

**ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE PERFILES DE SOLVENTES OCLUIDOS EN  
MUESTRAS DE COCAÍNA**

**CLARA NATHALIA CELIS MELO**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2015**

**ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE PERFILES DE SOLVENTES OCLUIDOS EN  
MUESTRAS DE COCAÍNA**

**CLARA NATHALIA CELIS MELO**

**Trabajo de investigación para optar al título de  
Magister en Química**

**Directora:  
ELENA E. STASHENKO, Química, Ph.D.**

**Co-director:  
JAIRO RENÉ MARTÍNEZ, Químico, Ph.D.**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2015**

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero dar gracias a Dios en primer lugar por haber dispuesto todas las cosas y permitirme el tiempo y los recursos para alcanzar este nuevo logro, por todos los dones y capacidades que nos ha brindado y por la fortaleza para continuar aun cuando las fuerzas flaqueaban.

A mi familia que me ha acompañado y motivado para seguir adelante en todas mis aspiraciones, por su cariño y cuidado, por todas sus enseñanzas, a mis papás, mis hermanos y mi esposo.

A mis profesores, Elena Stashenko y Jairo René Martínez, por sus aportes y correcciones, que me han servido para aprender, mejorar, y crecer en lo personal y en lo profesional.

Al Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, por el apoyo y la confianza brindados; muy especialmente a mis colegas de los laboratorios de Regional Nororiente por su colaboración y acompañamiento.

## CONTENIDO

Pág

INTRODUCCIÓN.....	17
1. ATECEDENTES.....	19
1.1. PANORAMA MUNDIAL PRODUCCIÓN DE COCA .....	19
1.2. EXTRACCIÓN DE COCAÍNA A PARTIR DE HOJA DE COCA .....	19
1.3. PERFIL DE IMPUREZAS EN DROGAS INCAUTADAS.....	21
1.3.1. Clasificación de drogas.....	21
1.3.2. Clasificación de impurezas .....	23
1.3.3. Técnicas analíticas.....	23
1.3.3.1. Cromatografía de gases .....	24
1.3.3.2. Cromatografía líquida .....	25
1.3.3.3. Espectrometría de masas de relaciones isotópicas .....	26
1.3.3.4. Espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo.....	26
1.3.4. Análisis estadístico .....	26
1.3.5. Convenios internacionales y aplicaciones.....	27
1.4. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN DE <i>HEADSPACE</i> .....	27
1.4.1. <i>Headspace</i> estático .....	28
1.4.2. Microextracción en fase sólida .....	30
1.4.2.1. Aplicaciones de microextracción en fase sólida a las ciencias forenses.....	34
1.5. MÉTODOS ESTADÍSTICOS.....	35
1.5.1. Análisis de componentes principales.....	36
1.5.2. <i>K-Nearest Neighbors</i> .....	37
1.5.3. Parámetros de similitud y disimilitud .....	38
2. METODOLOGÍA .....	41
2.1. SELECCIÓN DE MUESTRAS .....	41
2.2. ANÁLISIS DE SOLVENTES RESIDUALES MEDIANTE <i>HEADSPACE</i> ESTÁTICO .....	42
2.2.1. Optimización de variables de extracción .....	42
2.2.2. Figuras de mérito .....	42
2.2.3. Preparación de muestras .....	43
2.2.4. Análisis instrumental.....	44
2.3. ANÁLISIS DE SOLVENTES RESIDUALES MEDIANTE MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA .....	45
2.3.1. Evaluación de variables de extracción .....	45
2.3.2. Figuras de mérito .....	45
2.3.3. Preparación de muestras y microextracción en fase sólida .....	45
2.3.4. Análisis instrumental.....	46
2.4. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA.....	47
2.4.1. Matriz de resultados .....	47
2.4.2. Pre-tratamientos.....	47
2.4.3. Reducción de variables .....	48
2.4.4. Análisis de componentes principales.....	49

2.4.5.	Cálculo de similitudes y disimilitudes .....	49
2.4.6.	Análisis de los <i>K Nearest Neighbors</i> .....	49
3.	ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	50
3.1.	SELECCIÓN DE MUESTRAS .....	50
3.2.	SELECCIÓN DE COLUMNA CROMATOGRÁFICA.....	52
3.2.1.	<i>Headspace</i> estático .....	52
3.2.2.	Microextracción en fase sólida .....	54
3.3.	OPTIMIZACIÓN/SELECCIÓN DE VARIABLES.....	54
3.3.1.	<i>Headspace</i> estático .....	54
3.3.2.	Microextracción en fase sólida .....	55
3.4.	FIGURAS DE MÉRITO .....	57
3.5.	PERFILES CROMATOGRÁFICOS.....	61
3.6.	TRATAMIENTO DE DATOS <i>HEADSPACE</i> ESTÁTICO .....	63
3.6.1.	Pre-tratamientos y análisis de componentes principales.....	64
3.6.2.	Selección de variables.....	67
3.6.3.	Similitudes y disimilitudes.....	74
3.6.4.	Análisis de <i>K-nearest neighbors</i> .....	76
3.7.	TRATAMIENTO DE DATOS MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA.....	77
3.7.1.	Selección de variables.....	78
3.7.2.	Pre-tratamientos y análisis de componentes principales.....	78
3.7.3.	Análisis de similitudes y disimilitudes.....	82
3.7.4.	Análisis de <i>K-nearest neighbors</i> .....	84
4.	CONCLUSIONES.....	87
5.	RECOMENDACIONES.....	88
	BIBLIOGRAFÍA.....	89
	ANEXOS .....	98

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Tipos de fibras comercialmente disponibles para SPME.....	33
<b>Tabla 2.</b> Muestras de cocaína recibidas en el laboratorio de estupeficientes, Regional Nororiente, Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses en la ciudad de Bucaramanga durante 2012. ....	42
<b>Tabla 3.</b> Solventes analizados mediante HS-GC-FID.....	43
<b>Tabla 4.</b> Ecuaciones correspondientes a pre-tratamientos aplicados.....	48
<b>Tabla 5.</b> Número de muestras seleccionadas de incautaciones realizadas en cada municipio del área de cobertura.....	51
<b>Tabla 6.</b> Características de columnas evaluadas en análisis HS-GC-FID.....	52
<b>Tabla 7.</b> Características de columna evaluada en análisis SPME-GC-FID. ....	54
<b>Tabla 8.</b> Diseño experimental para optimización de variables en análisis HS-GC-FID. ....	54
<b>Tabla 9.</b> Diseño experimental para selección de variables en análisis SPME-GC-FID. ....	56
<b>Tabla 10.</b> Parámetros de desempeño del método para detección de solventes mediante HS-GC-FID.....	59
<b>Tabla 11.</b> Número de variables significativas seleccionadas para cada pre-tratamiento aplicado.....	68
<b>Tabla 12.</b> Límites de clasificación obtenidos para dos criterios (lote común y departamento común) con once pre-tratamientos y seis algoritmos de similitud (o disimilitud). ....	85

## LISTA DE FIGURAS

Pág.

<b>Figura 1.</b> Diagrama del proceso de producción de pasta de coca a partir de hoja de coca. ....	20
<b>Figura 2.</b> Número de publicaciones científicas sobre perfilación de impurezas, reportadas entre 1970-2014. Base de datos Scopus (Elsevier, B.V., 2014), palabras clave: “ <i>impurities</i> ”, “ <i>drugs</i> ”; Ecuación de búsqueda: <i>Article, title, abstract</i> . Fecha de consulta: 25 de agosto de 2014. ....	21
<b>Figura 3.</b> Representación del equilibrio en <i>headspace</i> estático. ....	28
<b>Figura 4.</b> Posiciones del émbolo y la fibra en <i>holder</i> de SPME.....	31
<b>Figura 5.</b> Número de publicaciones científicas sobre microextracción en fase sólida, reportadas entre 2000-2014. Base de datos Scopus (Elsevier, B.V., 2014), palabras clave: “ <i>Solid phase microextraction</i> ”; Ecuación de búsqueda: <i>Article, title, abstract</i> . Fecha de consulta: 24 de agosto de 2014. ....	32
<b>Figura 6.</b> Número de publicaciones científicas sobre microextracción en fase sólida, reportadas entre 1996-2014. Base de datos Scopus (Elsevier, B.V., 2014), palabras clave: “ <i>Solid phase microextraction</i> ” AND “ <i>forensic sciences</i> ”; Ecuación de búsqueda: <i>Article, title, abstract</i> . Fecha de consulta: 25 de agosto de 2014. ...	35
<b>Figura 7.</b> Número de publicaciones científicas sobre microextracción en fase sólida, reportadas entre 2000-2014. Base de datos Scopus (Elsevier, B.V., 2014), palabras clave: “ <i>Solid phase microextraction</i> ” AND “ <i>illicit drug</i> ”; Ecuación de búsqueda: <i>Article, title, abstract</i> . Fecha de consulta: 24 de agosto de 2014. ....	36
<b>Figura 8.</b> Esquema de construcción de componentes principales .....	37
<b>Figura 9.</b> Esquema de aplicación del método <i>K-NN</i> . A. para $K=5$ y B. para $K=9$ . 38	38
<b>Figura 10.</b> Área de cobertura del Laboratorio de Estupefacientes de la Regional Nororiente.....	41
<b>Figura 11.</b> Cromatógrafo de gases <i>Hewlett-Packard 6890 Plus</i> con detector de ionización en llama (Palo Alto, California, EE.UU.) acoplado a un automuestreador de volátiles <i>Triplussampler</i> , equipado con un puerto de inyección <i>split/splitless</i> . Lugar: Laboratorio de Toxicología, Regional Nororiente, INMLyCF. Bucaramanga, el 29 de agosto de 2014. ....	44
<b>Figura 12.</b> Condiciones de incubación, absorción y desorción aplicadas durante microextracción en fase sólida.....	46
<b>Figura 13.</b> Cromatógrafo de gases <i>Hewlett-Packard 5890 Series II</i> con detector de ionización en llama (Palo Alto, California, EE.UU.), equipado con un puerto de inyección <i>split/splitless</i> . Lugar: Laboratorio J. J. Thomson, CENIVAM, UIS- Bucaramanga, el 11 de septiembre de 2014. ....	47

<b>Figura 14.</b> Representación porcentual de muestras de cocaína incautadas en la región y remitidas al Laboratorio de Estupefacientes del INMLyCF.....	50
<b>Figura 15.</b> Resultados cromatográficos de muestra de gasolina obtenidos con columna: A. HP-blood Alcohol y B. DB-1. ....	52
<b>Figura 16.</b> Resultados cromatográficos de solventes residuales en muestras de cocaína obtenidos con columna: A. HP-blood Alcohol y B.DB-1. ....	53
<b>Figura 17.</b> Representación gráfica del modelo matemático con mejor ajuste a los datos experimentales de optimización de variables.....	55
<b>Figura 18.</b> Resultados experimentales para selección de condiciones de SPME.	56
<b>Figura 19.</b> Perfiles cromatográficos de solventes individuales.....	58
<b>Figura 20.</b> Trompeta de Horwitz.....	60
<b>Figura 21.</b> Rangos de coeficientes de variación para ensayos de precisión mediante SPME-GC-FID. ....	60
<b>Figura 22.</b> Perfiles cromatográficos de solventes residuales presentes en muestras de cocaína del municipio de Piedecuesta, Santander (A) y del municipio de Ocaña, Norte de Santander (B), obtenidos mediante cromatografía de gases con auto-muestreador de volátiles (HS). DB-1 (60 m). <i>Split</i> 5:1. ....	61
<b>Figura 23.</b> Perfiles cromatográficos de solventes residuales presentes en muestras de cocaína del municipio de Piedecuesta, Santander (A) y del municipio de Ocaña, Norte de Santander (B), obtenidos mediante cromatografía de gases con microextracción en fase sólida (SPME). DB-Wax (60 m). <i>Split</i> 30:1.....	62
<b>Figura 24.</b> Perfiles cromatográficos de solventes residuales presentes, en los que se puede detectar el perfil de hidrocarburos de la gasolina (A) y el perfil de solventes tipo <i>thinner</i> (B), los perfiles cromatográficos presentados en líneas azules corresponden a gasolina (A) y <i>thinner</i> (B), obtenidos mediante cromatografía de gases con microextracción en fase sólida (SPME). DB-WAX (60 m). <i>Split</i> 30:1.....	63
<b>Figura 25.</b> Variables cuyas varianzas representan mayores aportes a la variabilidad total en análisis de HS-GC-FID (Varianza total acumulada = 95%)....	64
<b>Figura 26.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por análisis de componentes principales aplicado a 132 muestras y 116 variables. Varianza acumulada de 44,9% para componentes principales 1 y 2.....	65
<b>Figura 27.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado al pre-tratamiento de normalización. Varianza acumulada de 44,8% para componentes principales 1 y 2.....	66
<b>Figura 28.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado al pre-tratamiento de logaritmicación. Varianza acumulada de 43,7% para componentes principales 1 y 2.....	66

<b>Figura 29.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado al pre-tratamiento de raíz 4. Varianza acumulada de 47,9% para componentes principales 1 y 2. ....	67
<b>Figura 30.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de normalización. Varianza acumulada de 45,6% para componentes principales 1 y 2. ....	69
<b>Figura 31.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de estandarización. Varianza acumulada de 52,2% para componentes principales 1 y 2. ....	69
<b>Figura 32.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de logaritmo. Varianza acumulada de 56,6% para componentes principales 1 y 2. ....	70
<b>Figura 33.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de raíz 4. Varianza acumulada de 60,7% para componentes principales 1 y 2. ....	70
<b>Figura 34.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de P+E. Varianza acumulada de 51,5% para componentes principales 1 y 2. ....	71
<b>Figura 35.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de E+P. Varianza acumulada de 45,6% para componentes principales 1 y 2. ....	71
<b>Figura 36.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de P+RAIZ 4. Varianza acumulada de 57,6% para componentes principales 1 y 2. ....	72
<b>Figura 37.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de E+LOG. Varianza acumulada de 57,6% para componentes principales 1 y 2. ....	72
<b>Figura 38.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de E+RAIZ 4. Varianza acumulada de 59,5% para componentes principales 1 y 2. ....	73
<b>Figura 39.</b> Aporte de variables significativas en pre-tratamiento RAIZ 4 a los componentes 1 y 2 del PCA.....	74
<b>Figura 40.</b> Comparación de porcentajes de aciertos y desaciertos con base en distancias Manhattan para pre-tratamientos aplicados a solventes residuales en muestras de cocaína. Criterio de clasificación: A. Departamento de Norte de Santander; B. Lote común. ....	75
<b>Figura 41.</b> Comparación de porcentajes de aciertos y desaciertos con base en coeficientes de correlación de Pearson para pre-tratamientos aplicados a	

solventes residuales en muestras de cocaína. Criterio de clasificación: A. Departamento de Norte de Santander; B. Lote común. ....	76
<b>Figura 42.</b> Comparación de porcentaje de aciertos en predicciones obtenidas para tres valores de $K$ a partir de análisis de $K$ - $NN$ aplicado a los once pre-tratamientos en análisis de HS-GC-FID. ....	77
<b>Figura 43.</b> Variables cuyas varianzas representan mayores aportes a la variabilidad total en análisis de SPME-GC-FID (Varianza total acumulada = 70%). ....	78
<b>Figura 44.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de normalización. Varianza acumulada de 47,8% para componentes principales 1 y 2. ....	79
<b>Figura 45.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de raíz 4. Varianza acumulada de 44,4% para componentes principales 1 y 2. ....	79
<b>Figura 46.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de logaritmo. Varianza acumulada de 34,1% para componentes principales 1 y 2. ....	80
<b>Figura 47.</b> Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de P+E. Varianza acumulada de 47,8% para componentes principales 1 y 2. ....	80
<b>Figura 48.</b> Aporte de variables significativas en pre-tratamiento RAIZ 4 a los componentes 1 y 2 del PCA.....	81
<b>Figura 49.</b> Comparación de porcentajes de aciertos y desaciertos con base en distancias Manhattan para pre-tratamientos aplicados a solventes residuales extraídos mediante SPME. Criterio de clasificación A. Departamento de Norte de Santander. B. Lote común. ....	83
<b>Figura 50.</b> Comparación de porcentajes de aciertos y desaciertos con base en coeficientes de correlación de Pearson para pre-tratamientos aplicados a solventes residuales extraídos mediante SPME. Criterio de clasificación A. Departamento de Norte de Santander. B. Lote común. ....	84
<b>Figura 51.</b> Comparación de porcentaje de aciertos en predicciones obtenidas para tres valores de $K$ a partir de análisis de $K$ - $NN$ aplicado a los once pre-tratamientos en análisis de SPME-GC-FID. ....	86

## LISTA DE ANEXOS

<b>ANEXO A.</b> Curvas de calibración de solventes analizados mediante HS-GC-FID. .....	99
<b>ANEXO B.</b> Comparación de porcentajes de aciertos y desaciertos con base en similitudes y disimilitudes para pre-tratamientos aplicados a solventes residuales en muestras de cocaína.....	108
<b>ANEXO C.</b> Datos <i>headspace</i> estático.....	(Archivo adjunto)
<b>ANEXO D.</b> Distancias <i>headspace</i> estático .....	(Archivo adjunto)
<b>ANEXO E.</b> Similitud <i>headspace</i> estático.....	(Archivo adjunto)
<b>ANEXO F.</b> <i>K</i> -NN <i>headspace</i> estático.....	(Archivo adjunto)
<b>ANEXO G.</b> Datos microextracción en fase sólida.....	(Archivo adjunto)
<b>ANEXO H.</b> Distancias microextracción en fase sólida... ..	(Archivo adjunto)
<b>ANEXO I.</b> Similitud microextracción en fase sólida.....	(Archivo adjunto)
<b>ANEXO J.</b> <i>K</i> -NN microextracción en fase sólida .....	(Archivo adjunto)

## ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

DVB	<i>Divinylbenzene</i> (Divinilbenceno)
FID	<i>Flame Ionization Detector</i> (Detector de ionización en llama)
GC	<i>Gas Chromatography</i> (Cromatografía de gases)
HCA	<i>Hierarchical Cluster Analysis</i> (Análisis jerárquico de <i>cluster</i> )
HS	<i>Headspace</i> (Fase vapor, o espacio de cabeza)
INMLyCF	Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses
ISTD	<i>Internal Standard</i> (Patrón interno)
K-NN	<i>K-Nearest Neighbors</i> (K vecinos más cercanos)
MS	<i>Mass Spectrometry</i> (Espectrometría de masas)
PA	<i>Polyacrilate</i> (Poliacrilato)
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> (Análisis de componentes principales)
PDMS	<i>Polydimethylsiloxane</i> (Polidimetilsiloxano)
PEG	<i>Polyethylene glycol</i> (Polietilenglicol)
RMSE	<i>Root mean square deviation</i> (Error cuadrático medio)
SPME	<i>Solid-Phase Microextraction</i> (Microextracción en fase sólida)
$t_{RR}$	Tiempo de retención relativo al solvente de referencia
UNODC	<i>United Nations Office on Drugs and Crime</i> (Oficina de las Naciones Unidas contra la droga y el delito)

## RESUMEN

**TÍTULO:** ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO DE PERFILES DE SOLVENTES RESIDUALES EN MUESTRAS DE COCAÍNA\*

**AUTOR:** Clara Nathalia Celis Melo\*\*

**PALABRAS CLAVE:** Perfil, solventes residuales, headspace, cocaína, quimiometría.

### DESCRIPCIÓN:

El mercado mundial de cocaína ha presentado variaciones significativas durante los últimos tres años; la demanda se ha desplazado desde los países de Norteamérica y Europa hacia América Latina, Asia y Oceanía, ocasionando innumerables problemas sociales, penales y de salud pública. A pesar de la disminución nacional de área de coca cultivada, el departamento de Norte de Santander es uno de los departamentos con registros crecientes en área cultivada, motivo por el cual se hace necesario articular herramientas técnico-científicas en el control de los procesos relacionados con la obtención del alcaloide.

El presente estudio desarrolló el análisis quimiométrico de solventes residuales en muestras de cocaína incautadas en la región Nororiente del territorio Colombiano mediante la aplicación de dos técnicas de extracción, *headspace* estático y microextracción en fase sólida, acopladas a cromatografía de gases con detector de ionización en llama.

El análisis estadístico requirió una etapa inicial de selección de variables, con posterior evaluación de métodos de pre-tratamiento de datos: normalización, estandarización, logaritmicación, raíz cuarta y combinaciones de ellas, a cada una de las matrices obtenidas se aplicó análisis de componentes principales con el propósito de identificar posibles grupos de muestras semejantes. El grado de discriminación de las muestras se analizó con base en las distancias euclidiana, Manhattan y Chebyshev, porcentaje de discrepancia, Coeficiente de correlación e índice de disimilitud de Pearson. Finalmente, un análisis de  $k$  vecinos más cercanos, basado en los parámetros de disimilitud con mejor desempeño predictivo, permitió identificar los mayores porcentajes de aciertos (>90%) para el conjunto de validación.

El presente estudio de perfilación permitió identificar una correlación entre la composición de solventes residuales y el departamento de procedencia, de tal manera que las muestras de cocaína procesadas en el departamento de Norte de Santander, fueron diferenciadas de las muestras procedentes de otros departamentos de la región.

---

\* Trabajo de investigación.

\*\* Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Maestría en Química. Director: Elena E. Stashenko. Codirector: Jairo R. Martínez

## ABSTRACT

**TITLE:** CHEMOMETRIC ANALYSIS OF PROFILES OF OCLUDED SOLVENTS IN SAMPLES OF COCAINE\*

**AUTHOR:** Clara Nathalia Celis Melo\*\*

**KEYWORDS:** Profile, residual solvent, headspace, cocaine, chemometric.

**DESCRIPTION:**

The global cocaine market has shown significant changes over the last three years; the demand has shifted from North America and Europe to Latin America, Asia and Oceania, causing many social problems, criminal and public health. Despite of the national decline of coca cultivated area, the department of Norte de Santander is one of the departments with increasing records of cultivated area, for this reason is necessary to articulate technical and scientific tools in controlling processes related with the obtaining of alkaloid.

This study developed the chemometric analysis of residual solvents in samples of cocaine seized in Northeast region of Colombia through applying two techniques of extraction: static headspace and solid phase micro extraction, coupled to gas chromatography with flame ionization detector.

Statistical analysis required an initial step of selecting variables, with further evaluation of pretreatment data methods: normalization, standardization, logarithm, fourth root and their combinations, to each one of the obtained matrices principal component analysis was applied in order to identify possible groups of similar samples. The grade of discrimination of samples was analyzed based on the Euclidean, Manhattan and Chevyshev distances, percentage of discrepancy, Pearson correlation coefficient, and dissimilarity index. Finally, an analysis of k-nearest neighbors, based on the parameters of dissimilarity with better predictive performance, identified the highest percentage of correct answers (> 90%) for the validation set.

This profiling study identified a correlation between the composition of residual solvents and department of origin, so that samples of cocaine processed in the department of Norte de Santander, were differentiated from sample of other departments in the region.

---

\* Work of investigation.

\*\*Faculty Science, School in Chemistry, Master in Chemistry. Director: Elena E. Stashenko. Codirector: Jairo R. Martínez.

## INTRODUCCIÓN

Con el propósito de reducir el tráfico de estupefacientes, las legislaciones nacional e internacional relacionadas con la prohibición de la producción, fabricación, exportación e importación de sustancias estupefacientes, han promovido el desarrollo de métodos tácticos y estratégicos que posibiliten la disminución del narcotráfico a diferentes niveles. Para tal fin, las entidades policiales y militares han implementado procedimientos de inteligencia y control, a través de los cuales logran identificar redes de producción, tráfico, distribución y consumo de estupefacientes. Sin embargo, los métodos implementados han demostrado ser insuficientes para el control de sustancias ilícitas, motivo por el cual, se hace necesario articular herramientas técnico-científicas en el control de los procesos relacionados con la obtención de drogas. Una de las herramientas de articulación con mejores resultados comprobados, ha sido el estudio de perfiles de impurezas en estupefacientes, los cuales son aplicados fundamentalmente con dos propósitos: el primero de ellos, diseñar operaciones tácticas que permitan identificar redes de distribución o rutas de tráfico; el segundo, orientar operaciones estratégicas mediante las cuales se identifiquen rutas de procesamiento, insumos y reactivos empleados.

El control sobre la producción, fabricación, posesión o uso de estupefacientes establecidos bajo la Ley 30 de 1986 y normas complementarias, ha promovido el desarrollo de métodos tácticos y estratégicos que faciliten el cumplimiento de las respectivas disposiciones legales. Para tal fin, las entidades policiales y militares han implementado procedimientos de inteligencia y control a través de los cuales logran identificar redes de producción, tráfico, distribución y consumo de estupefacientes. Los esfuerzos se ven principalmente enfocados hacia procesos relacionados con procesamiento de cocaína; esto debido a que Bolivia, Perú y Colombia concentran, en gran medida, la producción mundial del alcaloide. Por su parte, la producción nacional de cocaína en 2008 correspondió al 50% de la producción mundial. Los métodos implementados en la región han demostrado ser insuficientes, motivo por el cual se hace necesario articular herramientas técnico-científicas en el control de los procesos relacionados con la obtención del alcaloide.

De acuerdo con lo previamente descrito, el presente trabajo buscó desarrollar una metodología analítica confiable por medio de la cual se evalúen los perfiles de disolventes residuales en muestras de clorhidrato de cocaína. Se usaron las técnicas de *headspace* (estático y microextracción en fase sólida) acopladas a cromatografía de gases. Los procesos de perfilación de impurezas han mostrado resultados altamente satisfactorios en la lucha contra las drogas; sin embargo, el éxito de la metodología depende fundamentalmente de la evaluación estadística aplicada al conjunto de datos obtenidos. Para este estudio se planteó evaluar el efecto de diversos métodos estadísticos sobre la efectividad de la perfilación de impurezas; para tal fin, se aplicaron métodos genéricos de pre-tratamiento de

datos. Adicionalmente, se emplearon métodos multivariados de reconocimiento de patrón. De igual forma, se evaluó la determinación de parámetros de similitud y disimilitud entre perfiles obtenidos. Una vez completadas las determinaciones estadísticas, fue posible identificar cuál de las metodologías aplicadas ofreció mayor confiabilidad para la interpretación de resultados.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1. PANORAMA MUNDIAL PRODUCCIÓN DE COCA

El mercado mundial de cocaína ha presentado variaciones significativas durante los últimos tres años; la demanda se ha desplazado desde los países de Norteamérica y Europa hacia Oceanía, Asia y América Latina; esta última presenta las mayores prevalencias en consumo de cocaína y anfetaminas, ocasionando innumerables problemas de tipo social, penal y de salud pública. La producción mundial de cocaína ha continuado en descenso desde 2008, principalmente debido a los procesos de erradicación y fumigación adelantados en Colombia, mediante los cuales el área cultivada estimada disminuyó de 61000 ha en 2011 a 48000 ha en 2013 (UNODC, 2014). Sin embargo, a pesar de la disminución nacional de área de coca cultivada, los departamentos de Nariño, Norte de Santander y Putumayo concentran cerca del 56% del cultivo nacional; el departamento de Norte de Santander es uno de los siete (Nariño, Putumayo, Norte de Santander, Guaviare, Caquetá, Meta y Amazonas) con registros crecientes en área cultivada representada por el 41% (1829 hectáreas) con respecto a las estimaciones realizadas en 2012. La región del Catatumbo registró en 2013, por tercer año consecutivo, un incremento en área cultivada, a pesar de los procesos de erradicación y fumigación implementados en la zona (Oficina de las Naciones Unidas Contra la Droga y el Delito, y Gobierno de Colombia, 2014).

Las estimaciones establecidas por la Comunidad Andina, han determinado un rendimiento anual de la hoja de coca en el Catatumbo de 5500 kg/ha/año y la producción de 2,22 kg de pasta de coca a partir de una tonelada métrica de hoja de coca (UNODC y Gobierno de Colombia, 2014).

### 1.2. EXTRACCIÓN DE COCAÍNA A PARTIR DE HOJA DE COCA

El género *Erythroxylum* (*Erythroxylaceae*) cuenta con cerca de 230 especies, de las cuales 190 se cultivan en el neotrópico; las comúnmente denominadas plantas de coca se encuentran en este grupo de especies vegetales. Las especies históricamente cultivadas con propósitos ilícitos son *Erythroxylum coca* Lam. Variedad *ipadu* Plowman, *Erythroxylum novogranatense* variedad *truxillense* (Rusby) Plowman (Galindo y Fernández, 2009) y *Erythroxylum novogranatense* variedad *novogranatense* (Morris) Hieron (Casale, Mallette y Jones, 2014).

Una evaluación taxonómica de las muestras cultivadas en la región observó diferencias entre los especímenes históricos preservados en la colección botánica del Herbario Nacional Colombiano y las especies cultivadas actualmente. Esto debido a los procesos de selección aplicados a las especies con el propósito de mejorar los rendimientos de cocaína y aumentar la resistencia a los herbicidas aplicados mediante aspersión de cultivos (Galindo y Fernández, 2010).

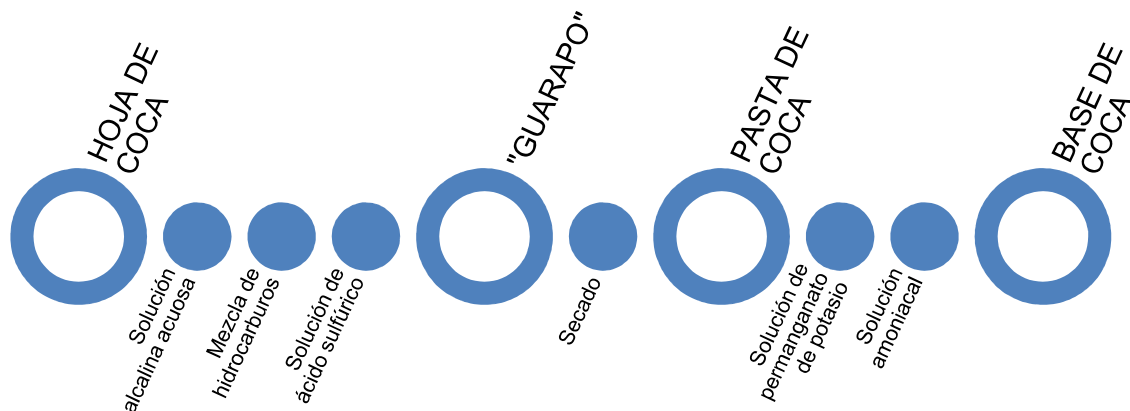
Los rendimientos de producción de cocaína dependen fundamentalmente de las características agroclimáticas del cultivo de coca y, del proceso de extracción y purificación aplicado. Los cultivadores en Colombia acostumbran extraer el alcaloide a partir de la hoja de coca fresca, contrario a lo reportado en Bolivia y Perú, donde el proceso inicia con el secado del material vegetal (UNODC y Minjusticia, 2011).

En el proceso de purificación es posible diferenciar claramente productos intermedios (véase Figura 1); el primero de ellos es la pasta básica, también conocida como pasta de coca; la hoja inicialmente picada es mezclada con cemento, cal o sal para ganado; a esta mezcla se adiciona solución acuosa de soda cáustica y urea; durante esta etapa se adecúan las condiciones del medio con el propósito de garantizar la presencia de la forma básica del alcaloide. Seguidamente se adiciona una mezcla de solventes de extracción (inmiscibles con agua); la gasolina y el ACPM son los más comúnmente aplicados, en esta etapa. Esta mezcla es ubicada en un recipiente que facilite la agitación.

La fase orgánica separada es mezclada con una solución de ácido sulfúrico. Allí el sulfato de cocaína (soluble en agua), se separa de la mezcla de hidrocarburos debido a la diferencia de densidades de los solventes. Esta solución es conocida como "guarapo". Una vez se alcaliniza la mezcla, es posible precipitar la cocaína en su forma básica, la cual después de un proceso de secado, se denomina pasta de coca.

En el caso que en la misma "cocina" se desee obtener la base de cocaína, se adiciona al "guarapo" una solución de permanganato de potasio, el cual actúa como agente oxidante de impurezas orgánicas y alcaloidales, esta mezcla es alcalinizada y secada para obtener la base de cocaína.

**Figura 1.** Diagrama del proceso de producción de pasta de coca a partir de hoja de coca.

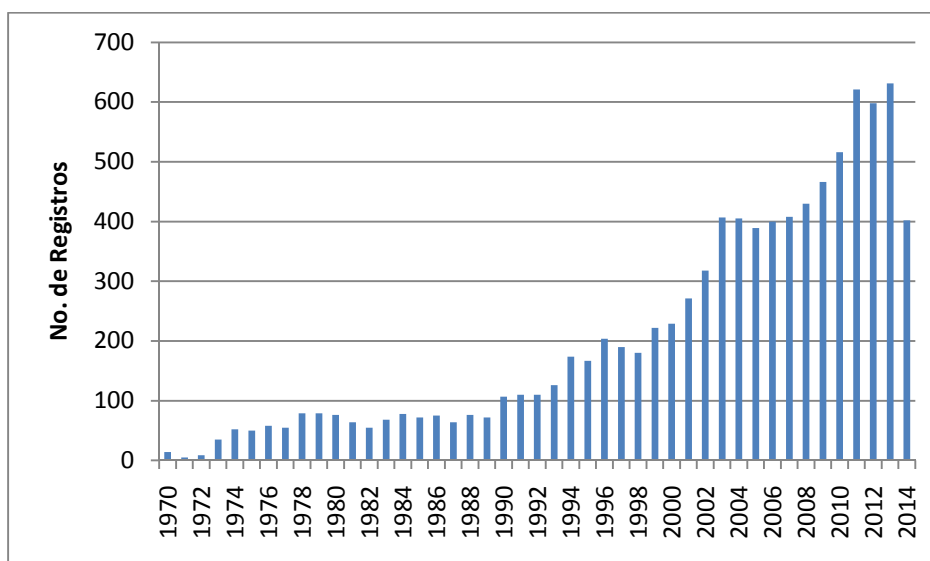


### 1.3. PERFIL DE IMPUREZAS EN DROGAS INCAUTADAS

Se define el “perfil” de una droga, como el conjunto de características físicas o químicas que se extraen de una muestra, el cual podría ser utilizado contra el uso ilegal de la misma (UNODC, 2001). Estas características pueden determinarse mediante ensayos de caracterización de drogas y estudios de perfiles de impurezas; los primeros buscan establecer los componentes mayoritarios presentes en la muestra, incluyendo la concentración del principio activo, en tanto que, los perfiles de impurezas tiene por objetivo identificar y/o cuantificar los componentes presentes a nivel de trazas (UNODC, 2005).

Los estudios de perfiles de impurezas han demostrado un alto grado de aceptación en la comunidad científica, hecho que se refleja en el creciente número de publicaciones relacionadas con el tema desde 1970, tal como se observa en la Figura 2.

**Figura 2.** Número de publicaciones científicas sobre perfilación de impurezas, reportadas entre 1970-2014. Base de datos Scopus (Elsevier, B.V., 2014), palabras clave: “*impurities*”, “*drugs*”; Ecuación de búsqueda: *Article, title, abstract*. Fecha de consulta: 25 de agosto de 2014.



#### 1.3.1. Clasificación de drogas

Las principales drogas distribuidas a nivel mundial pueden clasificarse en tres categorías dependiendo del tipo de procesamiento aplicado para su obtención (UNODC, 2001), a saber: drogas naturales (marihuana, cocaína, morfina), drogas semisintéticas (heroína) y drogas sintéticas (anfetaminas).

Todas las drogas contienen impurezas asociadas a la fuente y al tratamiento aplicado, es decir, cada proceso al que se someten aporta impurezas que pueden ser correlacionadas con la historia de la droga. La variedad de la especie cultivada y las condiciones agronómicas del terreno aportan impurezas que posteriormente podrían brindar información acerca del origen del cultivo. Un ejemplo de estas aplicaciones fue reportado por Ehleringer y sus colaboradores, quienes confirmaron la correlación entre el origen de cultivo y las relaciones de isótopos estables de carbono y nitrógeno de muestras de heroína y cocaína incautadas en Estados Unidos (Ehleringer, *et al.*, 1999). Por su parte, Casale *et al.* lograron identificar quince nuevos cultígenos de planta de coca cultivados con propósitos ilícitos en Colombia, los cuales resultaron de la selección de *Erythroxylum coca* var. *ipadu*, *Erythroxylum novogranatense* var. *novogranatense* y *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense*. Esto, mediante la caracterización química de los alcaloides presentes en plantas de coca (Casale, Mallette y Jones, 2014).

En el caso de los estudios de perfilación derivados de muestras de vegetal tipo *Cannabis* y de hachís los resultados no son generalizados: estudios reportados en 1978 por Hood (Hood y Barry, 1978) y en 1985 por Osman y sus colaboradores (Osman, Thorpe y Caddy, 1985) determinaron que los análisis de compuestos volátiles de `marihuana` y `hachís` no permitían identificar correlación entre la composición química de las muestras y el origen de las mismas. Sin embargo, estudios posteriores han demostrado lo contrario. Cadola *et al.* demostraron resultados confiables para la correlación entre dos muestras de `hachís` incautadas en Suecia en operativos diferentes, con base en el perfil de composición química de las muestras obtenido mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Cadola, Broséus y Esseiva, 2013); por su parte Brenneisen y Elsohly mediante la evaluación de perfiles cromatográficos y espectrométricos lograron correlacionar la composición química de las muestras con su origen, y adicionalmente evaluaron el contenido de aditivos en las muestra (fenciclidina), la presencia de quimiotipos diferenciados y la potencia del delta-9-tetrahidrocannabinol (Brenneisen y Elsohly, 1988).

Durante el proceso de extracción o purificación de las sustancias de origen natural es posible co-extraer otros metabolitos, los cuales contribuirán al perfil de impurezas de la droga, y a la formación de sub-productos no deseados en posteriores etapas de síntesis. En el caso de la cocaína dichos metabolitos fueron caracterizados por Ensing y Hummelen (Ensing y Hummelen, 1991) e identificados como: ester metílico de ecgonina, ecgonina y benzoilecgonina; adicionalmente, establecieron que compuestos tales como norcocaína, ester metílico de norecgonina y acetilcocaína se forman durante las reacciones de oxidación e hidrólisis aplicadas en etapas posteriores de purificación de la cocaína (Chiarotti y Fucci, 1999).

