



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES  
ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ)  
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**Determinación Cualitativa de Cannabis  
Sativa (Cualitativa, Morfológica, GC/MS)**

PROCEDIMIENTO DE  
OPERACIÓN NORMADO  
**ESPECIFICO**

**P-DCF-ECT-QUI-04**

VERSION: 09

Rige desde:17/03/2023

PAGINA: 1 de **68**

|  |  |
|--|--|
| <b>Elaborado o modificado por:</b><br><br>MSc. Jorge Cartín Elizondo<br>Perito Judicial 2,<br>Sección de Química Analítica       | <b>Revisado por Líder Técnico:</b><br><br>Licda. Ginnette Amador Godoy<br>Perito Judicial 2,<br>Sección de Química Analítica |
| <b>Visto Bueno Encargado de Calidad:</b><br><br>MSc. Jorge Cartín Elizondo<br>Perito Judicial 2,<br>Sección de Química Analítica | <b>Aprobado por:</b><br><br>Licda. Patricia Fallas Meléndez<br>Jefe,<br>Sección de Química Analítica                         |

#### CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

| Versión | Fecha de Aprobación | Fecha de Revisión | Descripción del Cambio   | SCD   | Solicitado por |
|---------|---------------------|-------------------|--|-------|----------------|
| 01      | 2010.11.15          | 09/09/2016        | Versión inicial del procedimiento  | -     | PFM            |
| 02      | 09/09/2016          | 26/04/2017        | Actualización de formato e inclusión de modificaciones producto de la validación de la metodología                         | 06-16 | PFM            |
| 03      | 26/04/2017          | 22/09/2017        | Cambio de claves para el Gestor Documental   | 07-17 | PFM            |
| 04      | 22/09/2017          | 31/05/2018        | Se atienden indicaciones de la auditoría externa del año 2017  | 15-17 | PFM            |
| 05      | 31/05/2018          | 08/03/2021        | Se incluyen recomendaciones realizadas por funcionarios de la Sección de Química Analítica, actualización de muestreo y de | 0-18  | PFM            |



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES  
ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ)  
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**Determinación Cualitativa de Cannabis  
Sativa (Cualitativa, Morfológica, GC/MS)**

PROCEDIMIENTO DE  
OPERACIÓN NORMADO  
**ESPECIFICO**

**P-DCF-ECT-QUI-04**

VERSION: 09

Rige desde:17/03/2023

PAGINA: 2 de **68**

|    |            |            | critérios de aceptación   |       |     |
|----|------------|------------|---|-------|-----|
| 06 | 08/03/2021 | 07/07/2021 | Revisión de actualización. Además, en esta versión se incluye modificaciones que se fundamentan en la re-validación realizada en el 2019 y su adendum correspondiente, se elimina el apartado relacionado con TLC como metodología alternativa, se incluyen el análisis independiente morfológico y la extracción QuEChERS de cannabinoides en materiales diversos complejos para GC-MS (como parte integral del procedimiento y no como anexo) y se cambia el método de GC-MS particular que se aplicaba para cannabinoides por el método de escrutinio general en el análisis de NPS. | 05-21 | PFM |
| 07 | 07/07/2021 | 31/10/2022 | Apartado 7.6 y 10.5 según cambios introducidos en el oficio 329-DG-2021. Modificaciones de preparaciones para GC-MS y correcciones generales detectadas por personal técnico.   | 11-21 | PFM |
| 08 | 31/10/2022 | 17/03/2023 | NCAP-2022-05-QUI / NCAP-2022-06-QUI / Lenguaje inclusivo.   | 09-22 | PFM |
| 09 | 17/03/2023 |            | Inclusión de Comunicado 2021-028-CAL-QUI Longitud de las Plantas / cambio en el apartado 10 de resultados   | 02-23 | PFM |

**ESTE PROCEDIMIENTO ES UN DOCUMENTO CONFIDENCIAL  
PARA USO INTERNO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES  
SE PROHÍBE CUALQUIER REPRODUCCIÓN QUE NO SEA PARA ESTE FIN**



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES  
ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ)  
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**Determinación Cualitativa de Cannabis  
Sativa (Cualitativa, Morfológica, GC/MS)**

PROCEDIMIENTO DE  
OPERACIÓN NORMADO  
**ESPECIFICO**

**P-DCF-ECT-QUI-04**

VERSION: 09

Rige desde:17/03/2023

PAGINA: 3 de **68**

**La versión oficial digital es la que se mantiene en la ubicación que la Unidad de Gestión de Calidad defina. La versión oficial impresa es la que se encuentra en la Unidad de Gestión de Calidad. Cualquier otro documento impreso o digital será considerado como copia no controlada .**

COPIA NO CONTROLADA

|   |                  |                 |
|---|------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 4 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                 |

### 1. Objetivo:

Este PON tiene como objetivos complementarios, los siguientes:

- determinar en forma cualitativa la presencia o ausencia de cannabinoides (principalmente tetrahidrocannabinol, aunque el escrutinio detecta otros cannabinoides no restringidos) y verificar la presencia o ausencia de características específicas relevantes de la planta *Cannabis Sativa* (junto a otras que se consideran generales pero complementarias para la identificación), todo lo cual permite la identificación confirmatoria de material relacionado con *Cannabis Sativa*.
- determinar en forma cualitativa la presencia o ausencia de características específicas pero generales, en la identificación presuntiva de "semillas" de la planta *Cannabis Sativa*, como característica complementaria de registro en la identificación de otros tejidos vegetales.
- confirmar instrumentalmente la presencia o ausencia de Tetrahidrocannabinol (THC), junto a otros cannabinoides no restringidos (CBD y CBN), lo cual permite la identificación confirmatoria de un psicotrópico restringido (THC).

Además, para realizar la identificación y la prueba de germinación en el caso de las "semillas", se hace referencia al traslado de esas muestras de *Cannabis Sativa* cuando la Sección de Biología pueda atender la solicitud.

COPIA NO COMPROBADA

|   |                  |                 |
|---|------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 5 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                 |

## 2. Alcance:

Este PON permite alcanzar los objetivos anteriores, cuando se aplica en diversos materiales (de origen vegetal o incluso de otra naturaleza), que se presume que se encuentran relacionadas con productos de *Cannabis Sativa* y se reciben en la Sección de Química Analítica. Entre los materiales recibidos se encuentran matrices líquidas (aceites y tinturas, algunas veces contenidos en "cigarrillos" electrónicos o partes de los mismos), matrices sólidas o semisólidas simples (geles, material pastoso y pastas), material vegetal diverso (plántulas, plantas o ramas, hojas sueltas, sumidades floridas o eflorescencias, ya sea como trozos o como capullos completos, resinas de Hashis, "semillas" o frutos y "picadura" de material vegetal compuesto (ya sea disperso o compacto, como las dos presentaciones más comunes), de todas las muestras que se pueden identificar macroscópicamente como materiales vegetales, solamente se excluyen las raíces y los tallos sin restos foliares; mientras que en el caso de semillas la caracterización solamente se puede realizar a un nivel presuntivo, pero el material residual junto a este generalmente corresponde a "picadura" muy fina que puede identificarse a nivel confirmatorio.

Aunque el material vegetal o restos del mismo se puede observar como parte de otras matrices compuestas más complejas, también se pueden descartar o confirmar la presencia de sustancias relacionadas con productos de *Cannabis Sativa*, cuando el THC u otros cannabinoides se encuentran presentes en matrices diversas (como alimentos: *brownies*, golosinas, galletas, queques; como otros materiales: aceites, tinturas, geles, material pastoso o pasta; entre algunos ejemplos).

– La determinación de rutina consiste en la aplicación de los ensayos de caracterización por morfología macroscópica y microscópica, seguidas del ensayo de Duquenois-Levine modificado (DLM). Para las semillas, se realiza registro de su identificación presuntiva, pero de forma adicional puede ser necesario trasladarlas a la Sección de Biología Forense para la identificación y para la prueba de germinación, cuando así lo solicite la Autoridad Judicial. Los ensayos de rutina pueden extenderse a otras técnicas complementarias (por aspectos de recomendaciones mínimos indicados por *SWGDRUGS*, 2019), cuando el estado del material vegetal no es apto para los primeros análisis de caracterización, porque se encuentra descompuesto o por su propia naturaleza, no es posible observar todas las características específicas relevantes o no dan resultados positivos por el ensayo de color. En tales circunstancias, se realiza el ensayo de uno o varios extractos del material recibido por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas.

La identificación por medio de los ensayos morfológicos (macro y microscópico), permiten detectar presuntivamente características relevantes (así como verificar independientemente las relevantes y algunas complementarias en los testigos), ver informes de validación 010-QUI-VAL-2019 y 006-QUI-VAL-2021 (adendum del anterior). La identificación por medio del ensayo de color permite detectar presuntivamente THC con un límite de detección de 0,14 µg en matriz, para la prueba sobre 50 mg de picadura con un contenido de 0,28 g/100g de material, pero junto a otros cannabinoides siempre presentes, ver informe de validación 001-QUI-VAL-(1)-2012. Los ensayos morfológicos (macro y microscópico) y el ensayo de color, son complementarios. El complemento entre los ensayos morfológicos y el ensayo de color, aseguran una alta veracidad en la determinación de acuerdo con el informe de validación 010-

|   |                  |                 |
|---|------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 6 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                 |

QUI-VAL-2019. En caso de duda, incluso se pueden realizar análisis instrumentales de mayor potencia de confirmación como el GC/MS.

La identificación confirmatoria alternativa por medio del ensayo por GC/MS, permite identificar THC con un límite de identificación desde 1,9 ng y 21 ng, como masa inyectada en 1,9 ng de disolución de análisis cromatográfico (concentración entre 20 mg/L y 40 mg/L en disolución de inyección), por medio de la evaluación del índice de retención (IR) o tiempo de retención ( $t_R$ ), este último en caso de no disponer de estándar interno, ver informe de validación 022-VAL-QUI-2019. Además se actualizan los criterios de aceptación establecidos, siempre en acuerdo con la auditoría externa 2017. Con el ensayo de GC/MS, se pueden detectar otros cannabinoides no restringidos tales como CBN y CBD.

Las versiones de la 01 a 07 fueron elaboradas, revisadas y modificadas por el Lic. Ronald Castro Esquivel y el Lic. Guillermo Rosales Mora.

