

DIVISIÓN DE ESTUPEFACIENTES
Viena

MÉTODOS RECOMENDADOS PARA EL ENSAYO DE LA CANNABIS

**MANUAL PARA USO
DE LOS LABORATORIOS NACIONALES
DE ESTUPEFACIENTES**



NACIONES UNIDAS
Nueva York, 1987

ST/NAR/8

INDICE

	<u>Página</u>
INTRODUCCION	4
I. OBTENCION DE PRODUCTOS ILICITOS DE LA CANNABIS	
A. Productos herbáceos (mariguana)	7
B. Productos de resina (hachís)	9
C. Cannabis líquida (aceite de hachís)	11
II. DESCRIPCION DE LOS PRODUCTOS ILICITOS DE LA CANNABIS	13
A. Nombres y sinónimos de los productos ilícitos de la cannabis	13
B. Apariencia y características químicas de los productos ilícitos de la cannabis	13
1. Productos herbáceos (mariguana)	13
a) Cannabis cultivada en climas templados	13
b) Cannabis cultivada en clima tropical	14
2. Productos de resina de cannabis	15
3. Cannabis líquida (aceite de hachís)	16
III. COMPONENTES QUIMICOS DE IMPORTANCIA FORENSE	18
IV. ANALISIS DE PRODUCTOS ILICITOS DE LA CANNABIS	20
A. Muestreo	20
1. Muestreo de materiales contenidos en un solo paquete ...	21
2. Muestreo de materiales contenidos en más de un paquete .	21
3. Muestreo de materiales que contienen grandes agregados .	22
B. Examen físico	22
1. Características macroscópicas	22
2. Características microscópicas	24

INDICE (cont.)

	<u>Página</u>
C. Ensayos presuntivos	25
1. Ensayos del color	25
a) Ensayo con la sal de azul sólido B	25
b) El ensayo inmediato Duquenois (ensayo Duquenois-Levine)	26
D. Cromatografía en capa delgada (CCD)	28
E. Cromatografía en fase de gas-líquido (CGL)	31
1. Técnica de la columna rellena	31
2. Técnica de columna capilar	34
F. Cromatografía en fase líquida de alto rendimiento (CLAR) ...	35
1. Técnica isocrática	35
2. Técnica de gradiente	37

INTRODUCCION

Antecedentes

En los últimos años ha aumentado considerablemente el número de sustancias sometidas a fiscalización internacional incluidas en las listas. Este aumento denota una rápida diversificación de las drogas usadas indebidamente y, a su vez, la consiguiente multiplicación de las actividades reguladoras produce un aumento del número de sustancias sometidas a fiscalización y leyes y sentencias judiciales mejores pero, al mismo tiempo, más rigurosas. Al mismo tiempo, las cantidades incautadas de drogas sometidas a fiscalización, tales como opiáceos, cocaína y pasta de coca, productos de la cannabis, anfetaminas y compuestos afines han registrado un incremento alarmante y sin precedentes en determinadas regiones. Esta nueva situación, en que se registra un incremento en la frecuencia y volumen de las aprehensiones, constituye un desafío para las autoridades nacionales de represión así como para el personal técnico y científico de los laboratorios forenses.

La astucia de los productores y promotores ilícitos hace que aparezcan en el mercado ilícito nuevas drogas o combinaciones de drogas imprevistas que exigen una acción rápida y adecuada así como una gran habilidad por parte de los químicos forenses. Asimismo, el número creciente de sustancias sometidas a fiscalización y de disposiciones legales relativas a las mismas añade nuevas dificultades a la labor de los laboratorios nacionales forenses y de estupefacientes y de su personal. Los analistas tienen que prepararse para trabajar con más sustancias y preparados y para utilizar métodos de identificación y análisis más rápidos, exactos y específicos. Además, el carácter internacional del tráfico de drogas exige el intercambio rápido de datos analíticos entre los laboratorios y las autoridades de represión a nivel nacional e internacional. La elaboración de métodos de análisis de posible aceptación internacional podría contribuir mucho a la consecución de estos objetivos, y por eso desde hace algún tiempo se estudia esta posibilidad.

La Comisión de Estupefacientes, en su octavo período extraordinario de sesiones de febrero de 1984, 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 manifestó la opinión de que un examen más detallado y la armonización más decidida de la amplia variedad de métodos analíticos utilizados en los distintos países facilitarían la labor del personal de las instituciones nacionales y también facilitarían el intercambio de información en los planos regional e interregional.

Propósito del manual

En respuesta a una petición de la Comisión, la División de Estupefacientes convocó en septiembre de 1986 a un grupo de 11 expertos y dos consultores en Kuala Lumpur, por invitación del Gobierno de Malasia. El presente manual, preparado por la División de Estupefacientes de las Naciones Unidas, recoge las conclusiones del grupo de expertos y ha sido preparado para ofrecer asistencia práctica a las autoridades nacionales describiendo los métodos que se recomiendan a los laboratorios forenses para la identificación y análisis de los productos de la cannabis. El manual puede servir también de orientación a las autoridades nacionales para evaluar los métodos que utilizan en la actualidad las administraciones y los laboratorios universitarios.

Este manual es el tercero de una serie de publicaciones similares dedicadas a la identificación y análisis de distintos grupos de drogas sometidas a fiscalización internacional; ha estado precedido de manuales para el análisis de la heroína (ST/NAR/6) y de la cocaína (ST/NAR/7), e irá seguido de una publicación análoga que tratará del análisis de la anfetamina/metanfetamina.

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 aparecido en publicaciones científicas. Al señalar 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 las publicaciones científicas forenses 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 depende necesariamente de la disponibilidad de material de referencia y de instrumentos.

No es necesario aplicar todos los métodos indicados a todas las muestras sospechosas de contener cannabis. 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 cuantificación de uno de los cannabinoides presentes en el material, 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 que se empleen 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 en capa delgada (CCD) contarían como dos parámetros. En este contexto, por sistemas no correlacionados de CCD se entiende 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 y dos cualesquiera de las técnicas de cromatografía disponibles, en capa delgada (CCD), en fase gas-líquido (CGL) o cromatografía en fase líquida de alto rendimiento (CLFR). El análisis de los productos de la cannabis constituye un problema especial para el químico forense. Como la cannabis y la resina de cannabis son vegetales, es obligatorio que el analista incluya, como parte de los requisitos del ensayo, el examen macroscópico y/o microscópico del material. La elección de las otras dos o más técnicas queda a la discreción del químico forense.

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 preparación del personal y 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. Para las descripciones generales de las técnicas analíticas que figuran en este manual, los analistas deben remitirse a ambas publicaciones y a los anteriores manuales de esta serie.

Una estrecha relación con los servicios de represión 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 ante los tribunales. De este modo, se podrá disponer de 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, esto habrá que hacerlo antes de la publicación de esos cambios en revistas 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. OBTENCION DE PRODUCTOS ILICITOS DE LA CANNABIS

A. Productos herbáceos (mariguana)

La cannabis (Cannabis sativa L.) es una planta muy común en todas las zonas templadas y tropicales del mundo, y la mayoría de los países han informado del cultivo y tráfico ilícitos de sus productos herbáceos. El cultivo ilícito en gran escala de esta planta para elaborar productos de hierba de cannabis tiene lugar en América del Norte y del Sur, en el Caribe, África y el Asia sudoriental. La presentación de la materia herbácea en el tráfico ilícito varía no sólo de una a otra región, sino también dentro de los países de cada región.

Se cree tradicionalmente que sólo las sumidades floridas y con fruto y las hojas de la planta de cannabis contienen cantidades importantes de los constituyentes psicoactivos (por ejemplo, tetrahidrocannabinol); se las conoce como las "partes que contienen droga", y generalmente son sólo estas partes las que se venden en el tráfico ilícito. Dichas partes pueden ser arrancadas de la planta y ésta seguirá creciendo. El tallo central y los tallos laterales principales de la planta no se arrancan ni sirven para nada en la fabricación de productos ilícitos de la cannabis. Otra posibilidad es tomar toda la planta, cortando el tallo principal por debajo de los tallos laterales más bajos que lleven hojas. La materia herbácea separada, o las plantas enteras, se dejan secar al aire, generalmente esparciéndolas en el suelo o, si se trata de una cantidad relativamente pequeña, poniéndolas en bandejas poco profundas. Las plantas enteras pueden secarse suspendiéndolas invertidas y, una vez ya secas, las partes de la planta que contienen la droga se separan del tallo central y de los tallos laterales principales. Según sea el proceso subsiguiente aplicado a la materia seca la hierba puede presentarse de muy diversos modos. Las partes separadas pueden ser fuertemente comprimidas para formar bloques de materia herbácea (la cannabis de África occidental y del Caribe se comercia frecuentemente de esta forma). Otra posibilidad es dejar la cannabis como materia herbácea suelta (muestras procedentes de algunos países del África central y meridional y de países del Asia sudoccidental y sudoriental se presentan frecuentemente en esta forma). Una presentación menos común es cuando la materia herbácea se enrolla en forma de "mazorca de maíz" y se envuelve con una fibra vegetal burda (África central y meridional).