En el caso de las drogas sintéticas, los estudios de perfilación se han aplicado en dos escenarios distintos: el primero de ellos se enfoca en las características físicas

como color, diámetro, espesor y logo de las tabletas (Camargo, *et al.*, 2012); el segundo evalúa la composición química de las muestras, ya que la ruta de síntesis aplicada, los precursores empleados, la pureza de los reactivos y del precursor, entre otros, determinan el conjunto de impurezas presentes en las muestras finales. Los análisis de perfiles de impurezas aplicados a sustancias tipo anfetaminas (Lambrechts y Rasmussen, 1984) se desarrollan, fundamentalmente, con el propósito de corroborar si dos muestras provienen del mismo lote de síntesis y si han sido sintetizadas bajo la misma ruta: Reacción de Leuckart, aminación reductiva de benzilmetilcetona, vía nitroestireno, Nagai, Emde, Birch, Wacker u oxidación perácida (Anderson, *et al.*, 2007; Stojanovska, *et al.*, 2013); cada una de las posibles rutas sintéticas aporta al producto final una serie de impurezas características.

### **1.3.2. Clasificación de impurezas**

El conjunto de impurezas posiblemente contenidas en las drogas incautadas puede ser clasificado en: componentes naturales co-extraídos, sub-productos de reacciones químicas, solventes residuales, agentes adulterantes y diluyentes (Lociciro, *et al.*, 2007).

El objetivo del estudio de perfiles de impurezas es determinar el tipo de sustancias a evaluar y la técnica analítica más apropiada, *e.g.*, si el propósito es identificar el origen de cultivo de una especie vegetal, el análisis de abundancias isotópicas provee la información química adecuada.

Para identificar redes de tráfico y distribución, los subproductos, adulterantes y diluyentes han demostrado resultados confiables (Daéid y Waddell, 2005); una aplicación específica de los estudios de perfilación fue reportada por Ehleringer y sus colaboradores, quienes mediante análisis cuantitativo del contenido de  $^{14}\text{C}$  en muestras de base de coca y clorhidrato de cocaína incautadas en Estados Unidos lograron determinar el rango de tiempo que transcurre entre el cultivo de la hoja de coca y su llegada al consumidor (Ehleringer, *et al.*, 2012). Por otra parte, las trazas de reactivos y solventes residuales en las muestras de drogas permiten identificar insumos y rutas sintéticas aplicadas para obtención de los estupefacientes (Weyermann, *et al.* 2008).

En general, el análisis de perfiles de impurezas requiere fundamentalmente la optimización de dos etapas procedimentales, la primera de ellas relacionada con la obtención de los datos, bien sea, mediante observación o mediante determinación analítica de variables seleccionadas, y una etapa posterior de análisis estadístico de los datos obtenidos con el propósito de identificar posibles relaciones.

### **1.3.3. Técnicas analíticas**

A continuación se presentan las principales técnicas aplicadas en los estudios de caracterización de drogas ilícitas.

### 1.3.3.1. Cromatografía de gases

Un estudio comparativo de diversas técnicas analíticas, aplicadas a la evaluación de impurezas orgánicas e inorgánicas en muestras de `éxtasis`, seleccionó la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) como la técnica de análisis con mejores resultados en costos y tiempo de análisis, hecho que favorece la vinculación de los resultados químicos a los procesos policiales de inteligencia en tiempo real (Morelato, *et al.* 2014). Esta técnica permite identificar las impurezas presentes en muestras incautadas, tales como noscapina, adulterante en muestras ilícitas de heroína incautadas en Eslovenia entre 1997 y 1999 (Klemenc, 2000), o cafeína principal adulterante en muestras de base de coca distribuidas en Montevideo, Uruguay (López-Hill, *et al.* 2011); algunos sub-productos y alcaloides como la acetilcodeína, papaverina, 6-monoacetilmorfina (Besacier, *et al.*, 1997); sub-productos de las diferentes rutas sintéticas aplicadas para la síntesis de anfetaminas, fueron igualmente identificados (Anderson, *et al.*, 2007; Błachut, Czarnocki y Wojtasiewicz, 2001).

Una etapa adicional para la caracterización de drogas es la cuantificación de las sustancias identificadas. Para tal propósito la cromatografía de gases con detector de ionización en llama (FID) ofrece parámetros aceptables de sensibilidad, selectividad, límites de detección y preparación de muestras, Garzón y sus colaboradores determinaron la pureza de 65 muestras de cocaína incautadas en Colombia, encontrando valores entre 63,82% y 95,83% (Garzón, *et al.* 2009). Por otra parte, un estudio comparativo de la composición química de 383 muestras de heroína incautadas en la región occidental de Dinamarca permitió confirmar que la pureza del principio activo se mantuvo casi invariable en 45% entre 1981 y 1992, en tanto que, fenobarbital y metacualona, empleados como adulterantes en los primeros años del estudio, fueron sustituidos por paracetamol y cafeína en los años siguientes (Kaa, 1994). Las concentraciones de las impurezas son relevantes en la selección de las variables que ofrecen información significativa para el análisis estadístico de la caracterización química de las drogas (Dayrit y Dumlao, 2004). Con el propósito de cuantificar los alcaloides co-extraídos de *Papaver somniferum*, meconina, acetiltebaol y acetilcodeína entre otros, Esseiva, *et al.* propusieron el análisis de impurezas en muestras de heroína mediante la derivatización (metilsililación) de las muestras incautadas (Esseiva, *et al.*, 2003).

Los solventes residuales son trazas de los disolventes empleados durante los procesos de extracción, procesamiento, síntesis y/o purificación de los estupefacientes. La determinación de este tipo de sustancias se lleva a cabo fundamentalmente mediante técnicas de *headspace* (Camarasu, Mezei- Szűts y Bertók, 1998; Otero, *et al.*, 2004). Un estudio desarrollado por Dujourdy y Besacier (Laboratorio Nacional de Policía Científica de Francia) demostró la aplicabilidad de la técnica de *headspace* estático en métodos de análisis de perfiles de solventes ocluidos en muestras de cocaína; los autores lograron diferenciar muestras provenientes de Perú, Bolivia y Colombia (Dujourdy y Besacier, 2008). Por otra parte, Morello y sus colaboradores estandarizaron una metodología analítica para la

cuantificación de solventes residuales en muestras de clorhidrato de cocaína y clorhidrato de heroína mediante *headspace* estático acoplado a cromatografía de gases (Morello y Meyers, 1995).

La técnica de microextracción en fase sólida para sustancias en el espacio de cabeza (HS-SPME) constituye una opción considerablemente favorable, puesto que integra los procesos de extracción, concentración e introducción de la muestra en una sola etapa; además se trata de una técnica libre de solventes (Arthur y Pawliszyn, 1990). Este método ha sido aplicado para análisis de impurezas en muestras de `éxtasis` (MDMA) y metanfetamina, en cuyos casos la técnica mostró resultados confiables y reproducibles con la extracción líquido-líquido (Bonadio, *et al.*, 2009; Bonadio, *et al.*, 2008; Kawayawa, *et al.*, 2006).

Otros estudios, han estandarizado las condiciones analíticas para realizar la identificación y cuantificación simultánea de solventes residuales mediante la aplicación de HS-SPME-GC-MS. Se ha demostrado la estabilidad de la composición de solventes residuales en un período hasta de cinco años posteriores a su producción (Chiarotti, Marsili y Moreda-Piñero, 2002).

Las posibles configuraciones aplicables a la técnica de cromatografía de gases han llevado incluso a análisis más exhaustivos, como la cromatografía de gases bidimensional, en la que mediante la configuración especial de un cromatógrafo de gases es posible obtener perfiles cromatográficos en tres dimensiones; esta técnica ha sido aplicada exitosamente para análisis de perfiles de heroína y *Cannabis*, con el propósito de identificar posibles marcadores que brinden información sobre la procedencia de las muestras (Gröger, *et al.*, 2008).

#### **1.3.3.2. Cromatografía líquida**

Esta técnica brinda mejores características para todas aquellas sustancias termolábiles o poco volátiles que presentan alteraciones estructurales en el análisis mediante cromatografía gaseosa; algunos alcaloides minoritarios presentes en muestras de heroína presentan estas propiedades. Un estudio aplicado por Lurie y Carr permitió la cuantificación de heroína, morfina, codeína, 3-monoacetilmorfina, 6-monoacetilmorfina, paraverina y noscapina mediante cromatografía líquida en fase reversa, con la limitante de una baja resolución cromatográfica entre sustancias (Lurie y Carr, 1986).

La aplicación de cromatografía líquida de ultra alta presión (UHPLC), también ha aportado resultados analíticos a los estudios de perfilación de impurezas en muestras de heroína. El estudio desarrollado por I.S. Lurie y sus colaboradores logró la determinación de morfina, 3-monoacetilmorfina, 6-monoacetilmorfina, codeína, acetilcodeína, noscapina y papaverina aplicando la cromatografía en fase reversa (Lurie, *et al.*, 1986); bajo similares parámetros analíticos fue posible correlacionar las impurezas detectadas en muestras de fentanilo con la ruta sintética aplicada (Janssen o Siegfried), siendo selectiva incluso en presencia de adulterantes y

diluyentes (Lurie, *et al.*, 2012).

#### **1.3.3.3. Espectrometría de masas de relaciones isotópicas**

El análisis de las relaciones isotópicas de  $^{15}\text{N}$  y  $^{13}\text{C}$  en muestras de heroína, y morfina derivada de la desacetilación de la heroína, mediante la aplicación de espectrometría de masas de relaciones isotópicas (IRMS) permitió identificar diferencias significativas entre las muestras provenientes de México, Asia suroccidental, Asia suroriental, Suramérica y Australia (Casale, *et al.*, 2006); resultados igualmente significativos se obtuvieron a partir de muestras de cocaína provenientes de Perú, Bolivia, Ecuador y Colombia (Ehleringer, *et al.*, 1999).

#### **1.3.3.4. Espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo**

Chan *et al.* reportaron un análisis detallado del perfil de impurezas elementales detectadas en 309 muestras de heroína distribuidas en Malasia. De los resultados fue posible identificar los insumos empleados durante el procesamiento del alcaloide: los niveles de Na y Ca detectados corroboran el uso de bicarbonato de sodio y cal durante la obtención del principio activo; de igual manera, fue posible deducir el uso de materiales metálicos debido al contenido de Fe, Al y Zn al nivel de trazas; con base en los resultados obtenidos fue posible concluir que las muestras distribuidas en Malasia provienen al menos de dos grupos de proveedores significativamente diferenciados (Chan, Tan y Wong, 2013). Un avance adicional fue realizado por Liu y sus colaboradores, quienes lograron determinar el origen geográfico de muestras de heroína incautadas, con base en el contenido de 10 elementos (P, V, Cr, Ni, Cu, Zn, As, Se, Pb y U) y 7 relaciones elementales (U/Ba, Ba/Pb, Cd/Mn, Co/Ni, V/Cr, P/V y Cd/V) (Liu, *et al.*, 2014).

#### **1.3.4. Análisis estadístico**

Los perfiles de impurezas se evalúan con el propósito de identificar relaciones entre muestras. Para ello, se han desarrollado diversos estudios quimiométricos, de acuerdo con los cuales, se busca extraer información relevante de datos químicos mediante la aplicación de herramientas matemáticas y estadísticas.

Los principales métodos aplicados incluyen *Principal Component Analysis (PCA)* (Dayrit y Dumlao, 2004) y *Hierarchical Cluster Analysis (HCA)* cuya finalidad es dividir el conjunto de objetos en grupos, de forma que los perfiles de los objetos de un mismo grupo sean muy similares entre sí. Una aplicación más compleja fue reportada por el Instituto de Policía Científica de Francia, quienes validaron una metodología para clasificar perfiles de heroína mediante la aplicación de redes neuronales artificiales (Esseiva, *et al.*, 2005).

Sin embargo, mediante la aplicación de estos métodos es difícil identificar estadísticamente el umbral de separación entre muestras relacionadas y muestras no relacionadas. Por tanto, se han determinado medidas de similitud (coeficientes de correlación de Pearson y coseno cuadrado) y de distancia entre los datos para

definir el grado de cercanía entre cada par de objetos (Esseiva, *et al.*, 2003).

Diversos autores han evaluado la correlación entre perfiles de muestras de estupefacientes. Cabe mencionar los análisis desarrollados por Jonson, quien determinó distancias Euclidianas y de Canberra, índices de Pearson, de similitud y de permutación, y método de cociente, con el propósito de evaluar la correlación entre dos muestras de anfetaminas. De igual forma, distancias de Manhattan y Chebyshev, análisis de componentes principales (Jonson, 1994), dendogramas y *k*-vecinos más cercanos (Klemenc, 2001) fueron empleados en estudios similares (Krawczyk y Parczewski, 2001).

El éxito de los estudios de perfiles de impurezas radica fundamentalmente en el tratamiento estadístico aplicado, que a su vez, depende críticamente del conjunto y calidad de los datos a evaluar. El desarrollo de una metodología analítica que permita determinar perfiles de impurezas en muestras de drogas, debe ir acompañado de manejo estadístico óptimo, que minimice los falsos positivos y negativos, y sea acorde con los datos obtenidos para su interpretación fidedigna.

### **1.3.5. Convenios internacionales y aplicaciones**

El éxito de esta articulación técnico-científica requiere de convenios de colaboración mediante los cuales se consolide la lucha contra el tráfico de drogas (Esseiva, *et al.* 2007); un caso ejemplar es el convenio establecido en la Comisión Europea, denominado *Collaborative Harmonization of Methods for Profiling of Amphetamine Type Stimulants* (CHAMP), el cual incluye la estandarización de métodos para la determinación de perfiles de 'éxtasis' y la creación de una base de datos conjunta con una perspectiva de inteligencia policial. Un convenio análogo se estableció entre laboratorios forenses de Suecia, Alemania y Holanda, con el propósito de estandarizar una metodología analítica reproducible para la obtención de perfiles de impurezas en muestras de heroína bajo diferentes condiciones de análisis (Strömberg, *et al.*, 2000). Más aun, la construcción de una base de datos común de perfiles de impurezas en muestras de drogas no requiere exclusivamente la estandarización de una metodología analítica conjunta, como lo demostraron Strömberg *et al.*, partiendo de resultados obtenidos bajo metodologías analíticas diferentes (incluso técnicas instrumentales distintas) fue posible la unificación de los datos analíticos mediante la evaluación del grado de similitud de los resultados (Broséus, *et al.*, 2013). En la región, Brasil se encuentra implementando su proyecto PeQui (*Perfil Químico das Drogas*), el cual está enfocado a la aplicación policial de los análisis de perfilación en muestras de cocaína y anfetaminas (Zacca, *et al.*, 2014).

## **1.4. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN DE HEADSPACE**

Los diversos tipos de ensayos y técnicas analíticas son aplicados generalmente para evaluar uno o algunos de los componentes presentes en una matriz, la cual puede estar compuesta de diversos elementos; para tal fin, es posible aplicar

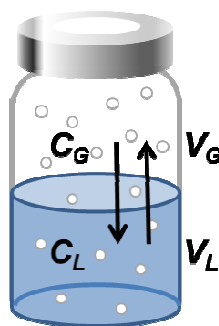
etapas de extracción, purificación, determinación y cuantificación, entre otras, y cada una de ellas va a estar determinada por la naturaleza de los compuestos de interés y la naturaleza de la matriz.

Las técnicas de *headspace* son ampliamente aplicadas para analizar compuestos volátiles en muestras líquidas o sólidas (baja volatilidad), mediante el muestreo de la fase vapor de la muestra.

#### 1.4.1. *Headspace* estático

El modo de extracción “estático” es de fácil manipulación y ambientalmente amigable; la muestra es ubicada en un vial sellado, y los compuestos volátiles son parcialmente volatilizados hacia el espacio de cabeza durante un tiempo específico a temperatura constante. Entonces, se establece una migración de los analitos entre las dos fases coexistentes (fase condensada y espacio de cabeza) (Ioffe y Vitenberg, 1984), y el sistema alcanza un equilibrio (véase Figura 3). Desde el espacio de cabeza es posible tomar una alícuota sin alterar la fase condensada no volátil. Esta técnica se denomina *headspace* estático debido a que las dos fases en equilibrio se encuentran bajo condiciones estáticas (Kolb y Etre, 2006), contrario al principio aplicado en las técnicas de purga y trampa en las que un flujo constante de gas favorece la extracción exhaustiva bajo condiciones dinámicas.

**Figura 3.** Representación del equilibrio en *headspace* estático.



Esta técnica es aplicada predominantemente con propósitos cuantitativos, donde la concentración de un compuesto en la fase vapor está relacionada con la concentración del compuesto en la fase condensada mediante el coeficiente de partición,  $K$ , como se presenta en la Ecuación 1:

#### Ecuación 1

donde,  $C_L$  es la concentración del compuesto en la fase condensada y  $C_G$  la concentración del compuesto en el espacio de cabeza; compuestos con coeficientes de partición bajos, tienden a distribuirse rápidamente en la fase vapor,

presentan mayores respuestas y menores límites de detección, en tanto que, compuestos con altos coeficientes presentan bajas señales y altos límites de detección.

La relación de fase,  $\beta$ , es otro factor determinante de la sensibilidad de la técnica (véase Ecuación 2).

$$\beta = \frac{V_G}{V_L} \quad \text{Ecuación 2}$$

La relación entre el volumen del espacio de cabeza ( $V_G$ ) y el volumen de la fase condensada ( $V_L$ ), afecta directamente la distribución de los analitos en las dos fases; a menores valores de  $\beta$ , mayores respuestas instrumentales para los compuestos volátiles. Sin embargo, esto no se cumple para compuestos con altos valores de  $K$ , cuyas moléculas tenderán a mantenerse en la fase condensada.

El análisis por cromatografía de gases de una alícuota del espacio de cabeza permite evaluar la composición de la fase condensada, ya que el área de un pico cromatográfico es proporcional a su concentración en la fase vapor, la cual equivale a la relación entre la concentración inicial del compuesto de interés en la muestra ( $C_0$ ) y el coeficiente de partición  $y$ , la relación de fase como se presenta en la Ecuación 3 (Reference Module in Chemistry, 2012).

$$A \propto C_G = \frac{C_0}{K+\beta} \quad \text{Ecuación 3}$$

De acuerdo con esto, la sensibilidad de la metodología puede aumentar al modificar las condiciones de análisis que determinan a  $K$  y  $\beta$ . La constante de distribución es función de la temperatura, al aumentar la temperatura disminuye la constante de distribución y por tanto aumenta la señal; esta constante disminuye incluso ante la presencia de iones inorgánicos en solución acuosa, debido a que estos reducen la solubilidad de los compuestos orgánicos, y favorecen su migración hacia la fase vapor (*salting-out effect*). Por su parte,  $\beta$  no es función de la temperatura y sus cambios no generan aumentos significativos en la sensibilidad, excepto para los compuestos cuyo  $K$  es menor que  $\beta$ , en cuyo caso la relación de volúmenes determina la señal instrumental.

Los principios fisicoquímicos que rigen el desempeño de esta técnica pueden condensarse bajo las leyes de Dalton, Raoult y Henry. La ley de Dalton establece que la presión total de la fase vapor puede expresarse como la suma de las presiones parciales de cada uno de los compuestos presentes en la mezcla; la ley de Raoult establece que la presión de vapor de cada componente en una disolución ideal ( $p_i$ ) es función de la presión de vapor de cada componente puro ( $p_i^0$ ) y de la fracción molar de cada componente en la fase condensada ( $x_{s(i)}$ ) según Ecuación 4.

$$p_i = (p_i^0)(\gamma_i)(x_{s(i)}) \quad \text{Ecuación 4}$$

El efecto de la matriz está representado por el coeficiente de actividad,  $\gamma_i$ , ya que este refleja la interacción entre el compuesto  $i$  y los demás componentes de la muestra. Por su parte, la ley de Henry establece la linealidad entre la presión parcial del compuesto en la fase vapor y la fracción molar del compuesto en la fase condensada, mediante la constante de Henry,  $H$ . Un aumento en la temperatura genera un aumento en el coeficiente de difusión y en la constante de Henry, y una disminución de los coeficientes de partición, cuya consecuencia directa es un incremento en la concentración del analito en el *headspace*.

Para análisis cuantitativos, los métodos de estándar interno, estándar externo y adición de estándar han demostrado resultados confiables y reproducibles. El modo de estándar interno permite minimizar los errores debidos a la preparación de la muestra, al analista, al instrumento o al efecto de la matriz. El estándar seleccionado debe ser estructuralmente similar al compuesto de interés, no presentar coelución con los analitos y no estar presente en las muestras. En este método se adiciona una cantidad conocida de estándar interno a la muestra, con el propósito de evaluar los factores de respuesta de los analitos de interés relativos al estándar interno, los cuales están representados por las relaciones de área entre el analito ( $A_i$ ) y el estándar interno ( $A_{istd}$ ), como se presenta en la Ecuación 5.

$$R_F = \frac{A_i}{A_{istd}} \quad \text{Ecuación 5}$$

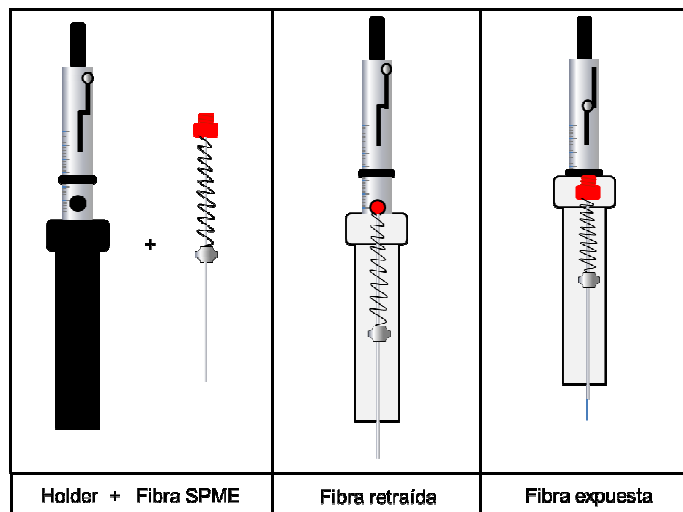
#### 1.4.2. Microextracción en fase sólida

Es una novedosa técnica introducida por J. Pawliszyn en 1990, dirigida inicialmente hacia el análisis de compuestos volátiles en matrices ambientales (Arthur y Pawliszyn, 1990). Esta técnica combina muestreo, extracción, pre-concentración e introducción de la muestra en un mismo dispositivo. SPME aplica un principio análogo al empleado en las columnas cromatográficas, debido a que los analitos se distribuyen entre una fase estacionaria y la matriz de la muestra o su espacio de cabeza. Sin embargo, a diferencia de la columna cromatográfica, la fase estacionaria de SPME se encuentra expuesta sobre una porción de sílice fundida (1 cm), y el recubrimiento es protegido por una aguja hueca. El dispositivo permite retraer o exponer la fibra dependiendo de la posición del émbolo, como se presenta en la Figura 4 (Pawliszyn, 1997).

El proceso sucede en dos etapas, durante la primera tiene lugar la distribución de los analitos entre el recubrimiento de la fibra y la muestra, o su espacio de cabeza (período de exposición). En la segunda etapa, los analitos extraídos y concentrados en el polímero son transferidos al instrumento analítico, donde tiene lugar la desorción, para su posterior detección y cuantificación (Arthur y Pawliszyn,

1990).

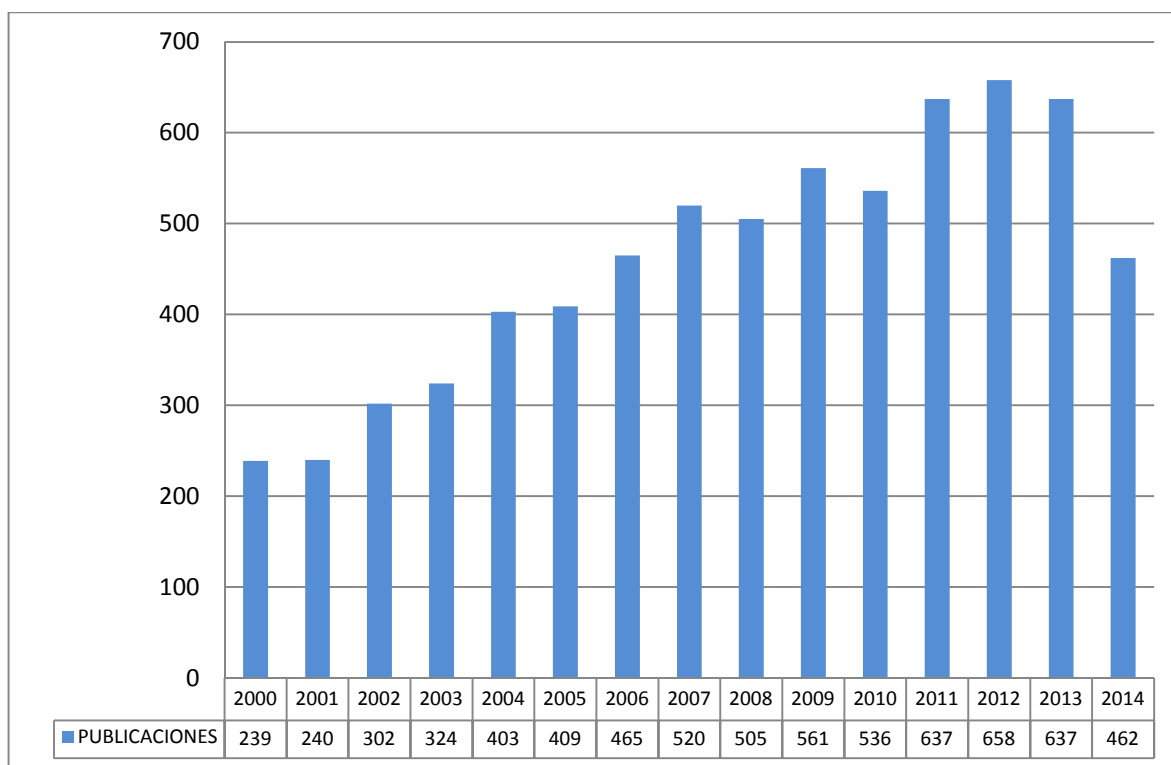
**Figura 4.** Posiciones del émbolo y la fibra en *holder* de SPME.



Esta técnica ha presentado gran aceptación en diversos campos analíticos (Payne, Puchalski y Labows, 2002) debido a que es sencilla, representa bajo costo, puede ser automatizada, es acoplable a técnicas cromatográficas, requiere pequeñas cantidades de muestra, es apta para análisis en campo, es aplicable a muestras sólidas, líquidas y gaseosas, y no utiliza disolventes orgánicos, contrario a la extracción líquido-líquido y a la extracción en fase sólida (Brown, Grushk y Lunte, 2004) (véase Figura 5).

Existen tres modos de aplicación de SPME: inmersión directa de la fibra en una muestra líquida, extracción del espacio de cabeza, o extracción con la fibra protegida a través de una membrana; el modo seleccionado es determinado por la naturaleza de la matriz de la muestra, la volatilidad de los analitos y la afinidad de los analitos por la matriz. Para el primer modo, el recubrimiento de la fibra se pone en contacto directo con la muestra, y los analitos que presenten afinidad por la fase estacionaria migran desde la matriz hacia el polímero, donde son absorbidos (o adsorbidos) (Fucci, *et al.*, 2014); en este caso, se requiere suministrar agitación al sistema, con el propósito de reducir los efectos de apantallamiento de fluido alrededor de la fibra. En el modo *headspace*, los analitos migran desde la fase condensada hacia el espacio de cabeza, donde se expone el polímero; este modo preserva en mayor grado la vida útil de la fibra. La protección con membrana se aplica a las fibras de SPME cuando se desea extraer analitos volátiles de muestras muy contaminadas; esta barrera se implementa con el propósito de proteger el polímero.

**Figura 5.** Número de publicaciones científicas sobre microextracción en fase sólida, reportadas entre 2000-2014. Base de datos Scopus (Elsevier, B.V., 2014), palabras clave: “*Solid phase microextraction*”; Ecuación de búsqueda: *Article, title, abstract*. Fecha de consulta: 24 de agosto de 2014.



Para la correcta selección de la fibra se requiere evaluar cuatro parámetros: tipo de recubrimiento, espesor, polaridad y si el recubrimiento es un adsorbente o un absorbente; principalmente, la polaridad y la volatilidad de los analitos de interés determinan el tipo de recubrimiento, y el peso molecular, determina el espesor de la fase estacionaria (véase Tabla 1). La afinidad entre la fibra y el analito se rige por el principio “semejante disuelve semejante”; en general, los recubrimientos no polares, como PDMS, extraen sustancias no polares, y recubrimientos más polares, como poliacrilato, son apropiados para extracción de analitos polares (Kataoka, Lord y Pawliszyn, 2000); sin embargo, todas las fibras son bipolares en algún grado, debido a que pueden extraer analitos polares y no polares; así, si compuestos polares entran en contacto con los poros del polímero en una fibra no polar el recubrimiento puede retenerlos. Las mezclas de recubrimientos incrementan la capacidad de retención y pueden ser usadas para la extracción de compuestos polares de bajo peso molecular (García-Esteban, *et al.*, 2000).

**Tabla 1.** Tipos de fibras comercialmente disponibles para SPME.

<b>Espesor</b>	<b>Tipo de recubrimiento</b>	<b>Mecanismo de extracción</b>	<b>Polaridad</b>
7µm	PDMS	Absorbente	No polar
30 µm	PDMS	Absorbente	No polar
100 µm	PDMS	Absorbente	No polar
85 µm	PA	Absorbente	Polar
60 µm	PEG (Carbowax)	Absorbente	Polar
15 µm	Carbowax Z - PDMS	Adsorbente	Bipolar
65 µm	PDMS - DVB	Adsorbente	Bipolar
55 µm / 33 µm	DVB/Carboxen-PDMS	Adsorbente	Bipolar
85 µm	Carboxen-PDMS	Adsorbente	Bipolar

El espesor del recubrimiento y el peso molecular de los analitos de interés determinan el tiempo que se toma el sistema en alcanzar el equilibrio; compuestos de bajo peso molecular requieren recubrimientos de mayor espesor, donde la absorción rige el mecanismo de extracción; compuestos de alto peso molecular deben ser analizados con recubrimientos de menor espesor. En el caso de los solventes orgánicos, compuestos de bajo peso molecular, altamente volátiles y de polaridad media-baja, la fibra de PDMS de 100 µm de espesor ha demostrado mejores resultados (Chiarotti, Marsili y Moreda-Piñero, 2002; Tankiewicz, Morrison y Biziuk, 2013).

Los recubrimientos de PDMS (polidimetilsiloxano), PA (poliacrilato) y PEG (polietilenglicol) son fases líquidas poliméricas, que actúan como absorbentes. Las fases de DVB (divinilbenceno) son redes cristalinas rígidas cuyo mecanismo de acción es la adsorción sobre la superficie del polímero (Pawliszyn, 2012).

Durante los procesos de absorción tienen lugar los fenómenos de convección y difusión, el primero es promovido mediante el suministro de agitación, en tanto que el segundo aumenta con el incremento de la temperatura de extracción (Lord y Pawliszyn, 2000). Una vez los compuestos alcanzan la capa superficial del polímero, inicia la difusión hacia el interior del recubrimiento. En el caso de los polímeros rígidos, la migración de los compuestos hacia el interior del recubrimiento es insignificante, es decir, las moléculas retenidas se encuentran adheridas en la superficie de la fibra; adicionalmente, existe competencia entre los compuestos presentes. Aquellos con coeficientes de afinidad bajos, serán adsorbidos rápidamente, y posteriormente reemplazados por compuestos con

altos coeficientes de afinidad. Para estos casos, la selección del estándar interno cumple un rol determinante, debido a que se debe seleccionar un compuesto estructuralmente similar al compuesto de interés con coeficiente de afinidad similar (Kumazawa, *et al.*, 2003).

Estudios previos han demostrado la correlación existente entre la cantidad de analito retenido en el recubrimiento de la fibra y la concentración del analito en la muestra (véase Ecuación 6), así como la linealidad y reproducibilidad de los análisis sometidos a microextracción en fase sólida (Arthur y Pawliszyn, 1990).

$$n_s = KV_s C \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:  $n_s$ : moles absorbidas (adsorbidas) sobre el polímero (fase estacionaria);  
 $K$ : Constante de distribución;  
 $V_s$ : Volumen del recubrimiento de la fibra;  
 $C$ : Concentración del analito en la muestra

Adicionalmente, se han identificado como parámetros críticos de análisis la temperatura, la salinidad (con efectos análogos a los descritos para análisis de *headspace* estático) (Arthur, *et al.*, 1992), las polaridades de la matriz y la fibra, condiciones de agitación, volumen de muestra, volumen de *headspace*, tamaño del vial, modo de inyección cromatográfica, entre otros (Lord y Pawliszyn, 2000).

El tiempo de exposición es una variable que ejerce efecto significativo sobre la extracción, motivo por el cual se requiere valorar los cambios en las respuestas instrumentales en función del tiempo de exposición, con el propósito de identificar el tiempo a partir del cual el sistema alcanza el equilibrio, *i.e.* las respuestas cromatográficas se mantienen constantes. Realizar análisis bajo condiciones de equilibrio permite reducir errores experimentales y garantiza una mejor sensibilidad; sin embargo, se requiere sopesar los costos en función de los extensos tiempos de exposición que algunos analitos presentan (Ulrich, 2000). En estos casos, es posible establecer parámetros analíticos fuera del equilibrio, siempre y cuando se garantice la reproducibilidad de las condiciones fijadas.

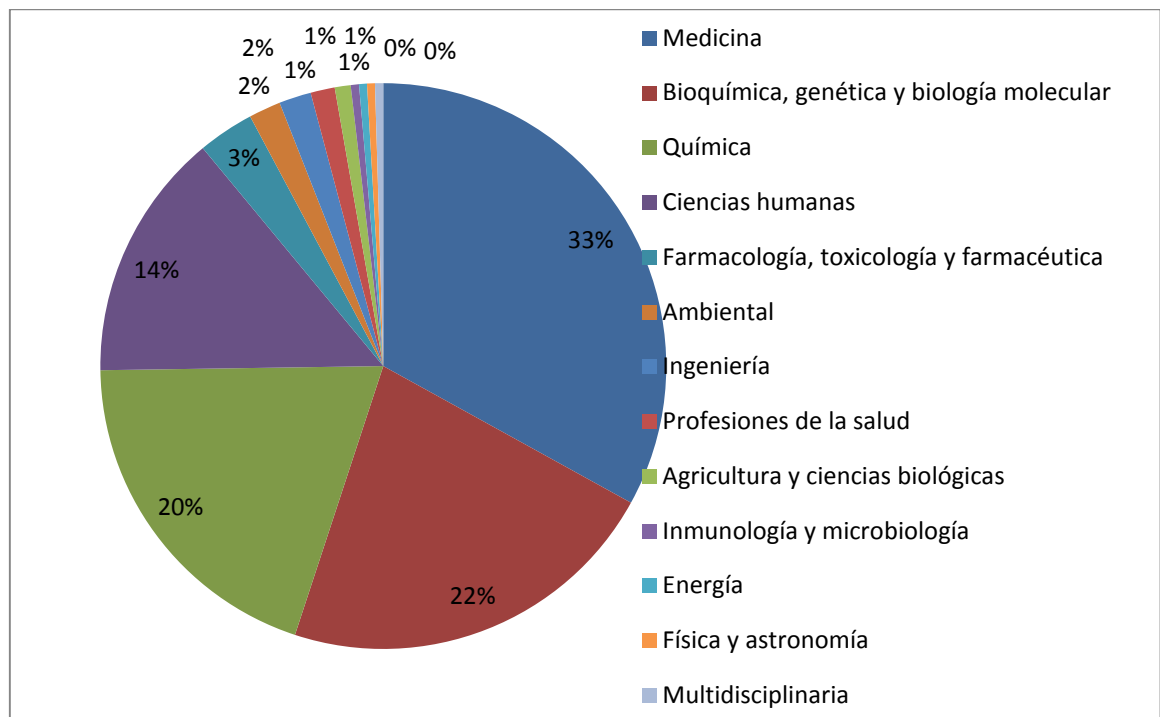
La fuerza iónica, de manera similar, presenta efectos significativos sobre la sensibilidad de la extracción mediante SPME; a mayor fuerza iónica se obtienen mayores porcentajes de recuperación (Lord y Pawliszyn, 1997).

#### **1.4.2.1. Aplicaciones de microextracción en fase sólida a las ciencias forenses**

La técnica de microextracción en fase sólida fue inicialmente diseñada para el análisis de matrices ambientales, aunque rápidamente fue implementada en diversos tipos de análisis y matrices, entre las cuales se destacan sus aplicaciones en análisis ambientales, alimentos, botánica, farmacéutica, y ciencias forenses, principalmente (Alpendurada, 2000).

En el caso específico de las aplicaciones forenses se han reportado 115 publicaciones entre 1996 y 2014, de acuerdo con estudio cuantitativo de la producción científica reportada en la base de datos *Scopus* (*Elsevier*), de las cuales aproximadamente el 90% corresponden a las áreas de medicina, bioquímica y genética, química y ciencias humanas, tal como se presenta en la Figura 6.

**Figura 6.** Número de publicaciones científicas sobre microextracción en fase sólida, reportadas entre 1996-2014. Base de datos *Scopus* (*Elsevier*, B.V., 2014), palabras clave: “*Solid phase microextraction*” AND “*forensic sciences*”; Ecuación de búsqueda: *Article, title, abstract*. Fecha de consulta: 25 de agosto de 2014.