### 3. Referencias:

- Adendum de Informe de Validación de Determinación Cualitativa de *Cannabis Sativa* 010-VAL-QUI-2019 con código 006-VAL-QUI-2020.
- Castro, R. y Briceño, S. Límites de detección de las pruebas cualitativas recomendadas para el ensayo inmediato por drogas de abuso, Revista Ciencia Forense INACIPE, Año 3, Número 2, Octubre 2013, 41-50.
- División Internacional de la Oficina de Capacitación de la Agencia para el control de Drogas de los Estados Unidos. Manual para el control de drogas. División Internacional de Capacitación.
- Drug Identification Bible® For Law Enforcement and Professional use only. -2011-Edition. Amera Chem, Inc.: Grand Junction, Colorado, 2011.
- Hanson, A.J. Specificity of the Duquenois-Levine and Cobal Thiocyanate Tests Substituting Methylene Chloride or Butyl Chloride for Chloroform, Microgram, Volumen 3, July-December 2005.
- Informe de Validación de Determinación Cualitativa de *Cannabis Sativa* 010-VAL-QUI-2019.
- Informe de Validación de Metodología de Escrutinio General 022-VAL-QUI-2019.
- Mills, T.; Conrad, R. Instrumental Data for Drug Analysis. 2th Edition, Vol. I, III: Florida, 1993.
- Moffat, A.C.; Osselton, M.D.; Widdop, B and Watts, J. (Editors) Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, 4th Ed., Volume 2. Pharmaceutical Press: London, 2011.
- Moreno, N. "Glosario Botánico Ilustrado", Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos: Veracruz, 1987.
- Nordmann, J. ANALISIS CUALITATIVO Y QUIMICA INORGANICA. Cia. Editorial Continental, S.A. de C.V., México, 1998.
- Saferstein, R. Criminalistics An Introduction to Forensic Science. Prentice Hall: USA, 1998.
- Scientific and Technical Notes, United Nations, Scitec / 6, February 1989.

|   |                  |                 |
|---|------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 7 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                 |

- *SWGDRUGS*. Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs, Recommendations. Version 8.0, June 2019, Part III Method of Analysis; Part IIIA Methods of Analysis / Sampling Seized Drugs for Qualitative Analysis and Part IIIB Methods of Analysis / Analytical Scheme for Identification of Drugs or Chemicals, pp. 7 - 13.
- UNODC. Recommended Methods for the Identification and Analysis of Cannabis and Cannabis products. United Nations, New York, USA, 2009.
- UNODC. Recommended Metodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos de cannabis. Naciones Unidas, New York, USA, 2010.
- Wagner, H.; Blatt, S.; Zgainski, E.M. Plant Drug Analysis. Springer-Verlag: Berlin, 1984.
- WADA Laboratory Committee, IDENTIFICATION CRITERIA FOR QUALITATIVE ASSAYS INCORPORATING COLUMN CHROMATOGRAPHY AND MASS SPECTROMETRY, WADA Technical Document - TD2010IDCR, Version Number: 1.0, Approved by: WADA Executive Committee, Approval Date: 12 May, 2015 Effective Date: 01 September, 2015.

#### 4. Equipos y Materiales:

- Agitador de vidrio o magnético.
- Carpeta digital de control del Cromatógrafo de Gases con Detector de Masas Agilent 7890A, 5977A (carpeta digital C: AMPO PDF, de almacenamiento de tuning, controles y patrones).
- Carpeta digital de control del Cromatógrafo de Gases con Detector de Masas Agilent 7890B, 5977B (carpeta digital C: AMPO PDF, de almacenamiento de tuning, controles y patrones).
- Balanza analítica, 0 g a 220 g o similar, resolución de  $\pm 0,0001$  g.
- Balanza granataria, 0 g a 3200g o similar, resolución de  $\pm 0,01$  g.
- Balones aforados, capacidades variables.
- Beaker de vidrio Pyrex, capacidad variable.
- Bolsas plásticas.
- Botella de color ámbar (de vidrio y de plástico), capacidad variable.
- Capilla de extracción de gases.
- Cápsula de porcelana (reutilizable).
- Centrífuga, con capacidad para tubo tipo Eppendorf, velocidad 13 200 r.p.m., o similar.
- Centrífuga, con capacidad para tubos de 85 x 15 mm, velocidad 2 500 r.p.m., o similar.
- Cinta métrica, de 0 a 3 m aproximadamente, las cuales traen una división de escala de  $\pm 1$  mm (mucho menor a lo requerido) o similar.
- Cortador o "cutter", con sus cuchillas correspondientes.
- Cromatógrafo de Gases con Detector de Masas Agilent 6890A, 5977A Mass Selective Detector y automuestreador Agilent serie 7693, o similar.
- Cromatógrafo de Gases con Detector de Masas Agilent 6890B, 5977B Mass Selective Detector y automuestreador Agilent serie 7693, o similar.
- Dispensadores para reactivos de 1 L de capacidad, o similar.
- Espátula o microespátula (reutilizable).
- Estereoscopios, con lentes 1 / 0,02; 4 / 0,08 y 10 / 0,08; 2X, 4X; 0,7 / 1 / 1,5 / 2 / 2,5 / 3 / 3,5 / 4 / 4,5; 0,65 / 0,8 / 1 / 1,25 / 1,6 / 2 / 2,5 / 3,2 / 4,0 / 5,0 o similar.

|   |                  |                 |
|---|------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 8 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                 |

- Estufa, de 0 °C a 100 °C, o similar,  $\pm 1$  °C.
- Filtros de microporo de disco 0,45  $\mu\text{m}$ , nuevos.
- módulo de análisis SADCF.
- Formulario de Controles positivos y blancos de reactivos para pruebas de color.
- Gabacha.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Gradilla para viales.
- Guantes desechables.
- Homogenizador o licuadora, con sus accesorios.
- Hisopo.
- Jeringas de plástico 3 mL, nuevas.
- Lentes de seguridad.
- Libro de Control del Cromatógrafo de Gases con Detector de Masas Agilent 7890A, 5977A Mass Selective Detector.
- Libro de Control del Cromatógrafo de Gases con Detector de Masas Agilent 7890B, 5977B Mass Selective Detector.
- Marcador de tinta indeleble para vidrio.
- Mascarilla desechable (cuando se requiere).
- Mezclador tipo *vortex*, estándar con regulador de la intensidad de agitación.
- Micropipetas de volúmenes variables.
- Mufla, de 0 °C a 500 °C, o similar,  $\pm 5$  °C.
- Papel *kraft*.
- Papel aluminio.
- Pastilla magnética.
- Plato de pesada o similar, desechable.
- Probetas de vidrio *Pyrex*, capacidad variable.
- Puntas para micropipetas (nuevas).
- Refrigeradora.
- Sobres de manila.
- Tubos de ensayo vidrio *pyrex* 13 mm x 100 mm o similar, reutilizables.
- Tubos de plástico de 2 mL, descartables.
- Tubos de polipropileno de 50 mL, descartables.
- Tubos tipo Eppendorf, de 1,5 mL para centrífuga, nuevos o similares.
- Viales de 1,5 mL para el automuestreador del GC/MS con tapa con *septum* (nuevos).
- Viales de 4 mL de autoinyector del GC/MS, re-utilizables.

Los materiales y cristalería que se re-utilice deben ser lavados con detergente para cristalería y agua del grifo, en el caso de los viales luego se enjuagan con agua desionizada. Finalmente se deja secar. En caso de ser necesario se calcinan en una estufa.

##### 5. Reactivos y Materiales de Referencia:

- Acetaldehído, grado reactivo.
- Acetato de etilo, grado reactivo.
- Acetonitrilo, grado reactivo o plaguicidas.
- Ácido clorhídrico concentrado para análisis.
- Agua del grifo.

|   |                  |                 |
|---|------------------|-----------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 9 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                 |

- Agua desionizada.
- Cloroformo para análisis.
- Cloruro de sodio, grado reactivo para extracción de fase dispersa.
- Detergente para cristalería, preferiblemente no iónico, o similar.
- Dihidrato de citrato tribásico de sodio, grado reactivo para extracción de fase dispersa.
- Disolución de docosano madre, aproximadamente 500 mg/L (ver Anexo Número 01).
- Disolución de control con THC, cannabinoides o MIX de Escrutinio General.
- Docosano, para análisis.
- Etanol, para análisis.
- Helio, *Ultra High Purity* (UHP), cilindro para CG/MS.
- Material de referencia de Cannabinol (sólido o generalmente disolución de CBN).
- Material de referencia de Cannabidiol (sólido o generalmente disolución de CBD).
- Material de referencia de Tetrahidrocannabinol (Dronabinol, sólido o generalmente disolución de THC).
- Material de referencia secundario de picadura de la planta *C. sativa* (muestra de un caso previamente identificada).
- Mezcla de sólidos comercial, Agilent 5982-5650, Phenomenex EN 15562 o similar (mezcla de QuEChERS).
- Mezcla de sólidos comercial, Agilent 5982-5122 o similar (mezcla de limpieza).
- Reactivo de Duquenois-Levine modificado (ver Anexo Número 01) .
- Reactivo de C18 u octadecilo, para limpieza de fase dispersa.
- Reactivo de *PSA* o amina primaria o secundaria, para limpieza de fase dispersa.
- Sesquihidrato de citrato dibásico de sodio, grado reactivo para extracción de fase dispersa.
- Sulfato de magnesio anhidro, o grado reactivo para extracción y para limpieza de fase dispersa (si debe desecarse el grado reactivo ver Anexo Número 01).
- Vainillina, grado reactivo.

## 6. Condiciones Ambientales:

Las condiciones ambientales temperatura y humedad no afectan los resultados de este análisis según se establece en la Oportunidad de Mejora de la auditoría interna 2020 ME-2020-006-QUI y el Comunicado 2020-032-CAL-QUI.

La humedad relativa y la temperatura deben de controlarse en caso de que los equipos de aire acondicionado no estén en funcionamiento.

Las condiciones ambientales del laboratorio no afectan las mediciones de los análisis que se realizan en este procedimiento, según se establece en el informe de validación 009-QUI-VAL-(1)-2017.

## 7. Procedimiento:

### 7.1 Inspección preliminar de las muestras recibidas

**7.1.1** Considere los siguientes puntos para su trabajo con materiales que presuntivamente contienen THC, porque están relacionados con materiales de Cannabis sativa:

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 10 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

- a) El estado general de la planta y de la picadura, es decir, si la misma presenta un estado de descomposición que no permite la realización de algunos de los análisis morfológicos. Para algunos problemas como hongos o exceso de ácaros en algunas muestras vegetales, el apartado de procedimiento indica tratamientos posibles.
- b) Sí el material vegetal o las plantas se encuentran húmedas:
- b1) Coloque una pequeña muestra (el equivalente a aproximadamente cinco hojas) en un contenedor (como cápsula de porcelana o tubo de ensayo), la cual se introduce por espacio de 20 minutos a 50 °C en una estufa pre-calentada o por espacio de 5 minutos hasta un máximo de 70 °C, o más tiempo dependiendo de la humedad que presenta la planta.
- b2) Cuando el material vegetal o las plantas recibidas se encuentran muy húmedas, para almacenar la muestra de destrucción, es necesario el secado de todo el material incautado recibido (en fracciones si es necesario), por al menos 1 hora aproximadamente a 100 °C - 110 °C. En el último caso se recomienda revisar las muestras en intervalos de 20 minutos - 30 minutos para verificar el proceso de secado de la muestra. Posterior al proceso de secado la muestra se encuentra en condiciones para su almacenamiento y posterior destrucción. Las muestras para destrucción deberán ser envueltas en papel *kraft* o similar, para disminuir el proceso de descomposición natural de la misma, luego se colocan en una bolsa plástica (con pequeñas perforaciones en forma de cuña o punzado), para su almacenamiento en la bodega de drogas. Esto depende de la cantidad y el estado del material, así como de la factibilidad de realizar el secado sugerido.
- c) En el caso de unidades de análisis de tamaño mayor a un peso neto de 2 kg de material vegetal disperso o compacto, sea en sacos, "pacas" o envoltorios grandes, es necesario tomar al menos tres muestras de análisis de diferentes partes por cada unidad de muestra. Se puede tomar por ejemplo una porción en el borde izquierdo, una porción en la parte central y otra porción en el borde derecho del paquete o paca, o alternativamente una muestra de la parte superior, una muestra de la parte intermedia y otra muestra del fondo de la unidad. Estas muestras, se analizan de forma independiente con la combinación de los diferentes ensayos de los sub-apartados del procedimiento que sean necesarias para la identificación a nivel confirmatorio de la naturaleza del material vegetal recibido (según recomendaciones SWGDRUGS).
- d) Si lo recibido es una muestra que se compone principalmente de semillas (esto no aplica para muestras de otro tejido vegetal principal, dentro del cual inevitablemente se encuentran semillas dispersas, al cual se le denomina material que NO se compone principalmente de semillas), de acuerdo con apartado 7.6 y Anexo Número 12, se procede de la siguiente forma:
- d1) si está compuesta solamente de semillas (sin restos vegetales adicionales a la vista), traslade completo el indicio a la Sección de Biología Forense .
- d2) si está compuesta principalmente de semillas, pero se observan otros restos de material vegetal (lo cual debe ser claramente indicado en la descripción realizada en el proceso de apertura), realice la separación de las semillas y

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 11 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

embale éstas para su traslado, almacenando lo embalado como muestra testigo, hasta que se solicite el traslado por requerimiento de la Sección de Biología Forense (Ver Diagrama en Anexo Número 12). El objeto correspondiente a los otros restos de material vegetal que no corresponden con semillas, debe seguir el proceso de análisis secuencial de este PON, tal y como se realiza rutinariamente con los indicios relacionados con materiales vegetales.

