, pág. 44).

2. Análisis químico de la hoja de coca (entera o pulverizada)

Una breve inmersión en etanol hirviente permite la eficaz extracción de alcaloides del tipo ecgonina y reduce al mínimo la disgregación de la cocaína. La extracción con metanol caliente también ha resultado eficaz.

Todo procedimiento sistemático de extracción cuantitativa debe seguir el esquema ilustrado a continuación (tomado del "Journal of Ethnopharmacology", 3 (1981), págs. 293-8).



Si la extracción cuantitativa de los alcaloides no es necesaria, puede que sea suficiente una breve extracción a la temperatura ambiente. Las hojas (preferiblemente cortadas o pulverizadas) pueden triturarse con etanol o metanol en un mortero.

El extracto alcohólico se somete a CCD para un análisis cualitativo de la hoja de coca, o (si se ha procedido a la extracción cuantitativa) puede someterse a CG o a CLGR, a fin de estimar el contenido en cocaína de la hoja.

C. Análisis de la pasta de coca y de la cocaína

1. Ensayos presuntivos para determinar la cocaína

a) Ensayo del color

Hay que subrayar que, en los ensayos del color, los resultados positivos sólo son indicios presuntivos de la posible presencia de cocaína. En los ensayos del color para determinar la cocaína se obtienen frecuentemente resultados positivos falsos. Muchos otros materiales, a menudo inocuos y no sometidos a fiscalización con arreglo a las distintas legislaciones nacionales o a tratados internacionales, pueden dar colores análogos con los reactivos del ensayo. Cierta número de éstos son o bien drogas sujetas a fiscalización, y que suelen presentarse en forma de polvo blanco (por ejemplo, la metacualona), o bien los anestésicos sintéticos locales con que frecuentemente se sustituye a la cocaína en el tráfico ilícito. Los analistas deben confirmar tales resultados mediante el empleo de otra u otras técnicas.

Todos los reactivos que vayan a utilizarse en el ensayo del color deberán analizarse cuidadosamente para comprobar que no se han descompuesto. Los reactivos que hayan experimentado un cambio de color pueden inducir a conclusiones erróneas respecto de la naturaleza de la sustancia objeto de ensayo.

El ensayo del color que a continuación se describe es conocido como ensayo de Scott:

REACTIVOS

Solución 1. 2% de tiocianato de cobalto $-\text{Co}(\text{CNS})_2-$ disuelto en agua y luego diluido en 1:1 con 96% de glicerina (calidad farmacéutica).

Solución 2. Acido clorhídrico (concentrado).

Solución 3. Cloroformo.

METODO

La cantidad del material objeto de ensayo no debe exceder de la suficiente para cubrir la punta de una microespátula.

ETAPA 1 El material a ensayar se coloca en un tubo de ensayo, se agregan 5 gotas de la solución 1 y se agita la mezcla. Si el material contiene cocaína, inmediatamente adquirirá un color azulado. Si no ocurre así, deberá añadirse más material de ensayo. Si éste no se pone azul, la muestra no contiene cocaína.

- ETAPA 2 Agréguese una gota de la solución 2 y agítese. El color azul desaparecerá y la solución deberá adquirir un color rosado. Si todo el color azul no desaparece, agréguese una segunda gota (no más) de la solución 2.
- ETAPA 3 Añádanse varias gotas de la solución 3 (cloroformo) y agítese. La capa de cloroformo adquirirá un color azul intenso si contiene cocaína.

RESULTADOS

La fenciclidina, la dibucaína, la butacaína y el metapirileno, que dan el mismo color que la cocaína en la ETAPA 1, se distinguen, todos ellos, de la cocaína de la ETAPA 3, en que únicamente la cocaína confiere el color azul a la capa de cloroformo.

Notas

1. Las cantidades utilizadas de las soluciones 1 y 3 no tienen importancia crítica. Si la tiene, en cambio, la relación entre la solución 1 y la solución 2. Si se agrega a la solución 1 una cantidad excesiva de ácido clorhídrico una vez desarrollado el color azul con la cocaína, la solución resultante será azul en lugar de rosada; este color azul no pasará por extracción a la capa de cloroformo. Si se utiliza en la ETAPA 1 una cantidad excesiva de cocaína, será necesario a veces agregar 2 gotas (no más) de ácido clorhídrico.
2. El ensayo se efectúa con muestras que sólo contienen un 1% de cocaína.
3. Se ha comprobado que la durabilidad de la solución 1 es como mínimo de 6 meses.

b) Ensayo del olor

La advertencia que se ha hecho en cuanto a los ensayos del color se aplica igualmente al ensayo del olor para determinar la existencia de cocaína.