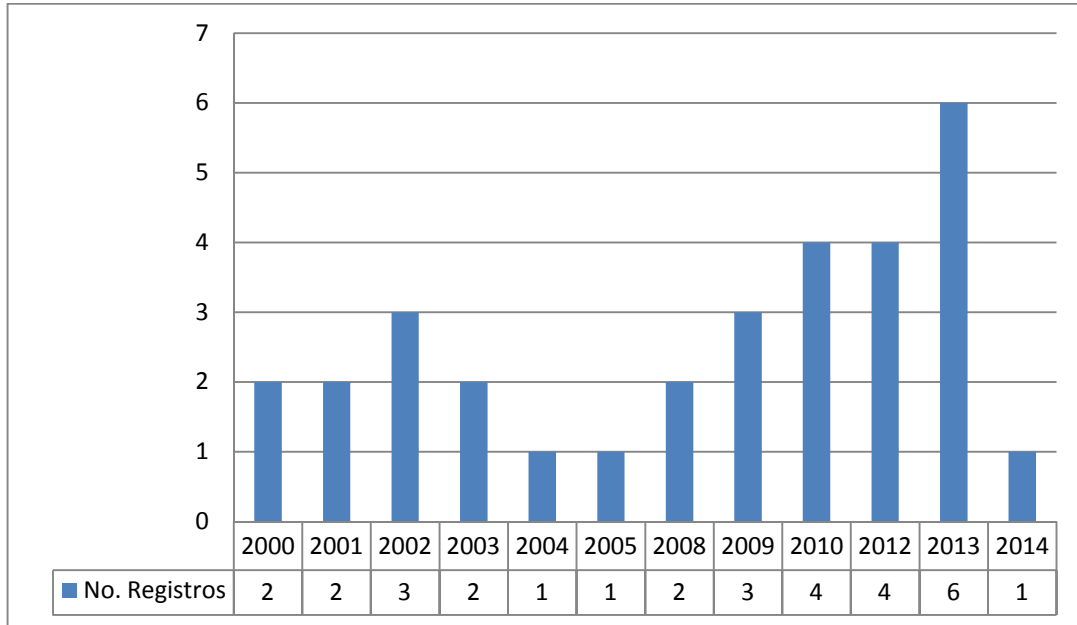


En el área específica de la química, el número de publicaciones relacionadas con drogas ilícitas ha mostrado un aumento progresivo, para la detección de impurezas volátiles en estupefacientes (véase Figura 7).

### 1.5. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

El análisis del grado de similitud entre muestras se puede desarrollar mediante la aplicación de métodos de reconocimiento de patrón supervisado (*k-nearest neighbors*, análisis de discriminante lineal, redes neuronales) y no supervisado (análisis de componentes principales y análisis de *clusters*). A continuación se describe el fundamento matemático aplicado en algunos de ellos.

**Figura 7.** Número de publicaciones científicas sobre microextracción en fase sólida, reportadas entre 2000-2014. Base de datos Scopus (Elsevier, B.V., 2014), palabras clave: “*Solid phase microextraction*” AND “*illicit drug*”; Ecuación de búsqueda: *Article, title, abstract*. Fecha de consulta: 24 de agosto de 2014.



### 1.5.1. Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales es un método de análisis multivariado, basado en la reducción de la dimensionalidad del conjunto inicial de datos, en el cual se generan nuevas variables ortogonales a partir de combinaciones lineales de las variables iniciales (véase Ecuación 7).

$$C_1 = b_{11}x_1 + b_{12}x_2 + \dots + b_{1p}x_p \quad \text{Ecuación 7}$$

donde:

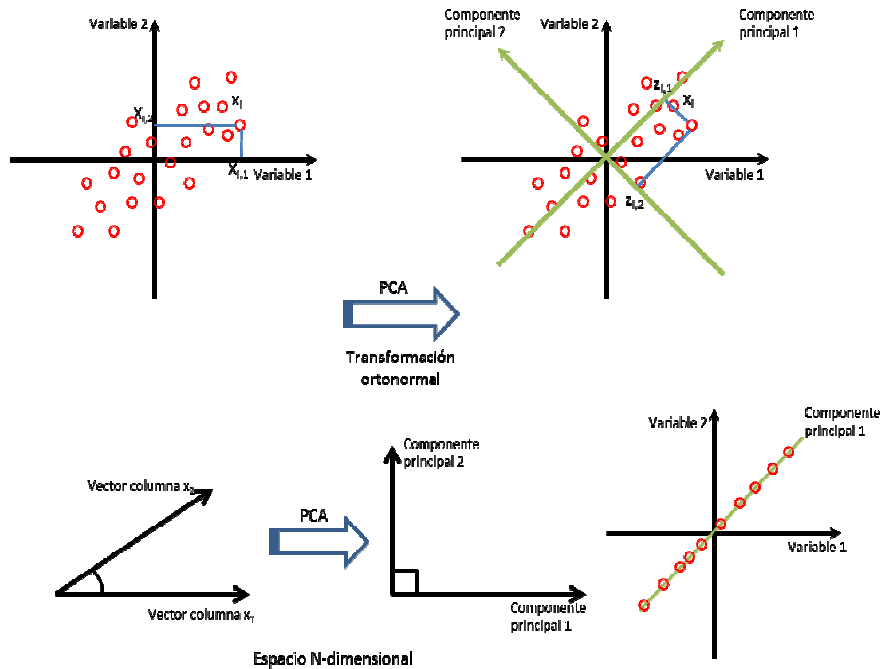
$C_1$  = nuevo componente principal 1

$b_{1p}$  = coeficiente de correlación (*loading*) de la variable inicial p para el nuevo componente principal 1

$x_p$  = el valor de la variable p.

El primer componente acumula la mayor varianza proyectada. En la Figura 8, se presenta un esquema de la construcción de componentes principales a partir de los variables iniciales. En él es posible observar como el componente principal 1, agrupa la mayor varianza proyectada, y a partir de él se genera un segundo componente principal ortogonal al primero.

**Figura 8.** Esquema de construcción de componentes principales



Las proyecciones de cada punto (caso) sobre el nuevo conjunto de coordenadas se denominan *scores*.

El análisis de componentes principales presenta dos características importantes: cada componente acumula el máximo de varianza de las variables observadas que no pudo ser acumulada por el componente anterior, y no se correlaciona con ninguno de los componentes precedentes. Así, cada nuevo componente acumula progresivamente menos y menos varianza. Los gráficos de cargas de componentes principales permiten visualizar correlaciones y semejanzas entre muestras (Webster, 2001).

### 1.5.2. *K-Nearest Neighbors*

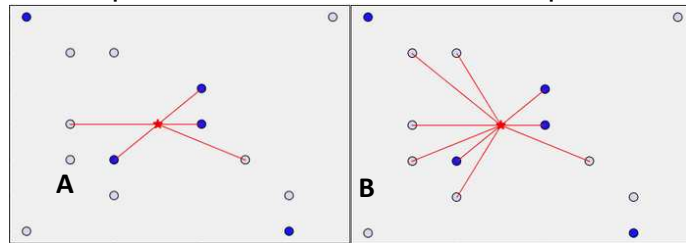
El método de los  $K$  vecinos más cercanos es particularmente útil para estimar densidades y clasificaciones simples no paramétricas, se fundamenta en la clasificación de un elemento con base en la clase más frecuente a la que pertenecen sus  $K$  vecinos más cercanos. El procedimiento calcula todas las distancias de la muestra al conjunto de entrenamiento y asigna a la muestra la categoría del elemento cuya distancia sea mínima (Wu, Ianakiev y Govindaraju, 2002).

Los algoritmos propuestos para encontrar el vecino más cercano se basan en la interpretación de un conjunto de entrenamiento y una muestra desconocida como un conjunto de vectores en un espacio  $n$ -dimensional. Cuando el algoritmo hace uso de las coordenadas de cada elemento se dice que trabaja en un espacio de

vectores, mientras que si no utiliza las coordenadas y solamente se basa en la noción de distancia entre prototipos se dice que trabaja en un espacio métrico (Forina, *et al.*, 2004).

El desarrollo de predicciones basadas en el método de  $K$ -NN, requiere especificar el número de vecinos más próximos que deben examinarse; este valor se denomina  $K$ . En la Figura 9 se muestra cómo se clasificaría una nueva muestra utilizando dos valores diferentes de  $K$ . Cuando  $K=5$ , el nuevo elemento se incluye en la categoría de círculos azules porque la mayoría de vecinos más próximos pertenece a dicha categoría. Sin embargo, cuando  $K=9$ , la nueva muestra se incluye en la categoría de círculos blancos porque la mayoría de vecinos más próximos pertenece a esta categoría.

**Figura 9.** Esquema de aplicación del método  $K$ -NN. A. para  $K=5$  y B. para  $K=9$ .



El método de clasificación  $K$ -NN difiere de otros métodos de reconocimiento de patrón supervisado debido a que con otros métodos la clasificación de un nuevo elemento se lleva a cabo mediante una etapa inicial de entrenamiento y una posterior de aplicación, en el caso de  $K$ -NN no existen estas dos etapas independientes, y las dos conjuntas se denominan transducción. En general, el algoritmo aplicado sigue tres pasos: 1. Cálculo de distancias, 2. Selección del valor  $K$ , y 3. Asignación de clase a la muestra evaluada (Dasarathy, 1991; Toyama, Kudo e Imai, 2010).

### 1.5.3. Parámetros de similitud y disimilitud

El grado de similitud entre objetos permite establecer si un nuevo objeto es similar a uno previamente conocido con base en la cuantificación de la similitud (o disimilitud) entre dos objetos por medio de una medida de distancia.

La disimilitud es llamada distancia,  $d$ , o métrica cuando satisface las propiedades de no negatividad, reflexividad, simetría y desigualdad triangular, definidas de la siguiente manera:

1. No negatividad:  $d(x_i, x_j) \geq 0, \forall x_i, x_j \in X$
2. Reflexividad:  $d(x_i, x_j) = 0 \Leftrightarrow x_i = x_j$
3. Simetría:  $d(x_i, x_j) = d(x_j, x_i)$
4. Desigualdad triangular:  $d(x_i, x_j) \leq d(x_i, x_k) + d(x_k, x_j), \forall x_i, x_j; x_k \in X$ .

La propiedad de no negatividad garantiza que la distancia entre dos objetos  $x_i$  y  $x_j$  siempre es mayor o igual a cero; la reflexividad asegura que si la distancia entre dos objetos es cero, entonces estos dos objetos son iguales. De igual manera, la simetría garantiza que la distancia entre dos objetos no depende del orden en que son comparados. Finalmente, si no se cumple la desigualdad triangular puede suceder que se obtienen resultados no deseables, por ejemplo, si los objetos  $x_i$  y  $x_j$  son muy similares a  $x_k$ , debe esperarse que  $x_i$  y  $x_j$  también sean muy similares.

Algunos de los métodos de análisis multivariado incluyen el parámetro de distancia o similitud como un algoritmo a ajustar en el desarrollo del análisis, es decir, la distancia es un parámetro más en el algoritmo de aprendizaje, y el desempeño del algoritmo puede variar en función de la distancia utilizada (Driessens y Džeroski, 2005).

Algunas de las funciones de similitud o disimilitud reportadas en análisis de perfiles de impurezas en drogas ilícitas se presentan a continuación (Stat Soft Inc. 2011).

Distancia Euclidiana. Es probablemente la distancia más comúnmente aplicada en análisis de datos; representa la distancia geométrica en un espacio multidimensional. Una de sus principales ventajas es que la distancia entre dos objetos no es afectada por la adición de nuevos objetos al análisis; sin embargo, esta distancia puede ser afectada por diferencias en las escalas de las dimensiones (variables o casos) analizadas.

$$Distancia\ Euclidiana = \sqrt{\sum_{j=1}^n (x_{kj} - x_{lj})^2} \quad \text{Ecuación 8}$$

Distancia Manhattan. Esta distancia es la suma de las diferencia en todas las dimensiones. En este caso las diferencias grandes son "amortiguadas" debido a que el cálculo no incluye operaciones de potenciación.

$$Distancia\ Manhattan = \sum_{j=1}^n |x_{kj} - x_{lj}| \quad \text{Ecuación 9}$$

Distancia Chebychev. Esta medida de la distancia puede ser apropiada en los casos en que se quiere definir dos objetos como "diferentes" si son diferentes en cualquiera de las dimensiones.

$$Distancia\ Chevyshev = Máx |x_{ki} - x_{kj}| \quad \text{Ecuación 10}$$

Porcentaje de discrepancia. Esta medida es particularmente útil si los datos incluidos en el análisis son categóricos en la naturaleza.

$$Porcentaje\ de\ discrepancia = \frac{(Número\ de\ x_{ki} \neq y_{ki})}{i} \quad \text{Ecuación 11}$$

Coeficiente de correlación de Pearson. Es una medida de la relación lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas. A diferencia de la covarianza, la correlación de Pearson es independiente de la escala de medida de las variables.

El valor del índice de correlación de Pearson varía en entre -1 y 1:

- Si  $r = 1$ , existe una correlación positiva perfecta.
- Si  $0 < r < 1$ , existe una correlación positiva.
- Si  $r = 0$ , no existe relación lineal.
- Si  $-1 < r < 0$ , existe una correlación negativa.
- Si  $r = -1$ , existe una correlación negativa perfecta.

$$\text{Coeficiente de Correlación de Pearson } (r_{kl}) = \frac{\sum_{j=1}^n (x_{kj} - \bar{x}_k)(x_{lj} - \bar{x}_l)}{\sqrt{\sum_{j=1}^n (x_{kj} - \bar{x}_k)^2 \sum_{j=1}^n (x_{lj} - \bar{x}_l)^2}}$$

**Ecuación 12**

$$\text{Índice de disimilitud de Pearson} = \frac{1-r}{2} * 100$$

**Ecuación 13**

Donde:

$x_{kj}$  y  $x_{lj}$ : son las áreas de los  $j$ -ésimos picos en los perfiles  $k$  y  $l$ , respectivamente,

$\bar{x}_k, \bar{x}_l$ : son los promedios de los picos de los perfiles  $k$  y  $l$ , respectivamente,

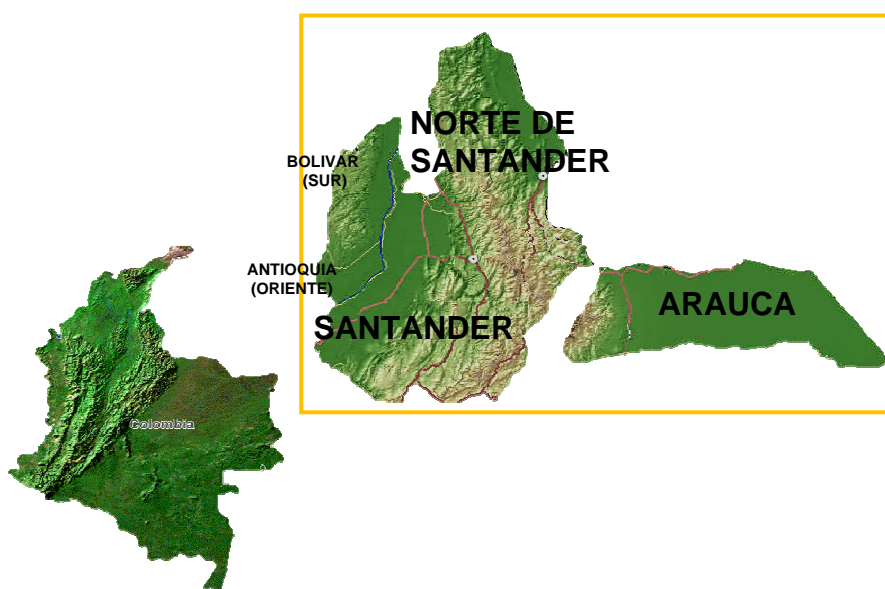
$n$ : número de picos de compuestos usados en el cálculo de las distancias.

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1. SELECCIÓN DE MUESTRAS

El total de muestras de cocaína remitidas por la Policía Nacional y radicadas en el laboratorio de estupefacientes de la regional Nororiente del INMLyCF en 2012, correspondió a 1140 (N), procedentes de los departamentos de Norte de Santander, Santander, Arauca, sur de Bolívar y oriente antioqueño (véase Figura 10 y Tabla 2).

**Figura 10.** Área de cobertura del Laboratorio de Estupefacientes de la Regional Nororiente.



A partir del total de muestras recibidas se aplicó la Ecuación 14 con el propósito de establecer el tamaño de la muestra a analizar; la selección del procedimiento de muestreo se basó en un método de muestreo arbitrario, recomendado por la Oficina de Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC) para poblaciones heterogéneas de drogas incautadas (UNODC, 2009).

$$n = 20 + 0,1 * (N - 20) \quad \text{Ecuación 14}$$

Las muestras se seleccionaron de manera aleatoria manteniendo la proporcionalidad de incautaciones de cada municipio en la población.

**Tabla 2.** Muestras de cocaína recibidas en el laboratorio de estupefacientes, Regional Nororiente, Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses en la ciudad de Bucaramanga durante 2012.

Departamento	Número de muestras recibidas
Arauca	82
Bolívar (sur)	30
Antioquia (oriente)	17
Santander	503
Norte de Santander	508
Total	1140

## 2.2. ANÁLISIS DE SOLVENTES RESIDUALES MEDIANTE *HEADSPACE* ESTÁTICO

### 2.2.1. Optimización de variables de extracción

La metodología para caracterización de impurezas volátiles por *headspace* estático fue optimizada mediante experimentos acorde con un diseño factorial  $3^2$ , en el cual se evaluó el tiempo de equilibrio térmico (5, 10 y 30min) y volumen de solución salina 220 g NaCl/L (0, 1 y 2 mL) en tres niveles.

Para la evaluación se empleó una mezcla de iguales proporciones de cada una de las muestras seleccionadas para el análisis.

La respuesta representada por el área cromatográfica total bajo la curva fue modelada en el paquete matemático MATLAB®R2013a en función de las dos variables evaluadas, con el propósito de identificar las condiciones de incubación a las cuales la respuesta corresponde a un máximo.

### 2.2.2. Figuras de mérito

Se realizaron curvas de calibración de los 21 solventes que se presentan en la Tabla 3.

A partir de una solución stock preparada tomando 100  $\mu$ L de cada uno de los solventes y aforando a 50 mL, se prepararon diluciones de 1:2, 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:100 y 1:1000 en solución de 1-clorobutano (solvente de referencia) de 20  $\mu$ g/mL. El volumen óptimo determinado a partir del diseño experimental de optimización de variables se adicionó a 150 mg de hidroxizina, un adulterante libre de solventes residuales.

**Tabla 3.** Solventes analizados mediante HS-GC-FID.

SOLVENTE	FABRICANTE	PUREZA	CIUDAD
1-Butanol	J.T. Baker	100	Phillipsburg, NJ, EE.UU
1-Propanol	J.T. Baker	100	Phillipsburg, NJ, EE.UU
2-Butanol	J.T. Baker	99	Phillipsburg, NJ, EE.UU
Acetato de butilo	Carlo Erba	99	Vía C.Imbonati Milano, Italia
Acetato de etilo	Mallinckrodt Baker	99,6	Phillipsburg, NJ, EE.UU
Acetato de isobutilo	Merck	98	Hohenbrunn, Alemania
Acetato de isopropilo	Merck	99	Hohenbrunn, Alemania
Acetato de propilo	Merck	98	Hohenbrunn, Alemania
Acetona	Merck	99,8	Darmstadt, Alemania
Ciclohexano	Merck	99,7	Darmstadt, Alemania
Etanol	Scharlau	99,9	Sentmenat, España
Éter etílico	Mallinckrodt Baker	100	Phillipsburg, NJ, EE.UU
Heptano	Fischer Scientific	99	Fair Lawn, NJ, EE.UU
Hexano	Merck	96	Darmstadt, Alemania
Isobutanol	Merck	99,9	Darmstadt, Alemania
Isooctano	Merck	99,5	Darmstadt, Alemania
Isopropanol (IPA)	J.T. Baker	99,9	Xalostoc, México
Metiletilcetona (MEK)	Carlo Erba	99,8	Vía C.Imbonati Milano, Italia
Metilisobutilcetona (MIBK)	Merck	99	Darmstadt, Alemania
Tolueno	Merck	99,5	Darmstadt, Alemania
Xileno	Marck	99,8	Darmstadt, Alemania

Con base en las soluciones de estos solventes se evaluaron rangos lineales, linealidad y límites de detección.

### 2.2.3. Preparación de muestras

Para el análisis de solventes residuales en muestras de cocaína mediante *headspace* estático se tomaron 150 mg de muestra sólida en un vial de 10 mL de capacidad, al cual se adicionó el volumen óptimo (de acuerdo con los resultados de la optimización de variables de extracción) de solución salina de 1-clorobutano (99.8%, *Mallinckrodt Baker Inc.* J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, EE.UU.), solvente de referencia; la mezcla fue sellada herméticamente. Para cada muestra se prepararon tres réplicas independientes.

#### 2.2.4. Análisis instrumental

El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo de gases *Hewlett-Packard 6890 Plus* con detector de ionización en llama (Palo Alto, California, EE.UU.) acoplado a un automuestreador de volátiles *Triplussampler* (véase Figura 11). La separación de los solventes residuales presentes en muestras de cocaína se llevó a cabo en una columna de fase estacionaria 100% polidimetilsiloxano (DB-1, *J & W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 30 m, L x 0,25 mm, D.I. x 1  $\mu$ m d<sub>f</sub>.

La muestra se calentó durante el tiempo óptimo de incubación (de acuerdo con los resultados de la optimización de variables de extracción) a 90°C con agitación, y se transfirió 1 mL de fase vapor al puerto de inyección del cromatógrafo.

**Figura 11.** Cromatógrafo de gases *Hewlett-Packard 6890 Plus* con detector de ionización en llama (Palo Alto, California, EE.UU.) acoplado a un automuestreador de volátiles *Triplussampler*, equipado con un puerto de inyección *split/splitless*. Lugar: Laboratorio de Toxicología, Regional Nororiente, INMLyCF. Bucaramanga, el 29 de agosto de 2014.



Se empleó nitrógeno (99,999%, Cryogas, Sibaté, Colombia) como gas de arrastre en la separación cromatográfica, e inyección en modo *split* en una relación 5:1, a

presión constante (3,84 psi). La temperatura del inyector fue de 250°C y la temperatura del horno durante el análisis cromatográfico se programó a 45°C durante 12 minutos, a una velocidad de 7°C/min hasta 130°C, luego aumentó a razón de 30°C/min hasta 200°C donde se mantuvo por 5 minutos. El detector de ionización en llama se mantuvo a una temperatura de 250°C, con un flujo de 40 mL/min de hidrógeno (generador de H<sub>2</sub> Peak 9200) y 350 mL/min de aire zero (99,995%, Cryogas, Sibaté, Colombia). Las señales adquiridas fueron procesadas en el *software* ChemStation B.03.01-SR1.1[317].

## **2.3. ANÁLISIS DE SOLVENTES RESIDUALES MEDIANTE MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA**

### **2.3.1. Evaluación de variables de extracción**

Para la selección de las condiciones de equilibrio térmico se evaluó el volumen de solución salina (220 g NaCl/L) en tres niveles 100, 550 y 1000 µL, el tiempo de exposición (equilibrio térmico) de la fibra de polidimetilsiloxano (PDMS), 100 µm (Supelco, Bellefonte, PA, EE.UU.) en tres niveles 10, 30 y 50 min, y la temperatura de incubación (20, 45 y 70°C) bajo un diseño factorial fraccionado de 3<sup>3-1</sup>.

Para la evaluación se emplearon 100 mg de una mezcla de iguales proporciones de cada una de las muestras seleccionadas para el análisis. El área total bajo el perfil cromatográfico fue evaluada en función del tiempo de equilibrio térmico, el volumen de solución salina adicionada y la temperatura de incubación.

### **2.3.2. Figuras de mérito**

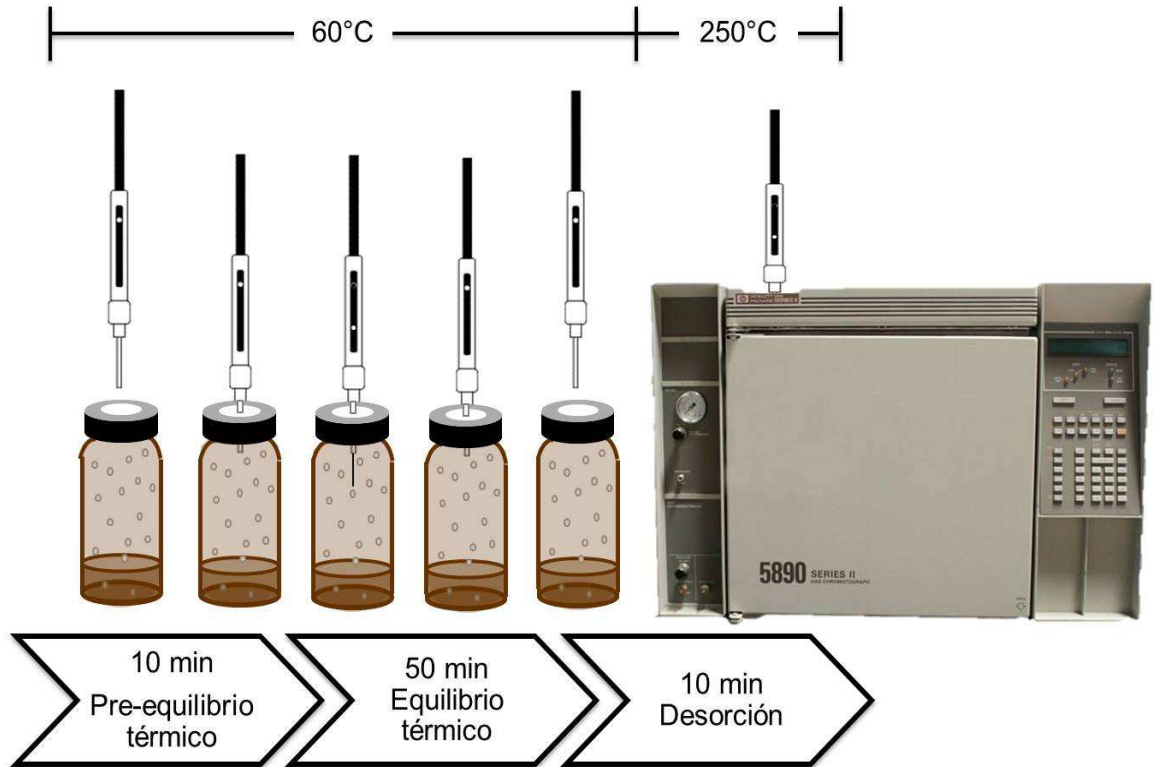
Para el análisis de la reproducibilidad de la metodología establecida se analizaron 10 réplicas de una muestra. El límite de detección se determinó con base en la desviación estándar de 10 réplicas de blancos.

### **2.3.3. Preparación de muestras y microextracción en fase sólida**

En un vial ámbar de 4,5 mL de capacidad se adicionaron 100 mg de muestra sólida y 100 µL de solución salina de 149,2 µL/L de solvente de referencia (45, 99.5%, Merck, Darmstadt, Alemania), el cual se mantuvo sellado herméticamente con tapa rosca y septum de silicona.

Las muestras fueron acondicionadas en una placa de calentamiento a la temperatura seleccionada a partir de los experimentos descritos en el numeral 3.3.1 durante el período de pre-equilibrio establecido experimentalmente, el septum fue perforado con la aguja del *holder* que protege el recubrimiento polimérico. Una vez expuesta la fibra al espacio de cabeza, las condiciones de temperatura se mantuvieron durante el período de equilibrio térmico determinado. Luego, la fibra fue retraída al interior de la aguja, retirada del vial, introducida en el puerto de inyección y expuesta a 250°C para promover la desorción de los analitos absorbidos en el polímero (véase Figura 12).

**Figura 12.** Condiciones de incubación, absorción y desorción aplicadas durante microextracción en fase sólida.



#### 2.3.4. Análisis instrumental

El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo de gases *Hewlett-Packard 5890 Series II* con detector de ionización en llama (Palo Alto, California, EE.UU.), el cual se presenta en la Figura 13. Los solventes residuales presentes en muestras de cocaína fueron separados en una columna de fase estacionaria de polietilenglicol (DB-WAX, *J & W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m, L x 0,25 mm, D.I. x 0,25  $\mu\text{m}$  d<sub>f</sub>. Como gas de arrastre se empleó nitrógeno (99,999%, Linde, Bogotá, Colombia) a un flujo de 1 mL/min. La inyección fue modo *split* en una relación 30:1. La temperatura del inyector se fijó en 250°C y la temperatura del horno se programó de la siguiente manera: a 30°C durante 5 minutos, a una velocidad de 2°C/min hasta 60°C donde se mantuvo por 3 minutos, luego aumentó a razón de 3°C/min hasta 150°C (10 min) y finalmente aumentó a una velocidad de 4°C/min hasta 230 donde permaneció constante durante 15 minutos. El detector FID se mantuvo a una temperatura de 250°C, con flujo de 30 mL/min de hidrógeno (generador de H<sub>2</sub> PeakPH200) y 300 mL/min de aire zero (99,995%, Linde, Bogotá, Colombia). Las señales adquiridas fueron procesadas en el software ChemStation B.01.03[204].

**Figura 13.** Cromatógrafo de gases *Hewlett-Packard 5890 Series II* con detector de ionización en llama (Palo Alto, California, EE.UU.), equipado con un puerto de inyección *split/splitless*. Lugar: Laboratorio J. J. Thomson, CENIVAM, UIS-Bucaramanga, el 11 de septiembre de 2014.



## 2.4. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA

### 2.4.1. Matriz de resultados

Para el cálculo de los factores de respuesta relativos se determinó la relación entre el área cromatográfica de cada una de las señales integradas y el área del solvente de referencia adicionado a la muestra respectiva (véase Ecuación 5). Los factores de respuesta promedio fueron tabulados de tal manera que las columnas representaron los solventes integrados (variables) y las filas las muestras analizadas (casos). Los campos vacíos, correspondientes a solventes no detectados se completaron con el valor correspondiente al 0,01% de la desviación estándar de los blancos.

### 2.4.2. Pre-tratamientos

Debido a que los factores de respuesta relativos para cada uno de los diferentes solventes presentaron comportamientos diversos y diferentes tipos de distribución, se aplicó una metodología matemática que permitiera homogenizar las señales obtenidas. Para tal fin, se aplicaron procedimientos de normalización (P),

estandarización (E), logaritmo (LOG), raíz cuarta (RAÍZ 4) y combinaciones de ellos (P+E, E+P, P+LOG, P+RAÍZ 4, E+LOG, E+RAÍZ 4, RAÍZ 4+LOG) a la matriz de resultados, como se presenta en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Ecuaciones correspondientes a pre-tratamientos aplicados.

PRE-TRATAMIENTO	ECUACIÓN
Normalización, P	$P_{kj} = \frac{x_{kj}}{\bar{x}_j}$
Estandarización, E	$E_{kj} = \frac{x_{kj}}{S(x_j)}$
Logaritmo, LOG	$Log_{kj} = Log x_{kj}$
Raíz cuarta, RAIZ 4	$Raíz\ 4_{kj} = \sqrt[4]{x_{kj}}$
P+E	$\frac{P_{kj}}{S(P_{kj})}$
E+P	$\frac{E_{kj}}{\bar{E}_j}$
P+LOG	$Log P_{kj}$
P+RAIZ 4	$\sqrt[4]{P_{kj}}$
E+LOG	$Log E_{kj}$
E+RAIZ 4	$\sqrt[4]{E_{kj}}$
RAIZ 4 + LOG	$Log (Raíz\ 4_{kj})$

$x_{kj}$ : El valor de la variable  $j$  para la muestra  $k$

$\bar{x}_j$ : El valor promedio de la variable  $j$

$S(x_j)$ : El valor de la desviación estándar para la variable  $j$

### 2.4.3. Reducción de variables

Para cada una de las variables se determinaron la varianza y el porcentaje asociado sobre la varianza total. Las variables fueron organizadas en orden decreciente según su aporte y se seleccionaron para cada pre-tratamiento las variables hasta las cuales el porcentaje de varianza acumulada completara el 85%.

#### **2.4.4. Análisis de componentes principales**

Una vez consolidada la matriz de solventes residuales (tiempos de retención relativos) Vs. muestras de cocaína para cada pre-tratamiento, se procedió a evaluar el grado de diferenciación entre las muestras provenientes de Norte de Santander y las demás muestras incautadas en la región mediante al análisis de componentes principales realizado en el paquete de análisis de datos STATISTICA® 10. Con base en el análisis de cargas y en la varianza representada por las nuevas variables (componentes) principales, fue posible identificar *clusters* relacionados con el lugar de procedencia.

#### **2.4.5. Cálculo de similitudes y disimilitudes**

Por otra parte, con el propósito de establecer la similitud entre cada par de muestras, se determinaron la distancia euclidiana (véase Ecuación 8), distancia Manhattan (véase Ecuación 9), distancia Chebyshev (véase Ecuación 10), % de discrepancia (véase Ecuación 11), Coeficiente de correlación de Pearson (véase Ecuación 12), e índice de disimilitud de Pearson (véase Ecuación 13).

Con base en las matrices de distancias e índices de correlación, se determinaron los porcentajes de verdaderos y falsos positivos y negativos; estos resultados permitieron comparar los parámetros métricos y evaluar el impacto de los umbrales de separación establecidos para la agrupación de posibles muestras correlacionadas.

#### **2.4.6. Análisis de los *K Nearest Neighbors***

Cada una de las matrices obtenidas posterior al procedimiento de selección de variables y pre-tratamientos de homogenización de rangos fueron sometidas al análisis de *K*-NN con el propósito de evaluar la certeza del pronóstico obtenido; para tal fin, se seleccionó la distancia métrica con mejores resultados identificada en la sección 2.4.5 y se probaron valores de *K* de 3, 5 y 7.

A partir de los pronósticos suministrados por la herramienta estadística XLSTAT versión 2015.1.02, se determinó el porcentaje de resultados verdaderos (positivos y negativos) y falsos (positivos y negativos).

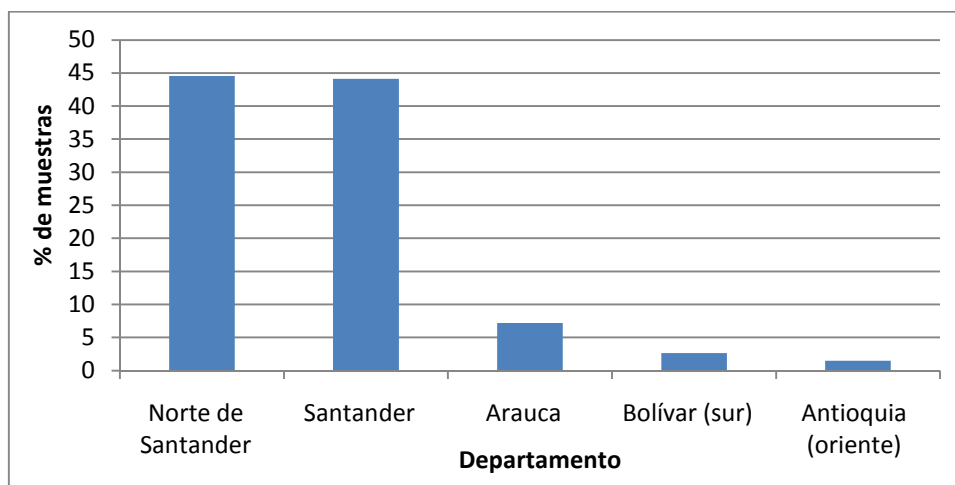
### 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 3.1. SELECCIÓN DE MUESTRAS

El laboratorio de Estupefacientes de la Regional Nororiente del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses recibió 1140 muestras de cocaína en 2012, procedentes de los departamentos de Santander, Norte de Santander, Arauca, sur de Bolívar y oriente de Antioquia; con base en la Ecuación 14, y en el porcentaje de muestras recibidas de cada municipio, se seleccionó aleatoriamente el número de muestras presentado en la Tabla 5.

De acuerdo con las solicitudes de análisis recibidas en el laboratorio de Estupefacientes (Regional Nororiente) en 2012, las muestras incautadas en el departamento de Santander representaron aproximadamente el mismo porcentaje que las muestras incautadas en Norte de Santander (véase Figura 14), a pesar de que la zona con mayor productividad del alcaloide se ubica en el departamento de Norte de Santander (Catatumbo). Esto puede ser debido a que las incautaciones realizadas por autoridades con funciones de Policía Judicial pueden ser remitidas a otros laboratorios autorizados en la región; este hecho no afecta la representatividad del muestreo aplicado, ni la correlación entre el perfil químico y el lugar de procedencia de las muestras.

**Figura 14.** Representación porcentual de muestras de cocaína incautadas en la región y remitidas al Laboratorio de Estupefacientes del INMLyCF.



El departamento de Cesar fue incluido por primera vez en el Informe de Monitoreo de Cultivos de Coca en Colombia hasta el año 2012, pues solo en este año los dispositivos de monitoreo detectaron por primera vez áreas de cultivo de planta de coca (UNODC y Gobierno de Colombia, 2014). Por tal motivo, la única evidencia recibida del departamento de Cesar no constituye una muestra representativa para el estudio de perfiles de impurezas y fue excluida del análisis.