- e) Si lo recibido es una resina (que se presume es *Hashis*) o un material pastoso, la misma se pulveriza si se puede para tomar la muestra de análisis (alternativamente se puede cortar varias fracciones pequeñas). Este material pulverizado o fraccionado se puede utilizar directamente para realizar los ensayos de color o morfología, pero debe diluirse durante el tratamiento de extracción para realizar el ensayo alternativo confirmatorio por GC/MS.
- f) Si lo recibido son aceites o tinturas, estos pueden utilizarse sin tratamiento previo para realizar el ensayo de color, pero siempre deben diluirse durante el tratamiento de extracción para realizar el ensayo alternativo confirmatorio por GC/MS.

## 7.2 Muestreo y toma de muestras para los ensayos

### 7.2.1 Determine la(s) masa(s) del(los) indicio(s) por el método estático.

**Nota No. 1:** Las características del método estático utilizado, es decir el procedimiento de "pesaje" y las incertidumbres de esa determinación de "pesos", se establecen en el PON para la Determinación de la masa de material restringido en objetos relacionados con drogas. Los valores de incertidumbres se encuentran en el Formulario de resumen para estimaciones de incertidumbre de proceso en determinación de masas por personal técnico, el cual se encuentra junto a cada una de las balanzas en el área de laboratorio (en casos muy particulares se puede encontrar una hoja con la estimación de incertidumbre propia de una balanza, cuando se ha recibido recientemente o se ha realizado una reparación y una calibración entre los procesos de estimación general de incertidumbres. En algunos indicios de aceites o de cigarrillos electrónicos, las mediciones de masa solamente se realizan para efectos de destrucción del material, pero no se utilizan esos datos en los resultados. Este paso y los dos pasos siguientes, se realizan normalmente de forma conjunta (no secuencial).

**7.2.2** Seleccione para cada indicio bajo análisis, las unidades para ensayo según la metodología a aplicar, de acuerdo a lo establecido en el siguiente cuadro. La muestra para análisis deberá ser seleccionada de forma aleatoria y representativa entre la población (número total de unidades).

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 12 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**Cuadro 1.** Cantidad de unidades del indicio a analizar por metodología (muestra de ensayo)

| Población del indicio (N) | Muestras seleccionadas para cada ensayo (n); cada columna implica una muestra independiente, aunque sea de las mismas unidades |   |
|---------------------------|--|---|
|                           | Morfología macroscópica<br>Morfología microscópica<br>Duquenois-Levine Modificado DLM<br>(como ensayo complementarios)         | GC/MS<br>(como ensayo adicional o alternativo)  |
| 1 a 10                    | Todas las unidades   | Todas las unidades que no completen positivamente ambos ensayos de la primera columna   |
| Más de 10 unidades        | Número de unidades de acuerdo al PON de muestreo vigente   | Número de unidades faltantes de acuerdo al PON de muestreo vigente, cuando estas no completen positivamente ambos ensayos de la primera columna |

**Nota No. 2:** El análisis de rutina consiste en la aplicación de los ensayos morfológicos conjuntamente con el ensayo de color (Duquenois-Levine modificado o DLM). Sí la muestra de material vegetal o resina, por su condición no permite observar las características morfológicas específicas relevantes, o sí la muestra de material vegetal por su condición no permite obtener un resultado positivo sin interferencias para el ensayo de DLM, o si la muestra es de un aceite o una tintura (ver detalles en el procedimiento), se deberá realizar solamente sobre aquellas muestras con resultados insuficientes, ensayos instrumentales confirmatorios por Cromatografía de gases con MS (GC/MS).

**Nota No. 3:** Lo anterior se aplica para todos los casos en análisis de rutina. De acuerdo con el PON de muestreo vigente, se debe aplicar un Plan de muestreo basado en la distribución hipergeométrica, para demostrar que al menos que el 75,00% del cargamento contiene la sustancia restringida, siempre con una confianza mínima de 95,00%. En el caso de un decomiso de muchas unidades, se podrán aplicar otras técnicas de muestreo aceptadas por el DCF, como por ejemplo el muestreo proporcional en sus diferentes formas.

**7.2.3** Tome las muestras (o patrones secundarios cuando corresponda), para cada ensayo de acuerdo a lo siguiente:

- a) Morfología macroscópica, no aplica cantidad, porque la inspección se realiza directamente sobre todo el material recibido.
- b) Morfología microscópica, coloque aproximadamente entre 2,5 mg y 50 mg para la mayoría de los materiales (el valor mayor se utilizó en los ensayos de validación) en:
  - b1) un tubo de ensayo (cuando es seguido por ensayo de DLM),

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 13 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

- b2) un platillo de pesada alternativamente (cuando se utiliza otra muestra diferente para ensayo de DLM).
- b3) un tubo o en un platillo de pesada, en el caso de semillas que se encuentran entre gran cantidad de otro material vegetal, coloque varias semillas preferiblemente cuando es posible.
- c) GC/MS, coloque aproximadamente 75 mg en tubo Eppendorf, cuando el material vegetal es picadura o partes de planta (para matrices de mayor concentración se debe utilizar menos masa y además seguir otros procedimientos de preparación o extracción). El tubo debe estar etiquetado o rotulado (ver Nota No. 4).

**Nota No. 4:** Etiquete o rotule el contenedor con el número de objeto o con los números de caso e indicio de la muestra, cuando aplica, o como control cuando corresponda.

**7.2.4** Traslade las muestras de análisis instrumental por GC/MS, en gradillas cuando sea necesario, para continuar con los pasos siguientes de cada uno de los respectivos ensayos.

### **7.3 Ensayo de caracterización macroscópica de la planta, ramas y/o tallos con hojas, hojas sueltas, sumidades floridas, resinas, aceites y tinturas**

**7.3.1** Determine en la descripción del indicio de una(s) planta(s), tallo(s) o rama(s) su(s) longitud(es) con una cinta métrica o regla graduada. Esta información no es parte de los resultados que se indican en el dictamen pericial.

**7.3.2** Refiera en el apartado de notas del dictamen pericial, si es estrictamente necesario establecer alguna relación del resultado con las longitudes.

**Nota No. 5:** Para algunos casos de gran cantidad de plantas, se puede indicar un valor medio o promedio, o un intervalo de longitudes para todas las plantas recibidas (de extremo a extremo longitudinal o a lo largo). Para el caso de tallos o ramas, cuando las mismas sean referidas en la Solicitud de Dictamen Pericial como plantas, se debe realizar una anotación de inconsistencia y enviar el correo correspondiente cuando aplique.

**7.3.3** Observe las hojas de la planta o de las ramas, para determinar si cumple con las siguientes características (ver Anexo Número 02):

- a) Que hay presencia de hojas compuestas completas.
- b) Que las hojas compuestas presentan un número impar de folíolos u hojuelas (5, 7, 9 o más, dependiendo del estado de maduración de la planta).
- c) Que la forma de las hojuelas o folíolos, presentan forma alargada con bordes aserrados.
- d) Y adicionalmente aunque no se registre, que el color de las hojas es verde oscuro en la parte superior (el haz) y un verde más claro en la parte inferior (el envés). Si las hojas se encuentran un poco secas normalmente aunque mantienen el color verde, pueden presentar una coloración marrón.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 14 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**Nota No. 6:** Las plántulas (ver Anexo Número 02) suelen presentar dos hojas con bordes aserrados (en el ápice) y dos folíolos u hojitas iniciales, no aserradas y redondeadas, abajo de las hojas aserradas anteriores, correspondientes al residuo de los cotiledones.

**7.3.4** Registre los resultados (con excepción del color observado), en el SADCF, así como cualquier otra observación que considere relevante al realizar el ensayo de caracterización macroscópica. Se considera un resultado positivo al observar la presencia de las características indicadas en el punto 7.3.3 y la ausencia de éstas como un resultado negativo (este registro se realiza por la elección en el catálogo del tipo de material como rama, tallo u hoja). En cualquiera de los dos casos, igualmente realice los siguientes pasos y sub-apartados de este procedimiento, cuando apliquen de acuerdo con el material vegetal recibido.

**7.3.5** Observe en el tejido vegetal (plantas o ramas), si en la parte superior o hacia el ápice se encuentran estructuras de sumidades floridas, para las cuales verifique y determine que se cumplen las siguientes características (ver Anexo Número 03):

- a) hojas de diferentes tamaños, algunas de las cuales son pequeñas y cercanas al tallo. En general se observan pequeños tallos casi totalmente cubiertos de hojas.
- b) estructuras de flores o inflorescencias (pistilos y/o anteras, de colores desde amarillos, verdes, cafés y hasta rojizos).
- c) presencia o ausencia de "semillas" entre esas estructuras floridas (frutos ovoides o aquenios).

**Nota No. 7:** Si la planta o las ramas presentan "semillas" (frutos ovoides o aquenios), se revisan según lo indicado en el sub-apartado 7.5.

**Nota No. 8:** Las características anteriores corresponden a las flores femeninas, las cuales son pistiladas (significa que tiene pistilos). Las flores masculinas son estaminadas (significa que tienen estambres). Cuando este sea el caso, se sugiere realizar una anotación en el SADCF así como tomar fotografías.

**Nota No. 9:** Generalmente, además de las características anteriores de las inflorescencias femeninas, cuando el material se encuentra suelto y seco, porque no se encuentra directamente en una planta o ramas, estas estructuras tienen una longitud aproximada de menos de 15 cm. A estas estructuras se les conoce comúnmente como "capullos" (sumidades floridas).