REACTIVO

Sodio metanólico o hidróxido potásico (1 g de potasio o de hidróxido sódico disuelto en 20 ml de metanol).

METODO

El material seco de ensayo se humedece completamente con el reactivo y, después de dejar que se evapore el alcohol en exceso, el olor característico de la muestra se compara con el olor de la cocaína normal.

Notas

1. Se ensayaron más de un centenar de drogas para determinar posibles interferencias, y únicamente la piperocaína (también un éster de benzoato) dio un resultado positivo. Ciertas aminas, como las anfetaminas, despiden un "ligero olor a pescado".
2. La sensibilidad es mayor que la de los ensayos sobre el terreno que actualmente se efectúan, como, por ejemplo, el ensayo de Scott.
3. La muestra y el reactivo deben mantenerse libres de agua, pues ésta interfiere con la reacción.
4. Lo ideal sería que el ensayo se efectuase concomitantemente con un ensayo de material de cocaína normal y se comparasen los olores.

c) Ensayo de microcristales

Las advertencias que se han hecho con respecto al ensayo del color y del olor se aplican igualmente al ensayo de microcristales.

ENSAYO CON CLORURO DE PLATINO

REACTIVO

1 g de cloruro platínico se disuelve en 20 ml de agua.

METODO

En el portaobjetos de un microscopio, se colocan aproximadamente 2 mg de la muestra y se disuelven en una gota de 1N ácido clorhídrico, y se agrega una gota del reactivo. Los cristales resultantes deben examinarse con un aumento microscópico de alrededor de 100. La cocaína normal debe analizarse simultáneamente. Para obtener resultados óptimos, puede variarse la dilución del material de ensayo o el ácido clorhídrico.

2. Ensayos para determinar la presencia de aniones asociados a la cocaína

a) Ensayos de solubilidad

METODO

1. Disúelvase una parte (aproximadamente 1 gramo) del polvo o del material en aproximadamente 5 ml de agua destilada o desionizada. Para pequeños decomisos, deberá utilizarse 0,1 g con 0,5 ml de agua.
2. Disúelvase una parte (aproximadamente 1 gramo) del polvo o material en aproximadamente 5 ml de etanol. Para pequeños decomisos, debe emplearse 0,1 g con 0,5 ml de etanol. Esto revelará la presencia de cualquier sustancia insoluble en etanol; los carbohidratos, por ejemplo, son poco solubles en etanol.

Nota

Este ensayo es sumamente útil cuando el tamaño de la muestra es grande y puede utilizarse por ello una considerable cantidad de polvo sin reducir de manera importante la cantidad total a presentar ante los tribunales. Puede utilizarse con pequeños decomisos reduciendo la cantidad del material de ensayo y de disolvente.

b) Ensayos de precipitación

REACTIVOS:

1. Acido nítrico: concentrado (contiene un 70% en p/p de HNO_3)
2. Acido clorhídrico: concentrado (contiene entre un 35 y un 38% en p/w de HCl)
3. Solución de amoníaco diluido: contiene aproximadamente un 10% en p/p de NH_3 , y se obtiene por dilución de una solución de amoníaco concentrado (375 ml a 1 litro de agua)
4. Solución de nitrato de plata: una solución, en agua, del 5,0% en p/v de nitrato de plata
5. Solución de cloruro bórico: una solución, en agua, del 10,0% en p/v de cloruro bórico

RESULTADOS

Cloruros

Las soluciones de cloruros, cuando son tratadas con una solución de nitrato de plata dan un precipitado blanco y de aspecto coaguloso que es insoluble en ácido nítrico pero soluble, una vez bien lavado con agua, en una solución de amoníaco diluido, de la que vuelve a precipitarse mediante la adición de ácido nítrico.

SULFATOS

Las soluciones de sulfatos, cuando se tratan con una solución de cloruro bórico dan un precipitado blanco que es insoluble en ácido clorhídrico.