Si para el tráfico ha de obtenerse un producto de alta calidad, se utilizan únicamente las sumidades floridas y con fruto. La mayor parte de las veces se preparan en barritas; a menudo las inflorescencias se atan con un cordel alrededor de una caña central de bambú. Esas barritas pesan unos dos gramos (brutos), tienen aproximadamente ocho centímetros de largo y se conocen en el tráfico ilícito como "barritas de Buda" (Asia sudoriental). Frecuentemente, cuando son incautadas en el tráfico ilícito, se encuentran en haces de hasta 20 unidades. Otra posibilidad es que las sumidades floridas y con fruto se dispongan formando un rollo pequeño forrado en papel de estraza (Sudáfrica). Estos rollos son considerablemente menores que los del Asia sudoriental. Normalmente hay menos de 0,5 gramos de cannabis por rollo y apenas llevan semillas.

Puede elaborarse un producto de alta calidad pasando la hierba de cannabis por un cedazo para eliminar aquellas partes de la planta que contienen niveles relativamente bajos de cannabinoides, o no los contienen en absoluto. Esencialmente, esto elimina las semillas y casi todas las partes menos valiosas del tallo. Todo lo que pasa por el cedazo se ha obtenido de las sumidades, floridas o con fruto, o de las hojas de la cannabis. Tiene el

aspecto de materia herbácea cortada finamente. En el tráfico ilícito se denomina "kif". Es un producto característico del norte de Africa . Esa materia tiene un alto contenido de resina de cannabis y puede comprimirse en tabletas que tienen cierta semejanza física con las tabletas de resina de cannabis hechas en la misma región. Sin embargo, cuando se las somete a examen microscópico, se ve que han conservado características esencialmente herbáceas. Esta materia, ya sea suelta o comprimida en tabletas pequeñas, tiene el mismo perfil de cannabinoides que las tabletas de resina de cannabis hechas en la misma región.

Otro producto de alta calidad es la sinsemilla. La sinsemilla se produce retirando las plantas masculinas de cannabis de las inmediaciones de las plantas femeninas de cannabis, antes de que la planta masculina haya liberado su polen. Las plantas femeninas no llegan nunca a ser fertilizadas y, en consecuencia, no producen semillas. Quienes participan en el cultivo ilícito de cannabis afirman que las partes de tales plantas que contienen resina contienen también un nivel superior de productos químicos psicoactivos (por ejemplo THC) que las plantas femeninas ordinarias que se han dejado fertilizar en la forma normal. El análisis forense corroboraría esta afirmación; se comprueba que la sinsemilla contiene niveles superiores de cannabinoides, especialmente THC.

Cabe señalar que la supresión de las plantas masculinas del entorno de las plantas femeninas antes de que haya ocurrido la fertilización se ha practicado durante muchos años, por ejemplo en el subcontinente indio. Se sabía que de lo contrario, las plantas femeninas granarían y se obtendría una cosecha muy baja de "ganja". Sin embargo, invariablemente en ese material estaban presentes unas pocas inflorescencias con semillas. Esto puede haber ocurrido porque la cannabis no es totalmente una planta dioica. En cualquier campo extenso de plantas de cannabis algunas serán monoicas, esto es, que tienen tanto flores masculinas como femeninas.

La sinsemilla seguía siendo, en la fecha de preparación de este folleto (octubre de 1986), un producto cultivado sólo en América, si bien en otros lugares se han efectuado también incautaciones de sinsemilla. Sin embargo, el material incautado en estos casos había sido cultivado en América.

B. Productos de resina (hachís)

La producción de resina de cannabis se concentra principalmente en dos regiones del mundo. Los países situados alrededor de la parte meridional y oriental del Mediterráneo constituyen una de esas regiones y los del subcontinente indio la otra. En ambas regiones se han utilizado diversos procedimientos para fabricar resina de cannabis. No obstante, en general, los países de una misma región utilizan técnicas análogas. Esto tiene como consecuencia que hay dos "familias" de resina de cannabis. Los países de la zona meridional y oriental del Mediterráneo elaboran un grupo de productos de resina de cannabis y los países del subcontinente indio fabrican un segundo grupo de productos. Sin embargo, en ambas regiones existe cierta semejanza en los métodos utilizados para fabricar resina de cannabis; por ejemplo, en ambas regiones hay métodos en los que el cernido es parte importante del procedimiento.

La resina de un determinado país de cualquiera de estas regiones mostrará mucha más semejanza física con la de otro país de la misma región, que con una resina procedente de la otra región (Puede haber diferencias importantes en el perfil de cannabinoides de las resinas de una misma región).

Resina de cannabis de los países del Mediterráneo

La materia herbácea se bate, a menudo contra una pared. Este proceso es para separar las partes de la planta que producen resina de las partes que no la producen y, en consecuencia, son bajas en componentes psicoactivos. Las partículas de resina de cannabis y de hojas de cannabis, así como las semillas de cannabis, se separan de las partes más fibrosas de la planta. Estas últimas se desechan. Después, el material se cierne (las semillas y las partes fibrosas menores se eliminan). El producto que queda tiene ahora un mayor contenido de resina. En esta etapa las características herbáceas macroscópicas quedan prácticamente destruidas, pero microscópicamente el material presenta aún muchos rasgos herbáceos. Físicamente se asemeja a un polvo fino y en esta etapa se comprime en tabletas. En algunos países (Mediterráneo oriental) antes de comprimirla, la materia se coloca en bolsas de tela; en otros países (norte de África) antes de la compresión se envuelve en celulosa. En una zona (Mediterráneo nororiental) el material circula ocasionalmente en forma de polvo fino sin haber sido transformado en tabletas.

Resina de cannabis del subcontinente indio

En los países del subcontinente indio para producir la resina de cannabis se utiliza un método diferente. Las sumidades floridas y con fruto de las plantas de cannabis que se cultivan en los países del subcontinente indio contienen altos niveles de resina, hasta el extremo de que esto hace que estas partes de la planta sean pegajosas al tacto. Cuando estas sumidades de las plantas se frotan entre las palmas de las manos, la resina queda adherida a éstas.

En consecuencia, la producción de resina de cannabis en los países del subcontinente indio se basa en un proceso de frotamiento o amasadura, y no en uno de batido. Para ello pueden utilizarse diversos métodos. Los que a continuación se describen pueden considerarse como representativos del proceso.

El frotamiento entre las palmas de las manos de las partes de la planta de cannabis que contienen la resina supone un método lento y laborioso. A medida que el material se frota se va adheriendo a las palmas de las manos una

capa delgada de de resina de cannabis. Una vez extraída toda la resina mediante frotamiento, la planta se tira (puede utilizarse como producto de calidad inferior, haciéndose con ella, por ejemplo, una infusión similar al té). La resina que se ha adherido a las palmas de las manos se quita raspándola con el filo de un instrumento metálico, y puede depositarse en un cuenco. Entonces otro montón de cannabis se somete al mismo proceso de frotamiento. Poco a poco va aumentando la resina de cannabis depositada en el cuenco. Una cantidad adecuada de resina se saca del cuenco y se comprime o se enrolla en forma de tabletas, barritas, bolas o en la forma preferida en cada localidad.

Otro método consiste en frotar las sumidades floridas y con frutos de la cannabis contra una superficie de goma. La resina de cannabis se adhiere a la goma y luego puede rasparse y juntarse en cantidades adecuadas para la producción de tabletas. Otra modalidad de este método consiste en que la persona que está recolectando la resina de cannabis lleve un revestimiento de goma, de cuero o de un tejido semejante mientras camina a través de un campo de plantas de cannabis. La resina se acumula en el revestimiento de goma a medida que éste se restrega contra las sumidades floridas y con fruto de las plantas y, cuando se ha reunido una cantidad suficiente, la goma puede rasparse por completo. Después se procede a la producción de tabletas, etc. en la forma descrita precedentemente.

Las sumidades floridas y con fruto pueden recolectarse de forma semejante a la utilizada en la producción de hierba de cannabis. Después se dejan secar y se rompen y trituran entre las manos dando un polvo grueso. Este polvo se pasa entonces a través de cedazos para que alcancen una fineza similar a la que se obtiene en el Mediterráneo. El polvo fino, que es todavía verde, se almacena en sacos de cuero durante cuatro a cinco meses hasta que el clima vuelva a ser cálido. El polvo se expone al sol por corto tiempo, suficiente para que la resina se derrita. El polvo se vuelve a poner en los sacos de cuero algunos días, después de lo cual se saca y se moldea bien con varillas de madera, de modo que una cierta cantidad de materia aceitosa aparezca en la superficie. El amasamiento continúa hasta que se produce un material adecuado para su compresión en tabletas.

Por último, en algunas localidades del subcontinente indio se utiliza un método fundamentalmente diferente. En lo que a cantidad se refiere, en esta forma se produce poca resina de cannabis. La materia vegetal, separada de los tallos principales, se sumerge en agua hirviendo. Esto separa la resina de las sumidades floridas y con fruto (compárese el modo en que, al hervirse la carne, las grasas animales se separa de ella). La cannabis a la que ya le ha sido extraída la resina se desecha (puede utilizarse para fines culinarios) y cuando el líquido obtenido en la extracción se enfría, se forma en la superficie una capa de resina solidificada. A ésta se le da forma de tabletas o cualquier otra forma que se desee. El problema con este método es que se introduce agua en la resina. En consecuencia, a menudo las tabletas de resina se enmohecen con el tiempo.

C. Cannabis líquida (aceite de hachís)

La cannabis líquida es un extracto líquido obtenido de la hierba de cannabis o de la resina de cannabis; a menudo el extracto se concentra antes de ser objeto de tráfico. La cannabis líquida se extrae para concentrar los ingredientes psicoactivos (por ejemplo, THC). De esta forma, el traficante puede burlar más fácilmente la ley, pues puede ocultar más material psicoactivo en un envase más pequeño. Otra ventaja es que el traficante puede introducir la cannabis líquida en un envase que no podría contener fácilmente hierba o resina de cannabis. Además, es fácil cerrar herméticamente el recipiente de la cannabis líquida, con lo que se evita la posibilidad de que se detecte por el olor que desprenden.