**7.3.6** Registre la presencia de "capullos" (trozos completos de sumidades floridas), en el o en el SADCF. Se considera un resultado positivo al observar la presencia de las características indicadas en el punto 7.3.5 y la ausencia de éstas como un resultado negativo.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 15 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**7.3.7** Observe para otros materiales de aparente origen vegetal (resinas, aceites y tinturas, pastas o materiales pastosos), las características particulares. Las morfologías de las resinas de *Cannabis Sativa* suelen ser muy variables, desde sólidos duros de color negro en la mayoría de los casos, hasta polvos de color café. Los aceites y tinturas suelen tener un color muy oscuro en la mayoría de los casos, pero también los hay claros (ver Anexo Número 04); la diferencia entre aceites y tinturas es su base oleosa o acuosa respectivamente. Para la caracterización completa de estos materiales, se debe seguir los siguientes pasos en orden estricto:

- a - Descripción de las características macroscópicas generales del material recibido (textura y color, por ejemplo).
- b - Caracterización microscópica en el caso de resinas (ver sub-apartado 7.4, así como la Nota No. 10).
- c - Realización del ensayo de Duquenois - Levine modificado (DLM).
- d - En ausencia de características microscópicas relevantes, es necesaria la realización de extracto para ensayo por GC-MS (ver sub-apartado 7.10; contra control de THC o contra disolución de control de cannabinoides en mezcla).

**Nota No. 10:** Las resinas de *Hashis* ocasionalmente mantienen las características relevantes que se necesitan en la caracterización microscópica. Sin embargo si al realizar ese sub-apartado, no se observan las características relevantes, se debe proceder con el ensayo de GC/MS.

#### **7.4 Ensayo de caracterización microscópica (de la hoja de la planta o de trozos de hoja provenientes de la picadura, restos vegetales visibles o residual en resinas)**

**7.4.1** Aplique los siguientes pasos, para cada unidad a analizar con la cantidad de muestra indicada para esta prueba en el punto 7.2.3.

**Nota No. 11:** La cantidad aproximada se puede encontrar entre 2,5 mg y 50 mg de masa (la validación utilizó la segunda para el ensayo fito-químico por DLM de este procedimiento).

**7.4.2** Coloque el plato de pesada o el tubo de ensayo bajo la lente del estereoscopio.

**7.4.3** Observe la muestra para determinar si cumple las siguientes características (ver Anexo Número 05):

- a) Presencia de tricomas NO glandulares (características específicas relevantes):

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 16 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**a1- Tricomas cistolíticos:** ubicados principalmente en la cara superior de la hoja (haz), son numerosos, curvos, de ápice delgado, puntiagudo, de base abultada, los cuales tienen forma de "garra de oso" y unos depósitos esféricos de cristales de carbonato de calcio en su base.

**a2- Tricomas NO cistolíticos:** son "pelos" más largos y afilados en el envés y que carecen de los depósitos de carbonato de calcio en su base.

**b) Presencia de tricomas glandulares(características generales complementarias):**

**b1- Glándulas sésiles:** son pequeños bulbos casi esféricos, generalmente encontradas en la epidermis inferior de la hoja.

**b2- Tricomas glandulares multicelulares:** tienen forma de tallo largo con cabeza globular; ubicados en los alrededores de las flores femeninas.

**Nota No. 12:** En algunas muestras de materiales vegetales muy viejas, puede generarse moho o gran cantidad de ácaros que pueden interferir con la observación de características en el ensayo, para esto se recomienda lavar un poco con etanol el material vegetal de prueba realizada por el personal técnico y el material que se almacenará como muestra testigo (realizar una anotación para el objeto que necesite este tratamiento en el SADCF).

**Nota No. 13:** El personal pericial debe realizar la verificación sobre el material vegetal seleccionado durante los análisis por el personal técnico asistente como muestra testigo, de acuerdo con lo establecido en el apartado 7.8.1.

**7.4.4.** Registre los resultados de la presencia de las dos características relevantes y cualquier otra observación que considere relevante al realizar el ensayo de caracterización microscópica en el SADCF. Considere como un resultado negativo para la caracterización microscópica de la hoja o trozos de hojas u otro material vegetal de origen de la planta *Cannabis Sativa*, la ausencia de las características específicas relevantes (deben observarse ambas, aunque esto se haga en material fragmentado, que no permita reconocer el haz y el envés). Esto incluso con la presencia solamente de las características generales complementarias (las cuales, cuando existan se utilizan para realizar una búsqueda más exhaustiva de las características específicas relevantes y cuando estas últimas sí están presentes, las complementarias solo sirven de soporte adicional en la identificación).

**7.4.5** Anote los datos solicitados en el libro de control del equipo (estereoscopio).

## **7.5 Revisión y registro de las características microscópicas de las semillas que se encuentran en plantas, sumidades o de picadura de aparente marihuana**

**7.5.1** Aplique los siguientes pasos, para cada unidad a observar con la cantidad de muestra indicada para esta prueba en el punto 7.2.3.

**7.5.2** Coloque el plato de pesada o el tubo, si es necesario, bajo la lente del estereoscopio.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 17 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**7.5.3** Observe para toda muestra que sea una mezcla compuesta principalmente de tejido foliar de cualquier tipo, pero en el cual además se encuentran y observan semillas, si en las mismas se encuentran las siguientes características (ver Anexo Número 02):

- a) Forma ovoide u ovalada.
- b) Retículo bordeando el segmento mayor en que está dividido (este es la vena o surco principal).
- c) Color amarillo verdoso, café o marrón, con rayas más claras sobre la superficie (las cuales son las venas secundarias).
- d) Marcas en forma de "lazos", delimitados por las rayas claras mencionadas anteriormente, que delimitan zonas más oscuras.

**Nota No. 14:** Cuando las semillas se encuentren incompletas o quebradas, solo se puede registrar que presentan lo indicado en el punto 7.5.3 (incisos a, b, c y d), solo cuando se observen todas las características. En la caracterización, se debe seleccionar las semillas que no estén quebradas preferiblemente. Además, en algunos indicios de material vegetal, tales como óvulos, "tocolas" o cigarrillos quemados se permitirá no buscar exhaustivamente semillas para realizar el análisis (pero cuando si se observen, deben ser incluidas en el registro de análisis y en el testigo para el análisis independiente). Los resultados registrados en análisis pueden ser no concluyentes, pero en la verificación deben ser concordantes (ver más adelante esto), en tales casos se debe realizar la anotación correspondiente.

**Nota No. 15:** Cuando en alguna de las unidades de un indicio hay semillas entre el material vegetal, el personal técnico debe seleccionar al menos una como parte de la muestra testigo; el personal pericial debe realizar la inspección y registro cuando ese sea el caso, por lo que en el material testigo se debe incluir por lo menos una y sobre la(s) misma(s), el personal pericial debe revisar lo establecido en el apartado 7.8.2.

**7.5.4** Registre los resultados y cualquier otra observación que considere relevante al realizar el ensayo de caracterización microscópica directamente en el SADCF. Se debe observar la presencia de todas las cuatro características indicadas en el punto 7.5.3 como un resultado positivo y la ausencia de estas como un resultado negativo, mientras que la presencia solamente de algunas de las características se registra como no concluyente.

**7.5.5** Anote los datos solicitados en el libro de control del equipo (estereoscopio, cuando aplique).

**7.6 Traslado de muestras para realizar la identificación y prueba de germinación (para muestras que solo presentan semillas o para las semillas que son separadas de otro material vegetal cuando se compone principalmente de semillas)**

**7.6.1** Prepare, cuando la Autoridad Judicial competente solicite la realización de identificación de la semilla, para su traslado posterior a la Sección de Biología, toda muestra de objetos compuestos principalmente de semillas (Ver Anexo Número 12), siguiendo este procedimiento.

**7.6.2** Mida y registre la masa de la muestra de semillas seleccionada, en el formulario físico

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 18 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

impreso o directamente en el SADCF.

**7.6.3** Anote los datos solicitados en el libro de control del equipo (balanza).

**7.6.4** Almacene la muestra en sobre de manila identificado con el número consecutivo de la Sección de Química Analítica (Nº DCF) y la etiqueta de embalaje para traslado a la Sección de Biología Forense (de acuerdo con el SADCF). No es necesario generar una cadena de custodia de entrega de la muestra recolectada, basta con el registro de traslado del SADCF.

## **7.7 Ensayo de Duquenois - Levine Modificado (DLM)**

### **7.7.1 Controles antes de la aplicación de la prueba:**

**7.7.1.1** Realice una vez por semana, preferiblemente en el primer día laboral de la semana, un control positivo del ensayo de Duquenois - Levine modificado, como se indica en 7.7.2, aplique los siguientes pasos, para cada unidad a analizar con la cantidad de muestra indicada para esta prueba en el punto 7.2.3, utilizando material vegetal seco de picadura (primario o secundario, este último puede ser picadura de un patrón secundario). Si el control positivo da resultado negativo, realice la verificación por segunda vez y si continúa dando resultado negativo, deseche el reactivo en la botella de desechos y prepare el reactivo fresco.

**7.7.1.2** Realice todos los días que se aplica la prueba, un control negativo del ensayo de Duquenois - Levine modificado como se indica en 7.7.2, tomando un tubo de ensayo al que no se le añade muestra. Si el control negativo da resultado positivo, considere como sucios todos los tubos de la gradilla utilizada en el primer ensayo, cambie el tubo de ensayo, por uno nuevo pero de otra gradilla y proceda a realizar el control en el tubo nuevo, hasta que los resultados sean consistentes.

**7.7.1.3** Anote los resultados en el formulario de controles positivos y blancos de reactivo para pruebas de color.

### **7.7.2 Aplicación de la prueba:**

**7.7.2.1** Utilice la muestra examinada microscópicamente en el tubo de ensayo, para realizar los siguientes pasos (aplica para plántulas, plantas, hojas, trozos de capullos, o cualquier otro tipo de picadura de material vegetal, resinas, aceites, tinturas y alimentos). En el caso de resinas, aceites y tinturas, tome una pequeña fracción de la muestra bajo ensayo. Cuando la cantidad de muestra es muy pequeña, se realiza la prueba en un tubo tipo Eppendorf, disminuyendo los volúmenes de reactivos empleados.

**Nota No. 16:** Las plántulas (plantas de muy corta edad), tienen muy poca cantidad de cannabinoides, por lo que el color final del ensayo que se realizará puede ser muy tenue (por esto se recomienda el uso del tubo tipo Eppendorf para estos casos).

**Nota No. 17:** Las sumidades floridas tienen un alto contenido de THC. como generalmente las mismas se secan para su distribución ilícita, se incrementa la proporción de THC en el material. Es por esto, que se pueden utilizar pequeños trozos de las mismas o de las hojas, para realizar

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 19 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

la prueba de color o para la extracción rápida que se realiza para el GC/MS (esto no aplica para la extracción QuEChERS del apartado 7.10).

**7.7.2.2 Añada al tubo de ensayo, con el dispensador, cantidad suficiente del reactivo de Duquenois - Levine para humedecer la muestra y un poco más (en algunos casos, basta con aproximadamente 4 gotas).** Agite manualmente de forma vigorosa por aproximadamente 10 segundos (puede utilizarse el *vortex* cuando sea necesario), lo que permite la extracción de los cannabinoides (principalmente THC), generando un color amarillento en el reactivo.

**Nota No. 18:** El líquido puede tomar una apariencia verdosa. Esto es común con material vegetal muy fresco, húmedo (cuando no se ha secado en el proceso de elaboración de la presentación ilícita).