Los productos de cocaína ilícita solubles en agua se encuentran invariablemente en forma de sal de cloruro; la existencia de cualquier otro anión es sumamente rara, aunque se ha encontrado sulfato. Este ensayo debe confirmarse, a ser posible, mediante espectroscopia infrarroja y/o métodos de difracción de rayos X.

En la mayoría de las muestras de cocaína sospechosa, lo normal es que el polvo o material se disuelva por completo en etanol. La formación de cristales incoloros insolubles es indicio de que la cocaína ha sido probablemente adulterada ("cortada") mediante un carbonhidrato, como, por ejemplo, la lactosa. El material insoluble puede filtrarse, secarse y someterse a otro ensayo, como puede ser por ejemplo el de espectroscopia infrarroja. La cantidad de material insoluble puede dar una idea aproximada del grado en que la cocaína ha sido adulterada, pero conviene señalar que todos los carbohidratos son solubles, en diversos grados, en etanol.

3. Cromatografía de capa delgada (CCD) de la cocaína

a) Técnica normal

Revestimiento: Gel de sílice activado (G) sobre placas con respaldo de vidrio; el revestimiento contiene un aditivo fluorescente que fluoresce a 254 nm.

Espesor de la capa: 0,25 mm.

Las placas deben guardarse en un ambiente seco, sobre gel de sílice azul y dentro de un desecador, y deben protegerse contra vapores químicos. La activación de placas antes de su empleo debe efectuarse a 110°C durante un mínimo de 30 minutos.

Tamaño de la placa: 20 x 20 cm; 20 x 10 cm; 10 x 5 cm; la elección dependerá del número de muestras a desarrollar simultáneamente.

Punto de partida del recorrido = inicial del recorrido de la mancha: 1 cm desde la base de la placa.

Espesor del disolvente de desarrollo en el depósito de CCD: No más de 0,5 cm y no menos de 0,3 cm.

Distancia entre aplicaciones (lugares iniciales del recorrido de la mancha): Normalmente 1 cm, y nunca menos de 0,8 cm. A fin de evitar "efectos secundarios", las manchas deberán situarse como mínimo a 1,5 cm del borde de la placa.

Recorrido: el recorrido óptimo es de 10 cm, pues esta cifra permite calcular fácilmente los valores R_f (método 1 infra). Sin embargo, si no se requieren valores R_f , un método sencillo consiste en dejar que el disolvente se desarrolle hacia el borde superior de la placa de CCD. En tales casos, las placas se disponen de tal manera que el desarrollo máximo no exceda de 10 cm (método 2 infra).

Método 1

Para placas de 20 x 20 cm, se traza una línea a 11 cm del "extremo de la mancha", lo que da un desarrollo de 10 cm para manchas aplicadas a 1 cm de distancia de la base.

Método 2

En el depósito de CCD se colocan placas de 20 x 20 cm y de 10 x 5 cm, con los lados de 10 cm verticales, y se deja que el disolvente fluya hacia el borde superior de la placa; se obtiene así un desarrollo de 9 cm.

Es importante que el analista controle el avance del disolvente en ambos métodos; las placas deben retirarse del depósito de CCD tan pronto como el disolvente alcance la "línea de desarrollo" o el borde superior de la placa de CCD, pues de lo contrario se producirán manchas difusas.

Tamaño de la mancha: La solución aplicada a la placa se extiende hacia afuera desde el lugar inicial del recorrido de la mancha. La extensión de la solución debe limitarse al máximo posible, pues de lo contrario aparecerán manchas difusas durante el desarrollo. Lo ideal sería que el diámetro de la mancha aplicada no excediera de 2 mm. Para conseguirlo, puede que sea necesario aplicar soluciones en partes alícuotas en lugar de una sola descarga del equipo de manchado. Las partes alícuotas pueden secarse, entre las distintas descargas, mediante aire caliente o frío. Si se emplea aire caliente, deberá comprobarse que ningún componente de la mezcla objeto de investigación es térmicamente lábil.

Tanque de CCD: tanto éste como su tapa deberán ser, preferiblemente, de cristal claro; el tanque deberá estar forrado de papel adsorbente para facilitar la saturación. La tapa deberá ajustarse bien para minimizar la evaporación de disolvente. El cristal puede ser esmerilado y/o puede aplicarse vaselina al reborde.