La cannabis líquida, tanto si procede de la hierba como de la resina de cannabis, se prepara mediante un procedimiento semejante al que se emplea para filtrar el café. Ese procedimiento puede compararse también al de la extracción en un aparato de soxhlet que se efectúa en los laboratorios químicos para obtener sustancias químicas de materiales sólidos y en el cual el disolvente empleado en la extracción refluye continuamente.

El aparato de extracción consta principalmente de los siguientes elementos:

a) EL MATRAZ DE COCCION

Vasija en la que puede hervirse el disolvente empleado en la extracción.

b) EL RECIPIENTE DE EXTRACCION

Recipiente perforado que contiene el material que ha de extraerse (por ejemplo, granos de café); una vez que el disolvente ha pasado a través del material que va a extraerse, vuelve al matraz de cocción.

c) EL CONDENSADOR

Un condensador que enfría el disolvente y le permite así caer sobre el material que ha de extraerse.

METODO

Se introduce en el recipiente empleado para la extracción cierta cantidad de hierbas picadas o pequeños trozos de resina de cannabis. Se vierte disolvente orgánico en el matraz de cocción. Los disolventes orgánicos que pueden utilizarse son el etanol, el metanol, la acetona y los éteres de petróleo. El disolvente se calienta hasta la ebullición y el líquido empieza a ascender. Una vez extraída totalmente la sustancia de la hierba o de la resina de cannabis se apaga el aparato y se deja enfriar. Se tira el material que queda en el recipiente perforado, al igual que se hace con los posos del café. Si es necesario, puede introducirse en el recipiente perforado una segunda carga de hierba o resina de cannabis y repetir el proceso con el mismo disolvente que se ha utilizado en la primera extracción. Este proceso puede repetirse todas las veces que sea necesario, tratando varias cargas de hierba cannabis o resina de cannabis con el mismo disolvente. Cuando se ha tratado la última carga de hierba o resina de cannabis puede concentrarse el disolvente que se encuentra en el frasco de cocción evaporando el agua hasta que adquiera la consistencia deseada. Se desarma el aparato y el disolvente

que no se va a utilizar se hierve hasta que se consume. En algunos laboratorios clandestinos, especialmente en aquellos países donde los disolventes orgánicos son costosos o difíciles de adquirir, el disolvente sobrante puede condensarse para volver a utilizarlo después. En general, la cannabis líquida, tanto si se ha obtenido de la hierba como de la resina de cannabis, se prepara de forma que adquiera la consistencia de un aceite espeso.

Si después de extraer una sola carga de hierba o de resina de cannabis se estima que se ha obtenido un extracto con un grado de concentración aceptable, puede dejarse evaporar el líquido del matraz de cocción, como se ha descrito en el párrafo anterior.

II. DESCRIPCION DE LOS PRODUCTOS ILCITOS DE LA CANNABIS

A. Nombres y sinónimos de los productos ilícitos de la cannabis

Se emplean tantos sinónimos para los distintos productos ilícitos de la cannabis que no es posible enumerarlos todos en este manual. Remitimos al lector a la publicación de las Naciones Unidas que trata de este tema y que lleva por título "Diccionario multilingüe de los estupefacientes y de las sustancias sicotrópicas sometidos a fiscalización internacional" (ST/NAR/1).

B. Apariencia y características químicas de los productos ilícitos de la cannabis

Debe destacarse que no existen dos productos de la cannabis que tengan exactamente la misma apariencia. Como se obtienen a partir de un producto natural de características mudables, mediante un proceso discontinuo que puede variar considerablemente, y posteriormente se elaboran y transforman para traficar con ellos, no es sorprendente que los productos de la cannabis se presenten en formas tan diversas. En este documento sólo se describen algunos productos seleccionados, que son, por otro lado, los más comunes. Naturalmente, el hecho de que un producto sometido a un examen forense no se parezca en nada a ninguno de los tipos aquí descritos no significa que no sea cannabis o un producto que contenga cannabis.

Esta sección debe leerse junto con el capítulo I "OBTENCION DE PRODUCTOS ILCITOS DE LA CANNABIS".

1. Productos herbáceos (mariguana)

a) Cannabis cultivada en climas templados

La cannabis que se cultiva en Europa, en América del Norte y en las partes meridionales del hemisferio sur es de un verde intenso cuando está en pie; una vez cosechada, algunas muestras pierden su color verde y se vuelven amarillas, pero raras veces de color pardo. Por lo general, las sumidades floridas y con frutos no contienen resina y, contrariamente a lo que sucede con la hierba de cannabis procedente del subcontinente indio, no son pegajosas cuando se comprimen en la palma de la mano. Por esa misma razón es difícil comprimir en tabletas este material como se hace fácilmente, por ejemplo, con la cannabis del Africa occidental. Contiene invariablemente semillas. La cannabis europea tendrá un mayor contenido de hojas que la cannabis norteamericana, en la que predominan las sumidades floridas y con fruto.

Características químicas: muy variables, porque las semillas se han importado, a menudo de forma ilícita, de muchas regiones diferentes donde la cannabis crece silvestre. Se pueden encontrar perfiles de cannabinoides diferentes, con o sin CBD y THV.

b) Cannabis cultivada en clima tropical

Cannabis norteafricana

Raras veces se trafica con ella fuera de la región; es una hierba de un verde claro o amarillento finamente picada que no contiene semillas ni materia fibrosa.

Características químicas: idénticas a la de la resina que se produce en la región, es decir, escasa proporción de THV y de CBD con relación al THC.

Cannabis del Africa occidental y del Caribe

Cuando está en pie la planta es verde; al cosecharla y secarla se vuelve de color pardo. Algunas muestras conservan su color verde. Por lo general, la cannabis del Caribe conserva más su color verde que la del Africa occidental. Es raro encontrar una muestra seca de cannabis del Africa occidental que no sea parda. Aparte del color, ambos tipos de cannabis son física y químicamente muy similares. En algunas muestras de cannabis del Africa occidental se observa que las sumidades floridas y con fruto han quedado destruidas en el proceso de elaboración, y en la masa comprimida de materia herbácea pueden verse muchas semillas de color pardo oscuro.

Hasta hace pocos años la cannabis del Caribe era de baja calidad y contenía muchos tallos, que apenas tienen componentes psicoactivos o carecen de ellos. Ultimamente se ha intentado producir sinsemilla; todavía no se ha encontrado ninguna muestra totalmente desprovista de semillas, pero en las aprehensiones ha disminuido considerablemente la cantidad de material que no contiene sustancias psicoactivas, y las sumidades floridas y con fruto de esas aprehensiones son comparables a las que se encuentran en la sinsemilla norteamericana.

Características químicas: ninguno de esos dos tipos contiene CBD y en ambos la relación THV/THC es baja.

Cannabis del Africa central

La mayoría de las muestras son similares a la cannabis del Africa occidental, pero unas pocas se asemejan a la cannabis que se produce en la parte meridional de Africa.

Características químicas: muestras pardas similares a la cannabis del Africa occidental en perfil de cannabinoides; muestras verdes similares a la cannabis del Africa meridional en perfil de cannabinoides.

Cannabis del Africa meridional

Una vez seco y preparado para el tráfico, este material se asemeja por lo general a la cannabis que crece en zonas templadas. Es mucho más verde y contiene una proporción mayor de hojas que la cannabis del Africa occidental.

Características químicas: no contienen CBD. Aparecen THV y THC en cantidades aproximadamente iguales.

Cannabis de América del Sur

Es semejante a la cannabis del Caribe; la calidad de las muestras varía considerablemente, desde los productos que contienen una gran proporción de

material fibroso sin sustancias psicoactivas a los productos del tipo de la sinsemilla, que constan únicamente de sumidades floridas y con fruto.

Características químicas: similares a la cannabis del Caribe. Alguna muestra ocasional contiene una pequeña cantidad de CBD.

Cannabis del subcontinente indio

Tres son los tipos que pueden ser objeto de tráfico: 1) las sumidades pardas floridas y con fruto con alto contenido de resina y pegajosas al comprimirlas en la palma de la mano; 2) la materia de color pardo verdoso oscuro semejante a algunas nuestras procedentes del Africa occidental; 3) la materia verde, con gran cantidad de hojas, desprovista de sumidades floridas y con fruto.

Características químicas: el tipo 1) contiene CBD y aproximadamente la misma cantidad de THC y THV; el tipo 2) se parece a la cannabis del Africa occidental; el tipo 3) es semejante al tipo 1) pero con bajo contenido de cannabinoides.

Cannabis del Asia Sudoriental

"Barritas de Buda" - véase el capítulo I, "OBTENCION DE PRODUCTOS ILICITOS DE LA CANNABIS".

Características químicas: Normalmente sólo contienen THC, nada de CBD y cantidades despreciables de THV,

2. Productos de resina de cannabis

Resina de cannabis norteafricana

Tabletas rectangulares delgadas de color pardo amarillento, envueltas en celofán que raras veces llevan alguna marca. De vez en cuando llevan la señal impresa de una moneda.

Producto recientemente introducido que, superficialmente, es semejante a la resina de cannabis procedente del subcontinente indio. Es casi negra en la superficie, y por dentro mucho más oscura que las tabletas de color pardo amarillento. Se presenta en forma de pastillas de jabón de tocador que van envueltas en celofán. No presenta señales pero algunas muestras llevan la marca de una moneda.