**Tabla 5.** Número de muestras seleccionadas de incautaciones realizadas en cada municipio del área de cobertura.

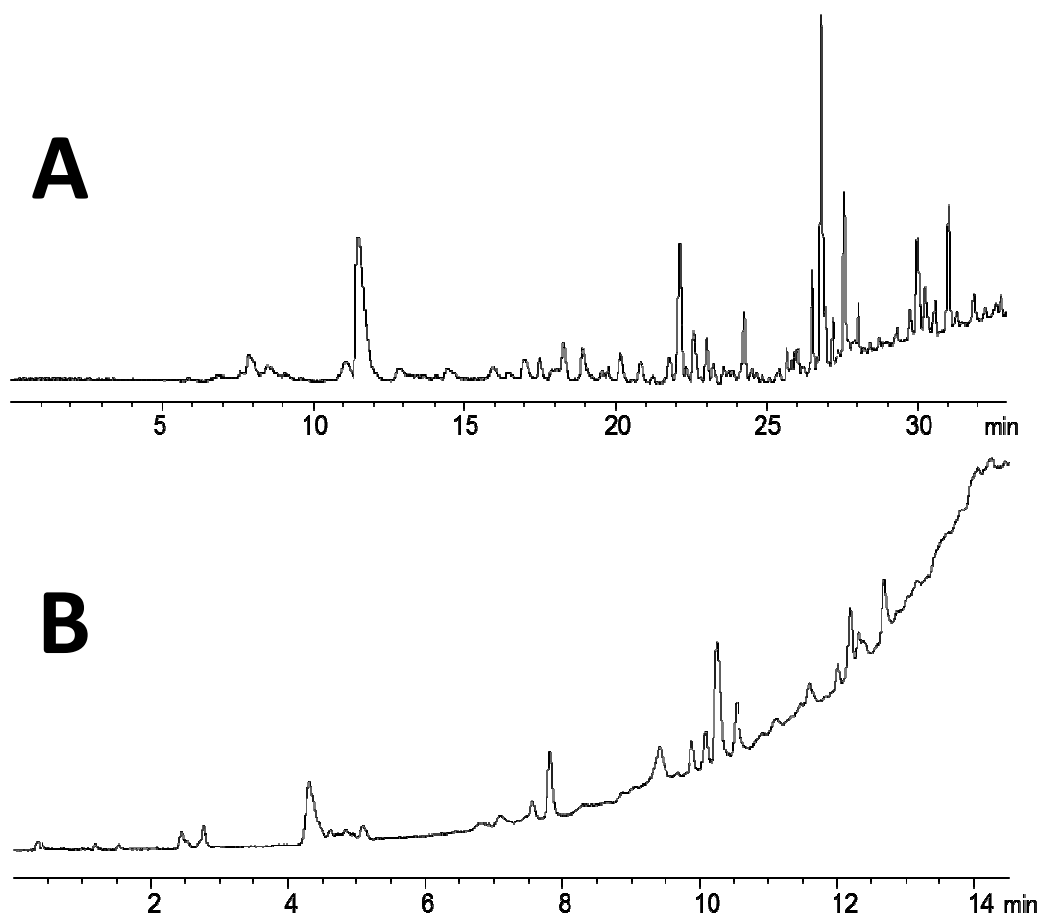
Dpto.	Municipio	Casos	Número de muestras recibidas	Número de muestras seleccionadas	Porcentaje, %
Arauca	Arauca	39	70	10	8
	Saravena	1	2	1	1
	Tame	4	10	1	1
Bolívar (sur)	Simití	3	30	1	1
Antioquía (oriente)	Maceo	1	2	1	1
	Puerto Berrío	7	14	2	2
	Puerto Nare	1	1	0	0
Cesar	Valledupar	1	1	0	0
Santander	Barbosa	5	14	2	2
	Barrancabermeja	66	136	13	10
	Bucaramanga	77	219	21	16
	Cimitarra	5	35	16	12
	Girón	2	4	1	1
	Lebrija	5	9	1	1
	Piedecuesta	30	60	15	11
	Rionegro	5	14	2	2
	Sabana de Torres	3	3	0	0
	San Gil	4	7	1	1
San Vicente de Chucurí	1	2	0	0	
Norte de Santander	Ábrego	3	4	2	2
	Chinácota	1	1	0	0
	Cúcuta	106	409	33	25
	El Carmen	1	1	1	1
	El Tarra	3	6	1	1
	Lourdes	1	1	0	0
	Ocaña	10	20	4	3
	Pamplona	15	51	1	1
	Sardinata	3	4	0	0
Tibú	4	10	2	2	
<b>TOTAL</b>		407	1140	132	100

## 3.2. SELECCIÓN DE COLUMNA CROMATOGRÁFICA

### 3.2.1. *Headspace* estático

Durante la adecuación de los parámetros analíticos empleados en cromatografía de gases con analizador de volátiles (HS), se realizaron pruebas con dos columnas cromatográficas partiendo de la disponibilidad de columnas existentes en los laboratorios de la Regional Nororiente del INMLyCF. La primera de ellas, una columna de uso rutinario en análisis de alcoholemia, “HP-Bood alcohol”, la cual está diseñada para separar solventes en cortos tiempos de análisis; su fase estacionaria polar permite la resolución de compuestos de bajo peso molecular y un rango de temperatura de trabajo medianamente amplio; la segunda es una columna totalmente apolar, empleada para análisis de fracciones del petróleo (Guía de selección de columnas, 2007), con rango de temperaturas más amplio y tiempos de análisis más largos (véase Tabla 6).

**Figura 15.** Resultados cromatográficos de muestra de gasolina obtenidos con columna: A. HP-blood Alcohol y B. DB-1.

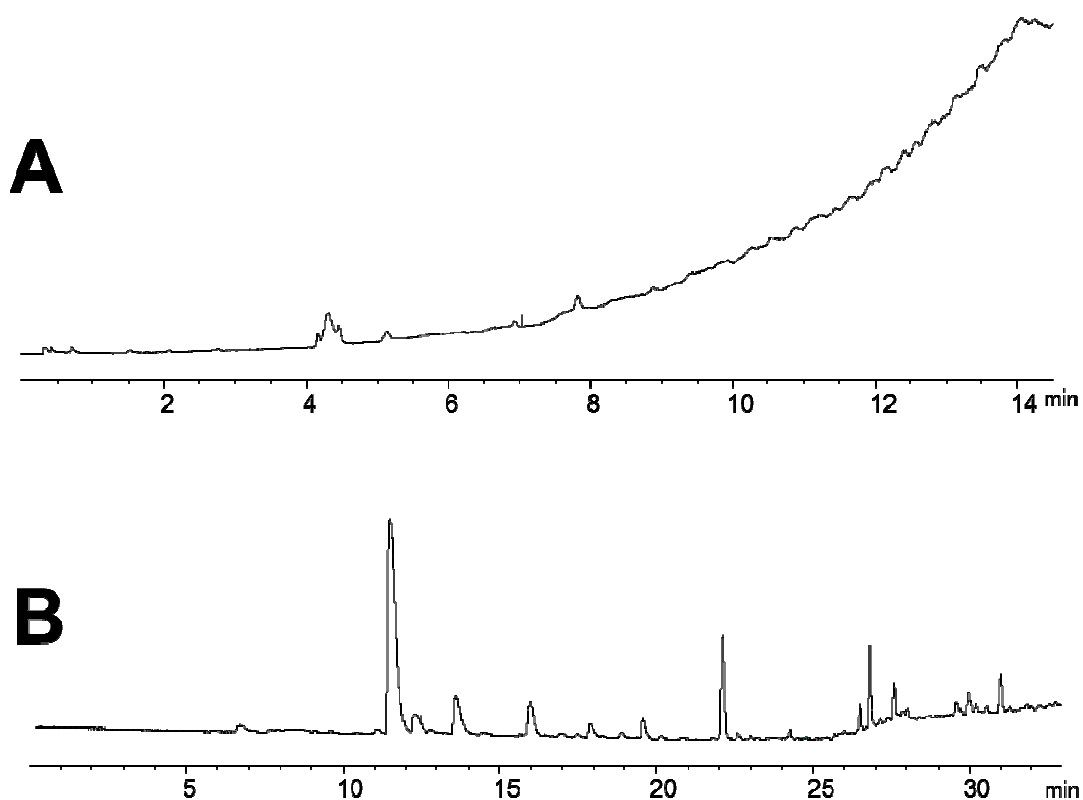


**Tabla 6.** Características de columnas evaluadas en análisis HS-GC-FID.

HP-Blood Alcohol	DB-1
Polar	Fase estacionaria: 100% dimetilpolisiloxano Apolar
Rango de temperatura -60 – 270°C	Bajo sangrado Rango de temperatura: -60 – 325°C
7,5 m, L x 0,32 mm, D.I. x 2 µm d <sub>f</sub> .	Lavable con disolvente 30 m, L x 0,25 mm, D.I. x 1 µm d <sub>f</sub> .

Los resultados de análisis de solventes residuales e hidrocarburos (gasolina) obtenidos con las dos columnas previamente descritas se presentan en las Figuras 15 y 16. De acuerdo con los perfiles cromatográficos obtenidos, la columna DB-1, presentó mejor resolución entre señales cromatográficas y mayor sensibilidad ante un mayor número de compuestos (señales). Así, la fase estacionaria apolar (100% polidimetilsiloxano) fue seleccionada para el análisis de impurezas volátiles presentes en muestras de cocaína, mediante extracción con *headspace* estático.

**Figura 16.** Resultados cromatográficos de solventes residuales en muestras de cocaína obtenidos con columna: A. HP-blood Alcohol y B.DB-1.



### 3.2.2. Microextracción en fase sólida

Con base en experiencias previas adelantadas por el grupo de investigación CENIVAM, la columna DB-WAX ha presentado excelentes resultados en la resolución de mezclas complejas de compuestos volátiles extraídos mediante la técnica de SPME en matrices vegetales.

Las pruebas iniciales adelantadas para análisis de solventes residuales en muestras de cocaína permitieron confirmar el buen desempeño de la columna polar en el estudio de perfiles de impurezas. En la Tabla 7, se presentan las principales características de la columna seleccionada para el análisis.

**Tabla 7.** Características de columna evaluada en análisis SPME-GC-FID.

DB-WAX
Fase estacionaria: Polietilenglicol
Alta polaridad
Rango de temperatura: 20 – 250°C
Alta reproducibilidad

## 3.3. OPTIMIZACIÓN/SELECCIÓN DE VARIABLES

### 3.3.1. Headspace estático

Con el propósito de identificar las condiciones óptimas para extracción de solventes residuales en muestras de cocaína mediante *headspace* estático, se aplicó el diseño experimental factorial que se presenta en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Diseño experimental para optimización de variables en análisis HS-GC-FID.

Experimento	Tiempo de equilibrio térmico (min)	Volumen de solución salina (mL)
A	5	0
B	5	1
C	5	2
D	10	0
E	10	1
F	10	2
G	30	0
H	30	1
I	30	2

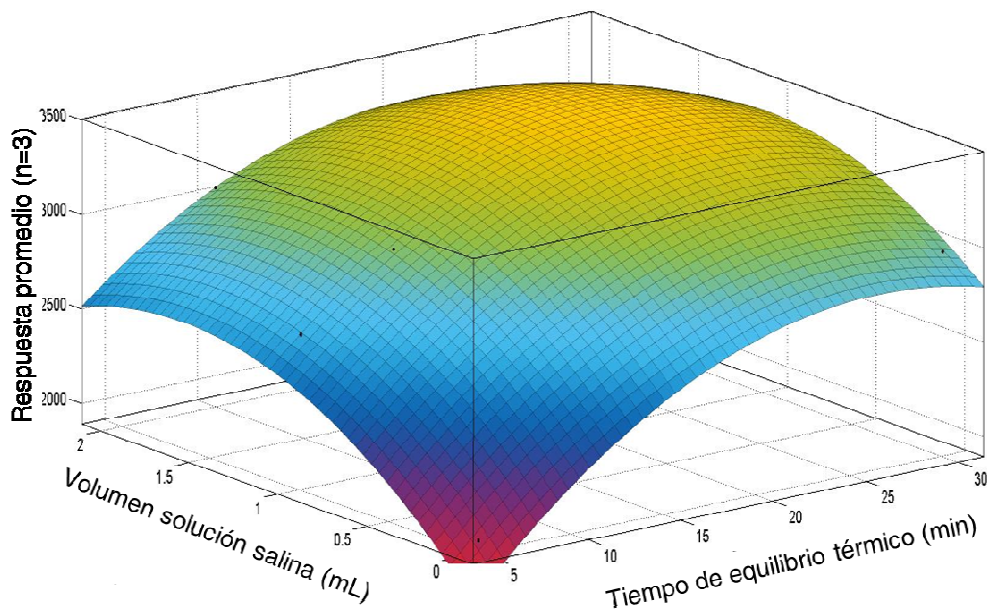
Los resultados promedio de área total cromatográfica obtenidos para tres réplicas de cada uno de los experimentos fueron modelados utilizando la herramienta de software matemático MATLAB®R2013a. El modelo con mejor grado de ajuste a los datos experimentales fue el polinomio expresado por la Ecuación 15; el gráfico

correspondiente a la ecuación matemática, se presenta en la Figura 17. El error cuadrático medio, RMSE, calculado como la raíz cuadrada del promedio de las sumas de las diferencias cuadráticas entre el área total del modelo y el área total determinada experimentalmente dividida sobre n, fue de 121,5; y el coeficiente de correlación fue de 0,97.

### Ecuación 15

Con base en las primeras derivadas de la Ecuación 15, fue posible identificar las condiciones para las que el área total representaba el punto máximo de la superficie; las condiciones óptimas determinadas fueron de 23 min de incubación y 1,3 mL de solución salina.

**Figura 17.** Representación gráfica del modelo matemático con mejor ajuste a los datos experimentales de optimización de variables.



#### 3.3.2. Microextracción en fase sólida

Un diseño experimental factorial fraccionado fue aplicado con el propósito de identificar condiciones apropiadas para el análisis de solventes residuales mediante microextracción en fase sólida (véase Tabla 9).

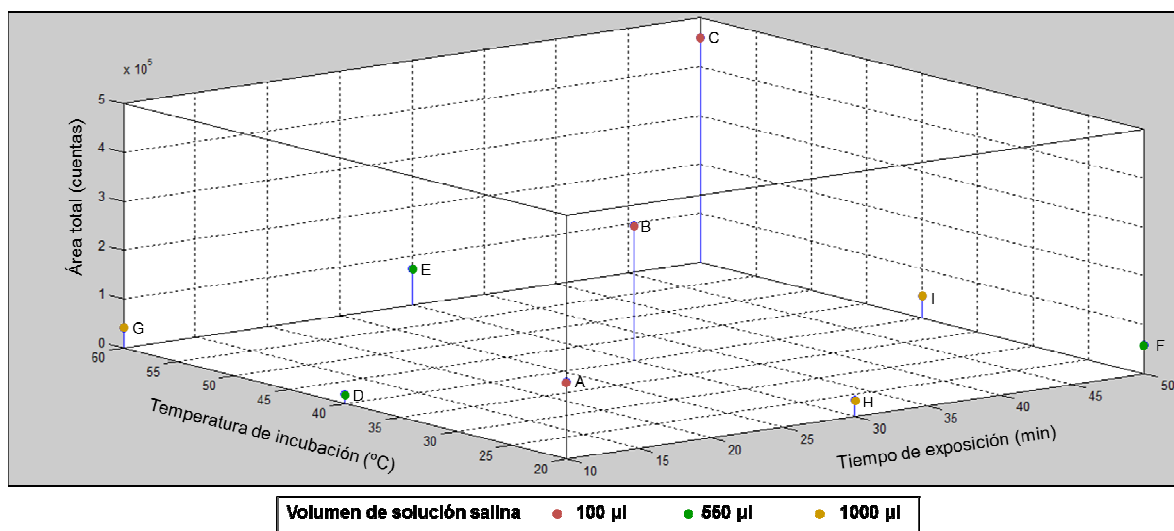
Los resultados promedio obtenidos experimentalmente se presentan en la Figura 18; los mayores valores de área total fueron integrados para los experimentos cuyo volumen de solución salina adicionado (a la misma cantidad de muestra, 150 mg) fue de 100  $\mu$ L.

**Tabla 9.** Diseño experimental para selección de variables en análisis SPME-GC-FID.

Experimento	Volumen de solución salina ( $\mu\text{L}$ )	Tiempo de exposición (min)	Temperatura de incubación ( $^{\circ}\text{C}$ )
A	100	10	20
B	100	30	40
C	100	50	60
D	550	10	40
E	550	30	60
F	550	50	20
G	1000	10	60
H	1000	30	20
I	1000	50	40

Teniendo en cuenta la expresión reportada por Zhan y Pawliszyn en 1993, la cantidad de analito absorbido por el polímero de la fibra de SPME,  $n$ , en una extracción de *headspace*, es función de los volúmenes de recubrimiento polimérico, fase vapor y solución acuosa, de la concentración inicial de solventes en la fase condensada y de los coeficientes de partición (véase Ecuación 16).

**Figura 18.** Resultados experimentales para selección de condiciones de SPME.



**Ecuación 16**

Donde:

$C_0$ : Concentración inicial del analito en la solución acuosa;

$V_1$ : Volumen de recubrimiento polimérico en la fibra;

$V_2$ : Volumen de la solución acuosa;

$V_3$ : Volumen de la fase vapor;

$K_1, K_2$ ;

$K_1$ : Coeficiente de partición entre recubrimiento de la fibra y la fase vapor;

$K_2$ : Coeficiente de partición entre la fase vapor y la solución acuosa.

Compuestos volátiles, como los solventes orgánicos de interés, presentan  $K_1 \gg K_2$ , es decir, la cantidad de analitos extraídos por la fibra es insignificante con relación a la cantidad de analito existente en el espacio de cabeza. Así, la concentración en la solución acuosa permanece prácticamente invariable durante la extracción (Danzer, 2007).

La cantidad de muestra sólida es la misma en todos los experimentos, la concentración inicial de solventes en la fase acuosa ( $C_0$ ), es mayor para volúmenes menores de solución salina y disminuye al aumentar el volumen; teniendo en cuenta que la cantidad de analitos extraídos por la fibra, es directamente proporcional a la concentración inicial de solventes en la fase acuosa, los valores mayores de respuesta cromatográfica se registraron para los experimentos con concentraciones mayores, es decir los experimentos cuyo volumen de solución salina adicionado fue de 100  $\mu\text{L}$ .

Adicionalmente, a partir de la Figura 18 es posible concluir que el área total de compuestos volátiles extraídos aumenta cuando la temperatura de incubación y el tiempo de exposición aumentan simultáneamente, no así cuando alguna de las dos variables aumenta y la otra se mantiene en valores bajos o medios, como es el caso de los experimentos A-D-G, H-B-E, A-H-F y D-B-I, para los que no se observa una clara tendencia.

De acuerdo con los resultados experimentales obtenidos para el conjunto de ensayos examinados, se fijaron como condiciones de extracción, las siguientes:

- 100  $\mu\text{L}$  de solución salina
- 50 min de exposición de la fibra
- 60°C como temperatura de incubación de la muestra .

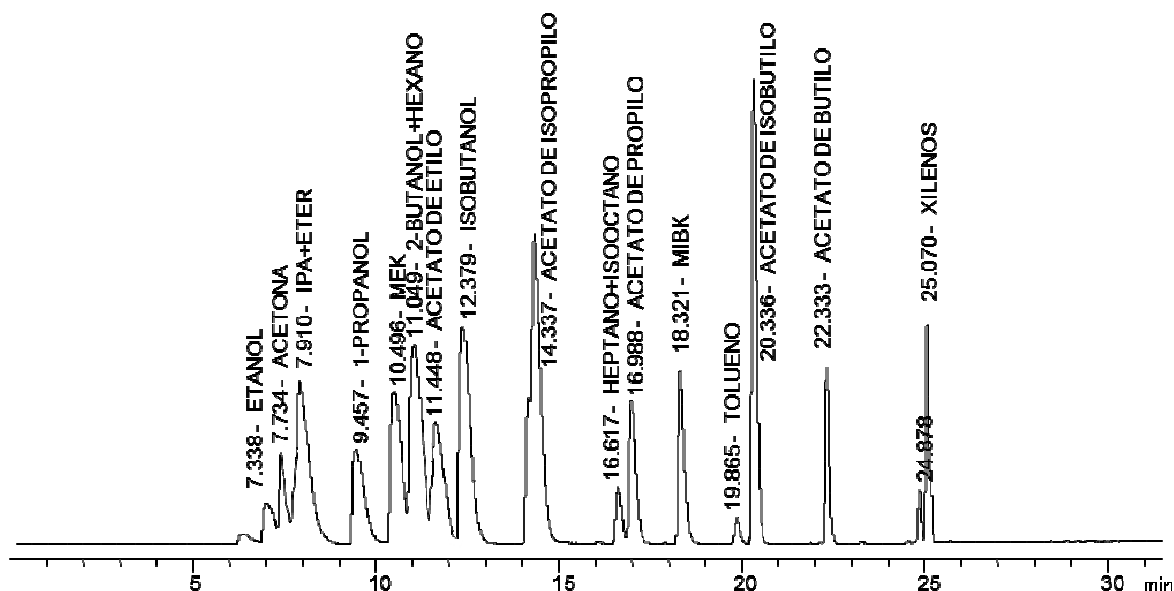
### **3.4. FIGURAS DE MÉRITO**

Los solventes orgánicos empleados para la evaluación de desempeño del método de HS-GC-FID, se seleccionaron con base en las resoluciones 09/1987, 019/2008, 009/2009 del Consejo Nacional de Estupefacientes, y demás normas complementarias emitidas por el Consejo Nacional de Estupefacientes para control especial de sustancias relacionadas con el procesamiento, fabricación o transformación de narcóticos o de drogas que produzcan dependencia.

El amplio espectro de posibles solventes empleados para el procesamiento de cocaína dificulta la resolución total de todas las señales detectadas en las muestras; así, con el propósito de mantener tiempos de corrida cromatográfica

aceptables y una calidad del método que garantice la trazabilidad de los perfiles de impurezas volátiles, se configuró una rampa de calentamiento que no permitió la resolución de todos los solventes, motivo por el cual algunas señales se analizaron como la sumatoria de las respuestas de más de un compuesto (véase Figura 19).

**Figura 19.** Perfiles cromatográficos de solventes individuales.



Para cada una de las señales detectadas, se presentan: tiempo de retención relativo al solvente de referencia, pendiente, intercepto, coeficiente de correlación, límite de detección y rango lineal evaluado. Los límites de detección reportados en la Tabla 10, se determinaron con base en la desviación estándar del blanco como se expresa en la Ecuación 17.

### Ecuación 17

Los resultados obtenidos confirman el buen desempeño analítico de la técnica de extracción *headspace* estático acoplada a cromatografía de gases con detector de ionización en llama. Los coeficientes de correlación, en la mayoría de los casos fueron mayores de 0,99 lo que indica una relación lineal entre las concentraciones relativas y los factores de respuesta relativos al solvente de referencia.

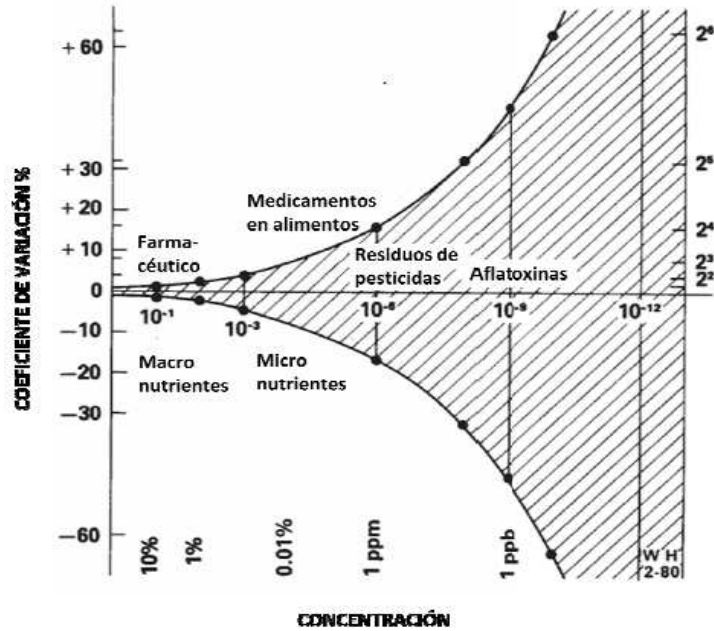
La evaluación del desempeño analítico del método de microextracción en fase sólida acoplado a cromatografía de gases con detector de ionización en llama (SPME-GC-FID), se realizó con base en la precisión de diez réplicas de una muestra seleccionada. Para cada una de las señales detectadas, se determinó el coeficiente de variación de los factores de respuesta relativos al solvente de referencia.

**Tabla 10.** Parámetros de desempeño del método para detección de solventes mediante HS-GC-FID.

SOLVENTE (n=3)	t <sub>RR</sub>	CV (%)	m	b	r <sup>2</sup>	LD (µg/mL)	RANGO DE CONCENTRACIONES (µg/mL)	
Etanol	0,555	0,300	0,00552	-0,01461	0,99346	0,89	105,15	- 788,21
Acetona	0,593	0,179	0,02146	-0,03733	0,99568	0,32	52,58	- 789,42
Isopropano + Eter (1:0,9)	0,618	0,113	0,03072	-0,06342	0,99924	0,27	29,96	- 1.498,20
1-Propanol	0,709	0,299	0,01449	-0,02416	0,99430	0,38	53,41	- 802,00
Metiletilcetona	0,783	0,325	0,03259	-0,06271	0,99646	0,21	53,51	- 803,39
2-Butanol + Hexano (1:0,8)	0,821	0,170	0,01317	-0,05248	0,99236	0,52	95,47	- 1.433,49
Acetato de etilo	0,851	0,306	0,12752	-0,20789	0,99643	0,05	17,87	- 893,41
Isobutanol	0,920	0,227	0,03413	-0,06683	0,99478	0,20	52,75	- 792,00
Acetato de isopropilo	1,059	0,571	0,07344	-0,12114	0,99579	0,05	17,27	- 863,28
1-Butanol + Ciclohexano (1:1)	1,093	0,214	0,05129	-0,13100	0,99725	0,07	31,83	- 1.586,66
Heptano + Isooctano (1:1)	1,222	0,245	0,04699	-0,07840	0,99701	0,01	2,74	- 1.372,54
Acetato de propilo	1,270	0,229	0,11572	-0,16503	0,99729	0,03	17,39	- 869,26
Metilisobutilcetona	1,374	0,553	0,07230	-0,09392	0,99727	0,05	15,84	- 792,00
Tolueno	1,516	0,337	0,07910	-0,06634	0,99758	0,03	1,73	- 862,67
Acetato de isobutilo	1,534	0,435	0,06911	-0,07001	0,99738	0,05	1,71	- 853,58
Acetato de butilo	1,690	0,361	0,05333	-0,04965	0,99789	0,06	1,74	- 872,19
Xilenos	1,884	0,300	0,00152	0,00785	0,99438	0,02	1,72	- 858,28

De acuerdo con la ecuación de Horwitz, la precisión de una serie de mediciones, expresada como el coeficiente de variación de los resultados, es una función de la concentración de los analitos en la muestra. Teniendo en cuenta que las concentraciones de solventes residuales en muestras de cocaína, se encuentran cercanos a 1 ppm, los coeficientes de variación aceptables para la metodología aplicada, deberían ser inferiores a 20% (véase Figura 20).

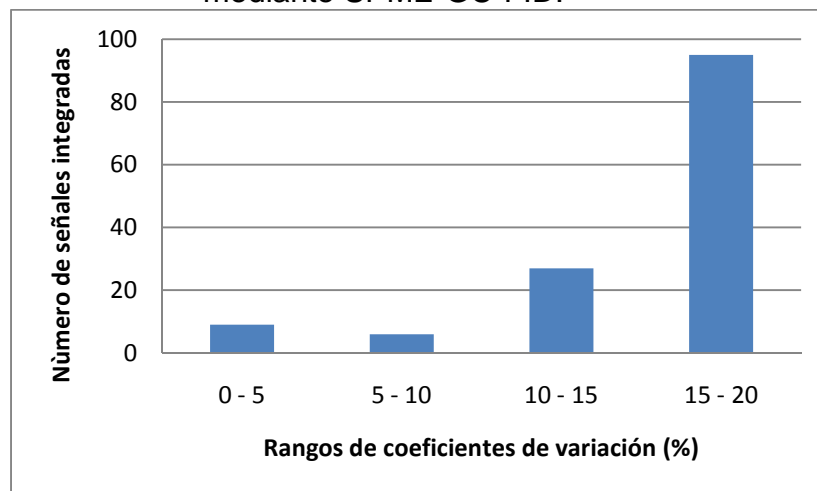
**Figura 20.** Trompeta de Horwitz



Fuente: Danzer, 2007.

Para las réplicas analizadas, se detectaron 137 señales, cuyos coeficientes de variación se presentan, agrupados en rangos, en la Figura 21. Los valores obtenidos confirman la aptitud del método, puesto que todas las señales presentaron coeficientes de variación inferiores al 20%.

**Figura 21.** Rangos de coeficientes de variación para ensayos de precisión mediante SPME-GC-FID.

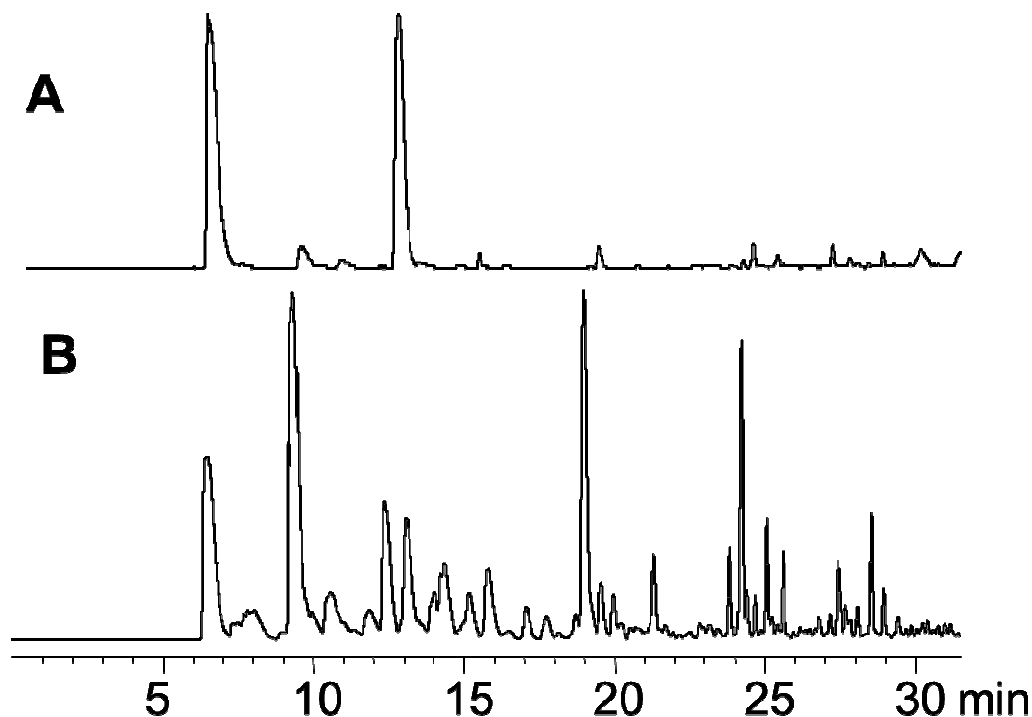


### 3.5. PERFILES CROMATOGRÁFICOS

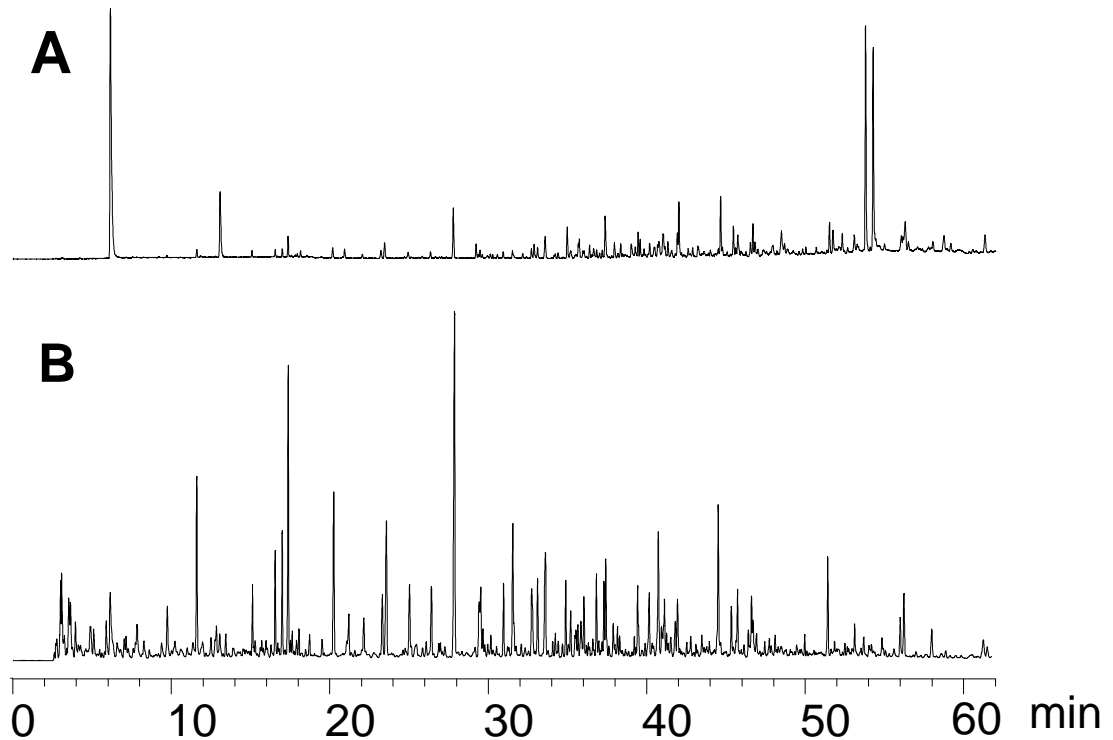
El propósito principal de los estudios de perfiles de impurezas en muestras de drogas es identificar posibles correlaciones entre la composición química y la historia de cada muestra; para ello, es posible adelantar el análisis estadístico sin identificar cada una de las señales detectadas. El presente trabajo de investigación, se desarrolló con base en los tiempos de retención relativos de cada señal, sin realizar identificación espectral de cada una de las señales.

Los perfiles cromatográficos de las 132 muestras presentaron señales de solventes residuales en mayor o menor concentración, con diferencias representativas entre las dos técnicas de *headspace* aplicadas, *i.e.* estático y microextracción en fase sólida; en las Figuras 22 y 23 se presentan comparativamente los perfiles cromatográficos de muestras de cocaína incautadas en los municipios de Piedecuesta (A) y Ocaña (B), de acuerdo con los perfiles detectados la técnica de SPME permite la extracción de un mayor número de solventes con relación a *headspace* estático.

**Figura 22.** Perfiles cromatográficos de solventes residuales presentes en muestras de cocaína del municipio de Piedecuesta, Santander (A) y del municipio de Ocaña, Norte de Santander (B), obtenidos mediante cromatografía de gases con auto-muestreador de volátiles (HS). DB-1 (60 m). *Split* 5:1.



**Figura 23.** Perfiles cromatográficos de solventes residuales presentes en muestras de cocaína del municipio de Piedecuesta, Santander (A) y del municipio de Ocaña, Norte de Santander (B), obtenidos mediante cromatografía de gases con microextracción en fase sólida (SPME). DB-Wax (60 m). *Split* 30:1.

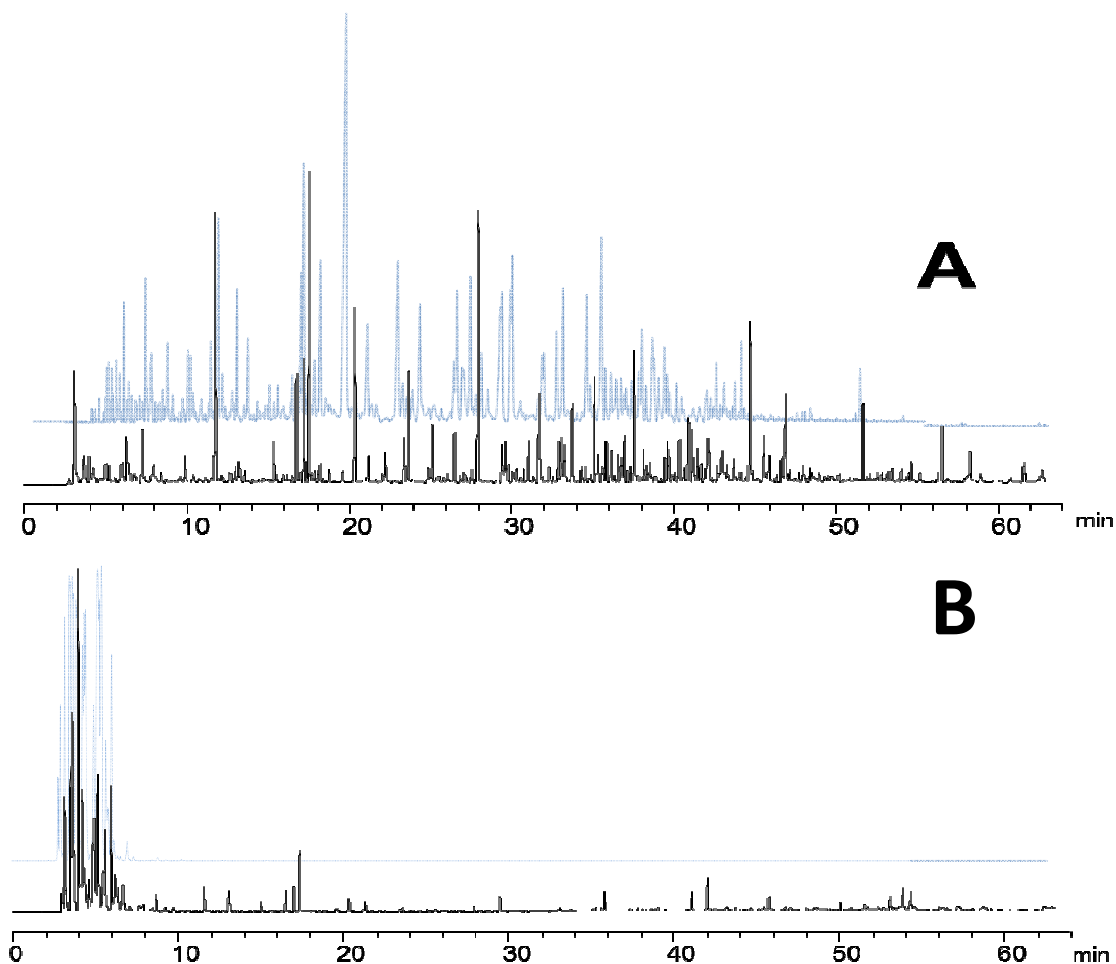


En algunos casos fue posible, incluso, observar el perfil de hidrocarburos de la gasolina o de solventes correspondientes a adelgazantes de pintura (véase Figura 24).