**7.7.2.3** Añada lentamente, disolución de ácido clorhídrico concentrado en una cantidad equivalente a la cantidad del reactivo de DLM agregado. Se observa una coloración azul-púrpura. Si después de la agitación la coloración azul-púrpura es tenue, agregue unas gotas adicionales del reactivo ácido y espere hasta observar un aumento en la intensidad del color.

**7.7.2.4** Agite manualmente para homogeneizar la mezcla de reacción en el tubo.

**7.7.2.5** Añada cloroformo (0,5 mL aproximadamente, o en una cantidad proporcional a los reactivos añadidos anteriormente) y agite vigorosamente de forma manual. La presencia de una coloración violeta púrpura en la parte inferior (fase orgánica o de cloroformo), es característica de un resultado positivo para la prueba de color; la cual indica la posible presencia de *Cannabis Sativa* (ver Anexo Número 06).

**7.7.2.6** Analice los resultados obtenidos de acuerdo a lo indicado en el Apartado 8.

**7.7.2.7** Registre los resultados y cualquier otra observación que considere relevante al realizar la prueba de Duquenois - Levine modificado en el formulario físico impreso o directamente en el SADCF.

**Nota No. 19:** Para las muestras bajo análisis con resultado positivo solamente por ensayo de DLM, tales como tinturas, aceites, pastas o materiales pastosos, debe además realizarse además el sub-apartado 7.10 de ensayo por GC/MS. Sin embargo, ese apartado también aplica para otros materiales que así lo requieran, porque corresponden a materiales vegetales descompuestos, picadura descompuesta o resinas de Hachís parcialmente identificadas, así como en otros objetos que no tienen relación directa aparente con materiales vegetales, en todos estos últimos casos, cuando se presente la ausencia de las características morfológicas microscópicas específicas, es decir cuando ese ensayo indique resultados negativos. En aquellos casos, que sí presenten las características microscópicas relevantes, pero no den positivo el resultado del ensayo de DLM, se debe consultar al personal pericial o incluso al Líder técnico sobre como proceder con ensayos adicionales.

## **7.8 Ensayo contrastado de caracterización (Análisis independiente)**

P-DCF-GCG-JEF-001-R3, Versión 01  
Emitido y Aprobado por Unidad de Gestión de Calidad

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 20 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

Este apartado es aplicado por el perito encargado del caso, solamente sobre cada una de las muestras de testigo de los objetos a los que se le realizó la caracterización morfológica microscópica por parte del personal técnico analista.

### 7.8.1 Revisión de las características microscópicas de tejido foliar seleccionado

7.8.1.1 Aplique los siguientes pasos, para cada muestra contenida en un sobre de testigo que fue generada por el personal técnico analista, preferiblemente en un momento posterior.

**Nota No. 20:** Existen casos particulares, en los que por la naturaleza del material vegetal (estado y cantidad), el personal técnico puede indicarle al personal pericial responsable que realice este análisis en el mismo momento, sobre una muestra directa y no sobre el material del testigo. Esto se permite siempre que se registre la anotación correspondiente por el perito en el SADCF, porque no corresponde a un muestreo independiente de acuerdo con recomendaciones de SWGDRUGS 2019.

7.8.1.2 Coloque directamente la bolsita con la muestra testigo en el estereoscopio. A veces será necesario trasladar la muestra a un plato de pesada o a un tubo de ensayo bajo la lente del estereoscopio.

7.8.1.3 Observe la muestra para determinar si cumple las siguientes características (ver Anexo Número 05):

a) Presencia de tricomas NO glandulares (características específicas relevantes):

**a1- Tricomas cistolíticos:** ubicados principalmente en la cara superior de la hoja (haz), son numerosos, curvos, de ápice delgado, puntiagudo, de base abultada, los cuales tienen forma de "garra de oso" y unos depósitos esferoidales de cristales de carbonato de calcio en su base.

**a2- Tricomas NO cistolíticos:** son "pelos" más largos y afilados en el envés y que carecen de los depósitos de carbonato de calcio en su base.

7.8.1.4 Observe la muestra para determinar si cumple las siguientes características (ver Anexo Número 05):

a) Presencia de tricomas glandulares (características generales complementarias):

**a1- Glándulas sésiles:** son pequeños bulbos casi esféricos, generalmente encontradas en la epidermis inferior de la hoja.

**a2- Tricomas glandulares multicelulares:** tienen forma de tallo largo con cabeza globular; ubicados en los alrededores de las flores femeninas.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 21 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**7.8.1.5 Registre los resultados y cualquier otra observación que considere relevante al realizar el ensayo de análisis independiente de caracterización microscópica en el o en el SADCF.**

**7.8.1.6** Considere como un resultado concordante para la revisión microscópica de la hoja o trozos de hojas u otro material vegetal de origen de la planta *Cannabis Sativa*, la presencia o ausencia de las características específicas relevantes (las del paso 7.8.1.3 y deben observarse ambas de la misma forma que las registró el asistente, aunque esto se haga en material fragmentado, que no permita reconocer el has y el envés). Es decir, ambos deben aparecer registrados como negativos, positivos o como no concluyentes.

**7.8.1.7** Además registre como resultados para la caracterización microscópica complementaria en este caso, la presencia independiente de las características generales complementarias (las del paso 7.8.1.4, las cuales, en este caso cuando existan, no sólo se utilizan para realizar una búsqueda más exhaustiva de las características específicas relevantes, sino que este registro, sirve de soporte adicional en la caracterización realizada con los registros del personal técnico sobre cada una de las unidades. En este caso no hay registro de comparación entre personal técnico y personal pericial, y por lo tanto solo se registra su presencia o ausencia independiente (es decir no hay contraste de registros).

**7.8.1.8** Anote los datos solicitados en el libro de control del equipo (estereoscopio).

**7.8.2 Revisión de las características microscópicas presentes en los frutos o achenios**

**7.8.2.1** Verifique que la muestra testigo debe o no contener semilla como parte del testigo que fue generada por el personal técnico analista, preferiblemente en un momento posterior (Ver nuevamente la Nota No. 20).

**Nota No. 21:** Se deben haber elegido las semillas se encuentren completas o no quebradas principalmente, cuando se tenga que completar un testigo (ver Nota No. 14)

**7.8.2.2** Aplique los siguiente pasos, para cada testigo que debe contener semillas de acuerdo con el paso anterior.

**7.8.2.3** Coloque directamente la bolsita con la muestra el testigo en el estereoscopio. A veces será necesario trasladar la muestra a un plato de pesada o a un tubo de ensayo bajo la lente del estereoscopio.

**7.8.2.4** Observe el testigo para determinar si las semillas incluidas cumplen con la siguientes características (ver Anexo Número 02):

- a) Forma ovoide u ovalada.
- b) Retículo bordeando el segmento mayor en que está dividido (este es la vena o surco

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 22 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

principal).

c) Color amarillo verdoso, café o marrón, con rayas más claras sobre la superficie (las cuales son las venas secundarias).

d) Marcas en forma de "lazos", delimitados por las rayas más oscuras mencionadas anteriormente.

**Nota No. 22:** Cuando inevitablemente las semillas en el testigo se encuentren incompletas o quebradas, solo se pueden registrar que presentan lo indicado en el punto 7.8.2.4 (incisos a, b, c y d), solo cuando se observe todas las características. Por otro lado ausencia de todas esas características se registran como un resultado negativo, mientras que la presencia solamente de algunas de las cuatro características se registra como no concluyente. Aunque los resultados registrados pueden ser no concluyentes, en el análisis independiente deben ser concordantes.

**7.8.2.5** Registre los resultados y cualquier otra observación que considere relevante al realizar el ensayo de análisis independiente de revisión microscópica en el SADCF.

**7.8.2.6** Considere como análisis concordante, cuando se observe la presencia de todas las características indicadas en el punto 7.8.4.2. Esto quiere decir, ambos deben aparecer registrados como negativos, positivos o como no concluyentes. Cuando no existen semillas para realizar el ensayo, simplemente se registra que NO hay semillas.

**7.8.2.7** Anote los datos solicitados en el libro de control del equipo (estereoscopio, cuando aplique).

## **7.9 Extracciones para ensayo fitoquímico instrumental alternativo confirmatorio por cromatografía de gases con detector MS**

Este apartado es aplicado solamente sobre aquellas muestras que presenten o no presenten resultados positivos para alguno de los ensayos anteriores, cuando se requiera cumplir con los requerimientos mínimos para alcanzar una confirmación del contenido de cannabinoides en esa matriz.

### **7.9.1 Extracción directa de Cannabinoides de material vegetal diverso o relacionado**

#### **7.9.1.1 Preparación de control a partir de material de referencia secundario (*C. sativa*):**

**7.9.1.1.1** Aplique los siguientes pasos, para cada unidad de material de referencia a analizar con la cantidad de muestra indicada para esta prueba en el punto 7.2.3, utilizando material de referencia de *Cannabis Sativa* secundario, dentro del tubo tipo Eppendorf rotulado como patrón de extracto THC.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 23 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**Nota No. 23:** Además de THC principalmente, entre otros cannabinoides, este material también contiene CBN y CBD en menor proporción cuando el material vegetal es fresco, entre más antiguo sea el material, se aumenta el CBN y desaparece el THC.

**7.9.1.1.2** Agregue 1,4 mL de etanol.

**7.9.1.1.3** Agite por aproximadamente 2 minutos en un *vortex* (o manualmente) y centrifugue por al menos 2 minutos a 12 800 rpm, esto para sedimentar material insoluble.

**7.9.1.1.4** Filtre si se observan restos en el líquido supernatante con una jeringa y un disco de 0,45 µm; recogiendo en un vial de 1,5 mL y tomar 50 µL y diluir en 1 ml etanol, lo anterior por cuidado del equipo, en caso de un resultado negativo se puede tomar una cantidad mayor a los 50 µL y agregar 100 µL de la disolución madre de docosano (concentración aprox. 500mg/L) coloque en una gradilla para posterior inyección.

**7.9.1.1.5** Aplique el apartado 7.10 para el análisis de las muestras por GC/MS.

**7.9.1.2 Preparación de extractos de tejidos vegetales o materiales relacionados cuestionados, parcialmente identificados:**

**7.9.1.2.1** Aplique los siguiente pasos, para cada unidad a analizar con la cantidad de muestra indicada para esta prueba en el punto 7.2.3, en el tubo tipo Eppendorf de 1,5 mL, etiquetado o rotulado con el número de objeto o el número de caso e indicio.

**7.9.1.2.2** Agregue en el tubo tipo Eppendorf 1,4 mL de etanol.

**7.9.1.2.3** Agite la muestra por aproximadamente 2 minutos en un *vortex* (o manualmente) y centrifugue por al menos 2 minutos a 12 800 rpm, esto para sedimentar material insoluble.

**7.9.1.2.4** Filtre el líquido supernatante, si se observan restos sólidos suspendidos, con una jeringa y un disco de 0,45 µm, recogiendo en un vial de 1,5 mL. Tome 50 µL del líquido (en caso de resultado negativo se puede tomar una cantidad mayor a 50 µL), coloque en otro vial de 1,5 mL y diluya con 1 mL de etanol, finalmente en este vial agregue 100 µL de disolución madre de docosano (aproximadamente 500 mg/L), coloque en una gradilla para posterior inyección.