Disolvente de desarrollo: si se trata de una mezcla, ésta deberá efectuarse con la mayor precisión posible mediante el cuidadoso empleo de tubos graduados o cilindros medidores. Si se utilizan diariamente los mismos sistemas de disolvente, quizá convenga obtener cada componente mediante un distribuidor automático. La mezcla puede realizarse dentro del tanque de CCD. El disolvente de desarrollo, en forma de mezcla o de simple componente, deberá permanecer en el depósito de CCD el tiempo suficiente para que se produzca la saturación. Con tanques forrados de papel, ese tiempo deberá ser aproximadamente de 5 minutos.

Es importante tener en cuenta que, para ciertos sistemas de desarrollo, el disolvente debe renovarse después de cada desarrollo, o por lo menos después de 2 ó 3 ensayos.

DISOLVENTES DE DESARROLLO

SISTEMA A:	Cloroformo	25% en volumen
	Dioxano	60% en volumen
	Acetato de etilo	10% en volumen
	Amoníaco (29%)	5% en volumen
SISTEMA B:	Metanol	100 partes en volumen
	Amoníaco (29%)	1,5 partes en volumen
SISTEMA C:	Ciclohexano	75% en volumen
	Tolueno	15% en volumen
	Dietilamina	10% en volumen

Preparación de las soluciones que han de aplicarse a la placa de CCD

Muestras de cocaína ilícita

A una concentración de 1 mg por ml de metanol.

Soluciones tipo *

Todas ellas se efectúan a una concentración de 1 mg por ml de metanol.

* N.B. La forma de los patrones utilizados -sal o base carece de importancia. Cualquiera de ellos será satisfactorio; en las placas de CCD los compuestos siempre se desarrollan como las bases libres.

VISUALIZACION

Las placas deben secarse antes de proceder a la visualización. El secado puede efectuarse a la temperatura ambiente o, para mayor rapidez, mediante el empleo de aire caliente. En este último caso, hay que procurar que ningún componente de interés sea térmicamente lábil. Para que el color pueda revelarse debidamente, es importante eliminar de la placa todo vestigio de amoníaco o de otras bases.

Métodos de visualización:

1. Luz ultravioleta a 254 nm.
2. Reactivo de yodoplatinato potásico acidulado.
3. Reactivo de Dragendorff (Munier).

Preparación de reactivos nebulizados

REACTIVO DE YODOPLATINATO POTASICO ACIDULADO

Disuélvase 0,25 g de cloruro platínico y 5 g de yoduro potásico en agua hasta 100 ml, y añádanse 2 ml de ácido clorhídrico concentrado.

REACTIVO DE DRAGENDORFF

Mézclense 2 g de subnitrito de bismuto, 25 ml de ácido acético (glacial) concentrado y 100 ml de agua para obtener la solución (1); disuélvase 40 g de yoduro potásico en 100 ml de agua para obtener la solución (2).

Mézclense 10 ml de solución (1), 10 ml de solución (2), 20 ml de ácido acético (glacial) concentrado y 100 ml de agua para obtener el reactivo de Dragendorff.

RESULTADOS

Valores $R_f \times 100$:

<u>COMPUESTO</u>	<u>SISTEMA DE DESARROLLO</u>		
	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>
Cocaína	81	59	56
Ecgonina	0	84	0
Metilecgonina	61	65	44
Benzoilecgonina	0	25	0
Cinamoilcocaína	83	59	51
Tetracaína	63	56	25
Benzocaína	77	80	11
Lidocaína	77	69	40-55 (e)

(e) = estría producida en la placa de CCD.

Petidina	61	49	69
Metacualona	81	78	38
Metadona	75	31-45 (e)	74
Procaína	61	55	8-16 (e)

(e) = estría producida en la placa de CCD.

4. Cromatografía de gas-líquido de la cocaína

a) Técnica de la columna de relleno

Detector	FID (Detector de llama de ionización) (Hidrógeno a 30 ml por minuto, aire a 450 ml por minuto).
Columna	6 pies (o 2 m); d.i., 2 a 4 mm.
Relleno	SE-30; OV-1; OV-17.
Gas portador	Nitrógeno a 30 ml por minuto.
Condiciones de trabajo	Temperatura del inyector: 220° C. Temperatura del horno: 220° C. Temperatura del detector: 300 C°.
Patrón interno	n-tetracosano o tetrafeniletileno.
Agente derivatizante	N,O bis-trimetilsililacetamida o N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA).