Un análisis de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas fue aplicado a una mezcla de todas las muestras seleccionadas para estudio. Los resultados permitieron identificar algunas series de compuestos característicos:

- Serie homóloga de hidrocarburos saturados desde  $C_8$  hasta  $C_{15}$
- Hidrocarburos aromáticos característicos de la composición de gasolina (benceno, tolueno, xilenos, etilbenceno, trimetilbencenos, tetrametilbencenos, entre otros)
- Solventes orgánicos sometidos a control especial (acetato de propilo, acetato de etilo)

**Figura 24.** Perfiles cromatográficos de solventes residuales presentes, en los que se puede detectar el perfil de hidrocarburos de la gasolina (A) y el perfil de solventes tipo *thinner* (B), los perfiles cromatográficos presentados en líneas azules corresponden a gasolina (A) y *thinner* (B), obtenidos mediante cromatografía de gases con microextracción en fase sólida (SPME). DB-WAX (60 m). *Split* 30:1.



### 3.6. TRATAMIENTO DE DATOS *HEADSPACE* ESTÁTICO

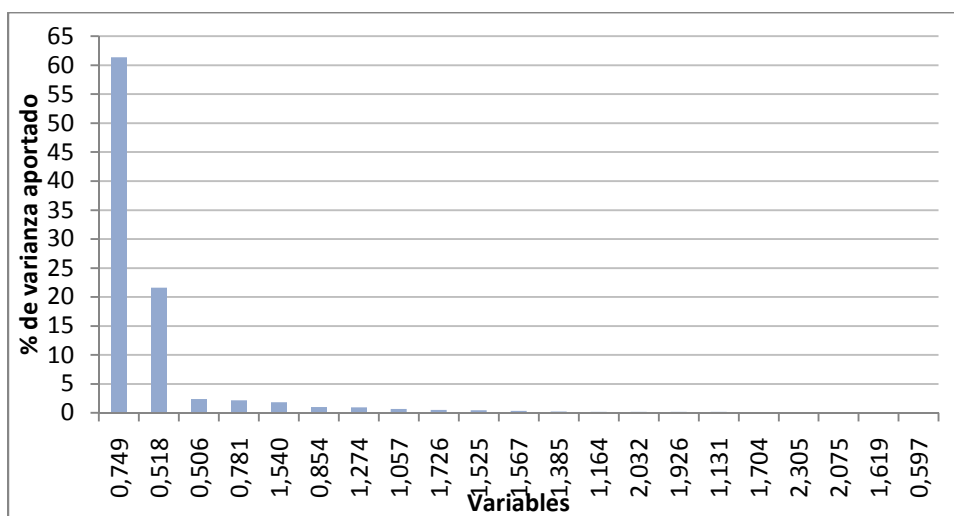
Las señales detectadas e integradas para cada una de las muestras analizadas, fueron tabuladas en una matriz de muestras analizadas Vs. tiempo de retención relativo al solvente de referencia. Con el propósito de adelantar análisis estadísticos a los resultados obtenidos, fue necesario completar los espacios en blanco de la matriz (solventes no detectados) con valores cercanos a cero, para no alterar la variabilidad de cada uno de los solventes. El valor seleccionado para tal fin fue el 0,01% de la desviación estándar promedio de las señales de los blancos. Para el caso de la técnica de extracción de *headspace* estático, la matriz consolidada

presentó dimensiones de 116 variables (solventes) por 132 casos (muestras).

### 3.6.1. Pre-tratamientos y análisis de componentes principales

Una vez completa la matriz se procedió a evaluar el aporte de varianza de cada una de las variables sobre la variabilidad total. Así, una representación gráfica de los principales aportes a la variabilidad del análisis se presenta en la Figura 25, donde solo 21 de las 116 variables detectadas agrupan el 95% de la variabilidad total del análisis.

**Figura 25.** Variables cuyas varianzas representan mayores aportes a la variabilidad total en análisis de HS-GC-FID (Varianza total acumulada = 95%).



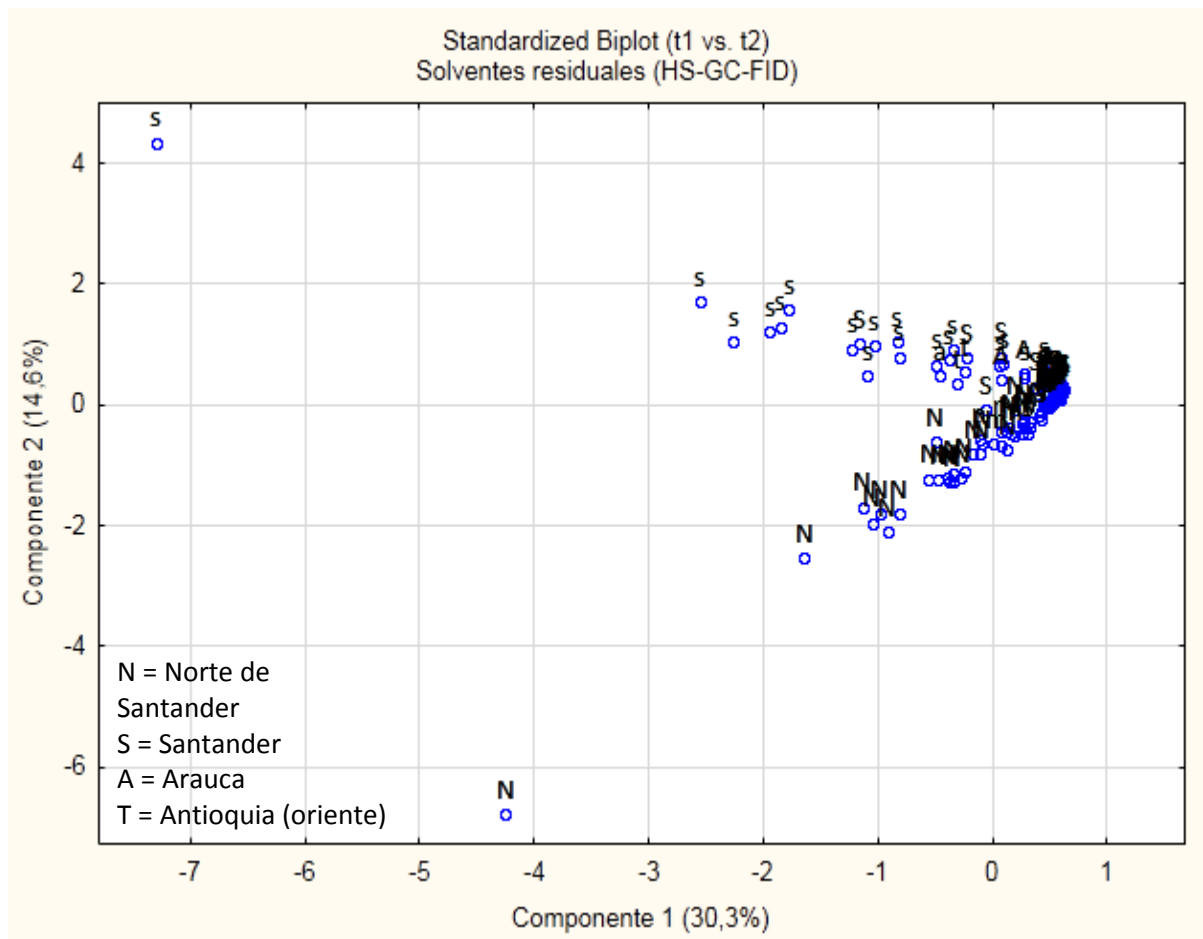
Un análisis de componentes principales aplicado de manera diagnóstica a la matriz de resultados se presenta en la Figura 26; de este gráfico es posible identificar una tendencia pero no una separación total del conjunto de muestras. Posiblemente, debido a que dos de los solventes detectados ( $t_{RR}$  0,7493 y 0,5182) agrupan más del 80% de la varianza total acumulada, información relevante aportada por variables con menor varianza podría ser enmascarada.

Por tal motivo, fue necesario aplicar diversos métodos de pre-tratamientos con el propósito de homogeneizar los rangos de datos, y así garantizar la representatividad de todas las variables manteniendo su varianza individual. Para ello se aplicaron los siguientes métodos a la matriz de resultados inicial:

- Normalización, P
- Estandarización, E
- Raíz cuarta, RAIZ 4
- Logaritmicación, LOG
- Normalización con posterior estandarización, P+E
- Estandarización con posterior normalización, E+P

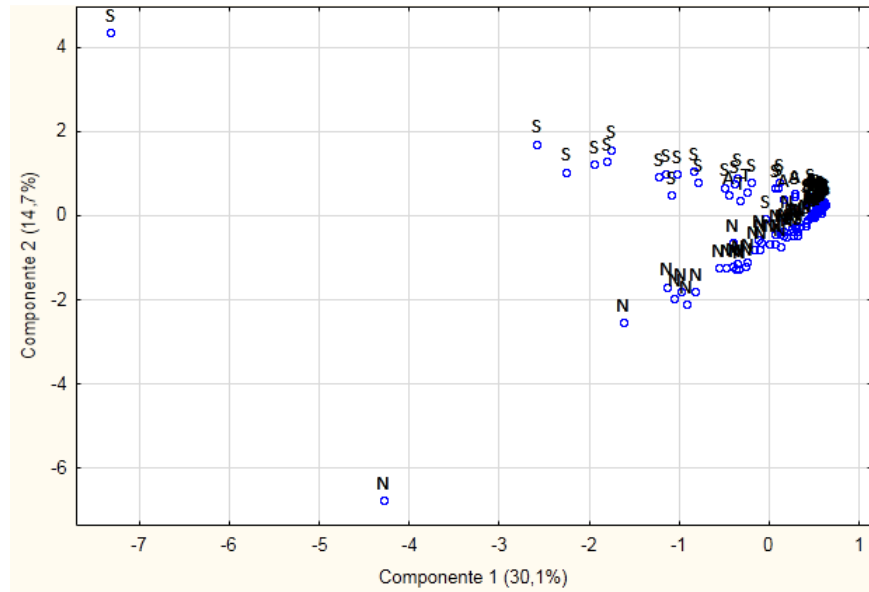
- Normalización con posterior raíz cuarta, P+RAIZ 4
- Normalización con posterior logaritmicación, P+LOG
- Estandarización con posterior raíz cuarta, E+RAIZ 4
- Estandarización con posterior logaritmicación, E+LOG
- Raíz cuarta con posterior logaritmicación, RAIZ 4+LOG

**Figura 26.** Representación de los factores de carga obtenidos por análisis de componentes principales aplicado a 132 muestras y 116 variables. Varianza acumulada de 44,9% para componentes principales 1 y 2.

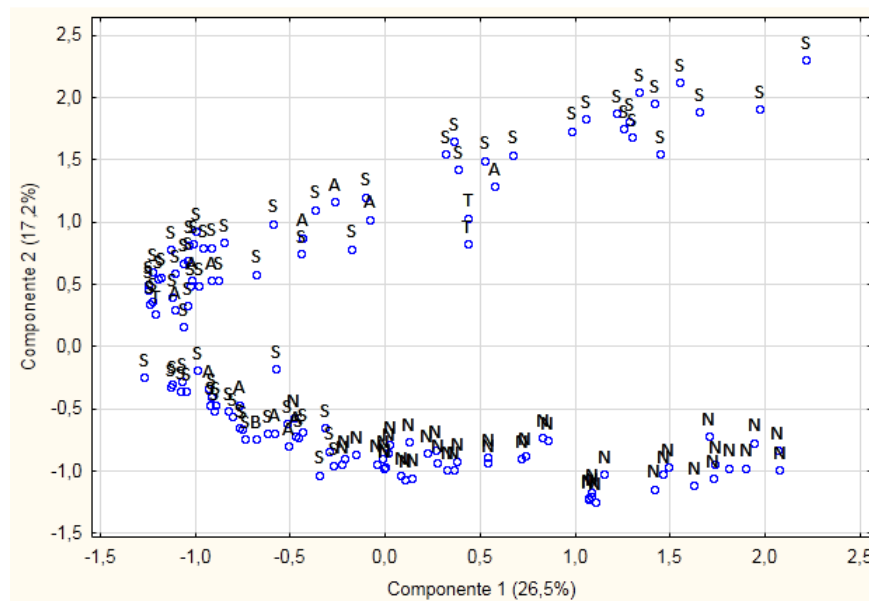


Los resultados obtenidos, posteriores a los pre-tratamientos aplicados, fueron sometidos a análisis de componentes principales. Con el propósito de evaluar el impacto de los pre-tratamientos aplicados, a continuación se presentan las Figuras 27 - 29:

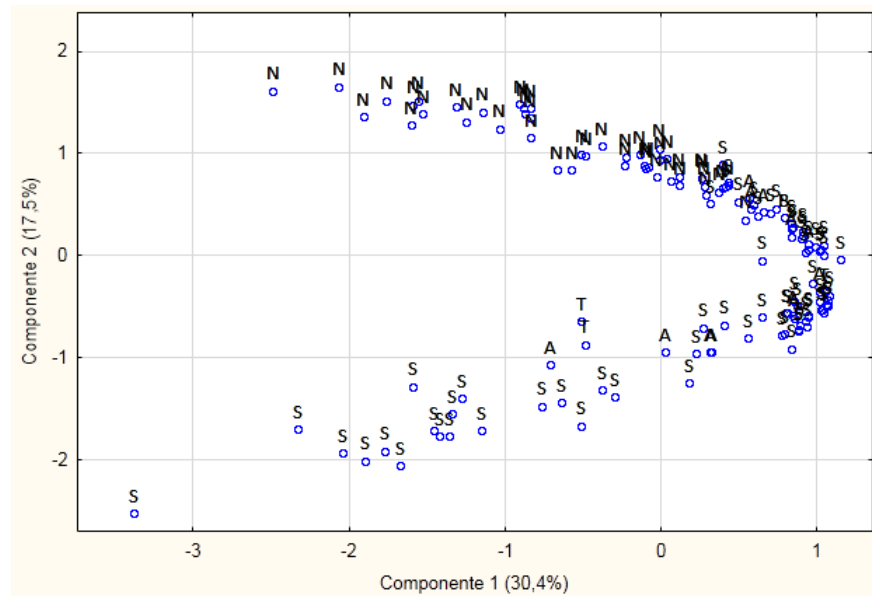
**Figura 27.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado al pre-tratamiento de normalización. Varianza acumulada de 44,8% para componentes principales 1 y 2.



**Figura 28.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado al pre-tratamiento de logaritmación. Varianza acumulada de 43,7% para componentes principales 1 y 2.



**Figura 29.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado al pre-tratamiento de raíz 4. Varianza acumulada de 47,9% para componentes principales 1 y 2.



Las representaciones de factores de carga obtenidas para los pre-tratamientos de P, E, P+E y E+P, fueron iguales; análogamente, los resultados para los que el último algoritmo aplicado correspondió al cálculo de logaritmos (LOG, P+LOG, E+LOG y RAIZ 4+LOG) y al cálculo de la raíz cuarta (RAIZ 4, P+RAIZ 4 y E+RAIZ 4) presentaron iguales factores de carga. Con base en los resultados obtenidos, es posible concluir que los pre-tratamientos aplicados son insuficientes para homogeneizar las diferencias existentes entre las variables, por lo que fue necesario evaluar una estrategia adicional para la preparación de los datos.

### 3.6.2. Selección de variables

Para todos los pre-tratamientos aplicados se identificó una tendencia, de acuerdo con la cual las muestras provenientes del departamento de Norte de Santander (N), se agruparon en una misma dirección, con base en el nuevo sistema de coordenadas conformado por los componentes principales 1 y 2, lo que representa la posible semejanza entre la composición química de las muestras de cocaína procesadas en este departamento.

Sin embargo, para ninguno de los pre-tratamientos aplicados, el porcentaje de varianza acumulada en los dos primeros componentes obtenidos, a partir de PCA, alcanzó el 50%, es decir, aunque los rangos de los resultados se homogeneizaron al aplicar diversos pre-tratamientos, fue necesario evaluar si algunas variables estaban aportando información poco significativa para el análisis (ruido).

Así, se aplicó la siguiente serie de pasos para todos los pre-tratamientos:

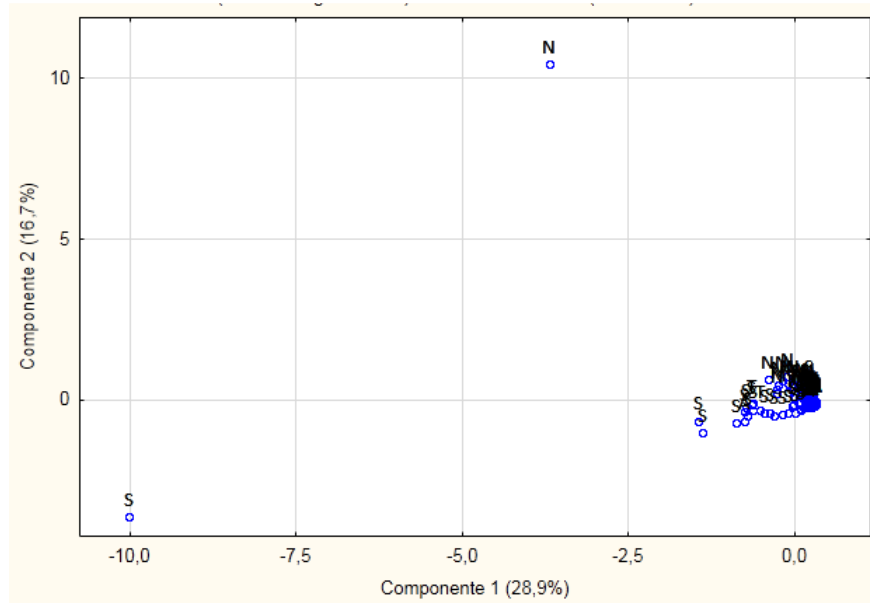
- Se calculó la varianza para cada variable( $V_i$ )
- Se determinó la varianza acumulada total( $\sum V_i$ )
- Se calculó el % varianza de cada variable sobre la varianza acumulada total  $\left( \%V_i = \left( \frac{V_i * 100}{\sum V_i} \right) \right)$
- Se organizaron la variables en orden descendiente del % de varianza aportada al % de varianza total ( $\%V_i$ )
- Se calculó la varianza acumulada para las variables ordenadas
- Se seleccionaron las variables con mayores % de varianza, hasta que la varianza acumulada sumara el 85%.

Una vez realizados los pasos anteriores, las matrices de resultados cambiaron de dimensiones al eliminar las variables no significativas; los resultados se presentan en la Tabla 11.

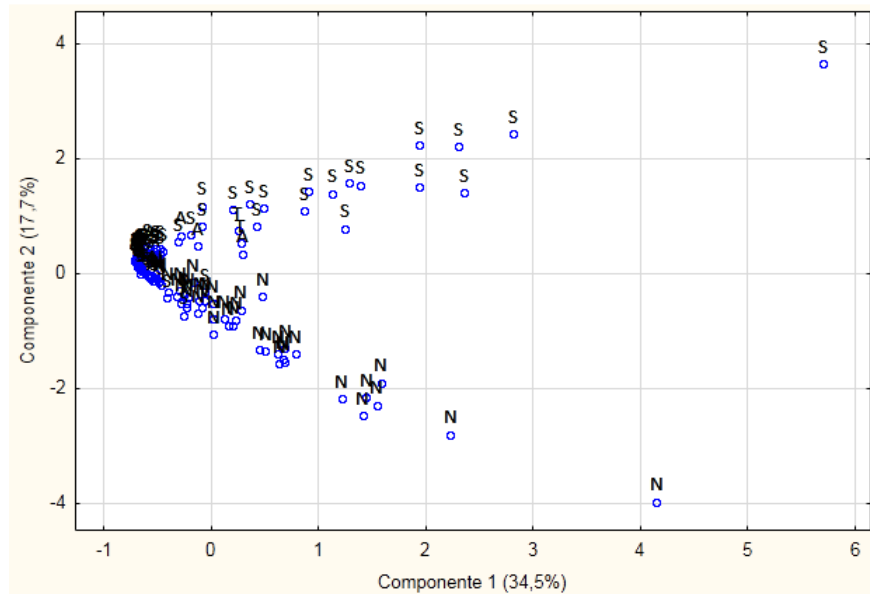
**Tabla 11.** Número de variables significativas seleccionadas para cada pre-tratamiento aplicado.

PRE-TRATAMIENTO	VARIABLES SIGNIFICATIVAS
P	53
E	81
LOG	75
RAIZ 4	66
P+E	81
E+P	53
P+LOG	75
P+RAIZ 4	88
E+LOG	75
E+RAIZ 4	82
RAIZ 4 + LOG	75

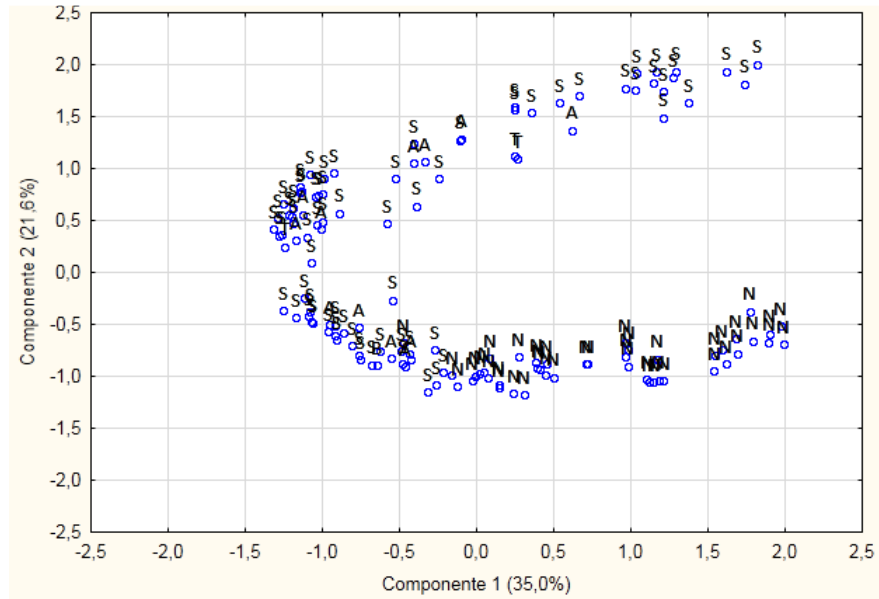
**Figura 30.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de normalización. Varianza acumulada de 45,6% para componentes principales 1 y 2.



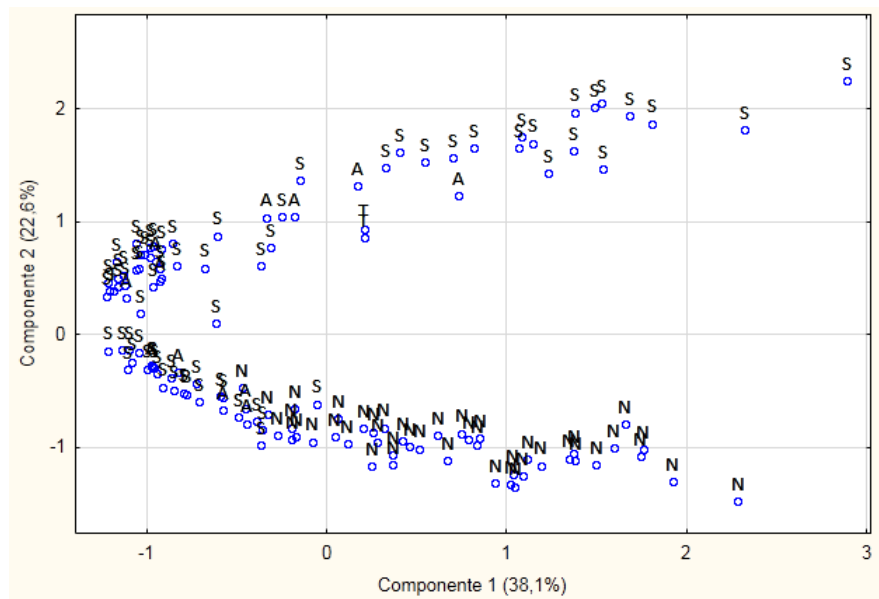
**Figura 31.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de estandarización. Varianza acumulada de 52,2% para componentes principales 1 y 2.



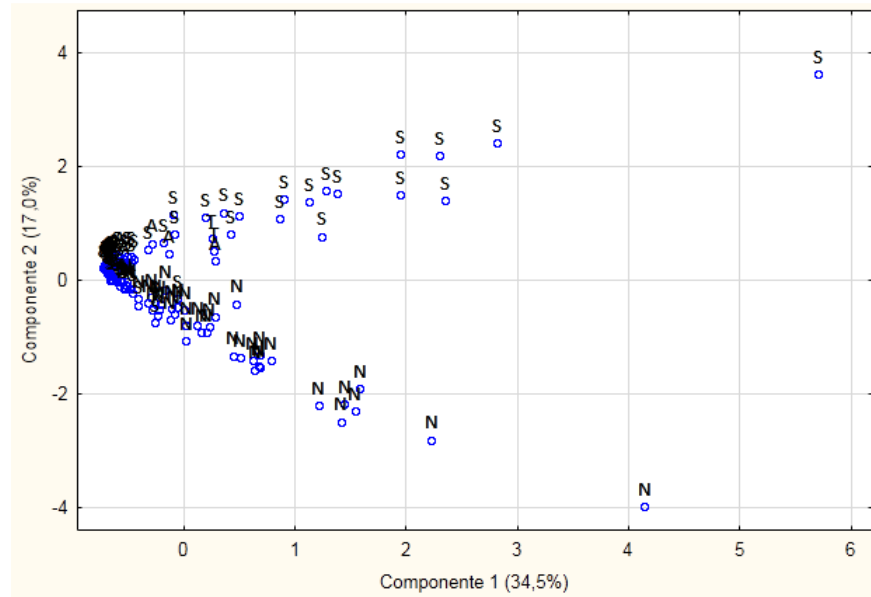
**Figura 32.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de logaritmo. Varianza acumulada de 56,6% para componentes principales 1 y 2.



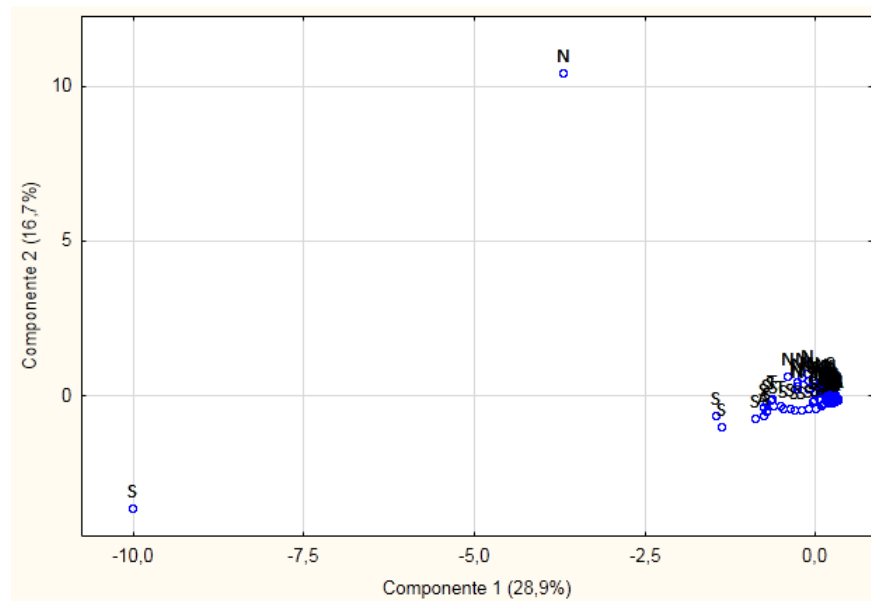
**Figura 33.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de raíz 4. Varianza acumulada de 60,7% para componentes principales 1 y 2.



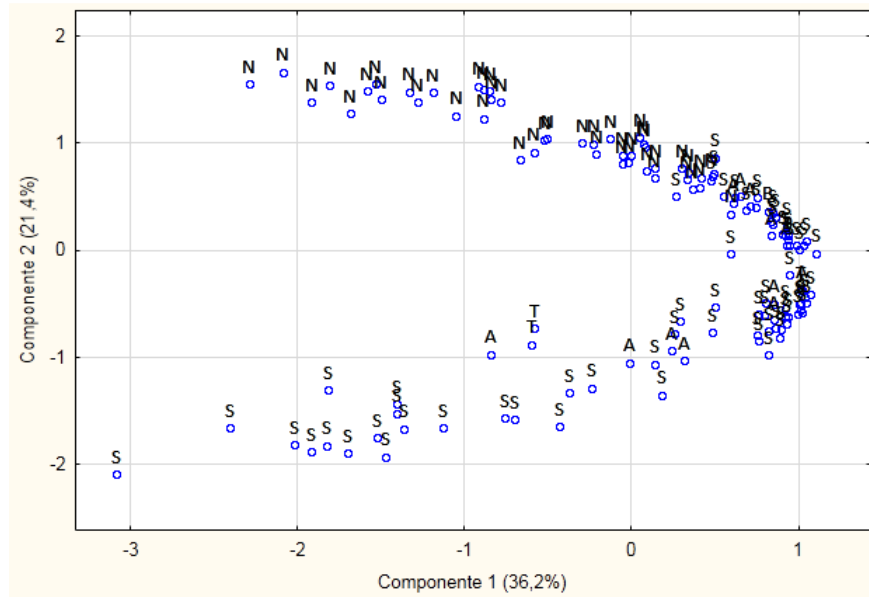
**Figura 34.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de P+E. Varianza acumulada de 51,5% para componentes principales 1 y 2.



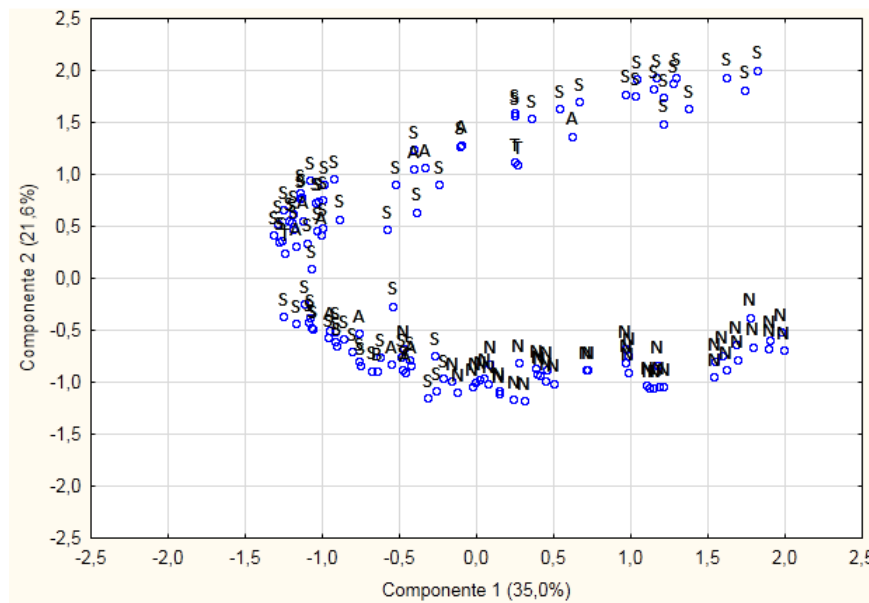
**Figura 35.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de E+P. Varianza acumulada de 45,6% para componentes principales 1 y 2.



**Figura 36.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de P+RAIZ 4. Varianza acumulada de 57,6% para componentes principales 1 y 2.



**Figura 37.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de E+LOG. Varianza acumulada de 57,6% para componentes principales 1 y 2.





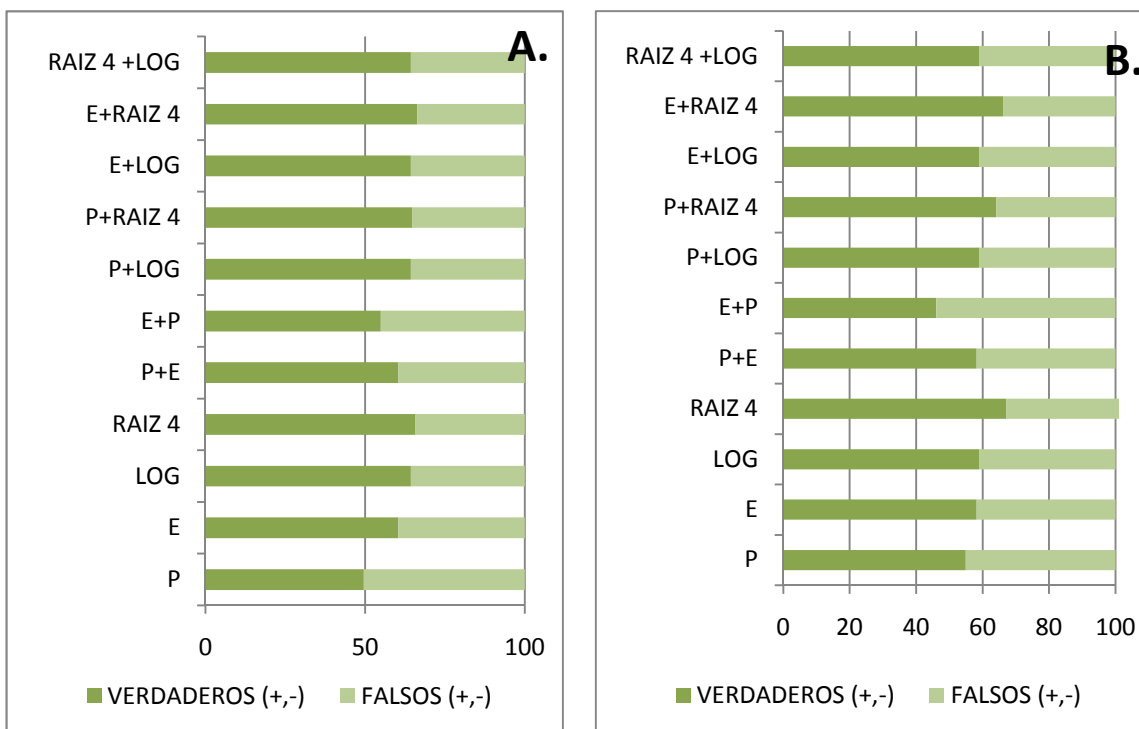


inferiores al 3%, y en todos los casos, los porcentajes de aciertos se encontraron entre 50 y 55%.

Caso contrario se evidenció con las distancias Euclidiana y Manhattan, en las que los coeficientes de variación, para porcentajes de aciertos y desaciertos obtenidos con los once pre-tratamientos, alcanzaron valores cercanos al 15%; para estas métricas, los menores porcentajes de aciertos se presentaron en los pre-tratamientos finalizados con el algoritmo de normalización (P y E+P), tal como se presentó en el análisis de cargas para componentes principales (véase Figuras 30 y 35).

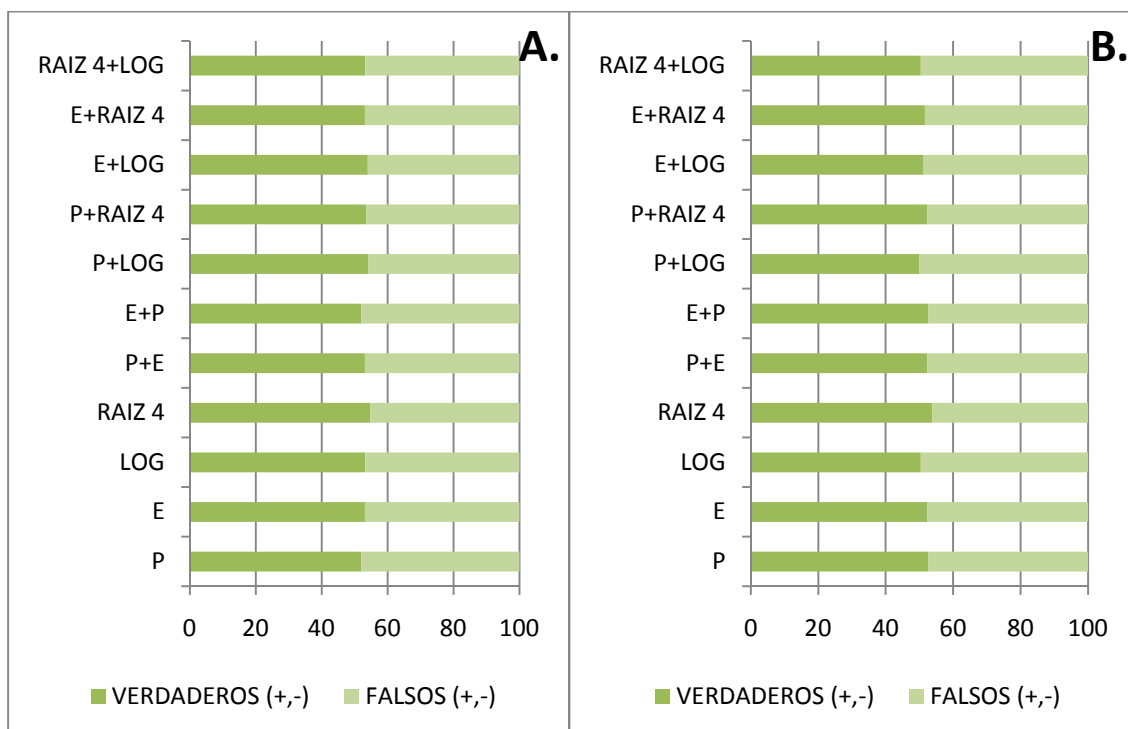
Los mejores resultados de predicción, se obtuvieron con la métrica de Manhattan, para los pre-tratamientos de RAIZ 4, E+RAIZ 4 y P+RAIZ 4, seguidos de los pre-tratamientos finalizados con logaritmo (véase Figura 40). Con base en estos resultados, la métrica de Manhattan fue seleccionada para análisis de K-NN.

**Figura 40.** Comparación de porcentajes de aciertos y desaciertos con base en distancias Manhattan para pre-tratamientos aplicados a solventes residuales en muestras de cocaína. Criterio de clasificación: A. Departamento de Norte de Santander; B. Lote común.



De acuerdo con los resultados obtenidos a partir de los coeficientes de correlación de Pearson, todos los pre-tratamientos presentaron resultados similares (CV < 2,5%) y porcentajes de aciertos inferiores al 50% (véase Figura 41). Con base en este parámetro de similitud no es posible confirmar una correlación significativa entre la composición de solventes residuales y el departamento de procedencia de las muestras de cocaína.