**7.9.1.2.5** Aplique el apartado 7.10 para el análisis de las muestras por GC/MS.

**Nota No. 24:** Cuando la muestra inyectada está muy concentrada, puede ser necesaria una dilución. Esto puede ocurrir cuando la muestra analizada no corresponde a picadura común, porque corresponde a muestras de mayor contenido de THC, tales como sumidades floridas, resina o aceite. Incluso puede ocurrir lo mismo con un extracto realizado sobre un alimento de acuerdo con el procedimiento QhEChERS que se detalla en el siguiente sub-apartado 7.9.2. En

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 24 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

ambos casos, puede ser necesaria su dilución para no saturar el sistema cromatográfico (o para cumplir con los criterios de aceptación para THC obligatoriamente). Esta dilución, se puede realizar de dos maneras: a- realizando su inyección con un "split" mayor al indicado en el método cromatográfico, y b- realizando una dilución física adicional sobre la muestra preparada en este paso, usando factores de dilución 1/20, 1/50, por ejemplo, u otro.

**7.9.1.2.6** Repita los pasos del 7.9.1.2.1 al 7.9.1.2.4 con un tubo tipo Eppendorf pero sin contenido, para utilizarlo como el blanco negativo (si no se ha preparado un blanco de extracción hasta lo realizado en este punto).

### **7.9.2 Extracción QuEChERS de Cannabinoides de muestras o matrices complejas diversas (diferentes de tejido vegetal o materiales relacionados)**

Para este apartado, utilice la mezcla de sólidos de extracción QuEChERS comercial (ya sea Agilent 5982-5650, Phenomenex EN 15562 o similar). En caso de no contar con la mezcla comercial, consulte el Anexo Número 01, para la preparación de la mezcla de extracción de fase dispersa.

#### **7.9.2.1 Tratamiento previo de las muestras o matrices complejas diversas**

**7.9.2.1.1** Corte la muestra previamente en trozos pequeños u homogenice la misma con una licuadora, cortador u homogenizador (no es necesario para fines cualitativos alcanzar un grado de partición muy fino).

**7.9.2.1.2** Pese aproximadamente 1,00 g ( $\pm$  0,01 g) de la muestra previamente cortada, directamente en un tubo de polipropileno de 50 mL para QuEChERS.

**7.9.2.1.3** Agregue con probeta 10 mL de agua y mezcle en *vórtex* por aproximadamente 15 segundos. Esto tiene por objetivo humedecer la muestra, debido a que lo ideal en las extracciones QuEChERS es que la muestra posea una humedad aproximada de 89%.

#### **7.9.2.2 Extracción por QuEChERS de las muestras complejas diversas homogenizadas**

**7.9.2.2.1** Agregue en cada tubo de extracción de polipropileno de 50 mL con la muestra y realice lo indicado estrictamente en el orden siguiente:

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 25 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

a) 10,00 ml de acetonitrilo (medidos con una micropipeta o con una probeta). Agite vigorosamente por al menos 1 min, por inversión a mano o en un agitador *vórtex*. Al realizar esta operación se debe asegurar que el disolvente humecte e interaccione completamente con la masa de la muestra en el tubo.

b) Una bolsa de la mezcla de sólidos de extracción QuEChERS, ya sea Agilent 5982-5650, Phenomenex EN 15562 o similar; o 4 gramos de mezcla preparada de acuerdo al Anexo Número 01, inciso D.

c) Agite en *vórtex* por 2 min. a 25000 rpm, o bien por inversión a mano. En cualquier caso, se debe asegurar que la disolución humecta e interacciona completamente con la masa de la muestra en el tubo, verificando que se rompa cualquier conglomerado cristalino de las sales agregadas.

**7.9.2.2.2** Centrifugue el tubo de extracción durante al menos 5 min a 4230 rpm y a -20 °C, para lo cual basta con utilizar el módulo 9 de la centrífuga.

**7.9.2.2.3** Deje el extracto en refrigeración por al menos 24 horas para alcanzar la precipitación de grasas. Esto es opcional de acuerdo con el contenido de grasas de la matriz de análisis (consulte con el personal pericial).

**Nota No. 25:** Esta metodología, fue propuesta y desarrollada originalmente por Luis Alonso Navarro Sánchez, con el apoyo y la revisión de Jorge Cartín Elizondo, Hellen Berrocal Campos y Sofía Pérez Rojas, como parte de un proyecto que se propuso para la confirmación de materiales con origen de *Cannabis Sativa*, por medio de GC/MS desde el año 2016. La misma se ha probado en diferentes matrices y se ha notado que algunas matrices no grasosas, pueden evitar este último paso y puede no ser necesario esperar por la precipitación de grasas.

### **7.9.2.3 Limpieza de los extractos realizados en matrices complejas diversas**

**7.9.2.3.1** Utilice por cada extracto en análisis, los tubos con la mezcla de sólidos comercial (Agilent 5982-5122 o similar) y agregue 1,5 mL del extracto sobrenadante de acetonitrilo obtenida luego del paso 7.9.2.2.3. En caso de no contar con la mezcla comercial, consulte la preparación en el Anexo Número 1, inciso E.

**7.9.2.3.2** Agite en *vórtex* por al menos 2 min y centrifugue por 2 min. a 12800 rpm.

**7.9.2.3.3** Retire 1,00 mL del extracto con micropipeta y se coloca en un vial para inyección en el GC/MS luego de agregar 0,100 mL de disolución madre de docosano.

**7.9.2.3.4** Aplique el apartado 7.10 para el análisis de las muestras por GC/MS.

**Nota No. 26:** La metodología anterior, se ha aplicado y se ha mejorado y optimizado desde el año 2018 como una metodología anexa, aplicada a muestras reales de diferentes tipos de matriz (incluso cuando se observan estructuras con restos microscópicos de material vegetal). Por su efectividad demostrada en la mayoría de las muestras aplicadas (por la alta sensibilidad de la técnica instrumental de detección por GC/MS y los estrictos criterios de aceptación preestablecidos), se considera adecuada para la extracción e identificación cualitativa de cannabinoides en matrices diversas.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 26 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

## 7.10 Ensayo fito-químico instrumental alternativo confirmatorio por cromatografía de gases con detector MS

El control se puede preparar, ya sea de acuerdo con el sub-apartado 7.9.1.1 a partir de material secundario, o con el sub-apartado siguiente cuando se utilizan materiales de referencia, ya sean primarios individuales o ya sea en mezcla.

### 7.10.1 Preparación del control de THC o de la mezcla de materiales de referencia (THC, CBN y CBD):

#### 7.10.1.1

Prepare una disolución mezcla de 60 mg/L de THC, 40 µg/mL de CBD y de CBN, diluyendo el material de referencia; y agregando la cantidad suficiente de disolución de ISTD de docosano (ver Anexo Número 01) para que su concentración final sea de 35 mg/L.

**Nota No. 27:** Los materiales de referencia de cannabinoides pueden tener varias presentaciones:

- Materiales de referencia sólidos en presentación individual de THC, CBN y CBD.
- Materiales de referencia en disoluciones de presentación individual de THC, CBN y CBD.
- Mezcla de materiales de referencia en disolución de: THC, CBN y CBD.

Por lo que la preparación puede ser variable de acuerdo con las circunstancias y recursos disponibles.

### 7.10.2 Inyección y lectura del cromatograma de extractos y patrones por GC/MS:

**7.10.2.1** Proceda en términos generales como indica el Procedimiento para el Montaje de Secuencia de Análisis de rutina en GC/MS (Agilent 6890 y 7890). Eso sí, en este caso, para el análisis se utiliza el método denominado: "Escrutinio General de Drogas" (ver las condiciones generales en Anexo Número 07), en cualquiera de los Cromatógrafos de Gases con Detector de Masas Agilent 7890, con automuestreador Agilent serie 7693.

**Nota No. 28:** Se recomienda cambiar el *liner* aproximadamente cada 500 inyecciones y el *septum* aproximadamente cada 300 inyecciones. Revise la jeringa una vez por semana al menos, cambie la jeringa y el disolvente de los viales de lavado cuando corresponda. Al respecto, se debe verificar en cada corrida el nivel del líquido contenido, cuando este nivel se encuentre debajo de la mitad de capacidad, se descarta el disolvente (acetato de etilo), se enjuaga una vez con disolvente nuevo y se cargan hasta su máxima capacidad para utilizarlos hasta la nueva recarga. Estos parámetros dependerán de la demanda de uso que tenga el equipo y de la inspección que realice el usuario del equipo.

**Nota No. 29:** Se debe utilizar como control en la corrida la "Disolución control de THC y otros cannabinoides con ISTD para GC/MS" o el Control MIX indicado en el procedimiento de Escrutinio general, este último si solo se quiere identificar THC en la muestra. Cuando la secuencia tenga muchas muestras, valore inyectar controles de referencia adicionales (a la mitad y/o final de la secuencia). Cada una de las inyecciones debe tener un blanco de solvente adecuado (la mayoría de las veces es acetato de etilo), previo a su inyección. Antes de iniciar la secuencia, asegúrese de que el último método cargado en el equipo sea de descanso o "apagado" (aunque este no se coloque en la secuencia). Esto es necesario, puesto que

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 27 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

generalmente se debe haber corrido el *tuning* con el método de trabajo que se utilizará en la secuencia.

**Nota No. 30:** Se deben colocar primero los blancos instrumentales (viales de 1,5 mL solamente con disolvente de inyección, sin ISTD), luego los viales de controles negativos de extracción, seguidos del vial que corresponde a los materiales de referencia y finalmente las muestras de análisis (en toda secuencia, cuando hay indicios correspondientes a otros tipos de muestras del Escrutinio General de Drogas, estas se colocan antes y las muestras con THC se colocan al final, valorando además si es necesario colocar un método de limpieza luego de cada inyección de muestra, para limpiar el equipo antes de otra inyección).

**7.10.2.2** Revise los resultados obtenidos entregados por el encargado del montaje y re-proceso de las inyecciones en formato pdf con firma digital o impreso físico (en cuyo caso, además se debe escanear el informe firmado en formato pdf para agregar a la documentación del SADCF). Actualmente además, estos resultados pueden ser incorporados por el encargado a la orden de trabajo. El formato de informe actual, permite evaluar los resultados de acuerdo a lo indicado en el Apartado 8 (ver Anexo Número 05), de una forma fácil y directa.

**Nota No. 31:** Además por el mismo formato de informe utilizado actualmente, no es necesario determinar el índice de retención para el THC u otros cannabinoides de la muestra con respecto a los controles del material de referencia (ver Apartado 9).

**7.10.2.3** Registre los resultados en el o en el SADCF y cualquier otra observación que considere relevante al realizar el ensayo por GC/MS (especialmente con relación al método de extracción y las diluciones necesarias).

**Nota No. 32:** El encargado del análisis instrumental debe almacenar los resultados del control en la carpeta digital que corresponda según el método instrumental utilizado, de almacenamiento de *tuning*, blancos de controles y patrones) y cuando no se incorporen directamente los resultados de una orden de trabajo, almacenar los archivos en la siguiente dirección: Z/Peritos/Resultados Instrumentales/MSD.