Acondicionamiento de las columnas de relleno

Antes de su empleo, todas las columnas de relleno deberán acondicionarse. De ordinario, la temperatura de acondicionamiento habrá de ser de por lo menos 30°C sobre la temperatura a que haya de efectuarse el análisis, a menos que éste exija rebasar la temperatura superior de trabajo de la columna especificada por el fabricante. En este caso, deberá utilizarse un diferencial de temperatura inferior y ampliarse considerablemente, por otro lado, el período de acondicionamiento. Ejemplo: para una columna que haya de utilizarse a 235°C, que tenga una temperatura de trabajo superior de 300°C, la temperatura de acondicionamiento ideal sería de 270°C. Por lo común, el período de acondicionamiento normal es de una noche, o de un mínimo de 15 horas. Si, en el citado ejemplo, el límite superior recomendado para la columna fuera de 280°C, el acondicionamiento podría realizarse entonces a 260°C durante 30 horas.

En el caso de algunas columnas, puede que el acondicionamiento haya de prolongarse desde la tarde del viernes hasta la mañana del lunes. Durante el acondicionamiento, el gas portador a utilizar experimentalmente se hace pasar a través de la columna a la misma velocidad del flujo que en el análisis; por ejemplo: nitrógeno a 30 ml por minuto medido a la temperatura de acondicionamiento. Durante éste, es de vital importancia que el extremo de la columna de CG no esté conectado al conducto de entrada del detector de CG. La razón de ello es que, durante el acondicionamiento, la sílice se desprende desde la parte sólida de la fase estacionaria y pronto se acumularía dentro del detector. Esto afectaría seriamente a la respuesta del detector y, en el caso de un FID impediría la combustión de hidrógeno al bloquear el orificio del quemador. Normalmente, la sílice se desprende de la columna de CG, y el bloqueo de un quemador de un FID es una de las causas más

comunes de deterioro de la respuesta del detector. En tales casos, un método sencillo consiste en elevar la temperatura de trabajo del detector desde 50 a 100°C (si está dentro de la capacidad del cromatógrafo de gases), a fin de volatilizar (eliminar por combustión) la sílice depositada. Si esto no tuviera éxito, la única solución es retirar el quemador del FID y proceder a la eliminación mecánica del depósito de sílice. A este respecto, ha resultado eficaz el lavado con agua, detergente y abrasivos, y posterior secado con disolventes orgánicos.

METODO

La solución tipo de clorhidrato de cocaína se prepara a una concentración de 40 mg por 100 ml de etanol o metanol.

Trátase análogamente la cocaína ilícita, utilizando una muestra de por lo menos 20 mg para obtener una concentración de cocaína aproximadamente igual a la de la solución tipo. Procedimiento de derivatización: véase la técnica de columna capilar. Inyéctense de 2 a 5 microlitros, según proceda.

El contenido (en porcentaje) de cualquier componente puede calcularse mediante la siguiente fórmula general:

$$C_x\% = \frac{C_{\text{on. tipo}} \times A_x / A_{\text{patr. int. en crom. mtra.}}}{X \times 100 \times C_{\text{mtra.}} \times A_{\text{patr. int. en crom. patr.}}}$$

donde:

$C_x\%$ = contenido de componente x en la muestra (p/v %).

$C_{\text{on. tipo}}$ = concentración de la sustancia x en la solución tipo de referencia (p/v %).

A_x = área del pico para la sustancia x durante la cromatografía de la muestra.

$A_{\text{patr. int. en crom. mtra.}}$ = área del pico del patrón interno, obtenida durante la cromatografía de la muestra

$A_{\text{patr. int. en crom. patr.}}$ = área del pico del patrón interno, obtenida durante la cromatografía patrón

$C_{\text{mtra.}}$ = concentración de la muestra (p/v%).

b) Técnica de la columna capilar

Columna OV-1 - capilar de sílice fundida químicamente ligada.

Espesor de la película 0,15 μm

Longitud 2,5 m por 0,32 mm d.i.

Gas portador	Hidrógeno
Velocidad de flujo	2 ml por minuto
Razón de desdoblamiento	1:50
Detector	FID (Detector de llama de ionización)
Temperaturas de trabajo	Inyector 250°C. Detector 280°C. Programa Iniciación a 150°C, aumento inmediato a 280°C, a 9°C por minuto.