Características químicas: Por lo general, baja proporción de CBD en relación con el THC, y THV en cantidades muy pequeñas. El contenido de ácidos cannabinoides varía de unas incauciones a otras.

Resina de cannabis del Mediterráneo oriental

Parda rojiza y en polvo. Su tráfico se realiza siempre en bolsas de tela, que hasta hace pocos años eran siempre blancas, pero que de vez en cuando llevaban una marca impresa con tinta. Actualmente las bolsas de tela son a veces de colores vivos, con o sin marcas de tinta. Las tabletas pesan hasta 0,5 kilogramos y algunas veces un kilo. Cuando se desenvuelve, la resina lleva impresa la huella de la tela.

Características químicas: Presencia de CBD en cantidades mayores que en cualquier otro producto de resina de cannabis. Muy poco contenido de THV. También contiene ácidos, principalmente CBDA, en mayor proporción que cualquier otro producto de resina de cannabis.

Resina de cannabis del Mediterráneo nordoriental

Polvo verdoso parduzco o (rara vez) en forma de pequeñas obleas delgadas de materia quebradiza envueltas en celofán.

Características químicas: mucho menos CBD que THC. Bajo contenido de THV. Grandes cantidades de ácidos.

Resina de cannabis del subcontinente indio

Se fabrica una gran variedad de productos. En cantidad predominan sobre todos los demás tipos las tabletas rectangulares, negras en su superficie y de color verde oscuro por dentro, originarias de la parte nordoriental del subcontinente. Estas tabletas, que suelen llevar en la superficie una marca grabada en relieve, se envuelven a menudo en celofán oscuro antes de traficar con ellas. Algunas tabletas son cuadradas. El espesor de las tabletas varía de 5 mm a 20 mm; son olorosas y flexibles cuando están recién hechas. Con el tiempo pierden el olor y se vuelven quebradizas. La tableta típica pesa 250 gr, 500 gr o un kilo, pero a veces se encuentran pesos mayores. Las tabletas procedentes de la parte septentrional del subcontinente indio suelen ser mohosas y se deshacen fácilmente.

Otros productos de resina de cannabis procedentes del subcontinente indio son las barritas, con frecuencia en haces, las bolitas (de 1 cm de diámetro), las bolas grandes (de 8 cm de diámetro) y trozos de resina de formas irregulares. Todos estos productos son de color pardo oscuro o negro en su superficie y verde oscuro o castaño oscuro en su interior.

Características químicas: varían tanto como las características físicas. Generalmente, el contenido de ácido cannabinoide es inferior al de la resina de cannabis del Mediterráneo. El contenido de cannabidiol de la variedad en tabletas es inferior al de la resina del Mediterráneo oriental, pero superior al de la resina del Norte de Africa; puede ser bajísimo o nulo en algunos otros tipos. Generalmente el contenido de THV es bajo, pero algunos tipos contienen más THC que cualquier otra resina de cannabis, por lo que alcanzan precios más altos cuando se venden en el tráfico ilícito.

3. Cannabis líquida (aceite de hashís)

La cannabis líquida es un aceite viscoso oscuro de olor característico. Cuando se diluye en disolventes orgánicos, se convierte en una solución de color verde o pardo. El color no indica necesariamente su origen, pues en él pueden influir la madurez de la materia de la planta y el disolvente que se use para preparar la cannabis líquida. Generalmente la cannabis líquida que al diluirse produce una solución de color verde se ha hecho de cannabis herbácea, y la cannabis líquida que al diluirse produce una solución de color castaño se ha hecho de resina de cannabis. La cannabis líquida no puede diluirse en agua; si se añade agua a la cannabis líquida diluida en etanol, por ejemplo, se forma una emulsión.

Alguna cannabis líquida no está concentrada antes de ser objeto de tráfico; este producto tiene la consistencia (y a menudo el olor) de un disolvente orgánico y puede ser de color verde o pardo.

Características químicas: el perfil de cannabinoides es, con una importante diferencia, similar al de la cannabis o al de la resina de cannabis de la que se haya hecho la cannabis líquida. La diferencia es que la cannabis líquida carece de ácidos cannabinoides. Las principales regiones productoras de cannabis líquida son los países productores de resina del Mediterráneo y del subcontinente indio, y las zonas del Caribe productoras de cannabis herbácea. Los perfiles de cannabinoides neutrales de la cannabis líquida procedente de estas regiones se asemejan a los de la resina o los productos herbáceos de las mismas regiones. Sin embargo, los cannabinoides forman una proporción mucho más elevada de esa materia.

Niveles típicos de THC en los tres productos ilícitos derivados de la cannabis:

Hierba:	0,5 - 5%
Resina:	2 - 10%
Cannabis líquida:	10 - 30%

Cabe observar que estos valores sirven sólo de indicación en cuanto a los niveles que probablemente va a hallar el analista forense. Muchas muestras de hierba, resina o cannabis líquida tendrán un contenido de THC fuera de estos límites.

Además de los cannabinoides neutros, la materia de cannabis aprehendida puede contener asimismo, en proporciones muy diferentes, los correspondientes ácidos cannabinoides (véase el capítulo III). Aunque no parece existir una relación sistemática entre el origen del material y el contenido real de ácidos cannabinoides y la composición de éstos, es posible que se pida al químico forense, según la legislación nacional, que demuestre, por separado, la presencia y/o determine el contenido de estos ácidos en la muestra sometida a examen.

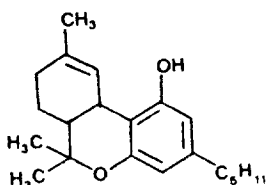
III. COMPONENTES QUIMICOS DE IMPORTANCIA FORENSE

TETRAHIDROCANNABINOL

Puntos de fusión (°C)

THC, ⁹-THC
 (-)- ⁹-transtetrahidrocannabinol

Aceite viscoso



Solubilidad

Agua	insoluble
Etanol	soluble
Cloroformo	soluble
Hexano	soluble

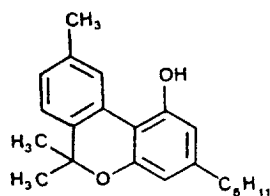
C₂₁H₃₀O₂
 Peso molecular = 314,5

CANNABINOL

Puntos de fusión (°C)

CBN

76 - 77



Solubilidad

Agua	insoluble
Etanol	soluble
Cloformo	soluble
Hexano	soluble

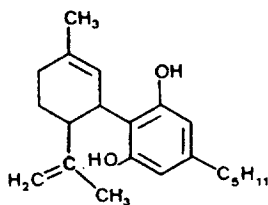
C₂₁H₂₆O₂
 Peso molecular = 310,4

CANNABIDIOL

Puntos de fusión (°C)

CBD

66 - 67



Solubilidad

Agua	insoluble
Etanol	soluble
Clofoformo	soluble
Hexano	soluble

C₂₁H₃₀O₂
 Peso molecular = 314,5

Otros cannabinoides a que se hace referencia en este folleto, junto con sus abreviaturas, son los siguientes:

Acido cannabinólico	CBNA
Acido cannabidiólico*	CBDA
Cannabicromeno	CBCh
Acido cannabicroménico*	CBChA
Cannabigerol	CBG
Acido cannabigerólico*	CBGA
Cannabivarina	CBV
Acido tetrahidrocannabinólico*	THCA
Tetrahidrocannabivarina	THV
Acido tetrahidrocannabivarínico*	THVA

* En la sección que trata de la cromatografía en capa delgada de los productos de la cannabis, se hace referencia a los "ácidos cannabinoides". Esto significa cualquier mezcla de ácidos cannabinoides que pueda hallarse en un producto de la cannabis.

El lector puede consultar los libros y estudios siguientes que tratan extensamente de la química de los cannabinoides:

1. Mechoulam, R., (1973) Marijuana, Academic Press, Nueva York y Londres.
2. Mechoulam, R., Marijuana Chemistry, Science, 168 (1970), págs. 1159-1166.
3. Turner, C.E. y otros, (1980) Constituents of Cannabis sativa L., XVII. A Review of the Natural Constituents, Journal of Natural Products, 43 (1980) págs. 169-234.

IV. ANALISIS DE PRODUCTOS ILICITOS DE LA CANNABIS

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 situaciones en que, por razones jurídicas, las reglas normales de muestreo y de homogeneización no pueden observarse, por ejemplo, cuando el analista desea conservar parte de una muestra como prueba visual. Por otro lado, puede ser necesario realizar análisis químicos separados de dos tabletas de resina de cannabis, en lugar de un solo análisis de una tableta que sea representativa de ambas, porque cada una de ellas haya sido presentada separadamente por el oficial que procedió a la incautación, y el régimen jurídico en que se desenvuelva la labor del analista requiera un resultado específico por cada muestra que deba presentarse ante los tribunales.

Para 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 examinar determinados casos tanto con los oficiales que hayan efectuado la incautación como con el personal de los servicios jurídicos con los que trabaje.

Los productos de la cannabis representan un problema especial para el analista, en cuanto el material que se examina es a menudo de enorme tamaño y las pruebas químicas que se realizan requieren sólo una muy pequeña parte alícuota. La homogeneización no es apropiada ni útil en tales situaciones. El analista debe asegurarse que todo el material incautado es una droga fiscalizada. Para el análisis de productos de la cannabis nunca se insistirá demasiado en la importancia del examen visual, que en cambio tiene una función muy secundaria en el examen de las drogas en forma de polvo.