**Figura 41.** Comparación de porcentajes de aciertos y desaciertos con base en coeficientes de correlación de Pearson para pre-tratamientos aplicados a solventes residuales en muestras de cocaína. Criterio de clasificación: A. Departamento de Norte de Santander; B. Lote común.

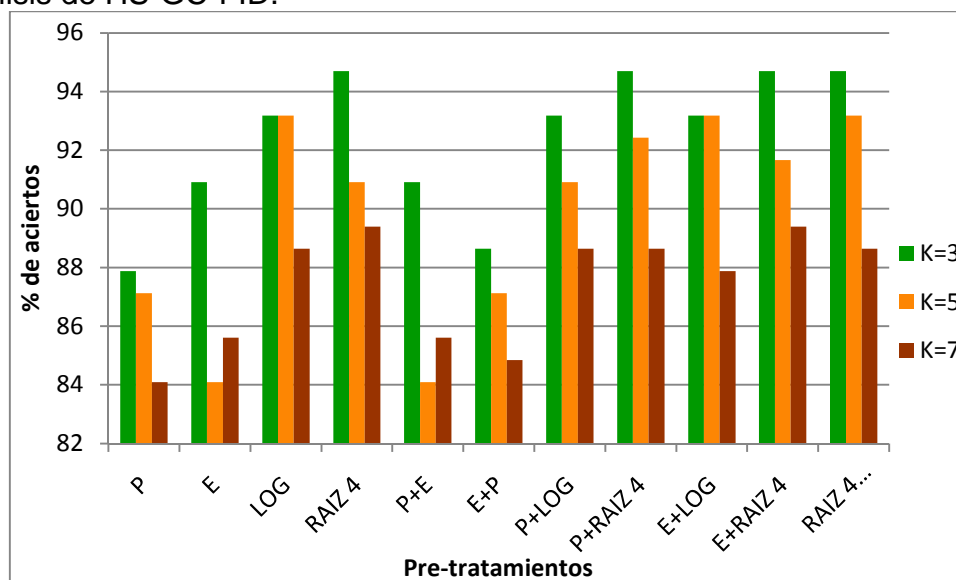


### 3.6.4. Análisis de *K-nearest neighbors*

El método de reconocimiento de patrón seleccionado con propósitos de clasificación fue aplicado para los once pre-tratamientos evaluados y la distancia Manhattan (seleccionada con base en los resultados previos obtenidos). Con el propósito de evaluar la confiabilidad de los pronósticos calculados, se realizaron pruebas para tres valores de *K*, 3, 5 y 7.

A partir de los pronósticos obtenidos, y teniendo en cuenta el origen de las muestras de cocaína, se determinaron los porcentajes de aciertos para cada uno de los pre-tratamientos (véase Figura 42).

**Figura 42.** Comparación de porcentaje de aciertos en predicciones obtenidas para tres valores de  $K$  a partir de análisis de  $K$ -NN aplicado a los once pre-tratamientos en análisis de HS-GC-FID.



En concordancia con los análisis previos realizados a los factores de carga de componentes principales y la evaluación del desempeño de parámetros de similitud (o disimilitud), los pre-tratamientos de P, E, P+E y E+P presentaron los porcentajes más bajos de aciertos para los tres valores de  $K$  evaluados, y los pre-tratamientos que incluyeron el cálculo de RAIZ 4 presentaron los porcentajes más altos.

En todos los casos los mejores resultados se obtuvieron con base en valores de  $K=3$ , es decir, los casos fueron mejor clasificados teniendo en cuenta la clase de sus tres vecinos más cercanos. Adicionalmente, los porcentajes de aciertos obtenidos de los análisis de clasificación de  $K$ -NN fueron mayores que los obtenidos a partir de los parámetros de similitud y disimilitud previamente evaluados.

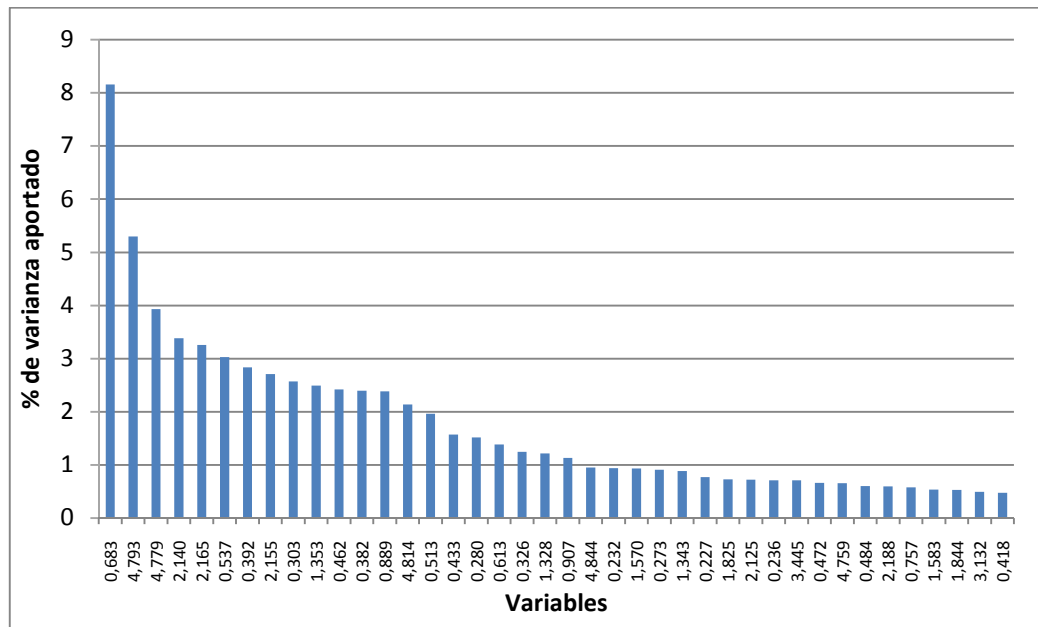
### 3.7. TRATAMIENTO DE DATOS MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

La técnica de microextracción en fase sólida presentó una sensibilidad mayor en el análisis de solventes residuales presentes en muestras de cocaína, comparada con el análisis de *headspace* estático, ya que la matriz de resultados, construida a partir de los tiempos de retención relativos al solvente de referencia y los casos, presentó dimensiones de 442 x 132, es decir, con este método se detectaron, aproximadamente, 4 veces más señales que mediante *headspace* estático.

### 3.7.1. Selección de variables

El procedimiento aplicado para la conformación de la matriz inicial fue análogo al descrito para la técnica de *headspace* estático. Una vez completa la matriz, se procedió a evaluar el aporte de la varianza de cada una de las variables sobre la variabilidad total de los resultados, así, en la Figura 43 se presentan las variables seleccionadas con mayores aportes de varianza (con fines gráficos) hasta completar el 70% de la variabilidad acumulada.

**Figura 43.** Variables cuyas varianzas representan mayores aportes a la variabilidad total en análisis de SPME-GC-FID (Varianza total acumulada = 70%).

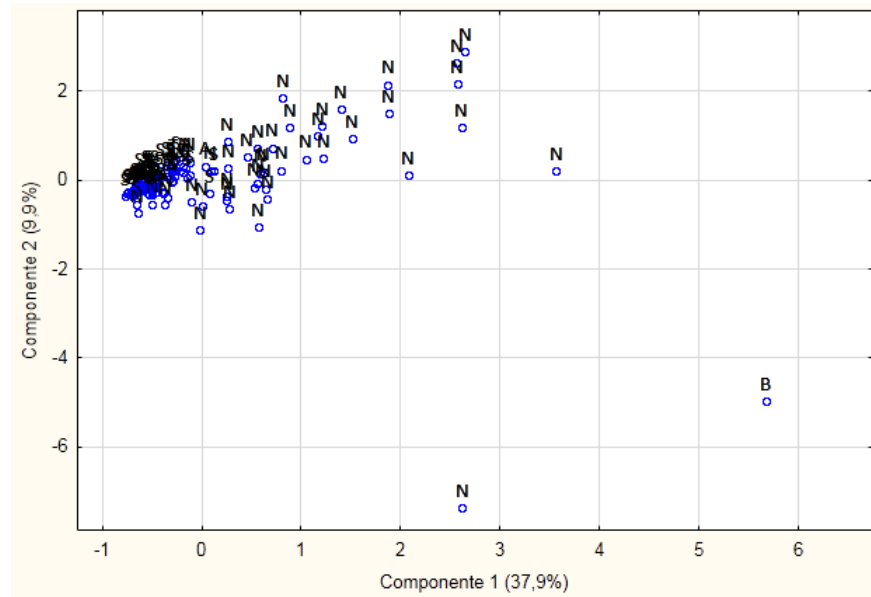


De acuerdo con la evaluación del aporte de cada una de las 442 variables a la variabilidad total del análisis, y teniendo en cuenta que cerca de 300 variables presentan aportes inferiores al 0,1%, se implementó una estrategia de reducción de variables que facilitó el análisis, sin alterar la información recolectada: se agruparon las variables en rangos de tiempos de respuestas relativos al solvente de referencia de 0,05, resultando una matriz de 94 variables x 132 casos.

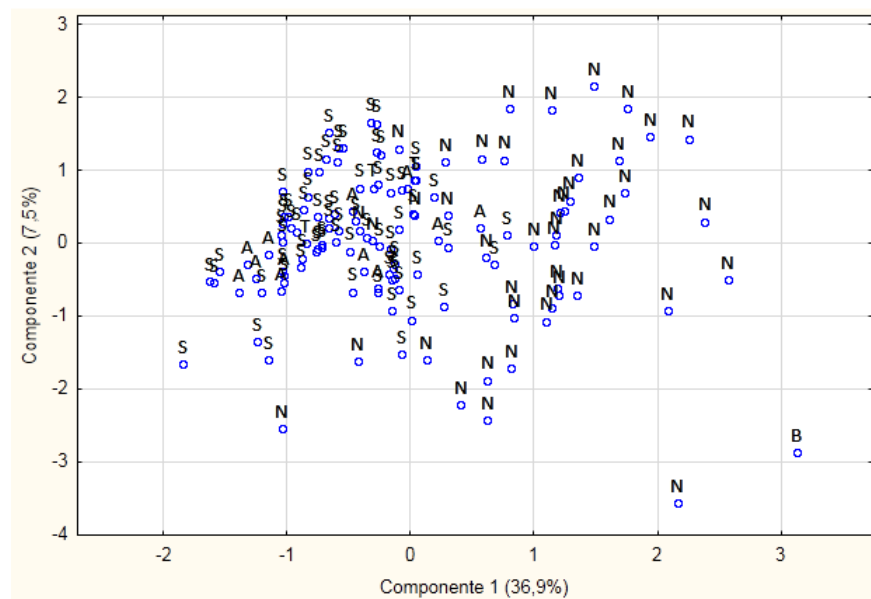
### 3.7.2. Pre-tratamientos y análisis de componentes principales

Con el propósito de garantizar la homogeneidad del rango de factores de respuesta, se aplicaron los 11 pre-tratamientos descritos en la sección anterior a la nueva matriz conformada. Los resultados gráficos de PCA se presentan en las Figuras 44-47.

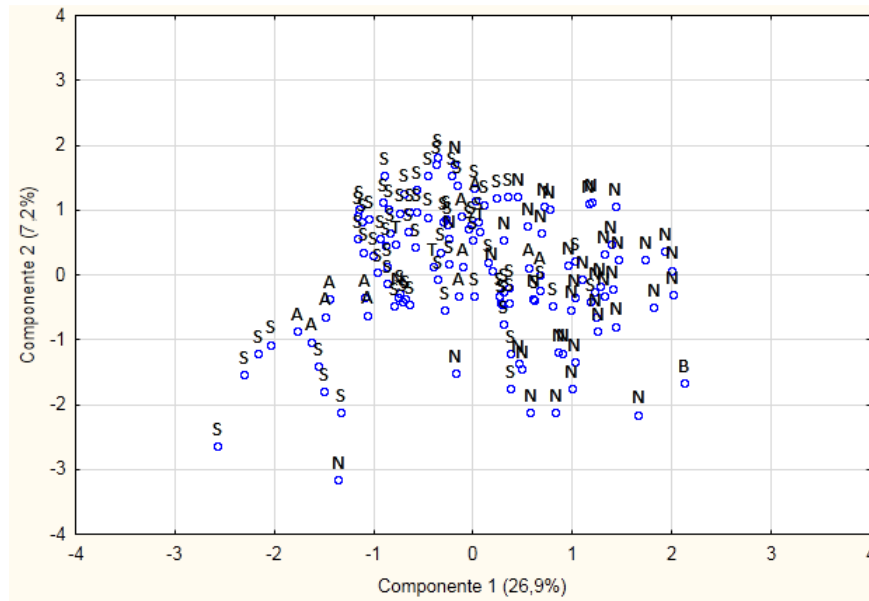
**Figura 44.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de normalización. Varianza acumulada de 47,8% para componentes principales 1 y 2.



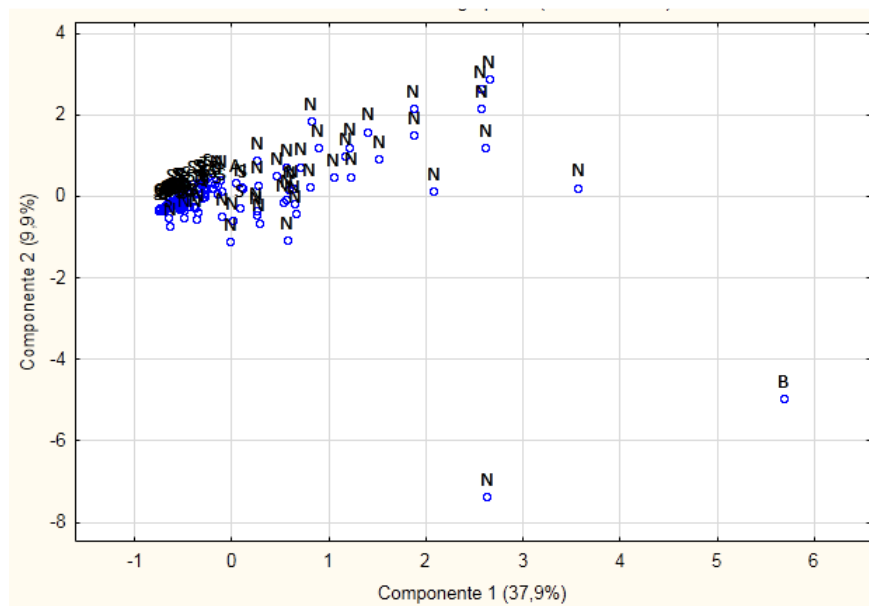
**Figura 45.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de raíz 4. Varianza acumulada de 44,4% para componentes principales 1 y 2.



**Figura 46.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de logaritmo. Varianza acumulada de 34,1% para componentes principales 1 y 2.

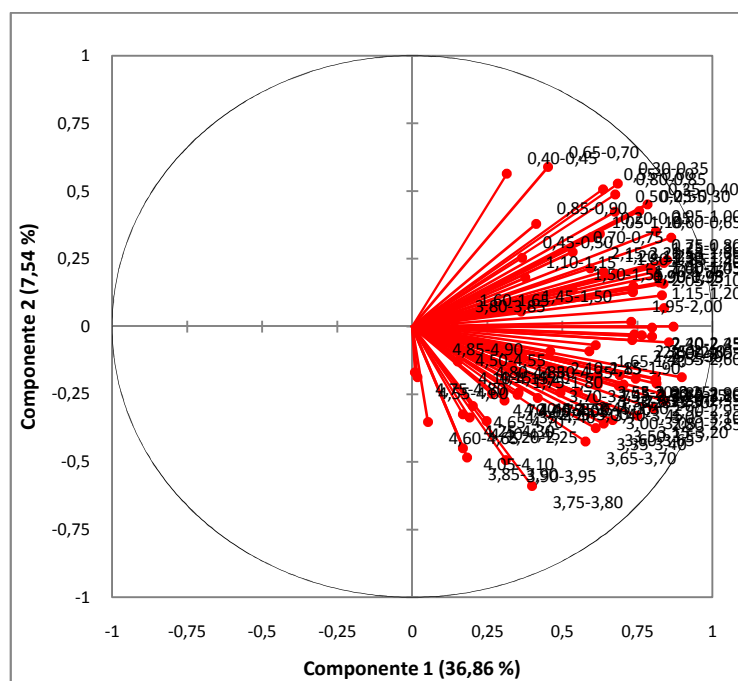


**Figura 47.** Representación de los factores de carga obtenidos por PCA aplicado a variables significativas del pre-tratamiento de P+E. Varianza acumulada de 47,8% para componentes principales 1 y 2.



Los resultados obtenidos de aplicar PCA a las matrices, con pre-tratamientos P y E, fueron similares, así como los resultados obtenidos con P+E y E+P. Los resultados cuyo último pre-tratamiento aplicado fue RAIZ 4 (RAIZ 4, P+RAIZ 4 y E+RAIZ 4) y LOG (LOG, P+LOG, E+LOG) presentaron resultados similares entre sí (véase Figuras 45 y 46). Con base en la inspección visual de los factores de carga, los resultados fueron análogos a los obtenidos a partir de HS-GC-FID, es decir, los resultados de aplicar los pre-tratamientos de LOG y RAIZ 4 permitieron una mejor diferenciación entre las muestras de Norte de Santander y las demás muestras de la región; esto, debido a que estos pre-tratamientos reducen las diferencias relativas de los factores de respuesta de los solventes, minimizando el efecto de aquellos con mayor varianza.

**Figura 48.** Aporte de variables significativas en pre-tratamiento RAIZ 4 a los componentes 1 y 2 del PCA.



Teniendo en cuenta que la diferenciación de las muestras de Norte de Santander se logró, fundamentalmente, en el componente 1 para el pre-tratamiento de RAIZ 4 (ver Figura 45), los solventes con mayores efectos sobre la clasificación presentaron tiempos de retención intermedios en el rango de elución, es decir, tiempos de retención relativos entre 0,75 y 2,45. En general, es posible inferir que los solventes con menores y mayores temperaturas de ebullición, no aportan información significativa en la clasificación de las muestras (véase Figura 48); no obstante las diferencias de polaridad de los solventes.

### 3.7.3. Análisis de similitudes y disimilitudes

El análisis de similitud y disimilitud se aplicó a las 11 matrices de pre-tratamientos; para cada una de ellas, se construyeron las matrices de disimilitud Euclidiana, Manhattan, Chevycheb, % de discrepancia y 1-Pearson, así como las matrices de coeficientes de correlación de Pearson. El procedimiento aplicado para estimación de aciertos y desaciertos, representados como porcentaje de resultados verdaderos (positivos y negativos) y falsos (positivos y negativos) fue análogo al descrito en la Sección 3.6.3.

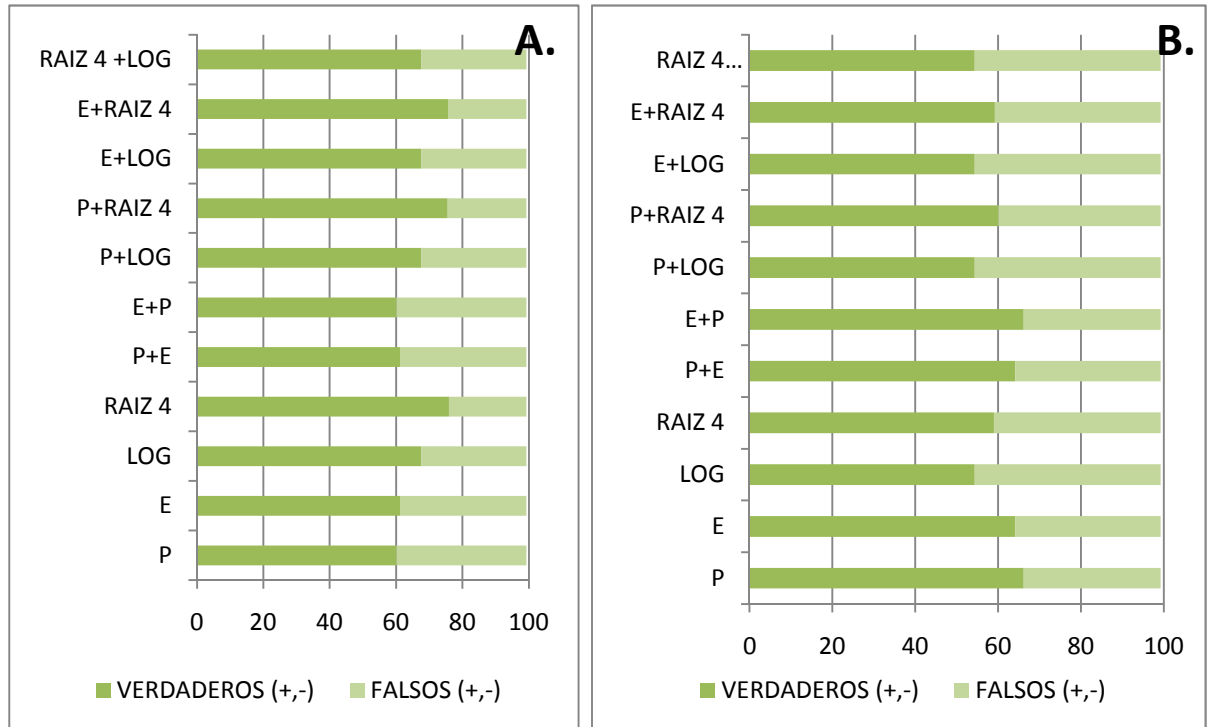
Los resultados obtenidos del análisis de % de discrepancia no brindaron información diferenciadora para los pre-tratamientos evaluados. Teniendo en cuenta el algoritmo correspondiente al cálculo de % de discrepancia (véase Ecuación 11), los resultados dependerán del número de resultados iguales en la matriz de pre-tratamiento; así, debido a que el número de valores iguales, es igual para todos los pre-tratamientos, y las matrices evaluadas a partir de los resultados de SPME-GC-FID presentan iguales dimensiones, las matrices de porcentaje de discrepancia fueron iguales, independientemente del pre-tratamiento aplicado. Por tal motivo, el parámetro de discrepancia, se descartó para etapas posteriores de análisis.

La evaluación de porcentajes de aciertos y desaciertos, aplicada con base en dos criterios de clasificación: promedio de similitudes (o disimilitudes) para muestras provenientes del departamento de Norte de Santander (departamento común), y promedio de muestras provenientes del mismo lote de procesamiento (lote común), permitió identificar mejores resultados verdaderos (positivos y negativos) al utilizar como criterio de clasificación, el “departamento común”; estos resultados, se confirmaron para los once pre-tratamientos y los parámetros de distancias Euclidiana, Manhattan, Chevycheb y 1-Pearson.

Las comparaciones de resultados para cada uno de los parámetros de disimilitud se presentan en el Anexo B. Los mayores porcentajes de aciertos se determinaron para la métrica de Manhattan; sin embargo, dependiendo del criterio de clasificación, diferentes pre-tratamientos presentaron mayores porcentajes de aciertos. Los pre-tratamientos finalizados con el algoritmo de RAIZ 4 (RAIZ 4, P+RAIZ 4 y E+RAIZ 4) presentaron valores cercanos al 76% de aciertos al aplicar el promedio de las distancias del departamento de Norte de Santander. Los pre-tratamientos de P y E+P presentaron porcentajes de 66% de aciertos con base en las distancias promedio de muestras del mismo lote de procesamiento. En la Figura 49 se presentan comparativamente los resultados obtenidos para la distancia Manhattan, parámetro seleccionado para análisis de *K*-NN.

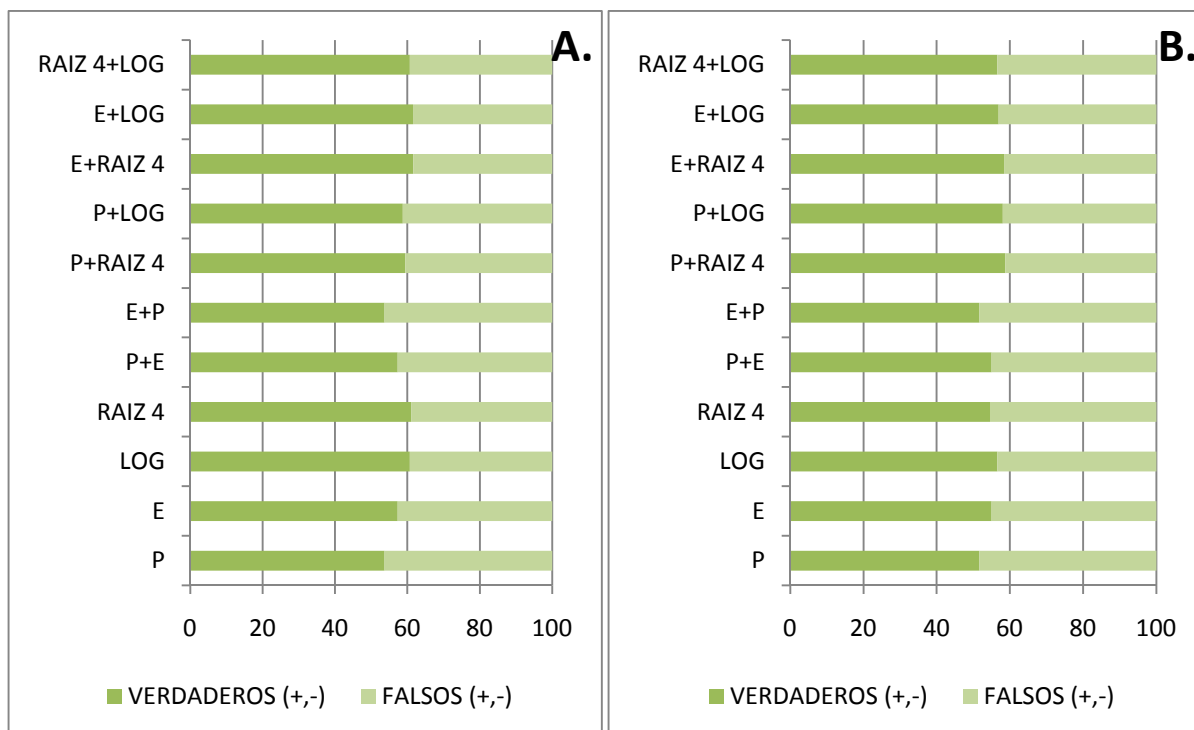
Adicionalmente, se presentan, en la Figura 50, los resultados obtenidos mediante la evaluación del grado de similitud entre muestras basado en los coeficientes de correlación de Pearson.

**Figura 49.** Comparación de porcentajes de aciertos y desaciertos con base en distancias Manhattan para pre-tratamientos aplicados a solventes residuales extraídos mediante SPME. Criterio de clasificación A. Departamento de Norte de Santander. B. Lote común.



Los umbrales determinados para dos criterios de clasificación: lote común y departamento común, se presentan en la Tabla 12. Teniendo en cuenta que las muestras provenientes del mismo lote de procesamiento, deberían presentar composición muy similar de solventes residuales, todos los umbrales de disimilitud fueron inferiores con este criterio (lote común), en tanto que el criterio de “Departamento común” presenta mayor variabilidad y, por ende, sus umbrales son mayores. Caso contrario sucede con el coeficiente de correlación de Pearson, donde los mayores valores se determinaron con base en muestras del mismo lote.

**Figura 50.** Comparación de porcentajes de aciertos y desaciertos con base en coeficientes de correlación de Pearson para pre-tratamientos aplicados a solventes residuales extraídos mediante SPME. Criterio de clasificación A. Departamento de Norte de Santander. B. Lote común.



### 3.7.4. Análisis de *K-nearest neighbors*

Los resultados de los pronósticos obtenidos a partir del análisis de *K-NN*, expresados como porcentajes de aciertos para los 11 pre-tratamientos evaluados y tres valores de *K*, se presentan en la Figura 51.

Los pre-tratamientos de E, P+E, LOG, P+RAIZ 4, E+RAIZ 4 y E+LOG presentaron los porcentajes más altos de aciertos. En diez de los casos los mejores resultados se obtuvieron con base en valores de  $K=3$ , es decir, la predicción de clasificación fue mejor teniendo en cuenta la clase de los tres vecinos más cercanos. En concordancia con los resultados obtenidos mediante HS-GC-FID, los porcentajes de aciertos obtenidos de los análisis de clasificación de *K-NN* fueron mayores que los obtenidos a partir de los parámetros de similitud y disimilitud previamente evaluados.

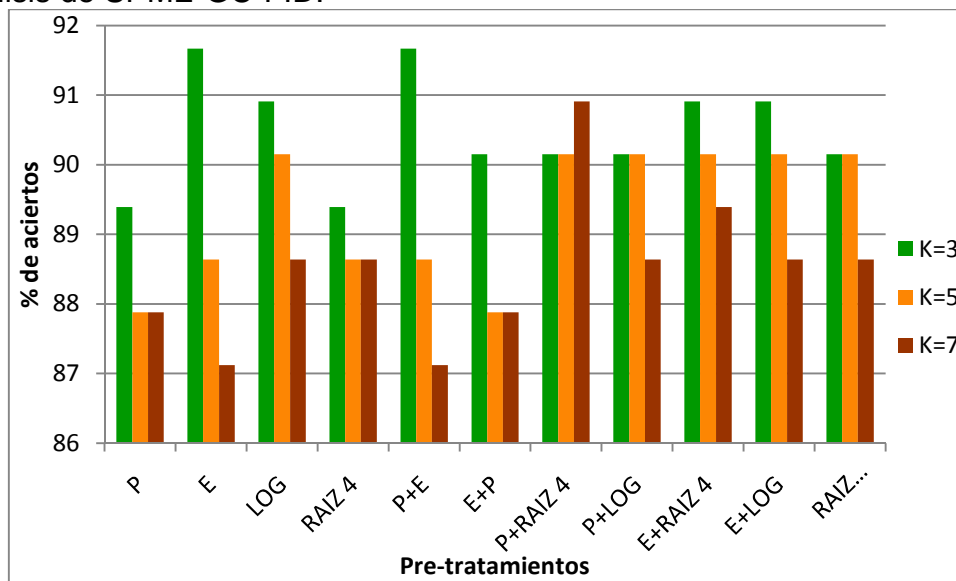
**Tabla 12.** Límites de clasificación obtenidos para dos criterios (lote común y departamento común) con once pre-tratamientos y seis algoritmos de similitud (o disimilitud).

	LOTE COMÚN					
	EUCLIDIANA	MANHATTAN	CHEVYCHEB	% DISCREPANCIA	1- PEARSON	COEF. CORR. PEARSON
P	8,21	49,84	4,01	0,87	0,83	0,17
E	4,23	25,99	2,05	0,87	0,73	0,27
LOG	17,40	107,23	4,33	0,87	0,59	0,41
RAIZ 4	4,15	29,65	1,22	0,87	0,53	0,47
P+E	4,23	25,99	2,05	0,87	0,73	0,27
E+P	8,21	49,84	4,01	0,87	0,83	0,17
P+LOG	17,40	107,23	4,33	0,87	0,72	0,28
P+RAIZ 4	4,13	28,85	1,17	0,87	0,72	0,28
E+LOG	17,40	107,23	4,33	0,87	0,64	0,36
E+RAIZ 4	3,39	23,84	0,97	0,87	0,62	0,38
RAIZ 4 +LOG	4,35	26,81	1,08	0,87	0,59	0,41

	DEPARTAMENTO COMÚN (NORTE DE SANTANDER)					
	EUCLIDIANA	MANHATTAN	CHEVYCHEB	% DISCREPANCIA	1- PEARSON	COEF. CORR. PEARSON
P	40,98	232,36	21,18	0,90	0,99	0,01
E	16,76	108,17	6,52	0,90	0,91	0,09
LOG	21,66	140,40	5,01	0,90	0,71	0,29
RAIZ 4	6,73	49,77	1,90	0,90	0,68	0,32
P+E	16,76	108,17	6,52	0,90	0,91	0,09
E+P	40,98	232,36	21,18	0,90	0,99	0,01
P+LOG	21,66	140,40	5,01	0,90	0,83	0,17
P+RAIZ 4	6,60	48,11	1,81	0,90	0,87	0,13
E+LOG	21,66	140,40	5,01	0,90	0,77	0,23
E+RAIZ 4	5,36	39,48	1,39	0,90	0,77	0,23
RAIZ 4 +LOG	5,14	35,10	1,25	0,90	0,71	0,29

**Figura 51.** Comparación de porcentaje de aciertos en predicciones obtenidas para tres valores de  $K$  a partir de análisis de  $K$ -NN aplicado a los once pre-tratamientos en análisis de SPME-GC-FID.



## 4. CONCLUSIONES

Las condiciones óptimas para extracción de solventes residuales en muestras de cocaína mediante análisis con automuestreador de volátiles *Triplussampler* (HS), determinadas con base en un diseño experimental factorial, para una temperatura de incubación de 90°C, son de 23 min de incubación y 1,3 mL de solución salina. Las condiciones de extracción más apropiadas en los rangos evaluados para análisis mediante SPME, establecidas con base en un diseño factorial fraccionado, fueron de 100 µL de solución salina, 50 min de exposición de la fibra de PDMS (100 µm) y 60°C como temperatura de incubación de la muestra.

Las matrices iniciales de datos obtenidos a partir de análisis de HS-GC-FID y SPME-GC-FID requirieron aplicar procedimientos de selección de variables. En el primer caso, se mantuvieron las variables con mayores aportes a la varianza total acumulada; en el segundo caso, se aplicó agrupación de variables en rangos de tiempos de retención relativos de 0,05.

Con el propósito de identificar correlaciones entre el lugar de procedencia y la composición de solventes residuales presentes en muestras de cocaína incautadas en la región Nororiente del territorio nacional, los pre-tratamientos en los que se aplicó el cálculo de RAIZ 4 presentaron los mejores porcentajes de aciertos para la clasificación y pronósticos ejecutados para las dos técnicas de extracción evaluadas, de igual manera, la distancia Manhattan presentó los mejores resultados en los análisis realizados.

El criterio de  $K = 3$ , aplicado en análisis de los  $K$  vecinos más cercanos, proporcionó mayores porcentajes de aciertos (90%), comparado con los resultados obtenidos a partir de los análisis de similitud o disimilitud (60-70%).

Los solventes residuales detectados mediante análisis de HS-GC-FID y SPME-GC-FID presentaron correlación con el departamento de procedencia, de tal manera que las muestras de cocaína procesadas en el departamento de Norte de Santander, fueron diferenciadas de las muestras procedentes de otros departamentos de la región.

## **5. RECOMENDACIONES**

Aplicar estudios de perfiles de solventes residuales en muestras de cocaína incautadas en todo el territorio nacional, con el propósito de confirmar correlaciones entre los perfiles de impurezas y el lugar de procesamiento de los alcaloides en una mayor área de estudio.

Aplicar métodos estadísticos más estructurados para reconocimiento de patrón supervisado, como es el caso de análisis de redes neuronales, para identificar algoritmos que permitan clasificar la procedencia de las muestras de cocaína con base en perfiles de solventes residuales.

## BIBLIOGRAFÍA

ALPENDURADA, Maria de Fátima. Review. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. En: Journal of Chromatography A. Agosto, 2000, vol. 889, no. 1-2, p. 3-14.

ANDERSON, Kjell, *et al.* Development of a harmonized method for the profiling of amphetamines. VI. Evaluation of methods for comparison of amphetamine. En: Forensic Science International. Junio, 2007, vol. 169, no. 1, p. 86-99.

ARTHUR, Catherine L. y PAWLISZYN, Janusz. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. En: Analytical Chemistry. Octubre, 1990, vol. 62, no. 19, p. 2145-2148.

ARTHUR, Catherine L., *et al.* Automation and optimization of solid-phase microextraction. En: Analytical chemistry. Septiembre, 1992, vol. 64, no. 17, p. 1960-1966.

BESACIER, Fabrice., *et al.* Comparative chemical analyses of drug samples: general approach and application to heroin. En: Forensic Science International. Febrero, 1997, vol. 85, no. 2, p. 113-125.

BŁACHUT, Dariusz; CZARNOCKI, Zbigniew. y WOJTASIEWICZ, Krystyna.  $\alpha$ -Phenylethylamine in illegally produced amphetamine. En: Forensic Science International. Diciembre, 2001, vol. 123, no. 2-3, p. 182-190.

BONADIO, Federica, *et al.* Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and liquid-liquid extraction (LLE): Comparison of the performance in classification of ecstasy tablets (Part 2). En: Forensic Science International. Noviembre, 2008, vol. 182, no. 1-3, p. 52-56.

BONADIO, Federica, *et al.* Optimization of HS-SPME/GC-MS analysis and its use in the profiling of illicit ecstasy tablets (part 1). En: Forensic Science International. Mayo, 2009, vol. 187, no. 1-3, p. 73-80.

BRENNEISEN, Rudolf y ELSOHLY, Mahmoud A. Chromatographic and spectroscopic profiles of *Cannabis* of different origins: Part I. En: Forensic Science International. Noviembre, 1988, vol. 33, no. 6, pp. 1385-1404.

BROSÉUS, Julian, *et al.* Study of common database feeding with results coming from different analytical methods in the framework of illicit drugs chemical profiling. En: Forensic Science International. Julio, 2013, vol. 230, no. 1-3, p. 16-28.

BROWN, Phyllis R.; GRUSHK, Eli y LUNTE, Susan. Advances In Chromatography. CRC Press. Boca Ratón. Octubre, 2004, Vol. 43, p. 117-123. ISBN 9780824753412.

CADOLA, Liv; BROSEÚS, Julian y ESSEIVA, Pierre. Chemical profiling of different hashish seizures by gas chromatography–mass spectrometry and statistical methodology: A case report. En: Forensic Science International. Octubre, 2013, vol. 232, no. 1-3, p. e24-e27.

CAMARASU, Costin C.; MEZEI- SZÚTS, Mária y BERTÓK, Gábor. Residual solvents determination in pharmaceutical products by GC-MS and GC-MS– SPME. En: Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Diciembre, 1998, vol. 18, no. 4-5, p. 623-638.