Preparación de la muestra: se mezclan y calientan, a 70°C durante 10 minutos, 3-4 mg de la muestra, 1-2 mg del patrón interno (n-C₂₄H₅₀), 1 ml de cloroformo, 0,2 ml de piridina y 0,15 ml de MSTFA (reactivo).

Volumen de inyección: 1 ul.

5. Cromatografía líquida de gran rendimiento (CLGR) para la determinación de la cocaína

Condiciones de trabajo

Columna	160 mm por 5,0 mm d.i.
Material de relleno	Octadecil-sílice calidad de CLGR 5 um
Fases móviles	
<u>Eluyente A</u>	Metanol (300 ml), agua (700 ml), 1% (v/v) ácido fosfórico (1000 ml) y hexilamina-n (10,71 g; 14 ml) (pH = 2,5).
<u>Eluyente B</u>	Metanol (1000 ml), 1% (v/v) ácido fosfórico (1000 ml) y hexilamina-n (10,71 g; 14 ml) (pH = 2,8).

El 1% de ácido fosfórico se prepara disolviendo ácido ortofosfórico concentrado (17 g) en agua destilada (1000 ml).

Desgasificación de la fase móvil

El gas atmosférico disuelto en la fase móvil debe eliminarse antes de iniciar el análisis. Si esto no se hace, el gas se desprende de la solución y forma pequeñas burbujas bien sea en el conducto que conecta el depósito de disolvente con la cabeza o cabezas de bomba o bien dentro del cilindro o cilindros de éstas. En cualquier caso, y especialmente en el último, el bombeo cesará y el desarrollo cromatográfico se habrá malogrado.

La forma más sencilla de eliminar el gas disuelto consiste en inmergir la mezcla de eluyente en un baño ultrasónico de gran potencia durante un mínimo de 10 minutos. Un problema que puede presentarse con este método es que, si el período de desgasificación es prolongado, el agua del baño ultrasónico puede calentarse y transferir el calor al eluyente. La adición de hielo al agua en el baño ultrasónico mantendrá el eluyente a la temperatura ambiente. La desgasificación por este método puede realizarse in situ mediante el empleo específico de un baño ultrasónico que se incluye como parte de todo el sistema de CLGR. El depósito de disolvente se coloca dentro del baño ultrasónico. Deben utilizarse frecuentes y relativamente breves períodos de desgasificación, a ser posible entre cada desarrollo cromatográfico. La composición del eluyente debe tenerse en cuenta al efectuar la desgasificación. Los componentes que sean particularmente volátiles y/o que constituyan solamente una pequeña proporción del eluyente no deberán exponerse a una frecuente desgasificación. Es de esencial importancia mantener el depósito de eluyente cerrado, a fin de evitar el contacto de éste con la atmósfera y, por consiguiente, el problema de los gases disueltos.

Se ha dicho que la técnica ultrasónica no es completamente eficaz, y que la única forma eficiente de desgasear eluyentes es hacer pasar lentamente gas de argón o helio a través de la solución. Este método

también puede aplicarse in situ conectando mediante un tubo, al depósito de disolvente, un cilindro de gas de argón o helio a presión. Puede efectuarse una desgasificación frecuente entre desarrollos cromatográficos. Es importante mantener el depósito de disolvente por debajo de una atmósfera del gas inerte elegido para la desgasificación.

Velocidad de flujo	2,0 ml por minuto para ambos eluyentes.
Detección	UV a 230 nm
Preparación de la muestra	todos los materiales se disuelven en el eluyente apropiado.
Soluciones tipo	disuélvase aproximadamente 1 mg en 10 ml de eluyente de cualquiera de las siguientes sustancias:
	Cocaína Cis-cinamoilcocaína Trans-cinamoilcocaína Procaína Lignocaína Amilocaína Butacaína Benzocaína
Volumen de inyección	20 ul por inyector de bucle.
Cuantificación	Por métodos de áreas de pico, de patrón interno o externo.