La forma en que más a menudo se presenta la cannabis es como una materia herbácea suelta, si bien en los últimos años ha habido una fuerte tendencia al tráfico de la hierba de cannabis en tabletas comprimidas. Como en una tableta puede comprimirse una cantidad mucho mayor de cannabis, hay mucho menos peligro de detección al traficar. Las tabletas comprimidas son también mucho más fáciles de envolver, por ejemplo, con una cinta gruesa que impida sentir el olor característico de la cannabis. Además, la cannabis comprimida puede moldearse para que encaje exactamente en los envases de estaño para uso comercial, a los que se coloca entonces una etiqueta para dar la impresión de que contienen comestibles de comercio lícito.

La resina de cannabis se presenta casi siempre en forma de tabletas. En el tráfico ilícito en gran escala las tabletas van invariablemente envueltas. Los materiales que se utilizan para envolver la resina de cannabis pueden aplicarse en el lugar de fabricación (por ejemplo la resina del Mediterráneo oriental) o con anterioridad a su tráfico (por ejemplo, la resina del Asia sudoccidental). Para el tráfico, pueden añadirse otros materiales a los que

tradicionalmente se usan con la resina producida en un determinado país. Casi siempre se trata de bolsas de plástico o de cinta adhesiva gruesa de plástico, o una combinación de ambos. La cannabis aprehendida puede venir en un sólo recipiente o paquete o venir distribuida en un cierto número de paquetes.

1. Muestro de materiales contenidos en un solo paquete

La situación más sencilla en un muestreo es aquella en que el material que se debe analizar está contenido en un solo paquete; en el caso de la cannabis la mayoría de las veces el material será hierba suelta. El material debe ser extraído del recipiente o envoltura, colocado en una bolsa limpia de plástico transparente y se debe apuntar el peso neto. A continuación el analista debe comprobar visualmente con sumo cuidado que todo el material es una sustancia fiscalizada en los términos de la legislación en cuyo marco trabaja el analista. Puede entonces continuar la secuencia de las pruebas químicas. La homogeneización de la sustancia necesita efectuarse sólo en ciertas situaciones, por ejemplo, si el analista desea cuantificar un determinado cannabinoide. La forma más sencilla de homogeneizar la cannabis (en forma de hierba o de resina) es haciéndola pasar por una serie de tamices de mallas cada vez más finas. Al cuantificar los cannabinoides, debe tenerse cuidado de relacionar el contenido encontrado con la cantidad total de materia vegetal de cannabis que se tomó originalmente para el análisis, es decir, el contenido no debe expresarse como un porcentaje del peso del material cernido final del que se practicó la extracción.

2. Muestreo de materiales contenidos en más de un paquete

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

1. Si todos los paquetes contienen una sustancia sospechosa de ser o de contener cannabis, y/o
2. Si uno o más paquetes contienen material diferente al de la mayoría de los paquetes. El indicador más sencillo es el aspecto físico del material. Si el contenido de uno o más paquetes difiere claramente, éstos deberán separarse y someterse a sendos análisis.

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 redondeada al número entero inmediato superior.

Si se descubre mediante el examen visual que el material de todos los paquetes es el mismo, el analista puede entonces optar por uno de estos dos sistemas:

- 1) se puede mezclar el contenido de varios paquetes y la mezcla puede entonces homogeneizarse;

- 2) o bien, pueden realizarse ensayos químicos del contenido de varios paquetes.

Cuando en los diferentes paquetes se han identificado distintos tipos de sustancias debe procederse entonces con cada subgrupo de forma idéntica a la señalada anteriormente.

Los errores de muestreo por métodos cuantitativos se reducen si grandes partes alícuotas del material se someten a una dilución secuencial mediante el disolvente extractor. Si el costo del disolvente no constituye un problema y si la separación de una parte alícuota grande no reduce de forma significativa el tamaño de la prueba que se debe presentar al tribunal, deberá optarse por este sistema. No obstante, cuando se utilizan grandes cantidades de material en la primera extracción, puede ser necesario añadir el disolvente mediante una pipeta para evitar errores a causa de la presencia de sustancias insolubles.

3. Muestreo de materiales que contienen grandes agregados

Si los agregados pueden reducirse fácilmente a partículas pequeñas, ese será entonces el procedimiento que habrá de seguirse y el muestreo se hará ateniéndose a las indicaciones formuladas anteriormente. En el caso de que el material no pueda disgregarse fácilmente, se deberá tomar al azar muestras de, por lo menos, dos partes distintas del material. En el caso de grandes bloques comprimidos de materia herbácea, el analista debe asegurarse de que el bloque está totalmente compuesto de cannabis, lo que se logra rompiendo el bloque.

B. Examen físico

1. Características macroscópicas

Muchas de las características morfológicas de una determinada planta de cannabis dependen en gran medida de factores ambientales tales como el espacio para que crezca, la cantidad de luz, los nutrientes y el agua, y de factores hereditarios como la variedad de la semilla de la que procede. Existe una enorme variación de tamaño y forma. La altura que normalmente alcanza la mayoría de las plantas es de uno a tres metros (cuando se las cultiva a campo abierto pueden crecer hasta los seis metros en un período de cuatro a seis meses), pero algunas variedades producen plantas que raras veces tienen más de un metro de altura. La planta es erecta y el alcance de las ramas, al igual que la altura de la planta, depende tanto de factores ambientales como hereditarios. Las ramas laterales crecen opuestas en el tallo principal. Sin embargo, en los extremos de la planta, la ordenación de las hojas cambia de decusada a alterna (véase la figura 1).

Las hojas compuestas varían de tamaño según el volumen total de la planta. Cada hoja tiene un peciolo fino de hasta seis centímetros de largo. Las hojuelas de tres a 11 (generalmente, cinco, siete o nueve) son delgadas y de textura suave, estrechas y lanceoladas. La hojuela tiene una base angosta en forma de cuña, un filo toscamente parecido a los dientes de sierra y una extremidad puntiaguda larguísima; los dientes son aguzados y apuntan hacia la extremidad de la hojuela; los nervios se extienden oblicuamente desde la nervadura central hasta las extremidades de los dientes. Las hojuelas de una hoja tienen diferentes tamaños, llegando las más grandes hasta los 15 cm. Están cubiertas de filamentos glandulares (tricomas) en la superficie superior, siendo estos filamentos más profusos y largos por el lado inferior.

Las flores son muy abundantes y son masculinas (estaminadas) o femeninas (pistiladas). La mayoría de las plantas son dioicas, pero algunas son monoicas. Las plantas femeninas son muy frondosas hasta la parte superior, en tanto que las masculinas tienen las hojas de las inflorescencias más escasas y mucho más separadas.

La inflorescencia masculina está ordenada irregularmente, muy ramificada y con muchas flores que sobresalen de entre las hojas, con ramas floridas de hasta 18 cm de largo; está cubierta por unos filamentos diminutos y erizados.

Las inflorescencias femeninas no sobresalen más allá de las hojas. Son compactas, cortas y contienen menos flores. La bráctea o cáliz cubre completamente el ovario y forma una vaina tubular de base abombada de unos 2 mm de largo, de la que salen dos estigmas. Esta vaina está cubierta por filamentos delgados y glándulas circulares de peciolo corto o sin peciolo.



Figura 1. Cannabis sativa L.

- 1 vástago florido
- 2 inflorescencia masculina
- 3 flor masculina
- 4 inflorescencia femenina
- 5 flor femenina
- 6 fruto
- 7 semilla

2. Características microscópicas

Los abundantísimos tricomas presentes en la superficie de las sumidades floridas y con fruto de la cannabis son los rasgos más característicos que se encuentran en el examen microscópico de los productos de la cannabis (figura 2).

El diagrama ilustra estos diversos rasgos, del modo siguiente:

- A. Filamentos no glandulares (tricomas), numerosos, unicelulares, rígidos, curvos, de ápice delgado y puntiagudo y de base abultada, que suelen contener un cistolito, pero a menudo están rotos, y el cistolito suelto (especialmente en la resina de cannabis) (TR. NC y TR.C.).
- B. Los tricomas glandulares se presentan en tres formas:
 - glándulas sesiles de tallo unicelular (generalmente en la epidermis inferior) (G.S.)
 - forma de tallo largo multicelular (generalmente en las bractéolas que circundan a las flores femeninas) (TR.G.M.).

La cabeza de ambas formas es globular y consta de ocho a 16 células. Está a menudo desprendida (especialmente en la resina de cannabis).

- pequeño tricoma glandular, de tallo unicelular (P.TR.G.)

Nota

El examen macroscópico y microscópico a veces es inadecuado para el examen forense de algunos productos de la cannabis. Ni los rasgos microscópicos ni los macroscópicos de la cannabis herbácea estarán presentes en la cannabis líquida. El examen forense de la cannabis líquida se basa esencialmente en técnicas químicas, si bien el químico forense debe conocer la apariencia y propiedades físicas de la cannabis líquida. Las características macroscópicas y, en menor grado, las características microscópicas de los productos de la cannabis se destruyen también cuando se ahúma el material. Generalmente, el análisis químico dará resultados más útiles en el examen de los productos de la cannabis que se han ahumado, aunque en ocasiones aún se dispone de pruebas microscópicas.