CAMARGO, Jorge, *et al.* Monitoring of illicit pill distribution networks using an image collection exploration framework. En: Forensic Science International. Noviembre, 2012, vol. 223, no. 1-3, p. 298-305.

CASALE, Jhon F., *et al.* Stable Isotope Analyses of Heroin Seized from the Merchant Vessel Pong Su. En: Journal of Forensic Sciences. Mayo, 2006, vol. 51, no. 3, p. 603-606.

CASALE, Jhon F.; MALLETTTE, Jennifer R. y JONES, Laura M. Chemosystematic identification of fifteen new cocaine-bearing *Erythroxylum* cultigens grown in Colombia for illicit cocaine production. En: Forensic Science International. Abril, 2014, vol. 237, p. 30-39.

CHAN, Kar-Weng, TAN, Guan-Huat y WONG, Richard C.S. Investigation of trace inorganic elements in street doses of heroin. En: Science & Justice. Marzo, 2013, vol. 53, no. 1, p. 73-80.

CHIAROTTI, Marcello y FUCCI, Nadia. Comparative analysis of heroin and cocaine seizures. En: Journal of Chromatography B. Octubre, 1999, vol. 733, no. 1-2, p. 127-136.

CHIAROTTI, Marcello; MARSILI, Remo y MOREDA-PIÑERO, Antonio. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of residual solvent trapped into illicit cocaine exhibits using head-space solid-phase microextraction. En: Journal of Chromatography B. Junio, 2002, vol. 772, no. 2, p. 249-256.

DAÉID, Niamh Nic y WADDELL, Ruth J.H. The analytical and chemometric procedures used to profile illicit drug seizures. En: Talanta. Agosto, 2005, vol. 67, no. 2, p. 280-285.

DANZER, Klaus. Analytical Chemistry: Theoretical and Metrological Fundamentals. Heidelberg, Alemania; Ed. Springer, 2007. 182 p. ISBN 978-3-540-35988-3.

DASARATHY, Belur V. Nearest Neighbour (NN) Norms: NN Pattern Recognition Techniques. Ed. IEEE Computer Society Press. 1991.

DAYRIT, Fabian M. y DUMLAO, Morphy C. Impurity profiling of methamphetamine hydrochloride drugs seized in the Philippines. En: Forensic Science International. Agosto, 2004, vol. 144, no. 1, p. 29-36.

DRIESSENS, Kurt y DŽEROSKI, Sašo. Combining model-based and instance-based learning for first order regression. En: International Conference on Machine Learning. (22: University of Bonn, Germany, 2005); New York: ACM; 2005. p. 193–200.

DUJOURDY, Laurence y BESACIER, Fabrice. Headspace profiling of cocaine samples for intelligence purposes. En: Forensic Science International. Agosto, 2008, vol. 179, no. 2-3, p. 111-122.

EHLERINGER, James R., *et al.* 14C analyses quantify time lag between coca leaf harvest and street-level seizure of cocaine. En: Forensic Science International. Enero, 2012, vol. 214, no. 1-3, p. 7-12.

EHLERINGER, James R., *et al.* Geolocation of heroin and cocaine by stable isotope ratios. En: Forensic Science International. Noviembre, 1999, vol. 106, no. 1, p. 27-35.

ENSING, Jaap G. y HUMMELEN, Jan C. Isolation, identification and origin of three previously unknown congeners in illicit cocaine. En: Forensic Science International. Noviembre, 1991, vol. 36, no. 6, p. 1666-1687.

ESSEIVA, Pierre, *et al.* A methodology for illicit heroin seizures comparison in a drug intelligence perspective using large databases. En: Forensic Science International. Marzo, 2003, vol. 132, no. 2, p. 139-152.

ESSEIVA, Pierre, *et al.* Chemical profiling and classification of illicit heroin by principal component analysis, calculation of inter simple correlation and artificial neural networks. En: Talanta. Agosto, 2005, vol. 67, p. 360-367.

ESSEIVA, Pierre, *et al.* Forensic drug intelligence: An important tool in law enforcement. En: Forensic Science International. Abril, 2007, vol. 16, no. 2-3, p. 247-254.

FORINA, Michele, *et al.* User's manual of V-PARVUS. An extendable package of programs for data explorative analysis, classification and regression analysis,

Dipartimento di chimica e tecnologie farmaceutiche ed alimentary, Genova, Italy. 2004. Disponible en internet: <http://www.parvus.unige.it>.

FUCCI, Nadia, *et al.* A direct immersion solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry (DI-SPME-GC/MS) method for the simultaneous detection of levamisole and minor cocaine congeners in hair samples from chronic abusers. En: Therapeutic Drug Monitoring. Diciembre, 2014, vol. 36, no. 6, p. 789-795.

GALINDO BONILLA, Aida y FERNÁNDEZ ALONSO, José Luis. Especies cultivadas del género *Erythroxylum* P. Browne. Revisión del tema desde la perspectiva forense. En: Revista Científica del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. 2009, vol. 1, no. 3, p. 7-15.

GALINDO BONILLA, Aida y FERNÁNDEZ ALONSO, José Luis. Plantas de coca en Colombia. Discusión crítica sobre la taxonomía de las especies cultivadas del género *Erythroxylum* P. Browne (*Erythroxylaceae*). En: Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Diciembre, 2010, vol. 34, no. 133, p. 455-465.

GARCIA-ESTEBAN, Marta, *et al.* Study of the effect of different fiber coatings and extraction conditions on dry cured ham volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). En: Talanta. Octubre, 2000, vol. 64, no. 2, p. 458-466.

GARZÓN, William F., *et al.* Análisis Forense de muestras de cocaína producidas en Colombia: I. Perfil cromatográfico de muestras de clorhidrato de cocaína. En: VITAE Revista de la facultad de química farmacéutica. 2009, vol. 16, no. 2, p. 228-236.

GRÖGER, Thomas, *et al.* Application of two-dimensional gas chromatography combined with pixel-based chemometric processing for the chemical profiling of illicit drug samples. En: Journal of Chromatography A. Julio, 2008, vol. 1200, no. 1, p. 8-16.

Guía de selección de columnas Agilent J&W para GC. [online]. Alemania, 31 de Mayo, 2007. Disponible en internet: <<http://www.chem.agilent.com/Library/selectionguide/Public/5989-6159ES.pdf>>.

HOOD, L. V. S. y BARRY, G. T. Headspace volatiles of marihuana and hashish: Gas chromatographic analysis of samples of different geographic origin. En: Journal of Chromatography A. Diciembre, 1978, vol. 166, no. 2, p. 499-506.

IOFFE, B. V. y VITENBERG, A. G. Head-Space Analysis and Related Methods in Gas Chromatography. New York: John Wiley & Sons. 1984, 10 p. ISBN: 978-0-471-06507-4.

JONSON, C. Sten. Amphetamine profiling-improvements of data processing. En: Forensic Science International. Noviembre, 1994, vol. 69, p. 45-54.

KAA, Elisabet. Impurities, adulterants and diluents of illicit heroin. Changes during a 12-year period. En: Forensic Science International. Febrero, 1994, vol. 64, no. 2-3, p. 171-179.

KATAOKA, Hiroyuki; LORD, Heather L. y PAWLISZYN, Janusz, Review Applications of solid-phase microextraction in food analysis. En: Journal of Chromatography A. Junio, 2000, vol. 880, no. 1-2, p. 35-62.

KLEMENC, Sonja. In common batch searching of illicit heroin samples - evaluation of data by chemometrics methods. En: Forensic Science International. Enero, 2001, vol. 115, no. 1-2, p. 43-52

KLEMENC, Sonja. Noscopine as an adulterant in illicit heroin samples. En: Forensic Science International. Enero, 2000, vol. 108, no. 1, p.45-49.

KOLB, Bruno y ETTRE, Leslie S. Static headspace – Gas Chromatography: Theory and practice. 2 ed. New Jersey: John Wiley & Sons. 2006, p. 1-20. ISBN: 978-0-471-74944-8.

KRAWCZYK, Waldemar y PARCZEWSKI, Andrzej. Application of chemometric methods in searching for illicitly Leuckart amphetamine sources. En: Analytica Chimica Acta. Noviembre, 2001, vol. 446, no. 1-2, p. 107-114.

KUMAZAWA, Takeshi, *et al.* Review Solid-phase microextraction and liquid chromatography/mass spectrometry in drug analysis. En: Analytica Chimica Acta. Septiembre, 2003, vol. 492, no. 1-2, p. 49-67.

KUWAYAMA, Kenjo, *et al.* Identification of impurities and the statistical classification of methamphetamine using headspace solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. En: Forensic Science International. Junio, 2006, vol. 160, no. 1, p. 44-52.

LAMBRECHTS, Marit y RASMUSSEN, Knut E. Leuckart-specific impurities in amphetamine and methamphetamine seized in Norway. En: Bulletin on narcotics. Enero – marzo, 1984, vol. 36, no. 1, p. 47-57.

LIU, Cuimei, *et al.* Profiling and Classification of Illicit Heroin by ICP-MS Analysis of Inorganic Elements. En: Forensic Science International. Junio, 2014, vol. 239, p. 37-43.

LOCICIRO, Stéphanie, *et al.* Cocaine profiling for strategic intelligence, a cross-border project between France and Switzerland Part I. Optimisation and harmonization of the profiling method. En: Forensic Science International. Abril, 2007, vol. 167, no. 2-3, p. 220-228.

LÓPEZ-HILL, Ximena, *et al.* Coca-paste seized samples characterization: Chemical analysis, stimulating effect in rats and relevance of caffeine as a major adulterant. En: Behavioural Brain Research. Agosto, 2011, vol. 221, no. 1, p. 134-141.

LORD, Heather L. y PAWLISZYN, Janusz. Method Optimization for the Analysis of Amphetamines in Urine by Solid-Phase Microextraction. En: Analytical chemistry. Octubre, 1997, vol. 69, no. 19, p. 3899 -3906.

LORD, Heather L. y PAWLISZYN, Janusz. Review Evolution of solid-phase microextraction technology. En: Journal of Chromatography A. Julio, 2000, vol. 885, no. 1-2, p. 153–193.

LORD, Heather L. y PAWLISZYN, Janusz. Review: Microextraction of drugs. En: Journal of Chromatography A. Noviembre, 2000, vol. 902, no. 1, p. 17-63.

LURIE, Ira S. y CARR, Susan. The quantitation of heroin and selected basic impurities via reversed phase HPLC: I. The analysis of unadulterated heroin samples. En: Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. Diciembre, 1986, vol. 9, no. 11, p. 2485-2509.

LURIE, Ira S., *et al.* Determination of heroin and basic impurities for drug profiling by ultra-high-pressure liquid chromatography. En: Forensic Science International. Septiembre, 2013, vol. 231, no. 1-3, p. 300-305.

LURIE, Ira S., *et al.* Profiling of illicit fentanyl using UHPLC–MS/MS. En: Forensic Science International. Julio, 2012, vol. 220, no. 1-3, p.191-196.

MORELATO, Marie, *et al.* The use of organic and inorganic impurities found in MDMA police seizures in a drug intelligence perspective. En: Science & Justice. Enero, 2014, vol. 54, no. 1, p. 32-41.

MORELLO, David R. y MEYERS, Richard P. Qualitative and Quantitative Determination of Residual Solvents in Illicit Cocaine HCl and Heroin HCl. En: Journal of Forensic Sciences. Noviembre, 1995, vol. 40, no. 6, p. 957-963.

OFICINA DE LAS NACIONES UNIDAS CONTRA LA DROGA Y EL DELITO, Y COLOMBIA, MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEL DERECHO. Características Agroclturales de los Cultivos de Coca En Colombia 2005 – 2010. Bogotá D.C.; 2011. Disponible en internet: <  
<http://www.odc.gov.co/Portals/1/modPublicaciones/pdf/OF05010510-caracteristicas-agroclturales-cultivos-coca-colombia-.pdf>>.

OFICINA DE LAS NACIONES UNIDAS CONTRA LA DROGA Y EL DELITO, Y GOBIERNO DE COLOMBIA. Informe de Monitoreo de Cultivos de Coca en Colombia en 2013. Bogotá D.C.; Junio, 2014, ISSN – 2011-0596. Disponible en internet: <  
[https://www.unodc.org/documents/crop-monitoring/Colombia/Colombia\\_Monitoreo\\_de\\_Cultivos\\_de\\_Coca\\_2013\\_web.pdf](https://www.unodc.org/documents/crop-monitoring/Colombia/Colombia_Monitoreo_de_Cultivos_de_Coca_2013_web.pdf)>.

OSMAN, A.; THORPE, James W. y CADDY, Brian. Comparison of *Cannabis* samples from different origins by the headspace technique and an assessment of chromatographic traces using the r-matrix. En: Journal of the Forensic Science Society. Noviembre, 1985, vol. 25, no. 6. p.427-433.

OTERO, Raquel, *et al.* Static headspace gas chromatographic method for quantitative determination of residual solvents in pharmaceutical drug substances according to European Pharmacopoeia requirements. En: Journal of Chromatography A. Noviembre, 2004, vol. 1057, no. 1-2, p. 193-201.

PAWLISZYN, Janusz. Handbook of Solid Phase Microextraction. Beijing: Chemical Industry Press, 2012, p. 99-133. ISBN 978-7-122-04701-4.

PAWLISZYN, Janusz. Solid phase microextraction: theory and practice. New York: Ed. John Wiley and Son's, Inc., 1997, 241 p. ISBN: 978-0-471-19034-9.

PAYNE, Richard; PUCHALSKI, Allen E. y LABOWS, John. Capítulo 10: SPME applications en consumer products. En: Flavor, Fragrance, and Odor Analysis. New York: CRC Press, Noviembre, 2002, p. 277-296. ISBN: 0-8247-0627-7.

Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Comprehensive Sampling and Sample Preparation. Analytical Techniques for Scientists. Washington: Elsevier. 2012, p. 27-50.

Stat Soft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

STOJANOVSKA, Natasha, *et al.* A review of impurity profiling and synthetic route of manufacture of methylamphetamine, 3,4-methylenedioxymethylamphetamine, amphetamine, dimethylamphetamine and p-methoxyamphetamine. En: Forensic Science International. Enero, 2013, vol. 224, no. 1-3, p. 8-26.

STRÖMBERG, Lars, *et al.* Heroin impurity profiling: A harmonization study for retrospective comparisons. En: Forensic Science International. Noviembre, 2000, vol. 114, no. 2, p. 67-88.

TANKIEWICZ, Maciej; MORRISON, Calum y BIZIUK, Marek. Application and optimization of headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) coupled with gas chromatography -flame-ionization detector (GC-FID) to determine products of the petroleum industry in aqueous samples. En: Microchemical Journal. Mayo, 2013, vol. 108, p. 117-123.

TOYAMA, Jun; KUDO, Mineichi y IMAI, Hideyuki. Probably correct k-nearest neighbor search in high dimensions. En: Pattern Recognition. Abril, 2010, vol. 43, no. 4, p. 1361-1372.

ULRICH, Sven. Review Solid-phase microextraction in biomedical analysis. En: Journal of Chromatography A. Noviembre, 2000, vol. 902, no. 1, p. 167-194.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. Drug characterization impurity profiling- Background and concepts. Manual for use by National Law Enforcement Authorities and Drug Testing Laboratories. New York. 2001. Disponible en internet: <<https://www.unodc.org/pdf/publications/st-nar-32-rev1.pdf>>.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. Guidelines on Representative Drug Sampling. New York. 2009. ISBN 978-92-1-148241-6. Disponible en internet: <[https://www.unodc.org/documents/scientific/Drug\\_Sampling.pdf](https://www.unodc.org/documents/scientific/Drug_Sampling.pdf)>.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. Methods for impurity profiling of heroin and cocaine. New York. 2005. ISBN 92-1-148206-2. Disponible en internet: <[https://www.unodc.org/pdf/publications/report\\_st-nar-35.pdf](https://www.unodc.org/pdf/publications/report_st-nar-35.pdf)>.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. World Drug Report 2014. Viena; Junio, 2014, eISBN: 978-92-1-056752-7. Disponible en internet: <[https://www.unodc.org/documents/wdr2014/World\\_Drug\\_Report\\_2014\\_web.pdf](https://www.unodc.org/documents/wdr2014/World_Drug_Report_2014_web.pdf)>.

WEBSTER, Richard. Statistics to support soil research and their presentation. En: European Journal of Soil Science. Junio, 2001, vol. 52, no. 2, p. 331-340.

WEYERMANN, Céline, *et al.* Drug intelligence based on MDMA tablets data I. Organic impurities profiling. En: Forensic Science International. Mayo, 2008, vol. 177, no. 1, p.11-16.

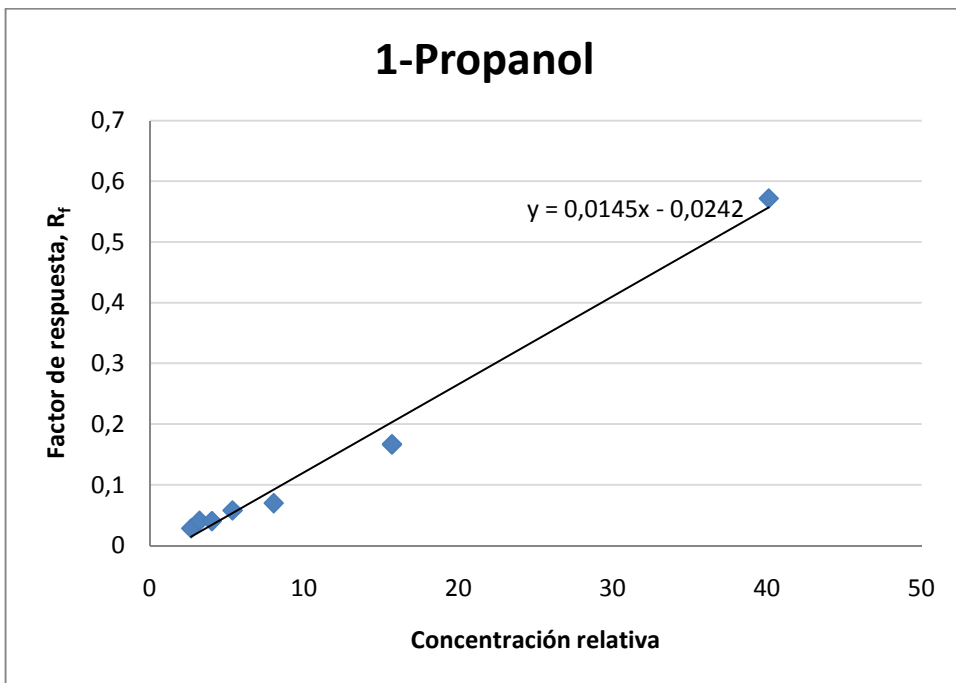
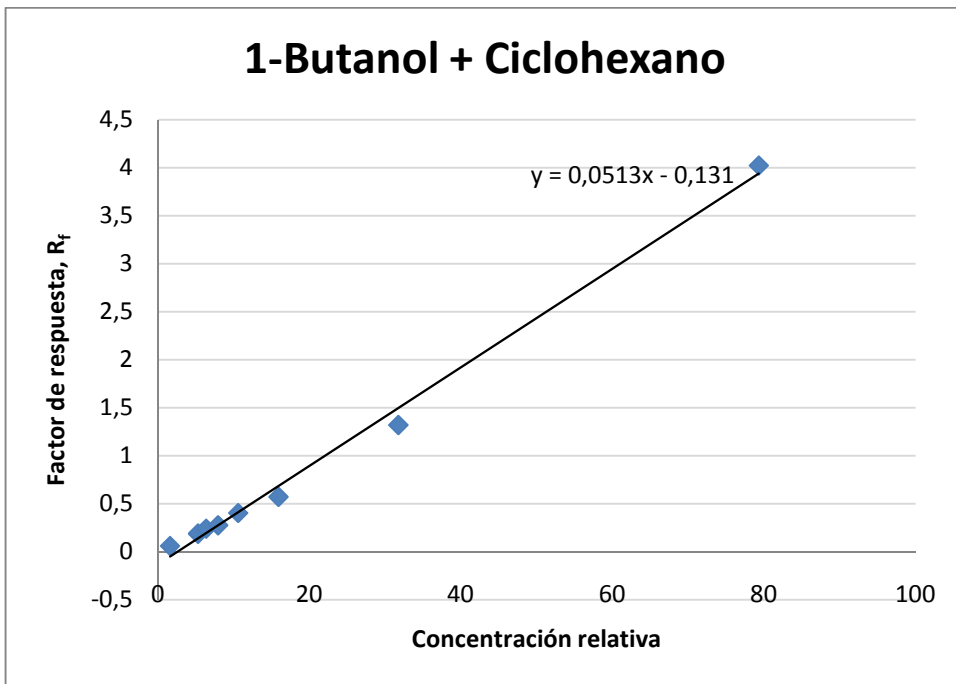
WU, Yingquan; IANAKIEV, Krassimir y GOVINDARAJU, VENU. Improved k-nearest neighbor classification. En: Pattern Recognition. Octubre, 2002, vol. 35, no. 10, p. 2311-2318.

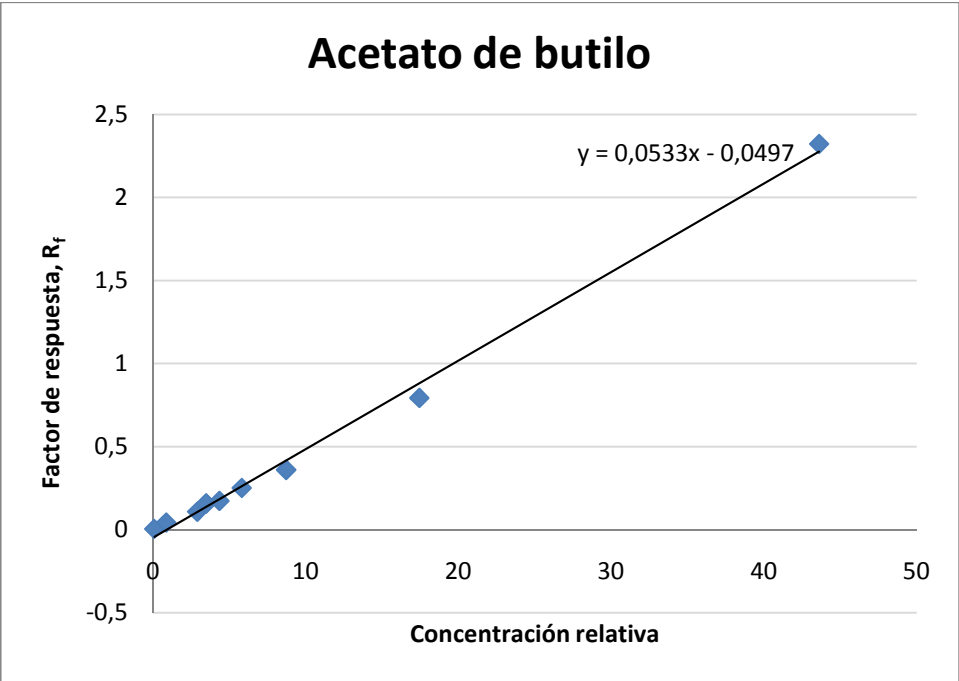
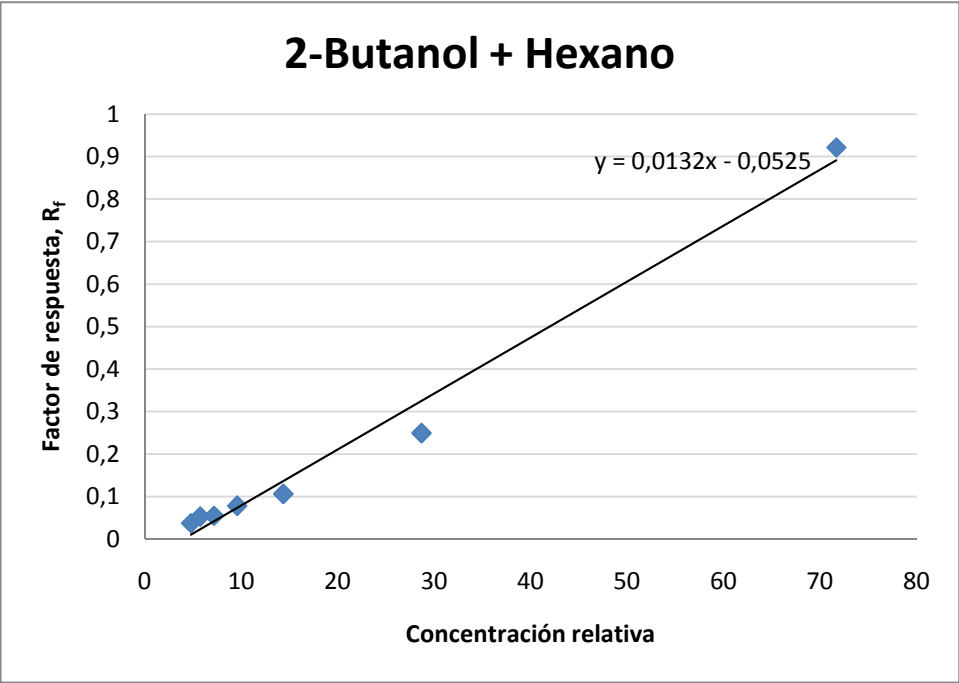
ZACCA, Jorge J., *et al.* Brazilian Federal Police drug chemical profiling – The PeQui Project. En: Science & Justice. Julio, 2014, vol. 54, no. 4, p. 300-306.

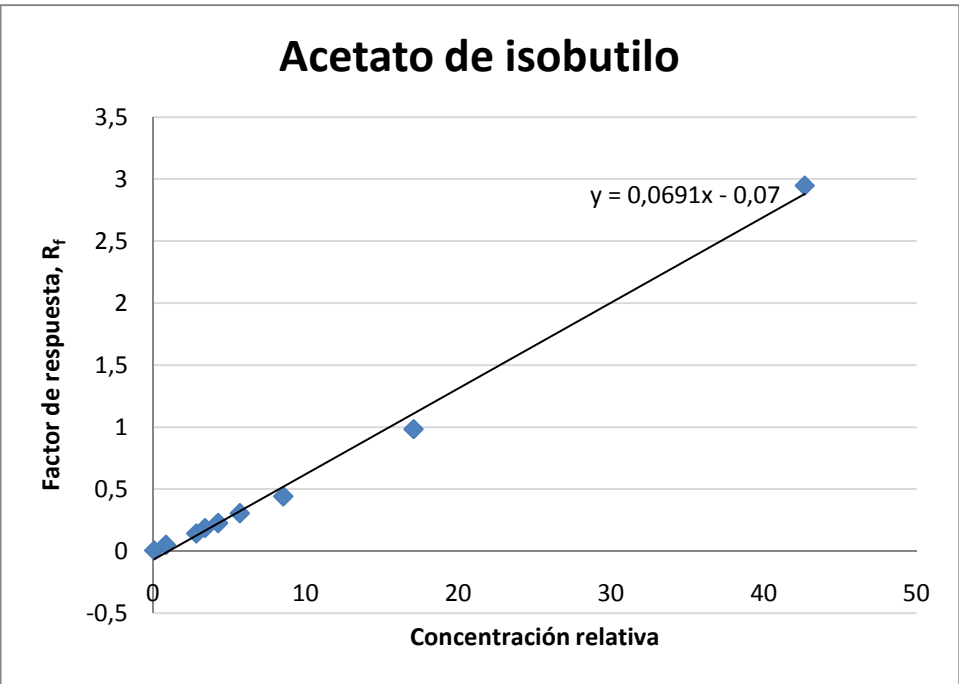
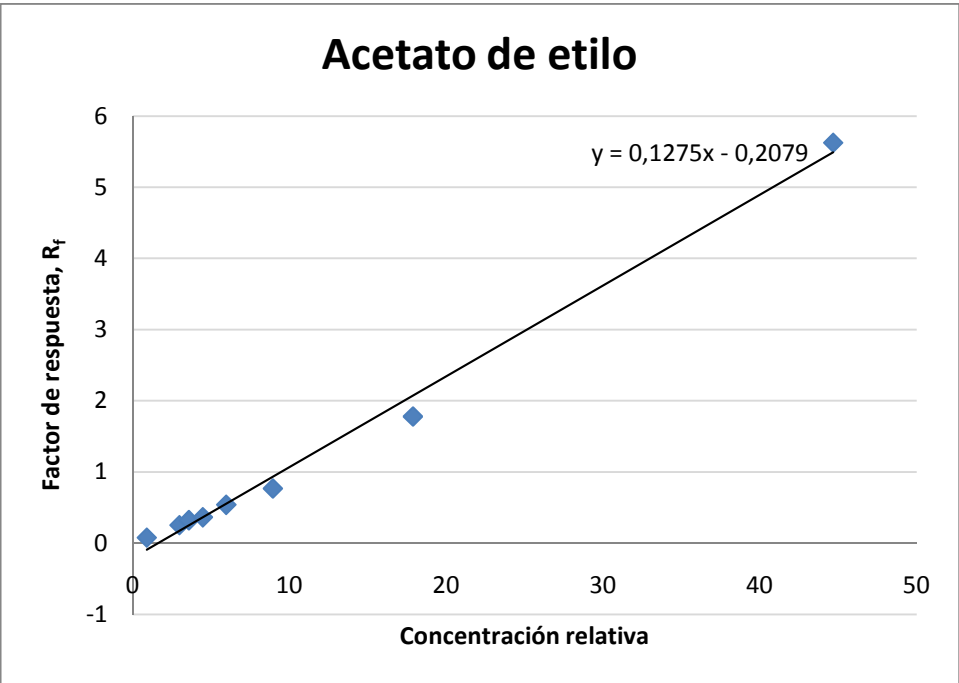
ZHANG, Zhouyao y PAWLISZYN Janusz. Headspace solid-phase microextraction. En: Analytical chemistry. Julio, 1993, vol. 65, no. 14, p. 1843-1852.

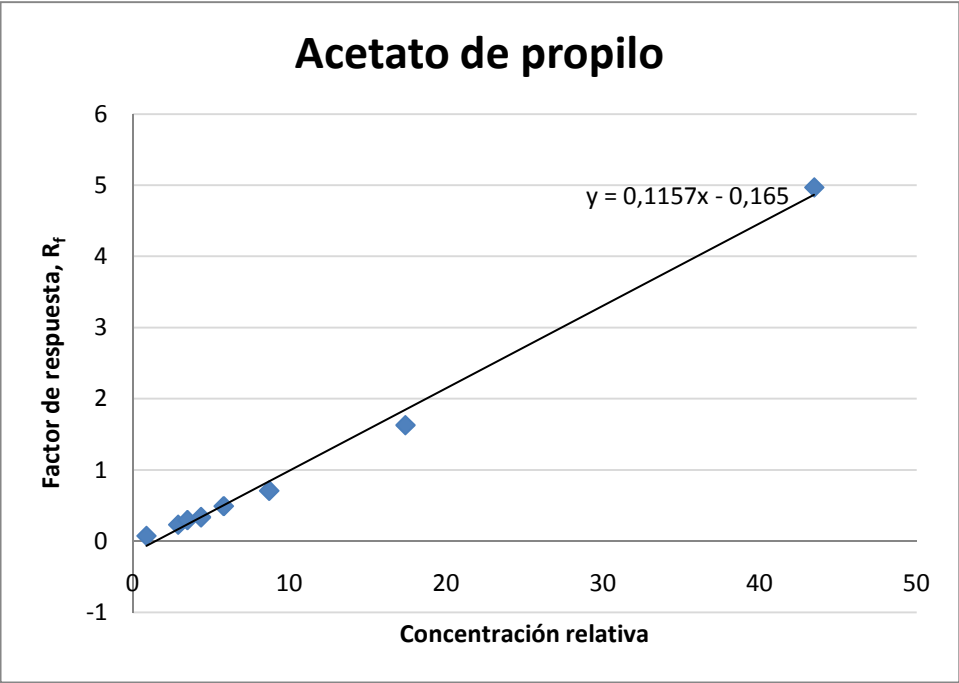
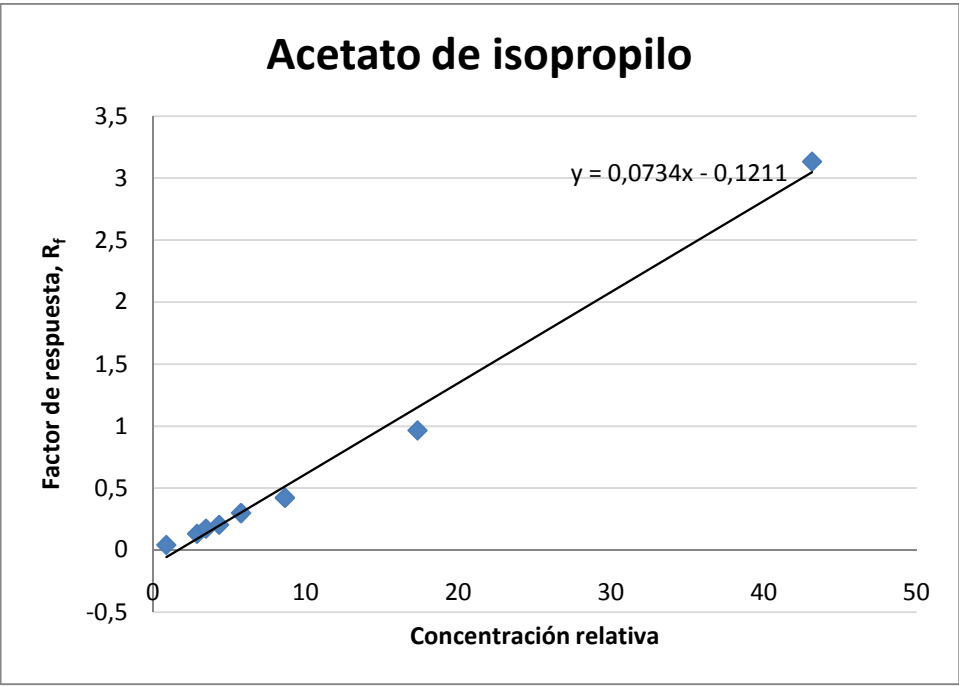
## **ANEXOS**

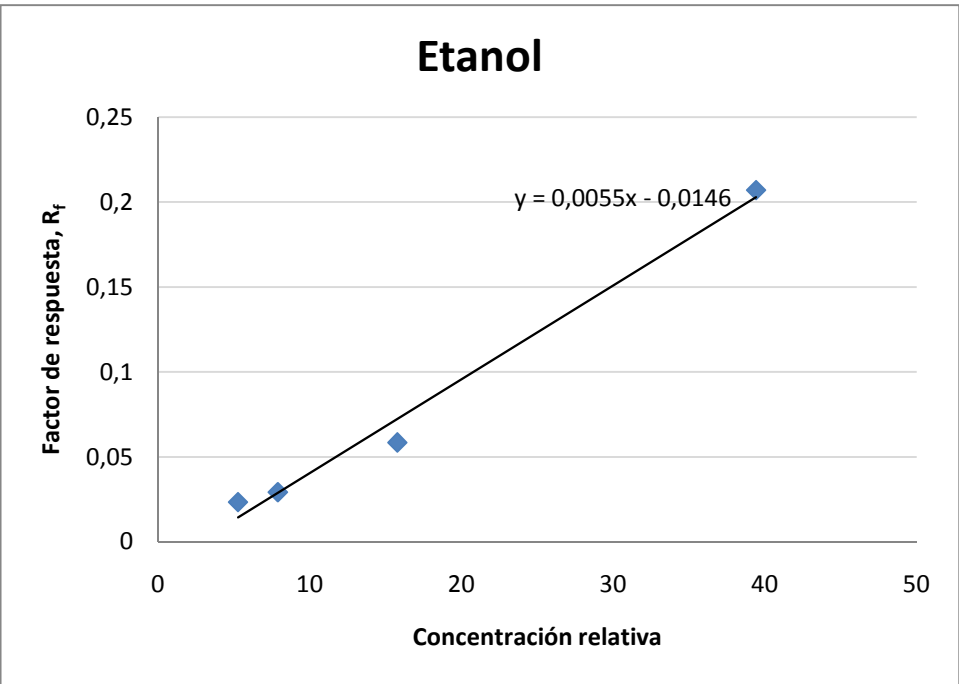
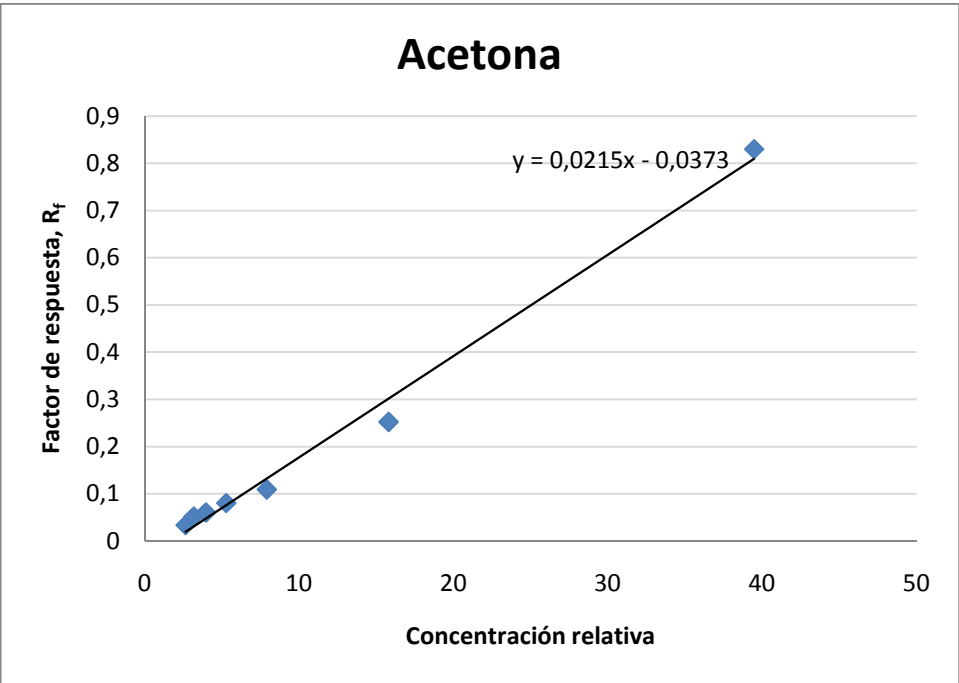
**ANEXO A. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE SOLVENTES ANALIZADOS MEDIANTE HS-GC-FID.**