RESULTADOS

El orden de elución y los correspondientes coeficientes de capacitancia (capacidad) (K')* para el eluyente A son:

Procaína	0,0
Lignocaína	0,79
Cocaína	2,68
Cis-cinamoilcocaína	6,3
Amilocaína	7,19
Butacaína	8,97
Trans-cinamoilcocaína	10,65
Benzocaína	20,06

$$*\text{Coeficiente de capacitancia } K' = \frac{t_r - t_0}{t_0} \quad -$$

donde

t_r = tiempo de elución del compuesto

t_0 = tiempo de elución del material no retenido (inyección de metanol)

6. Espectroscopia infrarroja de la cocaína

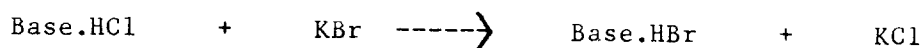
Preparación de la muestra

1. Método del disco de haluro

El material seco finamente pulverizado (unos 2 mg) se mezcla con un haluro alcalino (aproximadamente 200 mg), triturado mecánicamente en un molino de bolas de ágata o bien a mano en un mortero de ágata, y se transforma por compresión en un disco delgado. Lo ideal es producir un disco casi transparente.

Originalmente, el bromuro potásico se utilizaba como el haluro alcalino, y a la técnica correspondiente se la suele denominar "método del disco de KBr". El cloruro potásico también se viene utilizando ampliamente y por lo común se le considera superior al bromuro potásico porque es menos higroscópico. Cualquiera que sea el haluro utilizado, deberá ser preferentemente de "patrón IR", secado a 105°C durante un mínimo de una hora y almacenado en un desecador sobre un desecante concentrado (por ejemplo, pentóxido de fósforo). Son aceptables los haluros de calidad analítica pulverizados en igual grado que el material del "patrón IR" y del mismo grado de secado.

La principal desventaja de este método es la necesidad de equipo prensador de disco. Sin embargo, en la actualidad existen en el mercado varios sistemas prensadores de disco que resultan muy baratos en comparación con el costo de un espectrofotómetro de rayos infrarrojos. Otra desventaja es la posible producción de un espectro erróneo si se produce una doble descomposición durante la preparación del disco:



Por tanto, los clorhidratos deben examinarse siempre en cloruro potásico y no en bromuro potásico. El ensayo aniónico mediante reactivos precipitantes debe preceder a la espectroscopia infrarroja.

La principal ventaja del método de disco de haluro es que, si el dispersante de haluro está libre de agua, no ocasiona ninguna interferencia con el espectro resultante. Otra ventaja menor es que, si se procede con cuidado, los discos pueden estar almacenados indefinidamente. Esto puede ser importante si posteriormente llegara a entablarse algún proceso legal. Asimismo, el material objeto de investigación puede recuperarse del disco de haluro para futuros ensayos.

2. Método del microdisco de haluro

Existen en el mercado troqueles que pueden producir discos de haluro de tan sólo 1 mm de diámetro. En este caso, la cantidad de haluro ha de reducirse drásticamente (aproximadamente 1 mg). El empleo de esta técnica tiene su mayor aplicación en el examen por rayos infrarrojos de componentes desconocidos que hayan sido eluidos por placas utilizadas en cromatografía de capa delgada. También puede utilizarse si el analista dispone de menos de 1 mg de muestra.

3. Método de la pasta de Nujol (método de la parafina líquida)

La muestra finamente pulverizada (2-3 mg) se mezcla con una gota de la parafina líquida y se tritura en un mortero de ágata. A continuación, se agrega líquido suficiente para que la pasta final tenga la consistencia de una crema blanda. La pasta se extiende sobre un disco de haluro alcalino, normalmente NaCl o KBr, y se coloca sobre ella un disco similar. La película que queda entre los discos de haluro no debe contener ninguna burbuja de aire.

La desventaja obvia de este método es la interferencia de la parafina líquida en el espectro infrarrojo. La ventaja es que el único aparato que se requiere es un mortero con su pistilo, y un par de discos de haluro:

RESULTADOS

Los principales picos se registran en los siguientes números de onda (cm^{-1}), indicados por orden de magnitud de absorbencia. Sin embargo, la secuencia puede variar de una muestra a otra (método del disco de haluro):

Cocaína base...1275, 1700, 1106, 1728, 710, 1040, 1280.

Cocaína HCl....1712, 1730, 1276, 1230 (pico secundario), 732, 1106, 1075, 1025.