**7.10.2.4** Anote los datos solicitados en el libro de control del equipo.

**7.10.2.5** Almacene temporalmente los viales y deseche el contenido de los mismos en la botella de desechos, de acuerdo a lo establecido en el apartado 11 de este procedimiento, reiterado en el Procedimiento para el Montaje de Secuencia de Análisis de rutina en GC/MS (Agilent 7890).

## 8. Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados

| No. | Criterio de Aceptación  | Valor límite | Corrección Aplicable |
|-----|---|--------------|----------------------|
| 8.1 | Para el ensayo de caracterización macroscópica y microscópica de la planta, ramas o tallos con hojas, |              |                      |

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 28 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

|     |  |  |   |
|-----|--|--|---|
|     | <p>hojas sueltas, sumidades floridas, picadura en general y/o resinas:</p> <p>a) se deben observar todas las características que son indicadas detalladamente en los puntos 7.3.3, 7.3.5, 7.4.3a y 7.4.3b. Sin embargo se tiene que prestar atención particular a las dos características que se indican en 7.4.3a, para considerar un resultado como positivo. Esto indica la presencia de un producto de C. sativa.</p> <p>b) es suficiente con la ausencia de alguna de las dos características relevantes que se indicaban en 7.4.3a (a1 y a2), se debe registrar el resultado como un negativo.</p> | <p>Presentes en el material, cualesquiera de algunas de las características que se indican en 7.3.3, 7.3.5 y 7.4.3b, pero obligatoriamente las dos características específicas relevantes de 7.4.3.a (a1 y a2), para indicar la posible presencia de un producto de Cannabis Sativa.</p> <p>Ausencia de alguna de las dos características específicas relevantes de 7.4.3.a (a1 y a2).</p> | <p>Solamente para algunos tipos de alimentos, los restos de picadura junto a semillas, en algunas resinas y para todas las tinturas, se permite la ausencia de características morfológicas macroscópicas y además solamente todas las tinturas pueden no poseer incluso las microscópicas. En tales casos, se deben realizar los análisis complementarios.</p> <p>En caso de solamente observar las características de 7.3.3, 7.3.5, así como las denominadas como generales complementarias que se indica en 7.4.3.b, se recomienda realizar la examinación con una búsqueda adicional de las características que son denominadas específicas relevantes y que se indican en 7.4.3.a (a1 y a2). Si el resultado negativo aún persiste repórtelo así pero además ver apartado 8.4*a abajo.</p> |
| 8.2 | <p>Para el ensayo de caracterización macroscópica y microscópica de las semillas que forman parte minoritaria de otro material vegetal principal:</p>  | <p>Semillas completas y</p>  | <p>No aplica</p>  |

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 29 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

|   |   |   |  |
|---|---|---|--|
|   | <p>a) cuando las semillas se encuentran completas, se deben observar todas las características indicadas en el punto 7.5.3 o 7.8.2, para registrar un positivo y la ausencia de alguna de estas como un no concluyente, mientras que la ausencia de todas se registra como un negativo.</p> <p>b) Cuando las semillas que se inspeccionan para un objeto se encuentren quebradas o incluso incompletas, se pueden revisar; siempre que presenten todas las características indicadas en el punto 7.5.3 o 7.8.2, debe registrarse como positivo, pero si no se observa una de las cuatro se registra un no concluyente, mientras que si no se observa ninguna se registra un negativo.</p> | <p>no quebradas. Indica la posible presencia de semillas relacionadas con material de Cannabis Sativa, que se complementa con el ensayo DLM sobre los restos de picadura que generalmente se encuentran junto a las semillas.</p> <p>Semillas incompletas y quebradas, pero con todas las cuatro características.</p> | <p>Cambiar las semillas que se inspeccionan y repetir el ensayo, si esto no es posible registrar el resultado como no concluyente.</p>             |
| <p>Adicion</p> <p>almente, ver Nota No. 33 al pie de este cuadro, en relación con el ensayo identificación y de capacidad germinativa de las semillas trasladadas a la Sección de Biología.</p> |   |   |  |
| <p><b>8.3</b></p>   | <p>Para el ensayo de Duquenois-Levine Modificado (DLM):</p> <p>a) el control positivo de picadura de <i>Cannabis Sativa</i> presenta el color violeta en la capa orgánica inferior de cloroformo (ver Anexo Número 06).</p>   | <p>Color violeta fase orgánica, verifica la presencia de <i>Cannabis Sativa</i> en el material de referencia secundario.</p>  | <p>Si el resultado sobre el control es negativo, repita la prueba con más material, si vuelve a dar negativo, cambie el material de referencia</p> |

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 30 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

|     |   |   |   |
|-----|---|---|---|
|     | <p>b) se considerará un resultado positivo en el material vegetal, cuando se presenta el color violeta (en la capa orgánica inferior de cloroformo), sí no se presenta este color violeta, el resultado es negativo.</p>  | <p>Color violeta fase orgánica, indica la posible presencia de un producto de <i>Cannabis Sativa</i>.</p>   | <p>secundario y si aún así se mantiene el resultado negativo, proceda a cambiar el reactivo de ensayo; si persiste el mismo resultado negativo, reporte lo que corresponda a la Jefatura de Sección o al Líder técnico.</p> <p>Si el resultado sobre una muestra es negativo, repita la prueba con más muestra, si persiste el mismo resultado negativo, repórtelo así pero <b>además ver apartado 8.4 b abajo</b>.</p> |
| 8.4 | <p>Para la combinación/complemento de los resultados de los ensayos de morfología macroscópica y de morfología microscópica con el ensayo de DLM (Duquenois-Levine Modificado):</p> <p>a) se tienen resultados positivos para la morfología macroscópica y para el ensayo de DLM, pero resultados negativos para la morfología microscópica.</p> <p>b) se tienen resultados positivos para la morfología macroscópica y microscópica, pero negativo para el ensayo DLM.</p> <p>c) se tiene resultado positivo para la morfología macroscópica y negativos para la morfología microscópica y para el ensayo DLM.</p> | <p>Microestructuras del tejido vegetal no observables.</p> <p>Muy bajo contenido de cannabinoides o tejido vegetal muy descompuesto.</p> <p>Microestructuras del tejido vegetal no observables y muy bajo contenido de cannabinoides.</p> | <p>Aplicarle a cada una de las unidades con resultado negativo el ensayo GC/MS.</p> <p>Aplicarle a cada una de las unidades con resultado negativo el ensayo GC/MS.</p> <p>Aplicarle a cada una de las unidades con esos dos resultados negativos el ensayo GC/MS.</p>  |

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 31 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

|                   |   |   |  |
|-------------------|---|---|--|
| <p><b>8.5</b></p> | <p>Para considerar un resultado positivo para THC, CBD y/o CBN por GC/MS:</p> <p>a) El control de la secuencia debe presentar pico(s) cromatográficos para los analitos correspondientes. Para esto el tiempo de retención de los controles debe encontrarse dentro de la ventana de detección de <math>\pm 0,25</math> min con respecto al tiempo de retención de este PON.</p> <p>b) El blanco instrumental antes de cada muestra debe dar negativo.</p> <p>c) El tiempo de retención (<math>t_R</math>) o el índice de retención (<math>I_R</math>) de las muestras, no debe variar más de <math>\pm 2</math> % con respecto al obtenido para el pico cromatográfico de THC, CBD y/o CBN en el control positivo (ver Anexo Número 08).</p> | <p>El control de la secuencia debe presentar picos cromatográfico para <i>ISTD</i> (11,56 min), THC (13,36 min), CBD (12,76 min) y CBN (13,81 min), ya sea con materiales de referencia primarios individuales o en mezcla. En materiales secundarios, basta con observar el pico para el <i>ISTD</i> y para el THC (los otros pueden observarse en menor intensidad).</p> <p>El blanco instrumental antes de cada muestra puede presentar una señal residual con altura de pico menor a 3 veces la amplitud del ruido en escala <i>TIC</i>, aplica solamente en la ventana de detección de THC.</p> <p>El índice de retención es variable, pero dentro de una misma corrida no variará en más de un 2%, para las muestras comparadas contra el control de la misma corrida. Pero tienen mayor valor todo criterio de aceptación,</p> | <p>Si el control de corrida de materiales de referencia no presenta el o los pico(s) cromatográficos que corresponde, proceda a concentrarlo y a repetir la secuencia.</p> <p>Si el blanco instrumental antes de cada muestra presenta resultado positivo (altura de pico mayor a 3 veces la amplitud de ruido, iones de identificación y ventana de detección), proceda a preparar otro blanco y a repetir la inyección del vial de la muestra que corresponda.</p> <p>Si no coinciden los <math>t_R</math> o <math>I_R</math>, puede deberse a una diferencia de concentración por lo que en este caso puede ser necesario realizar una dilución de la muestra o el control según corresponda. En la práctica el formato de informe detecta directamente esto, principalmente por el no cumplimiento de los criterios de aceptación de</p> |
|-------------------|---|---|--|

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 32 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

|  |  |   |  |
|--|--|---|--|
|  | <p>d) El espectro de masas para el pico cromatográfico de THC presenta un perfil de fragmentación con los siguientes picos de relación masa/carga (m/z):<br/>55 uma/uca, 67 uma/uca, 69 uma/uca, 77 uma/uca, 79 uma/uca, 91 uma/uca, 95 uma/uca, 105 uma/uca, 107 uma/uca, 115 uma/uca, 128 uma/uca, 141 uma/uca, 147 uma/uca, 174 uma/uca, 175 uma/uca, 187 uma/uca, 193 uma/uca, 199 uma/uca, 201 uma/uca, 217 uma/uca, 231 uma/uca, 232 uma/uca, 243 uma/uca, 258 uma/uca, 271 uma/uca, 272 uma/uca, 299 uma/uca, 300 uma/uca, 314 uma/uca y 315 uma/uca (ver cuadro 3 del apartado 08).</p> <p>e) El espectro de masas para el pico cromatográfico de CBD debe tener un perfil de fragmentación que tenga los siguientes picos de relación masa/carga (m/z):<br/>121 uma/uca, 174 uma/uca, 193 uma/uca, 231 uma/uca, 232 uma/uca, 246 uma/uca y <u>314 uma/uca (ion molecular muy inferior al 10% en la intensidad relativa, (ver cuadro 4 del apartado 08).</u></p> <p>f) El espectro de masas para el pico cromatográfico de CBN debe tener un perfil de fragmentación que tenga los siguientes picos de</p> | <p>con respecto al control cercano a la corrida (ver inciso siguiente).</p> <p>El THC es el único componente activo que se indica como restringido en los productos <i>C. sativa</i>.</p> <p>Se aceptará, de acuerdo con criterios de auditoría de ANAB lo establecido en el apartado 8.7, después de este cuadro y sus Notas.</p> <p>El CBD es uno de los componentes que se puede detectar en los productos de <i>C. sativa</i>, que no es activo ni restringido.</p> <p>Se aceptará, de acuerdo con criterios de auditoría de ANAB lo establecido en el apartado 8.6, después de este cuadro y sus Notas.</p> <p>El CBN es otro de los componentes que se puede detectar en los productos de <i>C. sativa</i>, que no es</p> | <p>la identificación.</p> <p>Si una muestra presenta resultado negativo, repita el ensayo primero con una disolución más concentrada y si se mantiene, repita el extracto con más muestra, si se mantiene negativo reporte el resultado.</p> <p>Si no se cumplen todos los criterios establecidos en 8.7, se debe registrar como <i>identificación insuficiente</i> en el SADCF y como negativo en el dictamen.</p> <p>N/A</p> <p>Si no se cumplen todos los criterios establecidos en 8.6, se debe registrar como <i>identificación insuficiente</i> en el SADCF y como negativo en el dictamen.</p> <p>N/A</p> <p>Si no se cumplen todos los</p> |
|--|--|---|--|

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 33 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

|  |   |   |  |
|--|---|---|--|
|  | relación masa/carga (m/z):<br>223 uma/uca, 238 uma/uca, 295<br>uma/uca, 296 uma/uca y 310<br>uma/uca (ion molecular cercano a<br>10% en intensidad relativa, (ver<br>cuadro 5 del apartado 08). | activo ni restringido.<br><br>Se aceptará, de<br>acuerdo con criterios<br>de auditoría de ANAB<br>lo establecido en el<br>apartado 8.6, después<br>de este cuadro y sus<br>Notas. | criterios establecidos en<br>8.6, se debe registrar como<br><i>identificación insuficiente</i><br>en el SADCF y como<br>negativo en el dictamen. |
|--|---|---|--|

**Nota No. 33:** Los criterios de aceptación y rechazo para el resultado de la prueba de identificación y de germinación en semillas serán definidos por la Sección de Biología Forense.