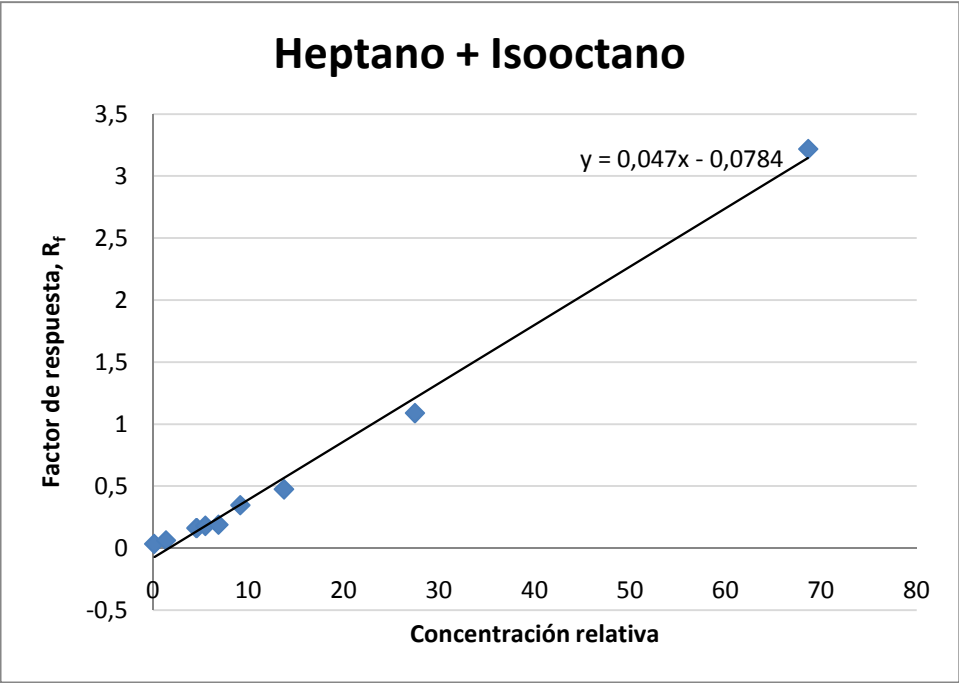
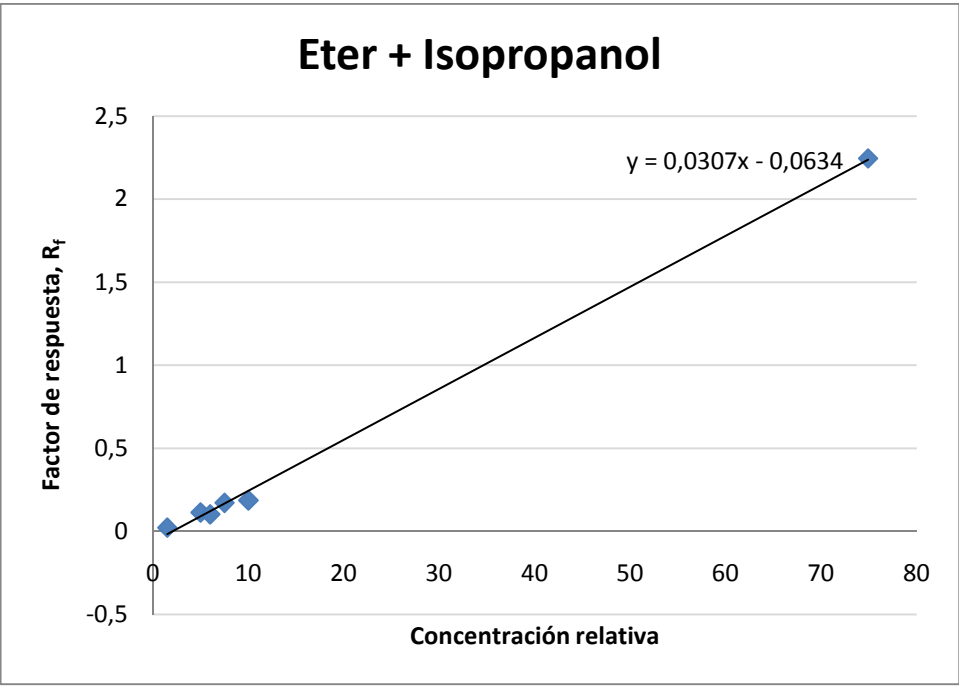


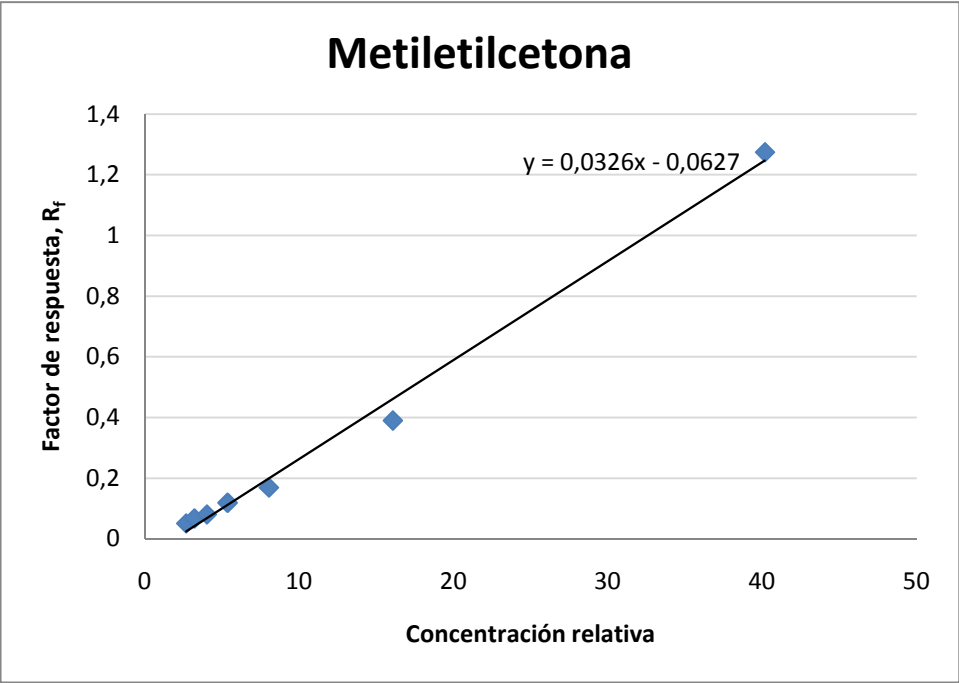
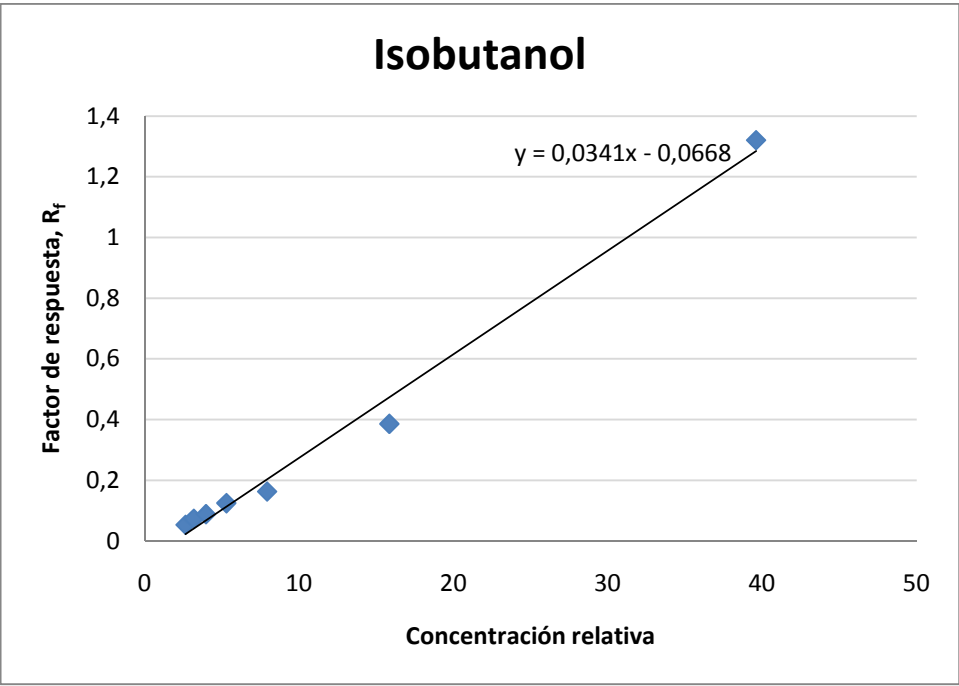


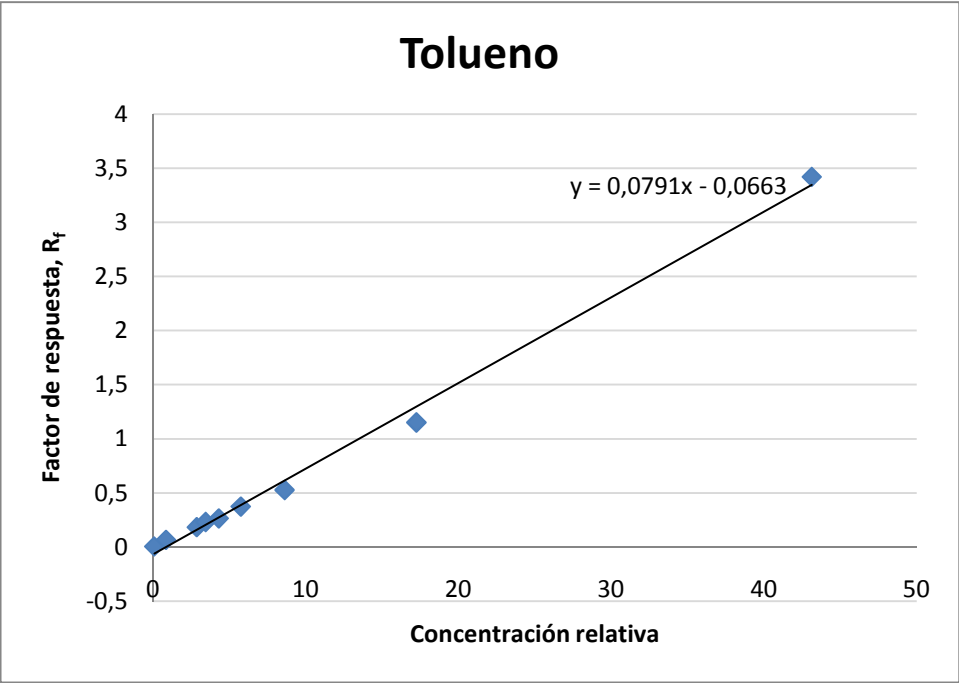
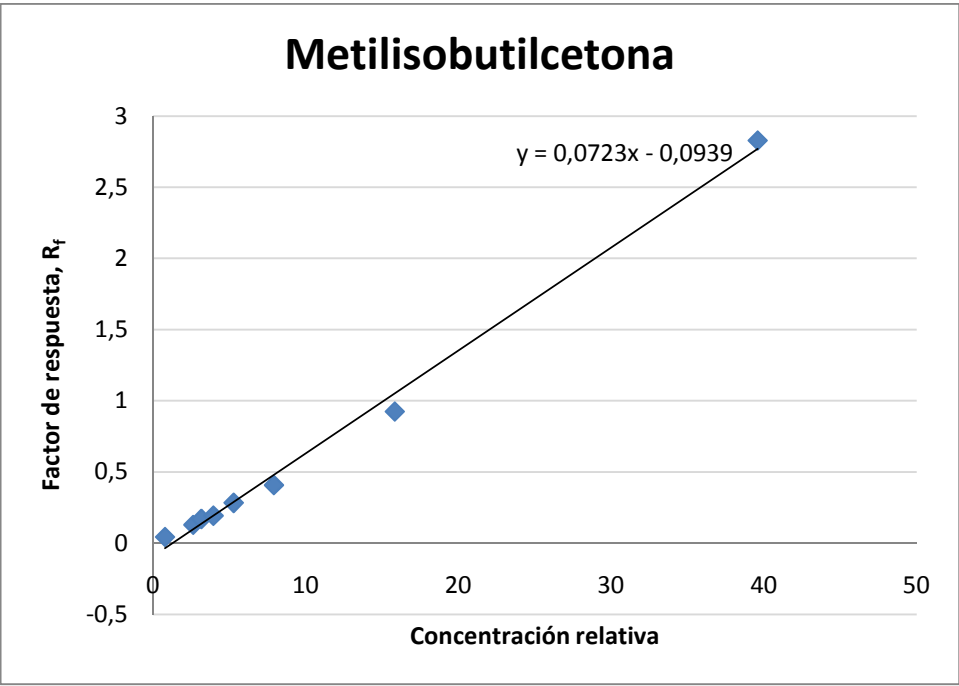


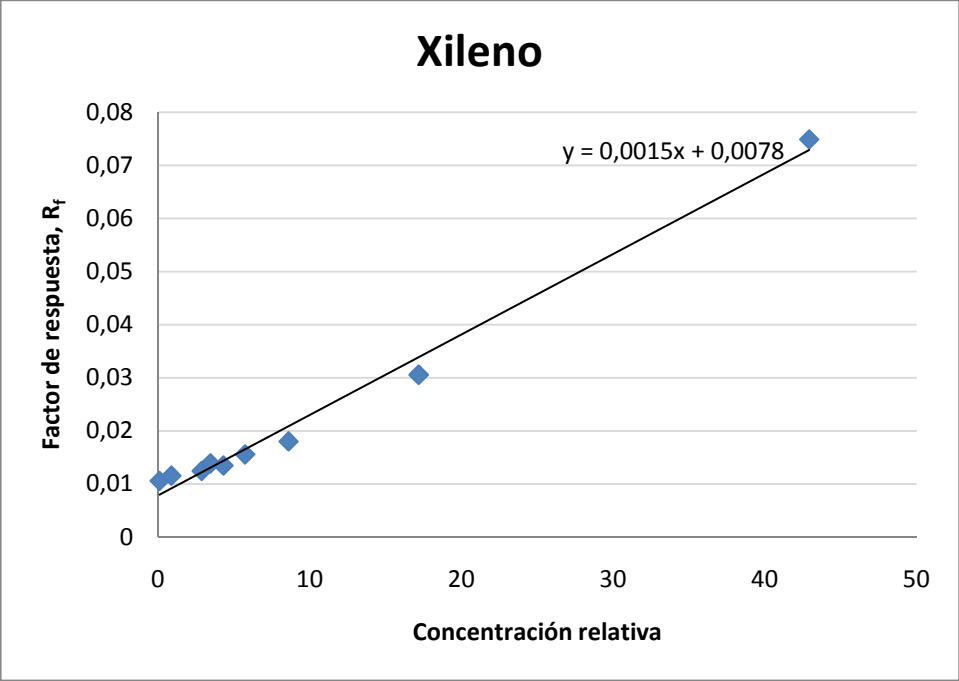






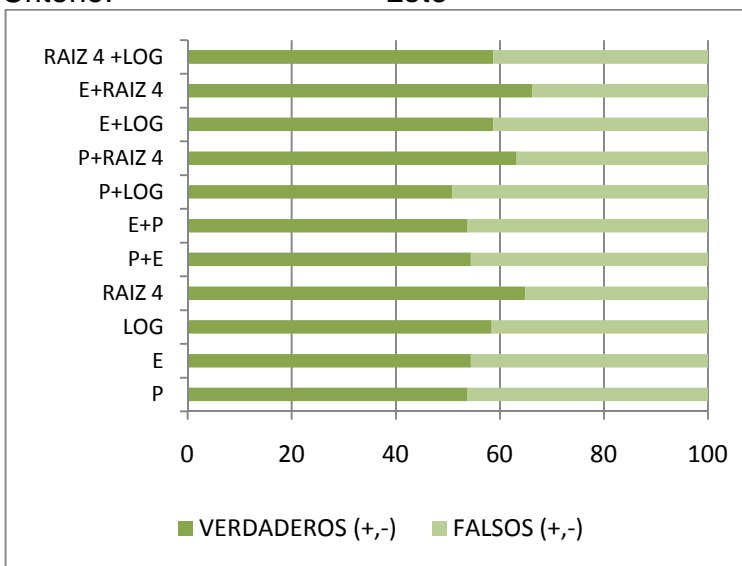




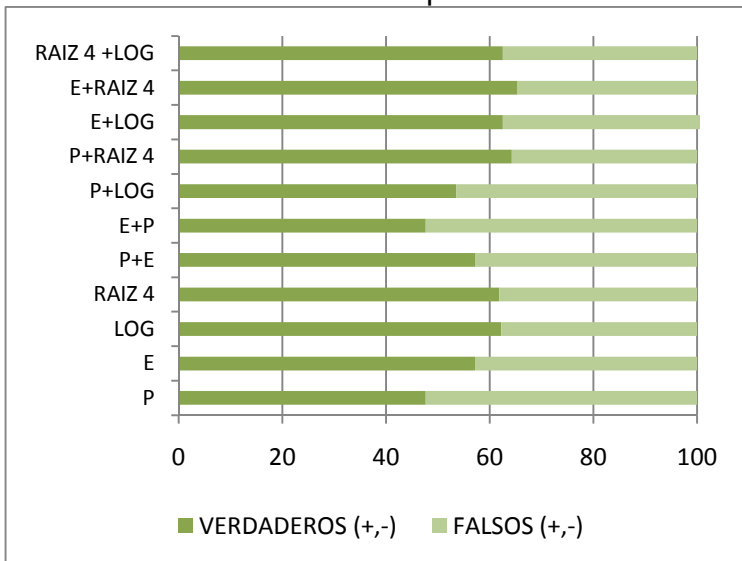


## ANEXO B. COMPARACIÓN DE PORCENTAJES DE ACIERTOS Y DESACIERTOS CON BASE EN SIMILITUDES Y DISIMILITUDES PARA PRE-TRATAMIENTOS APLICADOS A SOLVENTES RESIDUALES EN MUESTRAS DE COCAÍNA

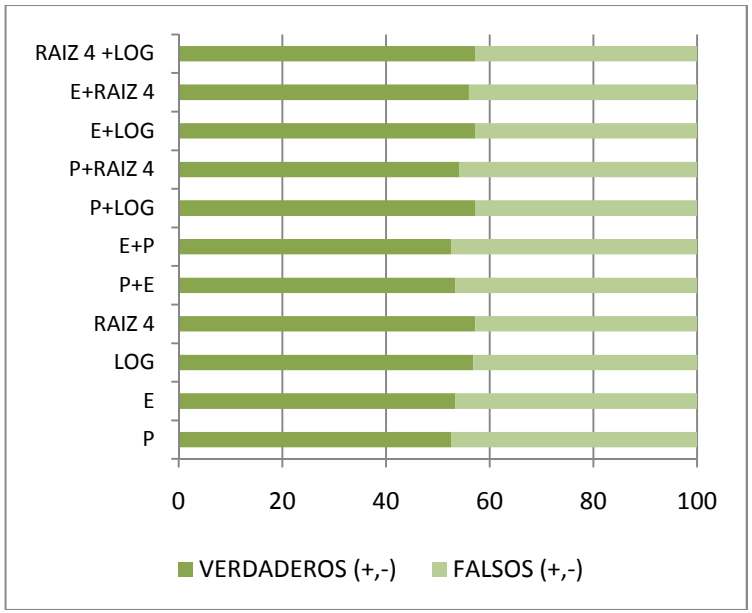
Técnica: HS-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: Euclidiana  
 Criterio: Lote



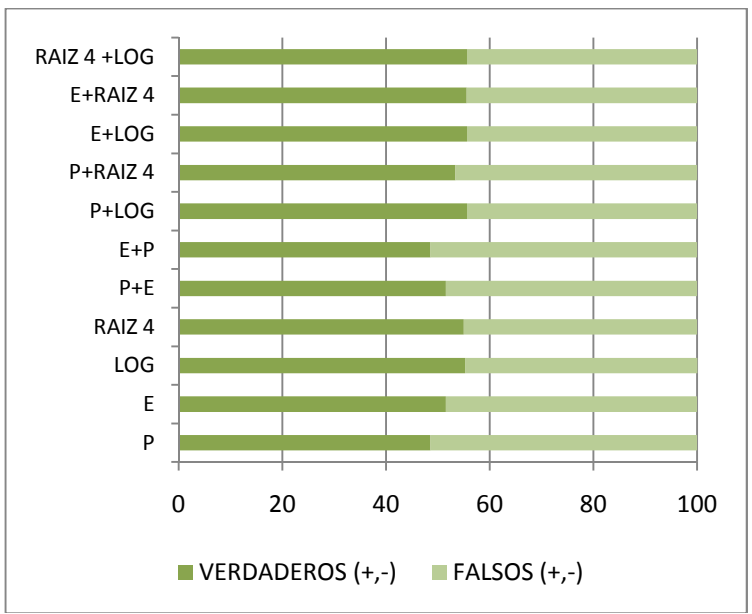
Técnica: HS-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: Euclidiana  
 Criterio: Departamento



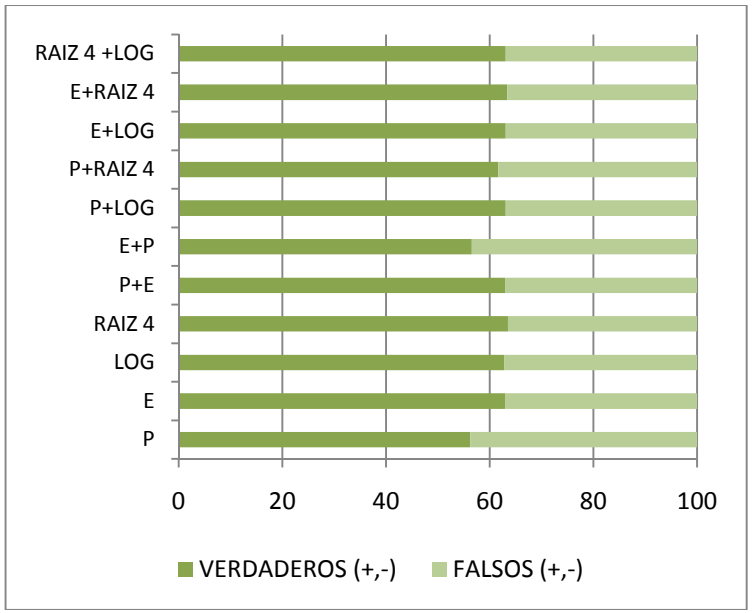
Técnica: HS-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: Chevycheb  
 Criterio: Lote



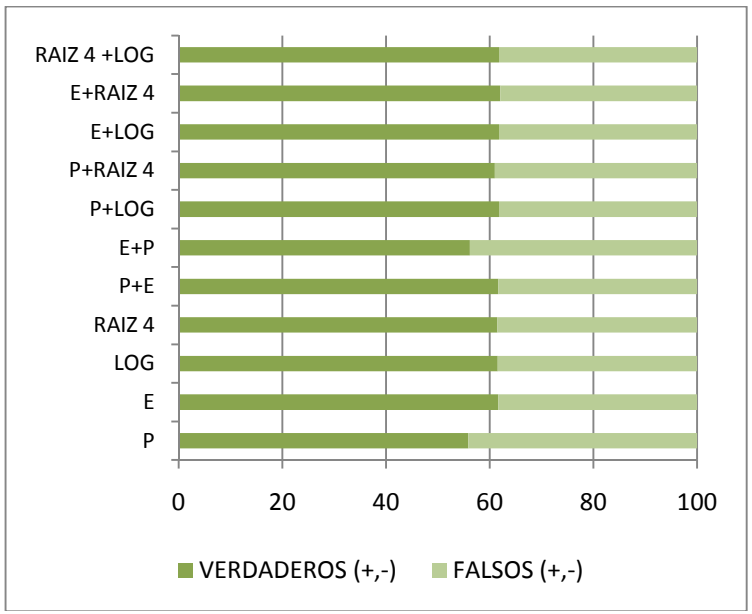
Técnica: HS-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: Chevycheb  
 Criterio: Departamento



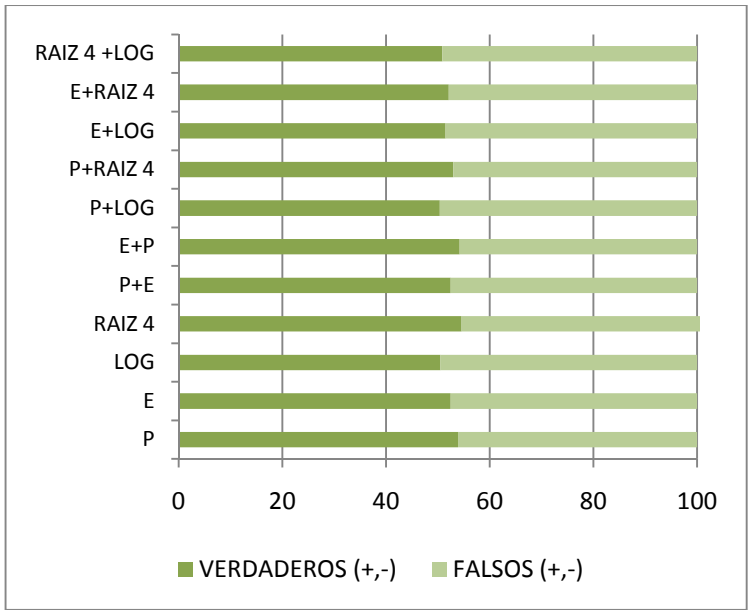
Técnica: HS-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: % de Discrepancia  
 Criterio: Lote



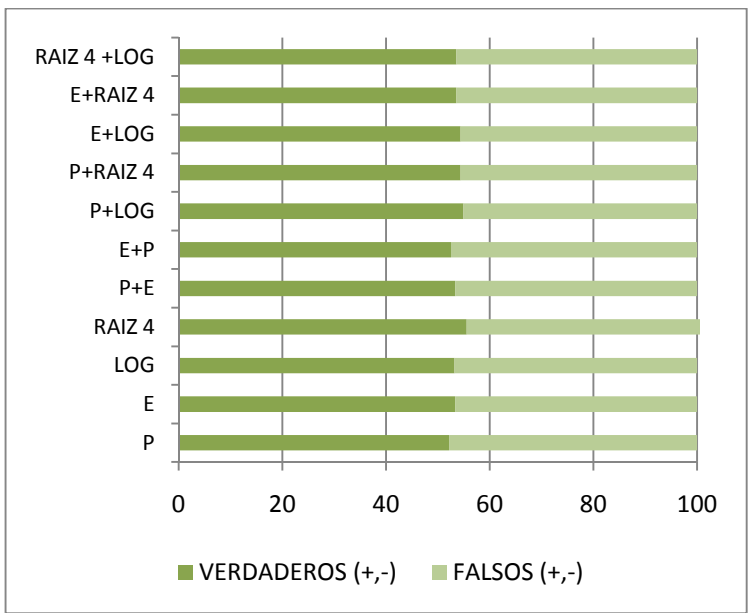
Técnica: HS-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: % de Discrepancia  
 Criterio: Departamento



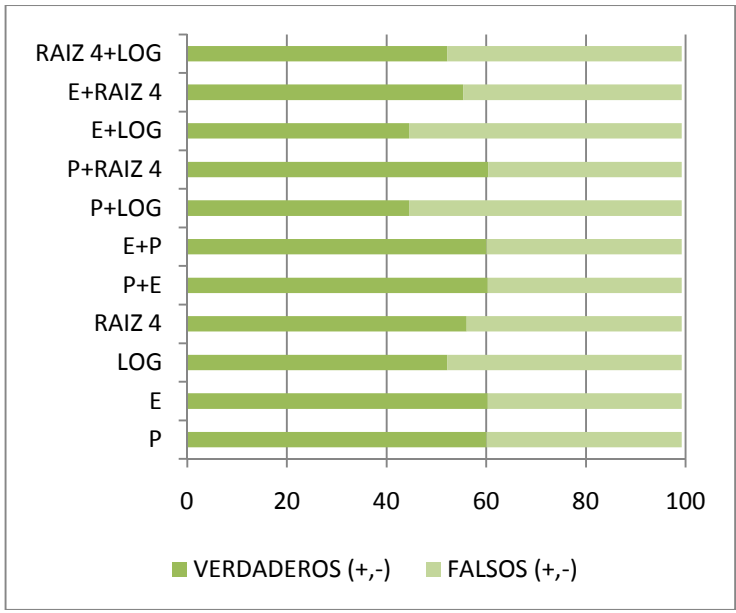
Técnica: HS-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: 1-Pearson  
 Criterio: Lote



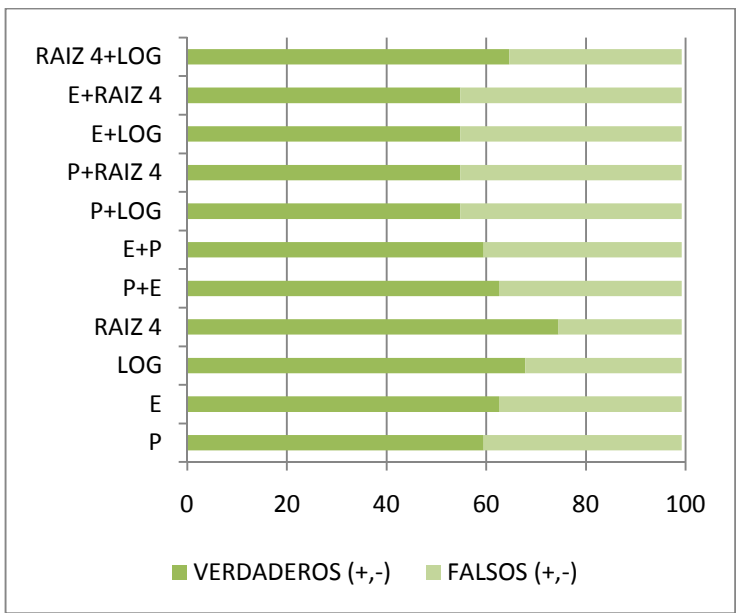
Técnica: HS-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: 1-Pearson  
 Criterio: Departamento



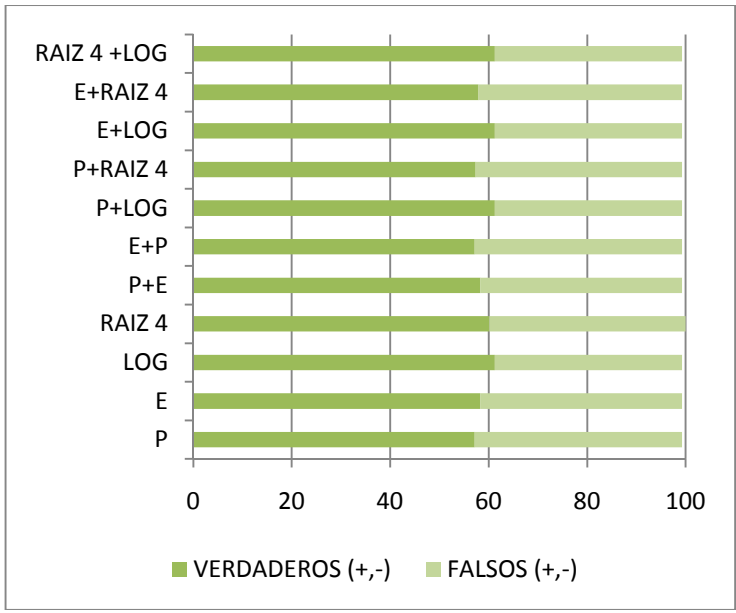
Técnica: SPME-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: Euclidiana  
 Criterio: Lote



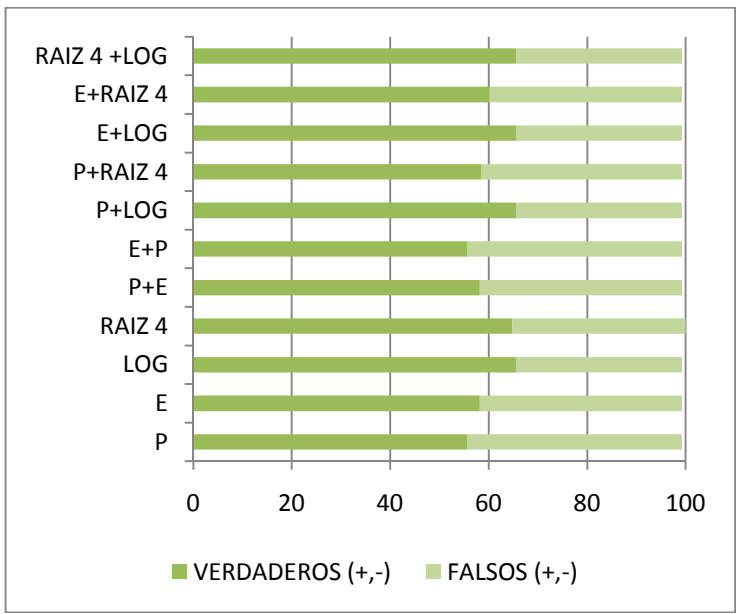
Técnica: SPME-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: Euclidiana  
 Criterio: Departamento



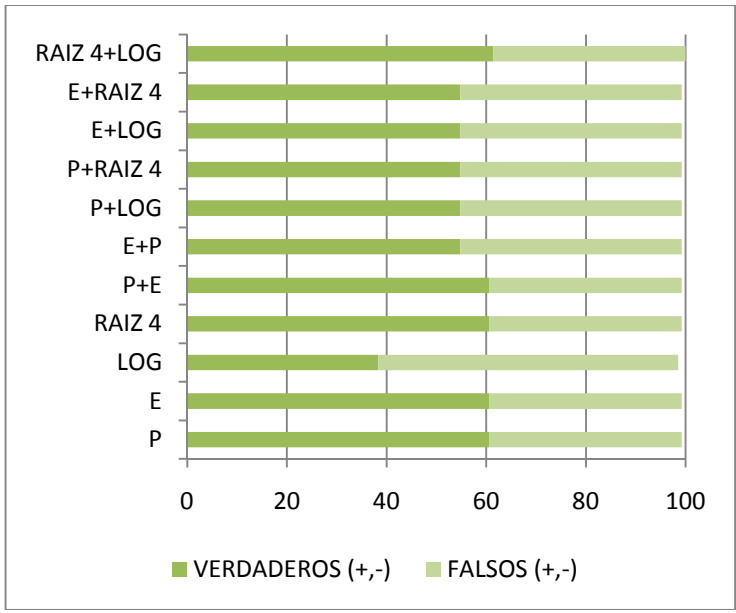
Técnica: SPME-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: Chevycheb  
 Criterio: Lote



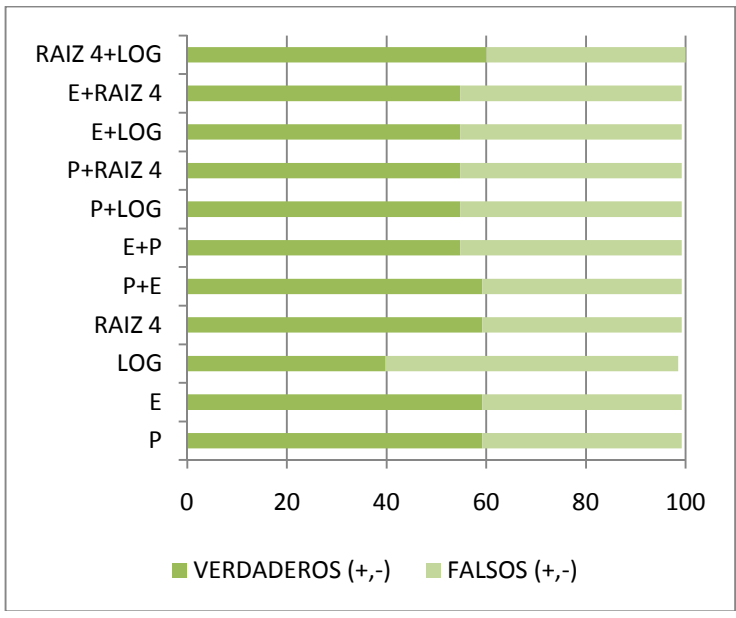
Técnica: SPME-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: Chevycheb  
 Criterio: Departamento



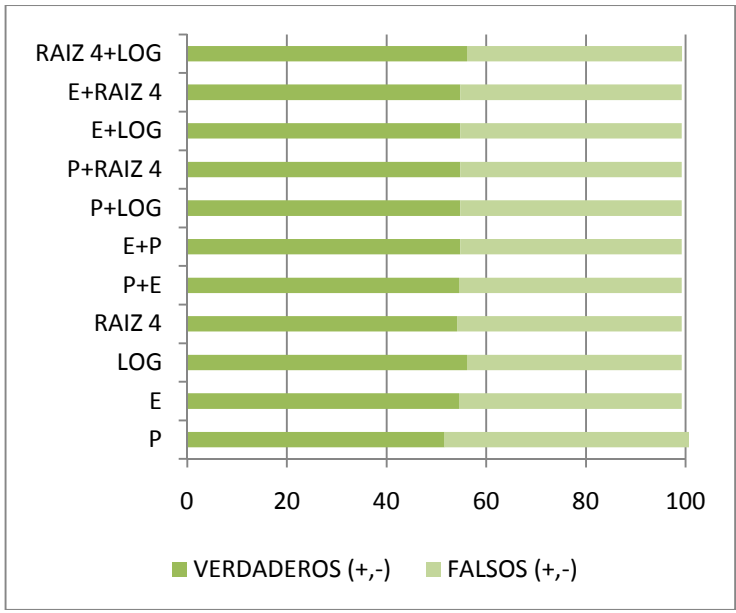
Técnica: SPME-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: % Discrepancia  
 Criterio: Lote



Técnica: SPME-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: % Discrepancia  
 Criterio: Departamento



Técnica: SPME-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: 1-Pearson  
 Criterio: Lote



Técnica: SPME-GC-FID  
 Similitud/Disimilitud: 1-Pearson  
 Criterio: Departamento