Si se desean descripciones pormenorizadas de las características morfológicas y microscópicas de la cannabis, el lector puede consultar las obras y estudios siguientes:

1. Graham, J.D.P. (1976) Cannabis and Health. Academic Press, Nueva York y Londres.
2. Nahas, G.G. (1973) Marihuana - Deceptive Weed. Raven Press, Nueva York.
3. Mechoulam, R. (1973) Marihuana. Academic Press. Nueva York y Londres.
4. Quimby, M.W. y otros, (1973). Econ. Bot. 27, págs. 117 - 127.
5. Jackson, B.P. y D.W. Snowdon (1968) Powdered Vegetable Drugs. Churchill, Londres.

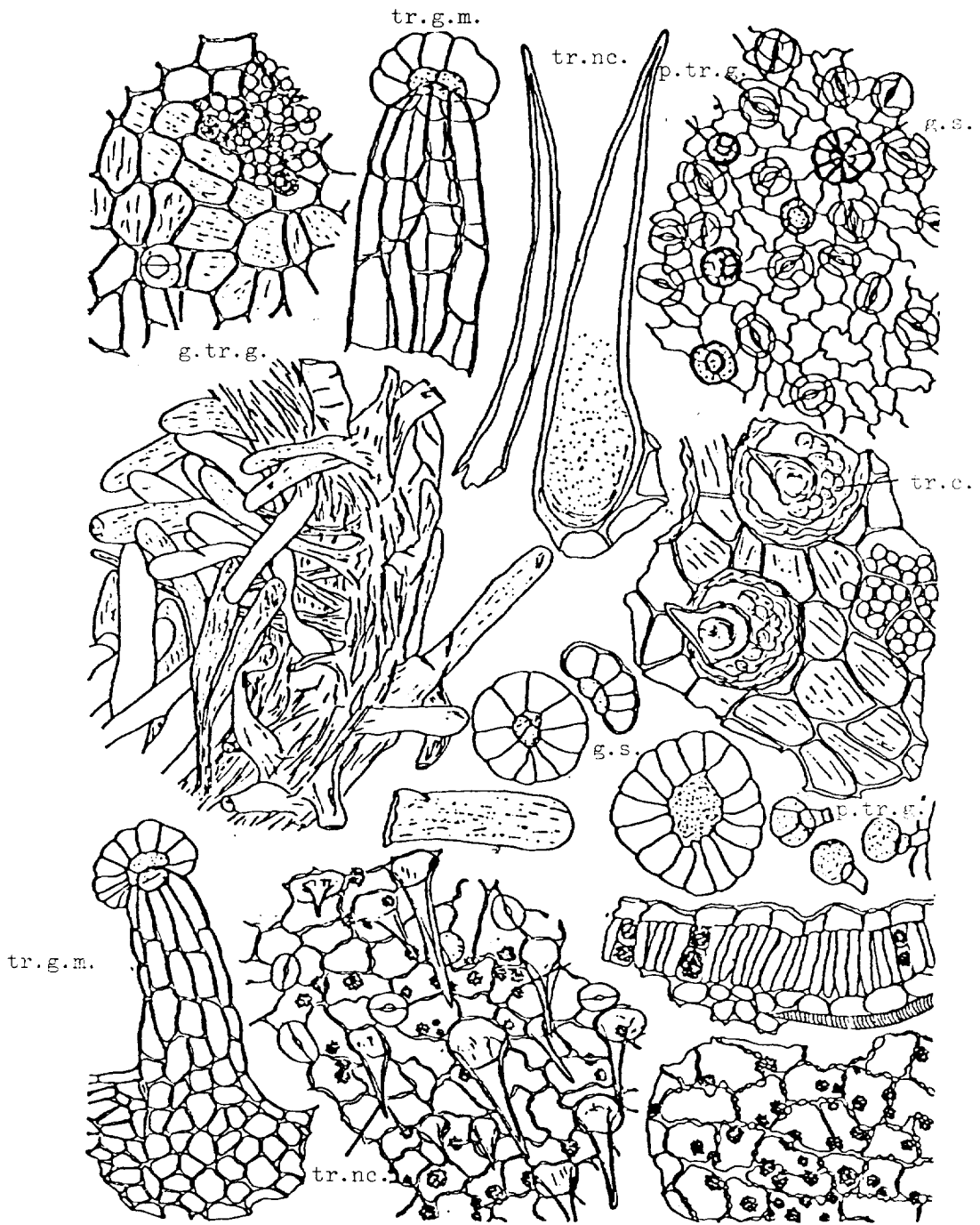


Figura 2. Características microscópicas de la cannabis

- P.TR.G. pequeños tricomas glandulares
- TR.G.M. tricomas glandulares multicelulares y ordenados en multiserias
- G.S. glándulas sesiles
- TR.NC. tricomas no cistolíticos
- TR.C. tricomas cistolíticos

C. Ensayos presuntivos

1. Ensayos del color

Hay que subrayar que, en los ensayos del color, los resultados positivos sólo son indicios presuntivos de la posible presencia de productos de la cannabis o de algún material que contenga productos de la cannabis. Algunos otros materiales a menudo inocuos y no sometidos a fiscalización con arreglo a las distintas legislaciones nacionales o tratados internacionales, pueden dar colores análogos con los reactivos del ensayo. 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.

a) Ensayo con la sal de azul sólido B

METODO 1. (prueba efectuada con papel de filtro)

REACTIVOS

Reactivo sólido. Sal de azul sólido B (cloruro de dioanisidinetetrazolio). El reactivo sólido se hace diluyendo sal de azul sólido B en sulfato anhidro de sodio (1:100).

Solución 1. Eter de petróleo.

Solución 2. Una solución acuosa del 10% peso/peso de bicarbonato de sodio.

METODO

Dóblense dos papeles de filtro por la cuarta parte y ábranse parcialmente de manera que formen un embudo; colóquese una pequeña cantidad de planta de cannabis pulverizada o de resina o una pequeñísima gota de cannabis líquida en el centro del papel superior; añádanse dos gotas de la solución 1 dejando que el líquido penetre en el papel de filtro inferior; sepárense los dos papeles de filtro, desechando el superior y dejando que se seque el papel de filtro inferior; añádase una pequeñísima cantidad del reactor sólido al papel de filtro inferior y añádanse luego dos gotas de la solución 2.

RESULTADOS

Una mancha de color rojopúrpura en el centro del papel de filtro es indicio de un producto de la cannabis; este color es una combinación de los colores de los diferentes cannabinoides que son los principales componentes de la cannabis: THC = rojo, CBN = púrpura, CBD = anaranjado.

NOTAS

1. Cuando está recién hecho, el reactivo sólido será casi blanco o de color amarillo muy pálido. Debe almacenarse en un lugar frío y seco, dentro de una bolsa de plástico; un lugar ideal es el congelador de una nevera. Si se descompone este reactivo, toma un color gris y debe desecharse.

2. Algunas autoridades pretenden que la sal de azul sólido B es un carcinógeno potencial; las mismas autoridades afirman que el tinte de azul sólido BB es menos sospechoso como carcinógeno potencial. El tinte de azul sólido BB da igualmente resultados aceptables en uno u otro de los dos métodos y, en lo posible, debe ser el tinte utilizado en los ensayos del color a que se sometan los productos de la cannabis.

3. Para aumentar la especificidad de este ensayo, es importante usar una cantidad de material sospechoso no mayor que el tamaño de la cabeza de un fósforo y utilizar en el ensayo dos papeles de filtro. El papel de filtro superior, que se desecha antes de que se inicie la producción de color, impide que los tintes extraídos conjuntamente que se hallen presentes en otros materiales vegetales lleguen al papel de filtro inferior y produzcan una reacción positiva falsa.

4. La solución del 10% de bicarbonato de sodio (solución 2) produce las condiciones alcalinas que aumentan la intensidad de la reacción de color entre los cannabinoides y la sal de azul sólido B.

METODO 2. (Ensayo realizado en un tubo de ensayo)

Reactivo sólido. El reactivo sólido se obtiene diluyendo sal de azul sólido B en sulfato anhidro de sodio (2.5:100).

Solución 1. Cloroformo.

Solución 2. Solución acuosa de hidróxido de sodio de 0,1N.

METODO

Colóquese una pequeña cantidad del material sospechoso (como se describe en el ensayo 1) en un tubo de ensayo; añádase una pequeñísima cantidad del reactivo sólido y 1 ml de la solución 1; agítese el tubo de ensayo durante un minuto; añádase 1 ml de solución 2; agítese el tubo de ensayo durante dos minutos; déjese en reposo el tubo de ensayo durante dos minutos.

RESULTADOS

La aplicación de colores, según se describe anteriormente en el ensayo 1, en la capa inferior líquida de cloroformo, indica un resultado positivo. Debe hacerse caso omiso del color de la capa superior.

NOTAS

Véanse las notas 1 y 2 relativas al ensayo de la sal de azul sólido B cuando se realiza con papeles de filtro.

b) El ensayo inmediato Duquenois (ensayo Duquenois-Levine)

REACTIVOS

Solución 1. Se disuelven cinco gotas de acetaldehído y 0,4 g de vainillina en 20 ml de etanol al 95%.

Solución 2. Acido clorhídrico concentrado.

Solución 3. Cloroformo.

NOTA

La solución 1 debe almacenarse en un lugar fresco y oscuro y desecharse si toma un acentuado color amarillo.

METODO

Colóquese una pequeña cantidad del material sospechoso en un tubo de ensayo y agítese con 2 ml de solución 1 durante un minuto; añádanse 2 ml de solución 2 y agítese la mezcla y luego déjese ésta en reposo durante 10 minutos; si aparece un color, añádanse 2 ml de solución 3.