Diferenciación entre cis y trans-cinamoilcocaína:

1. La gran absorbencia a 1320 cm^{-1} en el espectro de trans-cinamoilcocaína está ausente en el espectro de cis-cinamoilcocaína;

2. En el espectro de trans-cinamoilcocaína la absorbencia a 1625 cm^{-1} es de aproximadamente la misma magnitud que las absorbencias a 1745 y 1695 cm^{-1} , mientras que en el espectro de cis-cinamoilcocaína la absorbencia a 1625 cm^{-1} es menor que la absorbencia a 1745 y 1715 cm^{-1} .

7. Análisis de enantiómeros de cocaína

A base de la fórmula estructural de la cocaína, pueden predecirse cuatro pares de enantiómeros. Cada miembro de un determinado par de enantiómeros guarda una relación diastereoisomérica con los miembros de los demás pares. Todos los diastereoisómeros han sido sintetizados y su configuración y conformación se han determinado por diversos métodos.

El único enantiómero de la cocaína que existe naturalmente es la l-cocaína, y los tribunales de algunos países, a tenor de la legislación pertinente, consideran que sólo la l-cocaína es una droga ilegal. En esos países, la demanda no prosperará a menos que el analista pueda demostrar al tribunal que ha logrado determinar que la cocaína en cuestión es l-cocaína.

Se desarrollaron métodos para resolver este problema legal. Uno de ellos se describe a continuación en detalle, y sobre otros se indican referencias.

a) Ensayo microcristalino para diferenciar enantiómeros de la cocaína

REACTIVOS

1. Di-p-toluoil-d-ácido tartárico (TDAT) en alcohol diluido con glicerina.
2. Di-p-toluoil-l-ácido tartárico (TLAT) en alcohol diluido con glicerina.

Concentración de las soluciones: 1 mg por ml.

En matraces volumétricos de 10 ml se introducen 10 mg de TDAT y TLAT disueltos en 1 ml de alcohol etílico, y a continuación se obtiene el volumen deseado mediante la adición de 8 ml de agua y 1 ml de glicerina.

N.B. Al cabo de tres meses se formarán cristales de estos reactivos. Deberán efectuarse nuevas soluciones si las soluciones antiguas no dan resultados con cocaína auténtica.

METODO

Si la cocaína no está presente como sal de clorhidrato, deberá convertirse en esta forma. Los ensayos microcristalinos se realizan sobre el portaobjetos de un microscopio polarizante con aumentos de 100 a 125, procediendo al examen con el analizador insertado y sin éste. Todos los ensayos se efectuarán directamente sobre la cocaína extraída. Sobre el portaobjetos se deja caer una gota de reactivo, se le agrega a éste una pequeña cantidad de muestra y se remueve.

RESULTADOS

Con TDAT, el HCl de l-cocaína da, al cabo de 1 minuto aproximadamente, rosetas perfectamente simétricas. Al formarse, los cristales tendrán un color entre gris blanquecino y blanco bajo la luz polarizada. Tras desarrollarse durante unos minutos, los brazos de algunas rosetas mostrarán diferentes colores (rojo, azul, verde, amarillo), según la orientación.

Con TLAT, el HCl de l-cocaína forma inmediatamente cristales de color gris blanquecino. La formación de esos cristales varía desde una multitud de agujas individuales hasta mechones, abanicos y gavillas.

El HCl de D-cocaína da la formación cristalina opuesta completa como HCl de l-cocaína; por ejemplo, al cabo de aproximadamente un minuto da rosetas casi perfectamente simétricas con TLAT, variando la forma de los cristales desde agujas individuales hasta mechones, abanicos y gavillas con TDAT.

El ensayo se ha aplicado a otros anestésicos sintéticos locales y no se ha observado interferencia alguna. Para que este ensayo tenga éxito, es importante extraer la cocaína de la matriz de la muestra y convertirla en sal de HCl.

b) Métodos alternativos para diferenciar los enantiómeros de la cocaína

Por cromatografía líquida de gran rendimiento (CLGR):

Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas, Vol. 98, 1979, págs. 501-2

Por CLGR, cromatografía gaseosa (CG) y CG/espectrometría de masas (ionización química):

Journal of Chromatography, Vol. 193, 1980, págs. 371-380

Por CLGR, CG, cromatografía de capa delgada (CCD), por rayos infrarrojos (IR), Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y espectrometría de masas (impacto electrónico):

Journal of Forensic Sciences, Vol. 26 (No. 1), 1981, págs. 12-26.

Printed in Austria
V.86-62553—January 1987—1,000

ST/NAR/7