RESULTADOS

Si la capa inferior (cloroformo) se vuelve de color violeta, esto indica la presencia de un producto de la cannabis.

D. Cromatografía en capa delgada (CCD)

DISOLVENTES DE DESARROLLO

SISTEMA A	Eter de petróleo	80
	Eter de dietilo	20
SISTEMA B	Ciclohexano	52
	Eter de diisopropilo	40
	Dietilamina	8
SISTEMA C (para ácidos cannabinoides)	N-hexano	70
	Dioxano	20
	Metanol	10

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

Muestras de cannabis ilícita

1. Debe observarse que si la única finalidad del examen de CCD es cualitativa (por ejemplo, para confirmar las pruebas microscópicas o macroscópicas de que el material sospechoso es cannabis) no es necesario hacer la homogeneización del material herbáceo. Las partes de la planta de la cannabis que contienen los niveles más altos de cannabinoides (por ejemplo, las sumidades floridas y con fruto, y las hojas) pueden seleccionarse para la extracción y el examen de CCD. Apenas hay cannabinoides en las semillas y en los principales tallos de la planta.

El material (hierba o resina) debe reducirse a pequeños agregados homogeneizados y pulverizados para asegurar una extracción lo más rápida y completa posible. En cuanto a la resina de cannabis y a la cannabis líquida, las publicaciones científicas forenses indican que estos materiales son esencialmente homogéneos por el modo en que se producen.

2. Las cantidades adecuadas para la extracción con miras al análisis de CCD son aproximadamente 1 g de cannabis herbácea, 0,5 g de resina y 0,1 g de cannabis líquida. El plan de extracción debe concebirse de modo que produzca soluciones finales en intensidades de 0,5 mg de tetrahidrocannabinol por ml. En el capítulo II, "Descripción de los productos derivados de la cannabis ilícita", figuraban los niveles típicos de tetrahidrocannabinol presentes en los materiales.

3. Como los cannabinoides son fácilmente solubles en la mayoría de los disolventes orgánicos, el éter de petróleo, el n-hexano, el tolueno, el cloroformo, el metanol o el metanol:cloroformo 9:1 son igualmente disolventes aptos para su extracción. Conviene advertir, no obstante, que el éter de petróleo y el n-hexano darán un extracto relativamente limpio pero extraerán sólo los cannabinoides neutros cuantitativamente, mientras que los demás solventes y sus combinaciones dan asimismo una extracción cuantitativa de los ácidos cannabinoides. La selección final del disolvente extractor se dejará al criterio del químico forense (véase también el capítulo IV E), "Cromatografía en fase gas-líquido").

4. No debe ser necesario filtrar las soluciones preparadas únicamente para la CCD o la cromatografía en fase gas-líquido; la aplicación del líquido sobrenadante producirá resultados fiables.

Un procedimiento adecuado de extracción es el siguiente:

Se extrae 1 g de cannabis herbácea (ó 0,25 g de resina de cannabis ó 0,1 g de cannabis líquida) con 20 ml de acetona (o n-hexano, o tolueno, o cloroformo, o metanol, o metanol:cloroformo 9:1) durante 30 minutos a la temperatura ambiente agitándolo, o durante 15 minutos en un baño ultrasonoro. Se filtra el extracto y se ajusta su volumen a 25 ml lavando el papel de filtro y el residuo con el disolvente extractor.

Soluciones tipo

Las soluciones tipo de cannabinoides deben prepararse de modo que tengan 0,5 mg por ml de metanol (o en la solución tipo interna) y deben almacenarse en un lugar oscuro y frío, preferiblemente en una nevera.

VISUALIZACION

Las placas deben secarse antes de proceder al examen visual. El secado puede efectuarse a la temperatura ambiente o, para mayor rapidez, mediante el empleo de aire caliente. En este último caso, hay que tener cuidado de que ningún componente de interés esté descompuesto.

Método de examen visual

Reactivo pulverizado: Solución de sal de azul sólido B.

Puede prepararse de dos maneras:

Método 1: Se disuelven unos 50 mg de sal de azul sólido B en 20 ml de 0,1 N NaOH

Método 2: Se disuelven unos 50 mg de sal de azul sólido B en 1 ml de agua y 20 ml de metanol; para facilitar la solución, se puede disolver primero el material en 1 ml de agua a la cual se añaden los 20 ml de metanol.

N.B.- Ya se use un método u otro, la solución de sal de azul sólido B debe estar recién hecha. Una frecuencia aceptable es una vez al día.

Nota

Se remite al lector a la advertencia sobre riesgos para la salud que se hizo acerca de la sal de azul sólido B en la sección de ensayos del color.

Es importante, para un buen desarrollo del color, que la placa de CCD esté alcalinizada. Un modo de conseguirlo consiste en disolver el tinte de azul sólido B en hidróxido de sodio 0,1N (véase el método 1). Otro modo consiste en pulverizar dietilamina sobre la placa de CCD antes de la solución de sal de azul sólido B.

De igual importancia en el campo forense es la capacidad de almacenamiento de la placa visualizada, a menudo durante años, una vez desarrollada. El mejor medio de conservarla consiste en someter la placa a una tercera y última pulverización, esta vez con la misma solución de dietilamina usada inicialmente en la placa. Así, pues, el orden de sucesión de la pulverización es el siguiente:

Dietilamina
Solución de sal de azul sólido B
Dietilamina

Las placas se secan con aire caliente o, si se requieren para otro día, a la temperatura ambiente. Por último, se sellan las placas dentro de bolsas de plástico transparente. Estas placas tardan mucho tiempo en oscurecerse.

RESULTADOS

Valores $R_f \times 100^*$:

<u>Compuesto</u>	<u>SISTEMA DE DESARROLLO</u>		
	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>
CBCh	24	17	-
CBV	27	24	-
CBN	27	28	68
THV	32	35	-
THC	32	39	73
CBD	36	44	62
THCN	e	e	28
CBDA	e	e	20

e) = estría, no mancha, producida en la placa de CCD.

* Estos valores están sujetos a variaciones que dependen de las condiciones del laboratorio (por ejemplo, temperatura, humedad, corrientes de aire) y otros parámetros (por ejemplo, antigüedad y calidad de los materiales utilizados).

E. Cromatografía en fase de gas-líquido (CGL)

1. Técnica de la columna rellena

Detector	Detector de ionización de llama (hidrógeno, 30 ml por minuto, aire 300 a 450 ml por minuto).
Columna	6 pies (ó 2 m), d.i., 2 a 4 mm.
Relleno	3% OV-17, o SE-30, o OV-1
Gas portador	Nitrógeno a 30 ml por minuto.
Condiciones de trabajo	Temperatura del inyector: 270°C. Temperatura del horno: entre isoterma de 240 a 260°C (según el relleno) Temperatura del detector: 300°C.
Patrón interno	n-tetradecano, o n-docosano, u otro alqueno adecuado; otros patrones empleados con frecuencia: androsterona-4-ene-3,17-dion, dibencilftalato o colestano.

Preparación de las soluciones para la cromatografía en fase de gas-líquido

METODO 1. - Sin derivación

Para el análisis de cromatografía en fase gas-líquido o con la técnica de la columna rellena un método utilizado comúnmente consiste en inyectar 5 ul de solución, que dará por resultado 1 ul de THC inyectado en la columna. En el plan de dilución se debe tomar en cuenta el probable contenido de cannabinoides del material inicial (véase el capítulo II). Un plan típico sería el siguiente:

Muestras de cannabis ilícita

Para el análisis cualitativo de cromatografía en fase de gas-líquido pueden usarse directamente los extractos preparados para la CCD. Unos volúmenes adecuados de inyección pueden ser 1 a 5 ul, según la concentración real de THC que se registre en la muestra.

Para cuantificar los principales cannabinoides neutros se toman del mismo extracto 10 ul alícuotas. Después de vaporizar el disolvente en el vacío, se vuelve a disolver el residuo en 10 ml de metanol:cloroformo (1:1) que contenga 2 mg/ml de n-tetradecano como patrón interno.

Volumen de inyección: 1-5 ul.

Soluciones patrón - Son las mismas que para la CCD.

Otro método es el siguiente:

Se extrae 0,5 g de hierba de cannabis (0,1 g de resina de cannabis; 0,05 g de cannabis líquida) con 5 ml de acetona que contenga 0,5 mg/ml de n-docosano en un matraz taponado, a la temperatura ambiente, agitando

frecuentemente el matraz durante 30 minutos. Se inyecta 1 ul del sobrenadante claro. Este extracto puede usarse también para el análisis de CCD y de CLAR.

METODO 2 - con derivación

Muestras de cannabis ilícita

Pueden usarse 2 ml alícuotas de los extractos preparados para los análisis de CCD o de cromatografía en fase de gas-líquido sin derivación (método 1) para proceder a la sililación. He aquí algunos agentes de derivación utilizados a menudo:

N,O-bis(trimetilsilil)acetamida (BSA)
N-metil-N-trimetilsilitrifluoroacetamida (MSTFA)
N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA).

Otro método es el siguiente:

Se extrae 1 g de hierba de cannabis (0,25 g de resina de cannabis ó 0,1 g de cannabis líquida) con 40 ml de metanol:cloroformo (9:1) y se emplea agitación ultrasónica durante 15 minutos. Se retira la cannabis mediante filtración. Se toman 4 ml alícuotas del extracto filtrado y se extrae el disolvente al vacío hasta que se produzca una pasta. Se añade 1,5 ml de piridina anhidra que contenga 1 mg por ml de androsterona-4-ene-3,17-dion y se somete la solución a la agitación ultrasónica hasta que la pasta haya vuelto a disolverse. Se añade 0,5 ml de N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) con 1% de trimetilclorosilano. La mezcla de la reacción se calienta durante 10 minutos a 80°C. Se inyecta 2,5 ul de la mezcla de la reacción.

Soluciones patrón

Se tratan de la misma manera 2 ml alícuotas de los patrones de cannabinoides.

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

$$C_{x\%} = \frac{\text{Con. patrón}}{C_{\text{mtra.}}} \times \frac{A_x/A_{\text{patr.int. en mtra. crom.}}}{A_{\text{r.patr.}}/A_{\text{patr.int.en patr. crom.}}} \times 100$$

donde:

$C_{x\%}$ = contenido del componente x en la muestra (p/v%)

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

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

A_x = zona de valores máximos para la sustancia x obtenida durante la cromatografía de la muestra.

$A_{\text{r.patr.}}$ = zona de valores máximos de la sustancia x obtenida durante la cromatografía de la solución patrón.

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

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

Si se desean otros sistemas de cromatografía en fase de gas-líquido de columna rellena véase:

1. J. Pharm. Sci. 63 (1974) págs. 1872-1876; 64 (1975) págs. 810-814.
2. J. Pharm. Pharmacol. 33 (1981) págs. 369-372.
3. J. Chromatography 129 (1976) págs. 347-354.
4. Pharm. Acta Helv. 59 (1984) págs. 247-259.
5. Bull. Narcotics 37 (1985) págs. 87-94.

2. Técnica de columna capilar

Detector	Detector de ionización de llama
Columna	OV-1 - capilar de sílice fundida ligada químicamente 10 m por 0,52 mm d.i.
Espesor de la película	1 μ m
Gas portador	Helio
Caudal	2 ml por minuto
Técnica de inyección	Sistema doblado-desdoblado
Temperaturas de trabajo:	Inyector: 290°C Horno: 240°C Detector: 290°C

Preparación de las soluciones para la cromatografía

Véase la parte que trata de la preparación de las soluciones para la cromatografía en capa delgada (CCD) o la cromatografía en fase gaseosa (CFG) en la sección de la columna rellena; en el sistema de la columna capilar del análisis por CFG de los productos de cannabis pueden utilizarse tanto los métodos sin derivación como los con derivación.

Para otros sistemas de columna capilar de la cromatografía en fase gaseosa, véanse:

1. Anal. Chem. 48 (1976) págs. 24 a 29.
2. Bol. Estupefacientes, Vol. XXXIII No. 2 (1981) págs. 53 a 63.
3. Forensic Sci. Int. 24 (1984) págs. 37 a 42.
4. Acta Univ. Palack. Olomouc. 97 (1981) págs. 157 a 166; 108 (1985) págs. 29 a 38.
5. Pharm. Acta Helv. 59 (1984) págs. 247 a 259.

F. Cromatografía en fase líquida de alto rendimiento (CLAR)

1. Técnica isocrática

METODO 1

Condiciones de trabajo

Columna	250 mm por 4,6 mm d.i.
Material de relleno	Octadecila-sílice (carga media de C ₁₈ sobre Partisil 5)
Fase móvil	0,02 N H ₂ SO ₄ 20% v/v Metanol 80% v/v
Caudal	2,0 ml por minuto
Detección	UV (rayos ultravioleta) a 220 nm o UV (rayos ultravioleta) a 254 nm
Volumen de inyección	10 µl con una jeringa o un inyector de bucle
Cuantificación	por zonas de valores máximos, método del patrón interno
Patrón interno	ftalato de di-n-octilo.

Preparación de soluciones para la cromatografía

Muestras de cannabis ilícita

Se evaporan in vacuo partes alícuotas correspondientes a 200 mg de hierba de cannabis, 50 mg de resina de cannabis ó 20 mg de cannabis líquida de cualquiera de los extractos preparados para análisis por CCD o CFG y el residuo se vuelve a disolver en 1 ml de metanol:cloroformo (9:1) que contenga 0,8% (g/v) de ftalato de di-n-octilo como patrón interno.

Soluciones patrón

Utilizando soluciones madres de cannabinoides se prepara una serie de soluciones de calibración que vayan desde 0,1 a 10 µg por µl. A cada solución normal se le añaden 13 µg por µl de ftalato de di-n-octilo.

METODO 2

Condiciones de trabajo

Columna	150 mm por 4,6 mm d.i.
Material de relleno	3 µm de octadecil-sílice (Spherisorb S3 ODS 2) de grado apto para cromatografía en fase líquida de alto rendimiento
Fase móvil	Metanol 85 Agua 14,2 Acido acético 0,8

Caudal	1,5 ml por minuto
Temperatura de trabajo	temperatura ambiente
Detección	UV a 230 μm
Volumen de inyección	2 a 3 μl
Cuantificación	por zonas de valores máximos, métodos normales internos o externos

Preparación de soluciones para la cromatografía

Muestras de cannabis ilícita

Véase el Método 1.

Otro sistema es el siguiente:

Se procede a la extracción durante 15 minutos (agitación ultrasónica), de 150 a 200 mg de hierba de cannabis, 50 a 100 mg de resina de cannabis ó 5 a 10 mg de cannabis líquida, en una botella con tapa atornillada de una capacidad de 2,5 ml con sello PTFE (politetrafluoretileno) termoestable. El solvente de extracción es 1 ml de metanol:cloroformo (9:1) que contiene 0,8% (g/v) de ftalato de di-n-octilo como patrón interno. La mezcla se centrifuga durante 5 minutos a 3500 r.p.m. y el líquido sobrenadante se utiliza para análisis.

Soluciones patrón

Utilizando soluciones madres de cannabinoides se prepara una serie de soluciones de calibración que vayan desde 0,1 a 10 μg por μl . A cada solución normal se le añaden 13 μg por μl de ftalato de di-n-octilo. Se inyectan 5 μl de cada concentración.

RESULTADOS

El orden de elución es el siguiente (los tiempos de retención están expresados en minutos)*:

<u>COMPUESTOS</u>	<u>METODO 1</u>	<u>METODO 2</u>
OBV	--	4,0
CBD	2,5	4,1
CBG	2,5	4,1
THV	--	4,6
CBDA	3,5	4,6
CBGA	5,0	5,5
CBN	5,0	5,7
THC	6,0	6,4
THVA	--	7,7
CBCh	8,0	7,7
CBNA	12,0	--
THCA	14,0	11,4
CBChA	17,0	12,7
Patrón interno	19,0	17,6

* Estos valores están sujetos a variaciones que dependen de las condiciones de laboratorio (por ejemplo, temperatura, humedad, corrientes de aire) y otros parámetros (por ejemplo, antigüedad y calidad de los materiales utilizados).

2. Técnica de gradiente

METODO 1

Condiciones de trabajo

Columna	250 mm x 4,6 d.i.
Material de relleno	10 μ m de Ultrasil-Octil de grado apto para cromatografía en fase líquida de alto rendimiento
Fase móvil	A. Acetonitrilo B. Agua (desionizada y pasada a través de un filtro de 0,45 μ m)
Programa de gradiente	1) Al iniciar el análisis cromatográfico: 25% de A, 75% de B. 2) 36 minutos de gradiente lineal. 3) Composición final: 85% de A, 15% de B.
Caudal	2,0 ml por minuto
Detección	UV a 254 nm
Temperatura del horno	40°C
Volumen de inyección	20 μ l
Cuantificación	por zonas de valores máximos, método del patrón interno
Patrón interno	ftalato de di-n-octilo.

Preparación de soluciones para la cromatografía

Véase la sección anterior: Técnica isocrática, Método 1.

METODO 2

Condiciones de trabajo

Columna

En este método se utilizan dos columnas en condiciones de trabajo idénticas.

Columna 1)	150 mm x 4,6 mm d.i.
Material de relleno	3 μ m de Spherisorb S3 ODS2 de grado apto para cromatografía en fase líquida de alto rendimiento
Columna 2)	250 mm x 5,0 mm d.i.
Material de relleno	5 μ m de Spherisorb S5 ODS de grado apto para cromatografía en fase líquida de alto rendimiento

Fase móvil:	A. Metanol B. 0,02N H ₂ SO ₄
-------------	---

Programa del disolvente: 1) Al iniciar el análisis cromatográfico:
80% de A, 20% de B.
2) 20 minutos de gradiente lineal.
3) Composición final: 90% de A, 10% de B.

Caudal: 1,5 ml por minuto

Temperatura de trabajo: Ambiente

Detección: UV a 230 nm

Volumen de inyección: .2 a 3 ul

Preparación de soluciones para la cromatografía

Véase la sección anterior: Técnica isocrática, Método 2.

RESULTADOS

El perfil de elución es el siguiente (los tiempos de retención están expresados en minutos)*:

CBV	7,4
CBD	7,8
CBG	8,3
THV	8,6
CBDA	9,4
CBGA	11,8
CBN	12,0
THC	13,7
THVA	15,6
CBCh	16,9
THCA	21,5
CBChA	23,1

* Estos valores están sujetos a variaciones que dependen de las condiciones de laboratorio (por ejemplo, temperatura, humedad, corrientes de aire) y otros parámetros (por ejemplo, antigüedad y calidad de los materiales utilizados).

Para otras técnicas de cromatografía en fase líquida de alto rendimiento, véanse:

1. Pharm. Acta Helv. 59 (1984) págs. 247 a 259.
2. Forensic Sci. Int. 21 (1983) págs. 129 a 137.