### 8.6 Criterios de aceptación específicos para la identificación con GC/MS

Todos los criterios de aceptación para identificación de un analito, se establecen con respecto a su comparación con los obtenidos para el material de referencia inyectado como control en la misma secuencia de muestras analizadas (lote o *batch*). Se debe inyectar al menos un control cercano a la secuencia de análisis.

En casos excepcionales (con la aprobación del líder técnico), se aceptará la comparación con respecto a un control inyectado en otra secuencia, siempre que se cumpla que la diferencia en el tiempo entre las inyecciones no sea mayor a 72 horas y el pico base sea el mismo para la muestra y el control. Todos los criterios, aplican para la adquisición en el modo SCAN (Escaneo completo o *Full Scan*):

**8.6.a** Como pre-filtro aceptado, se puede utilizar lo establecido en la validación del 2011 con relación a que el *match* de comparación se recomienda que sea superior a 90% cuando se trabaja cerca del *LOI* (en tal caso la mayoría de los iones que se presentarán adelante se encuentran presentes para el analito correspondiente).

**Nota No. 34:** En la identificación del espectro de masas no se deben definir únicamente criterios basados en la probabilidad o *match* de comparación contra las bibliotecas. Aunque se puede utilizar el *match* de comparación (Cualificador o Qual que reporta una comparación), solo como un filtro preliminar para acotar las posibilidades para una sustancia desconocida o para asegurar una similitud espectral, pero en la identificación de una sustancia se deben aplicar los siguientes criterios para que se considere como resultado positivo.

Para los espectros de masas que se utilicen para una identificación confirmatoria e informe positivo, se debe cumplir:

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 34 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**8.6.a1)** Todos los picos de iones del espectro de THC con abundancia relativa superior a 10% se deben observar en el espectro de la muestra (salvo que otro criterio exija algún pico de ion particular), tal y como se observan en el espectro del control. Los picos con intensidad relativa cercana a 10% o superior para un corte inferior de 50 m/z, son los siguientes:

55, 65, 67, 69, 71, 77, 79, 91, 93, 95, 105, 107, 115, 119, 128, 131, 141, 147, 149, 161, 165, 174, 175, 187, 193, 199, 201, 215, 217, 231, 232, 243, 257, 258, 271, 272, 299, 300, 314 (ion molecular), 315.

Se subrayan los iones con intensidad relativa cercana a 10%, porque pueden NO observarse (ver arriba en Cuadro de criterios de aceptación, el punto **8.5.d**).

**8.6.a2)** Todos los picos de iones del espectro de CBD con abundancia relativa superior a 10% se deben observar en el espectro de la muestra (salvo que otro criterio exija algún pico de ion particular), tal y como se observan en el espectro del control. Los picos con intensidad relativa cercana a 10% o superior para un corte inferior de 50 m/z, son los siguientes:

121, 174, 193, 231, 232, 246, 314 (ion molecular muy inferior al 10% de intensidad relativa).

Nuevamente, se subrayan los iones con intensidad relativa cercana a 10%, porque pueden NO observarse, especialmente el ion en 314 porque como se indica su intensidad es muy inferior a ese valor (ver nuevamente arriba en Cuadro de criterios de aceptación, el punto **8.5.e**).

**8.6.a3)** Todos los picos de iones del espectro de CBN con abundancia relativa superior a 10% se deben observar en el espectro de la muestra (salvo que otro criterio exija algún pico de ion particular), tal y como se observan en el espectro del control. Los picos con intensidad relativa cercana a 10% o superior para un corte inferior de 50 m/z, son los siguientes:

223, 238, 295, 296, 310 (ion molecular).

Nuevamente, se subrayan los iones con intensidad relativa cercana a 10%, porque pueden NO observarse (ver nuevamente arriba en Cuadro de criterios de aceptación, el punto **8.5.f**).

**8.6.b** Todos los espectros de masas que se utilicen para identificación confirmatoria o informe positivo, se considerarán definitivos cuando todos los picos de iones mayores (con intensidades relativas superiores 50% de intensidad relativa) presenten el pico del isotopo <sup>13</sup>C asociado.

**8.6.c** Con respecto a los picos de iones moleculares, se debe cumplir:

**8.6.c1** Para la identificación de THC, se debe observar el pico de ion molecular. El pico de ion molecular para THC es: 314 m/z.

**8.6.c2** Para la identificación de CBD, NO se debe observar el pico de ion molecular obligatoriamente. El pico de ion molecular para CBD es: 314 m/z, pero normalmente no se observará en los análisis de rutina, excepto a concentraciones muy elevadas, pues es un pico de intensidad relativa muy inferior al 10% y este componente es minoritario en los productos de *Cannabis Sativa*.

**8.6.c3** Para la identificación de CBN, se puede NO observar el pico de ion molecular. El pico de ion molecular para CBN es: 310 m/z, pero es posible que no se observe en todos los análisis de

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 35 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

rutina, excepto a concentraciones muy elevadas, pues es un pico de intensidad relativa cercana al 10% y este componente también es minoritario en los productos de *Cannabis Sativa*.

**8.6.d** Para todos los espectros que se utilicen para identificación confirmatoria e informe positivo, se evalúan al menos cuatro picos de iones de diagnóstico. Para estos cuatro picos, se debe cumplir:

**8.6.d1** Los picos del espectro del analito deben encontrarse dentro de  $\pm 0,5$  m/z (o  $\pm 0,5$  Da) de la correspondientes masas de las sustancias utilizadas en el control analizado bajo las mismas condiciones que las muestras, por lo que no se permiten comparar espectros de patrones adquiridos bajo metodologías cromatográficas diferentes o en instrumentos diferentes aunque la metodología sea equivalente.

**8.6.d2** Las ventanas de tolerancia máxima en función de las intensidades de los picos, cumplan con las siguientes características generales:

**Cuadro 2.** Ventanas de Tolerancia Máxima (VTM) en las abundancias relativas para asegurar una confianza apropiada en la identificación de drogas en la Sección de Química Analítica.

| Abundancia relativa en la sustancia de referencia <sup>1</sup><br>(% de pico base <sup>2</sup> ) | Ventana de Tolerancia Máxima en la Abundancia Relativa en la muestra | Ejemplo del criterio                 |   |
|--|--|--------------------------------------|---|
|  |  | Abundancia Relativa (% de pico base) | Ventana de Tolerancia Máxima (% de pico base) |
| 50 – 100   | $\pm 10$   | 70                                   | 60 – 80                                       |
| 35 – 50  | $\pm 8$  | 45                                   | 37 – 53                                       |
| 25 – 35  | $\pm 6$  | 30                                   | 24 – 36                                       |
| 1 – 25   | $\pm 5$ <sup>3,4</sup>   | 15                                   | 10 – 20                                       |

<sup>1</sup> Estos criterios, son los criterios de la Sección de Química Analítica, de acuerdo con la experiencia de los análisis frecuentes. Para el caso particular, se define sobre una disolución de control, mezcla de materiales de referencia, la cual es analizada en el mismo lote de las muestras.

<sup>2</sup> Se debe utilizar como ion base de diagnóstico el pico más abundante observado en el espectro del control, aunque ese no sea coincidente con el pico más abundante en el espectro de la muestra. Todos los porcentajes de los iones de diagnóstico utilizados en la muestra se deben evaluar con respecto a ese ion base del control.

<sup>3</sup> Los picos de iones de diagnóstico se deben detectar en el control y en la muestra con una relación señal/ruido siempre mayor a 3 (S/R>3:1).

<sup>4</sup> La ausencia de algunos picos de iones en el espectro o la presencia de picos de iones adicionales o anómalos en un espectro de una muestra (o del control), puede ser indicativa de varios factores: una señal cromatográfica débil, un mayor ruido químico o instrumental de fondo (por bajo umbral de corte o por baja relación S/R en la adquisición de los datos), o por la co-elución de otras sustancias. Es por todo lo anterior, que para todos los picos cromatográficos, especialmente los de baja intensidad, se debe analizar e interpretar cuidadosamente el espectro de masas.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 36 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

En la identificación de THC, se presentan hasta cinco posibilidades de picos de iones diagnóstico en el **Cuadro 3**. Se recuerda que solamente es necesario utilizar el pico base y tres picos de iones de diagnóstico, siempre que sean seleccionados de entre los cinco picos de iones de diagnóstico posibles en el cuadro referido. En la identificación de CBD, se presentan hasta cinco posibilidades de picos de iones diagnóstico en el **Cuadro 4**. En la identificación de CBN, se presentan hasta cinco posibilidades de picos de iones diagnóstico en el **Cuadro 5**. Solamente es necesario utilizar el pico base y tres picos de iones de diagnóstico (en casos especiales, para CBN se permitirán solo el pico base y dos picos de iones diagnóstico), siempre que sean seleccionados de entre los picos de iones de diagnóstico posibles en los cuadros referidos.

**8.6.e** Para la presencia de picos de iones anómalos (ver nota 4 del pie del **Cuadro 2**), se debe tener presente que:

**8.6.e1** Los picos de iones anómalos que pueden ocurrir sobre los picos de iones moleculares de un analito, deben ser explicados en la documentación o legajo del caso (anotación en la funcionalidad de Registro de Datos y Resultados en el módulo de Análisis Pericial del SADCF). Pueden aparecer reconocerse (dependiendo del umbral de corte o *threshold* y del ruido de fondo del instrumento), los siguientes picos como sangrado del *septum* o la columna; 207, 221, 267, 281, 327, 341, 355, 385, 415 y 429 m/z. Buscar picos de plastificantes (ftalatos; 149 m/z). Todos los picos anteriores con  $\pm 1m/z$  (o  $\pm 1Da$ ).

**8.6.e2** Los picos de iones anómalos que pueden ocurrir por debajo de los picos de iones moleculares, no pueden tener una abundancia relativa mayor al 20 %. Esto es estrictamente necesario para todos los iones que no se encuentran en el espectro del control.

**Cuadro 3.** Picos de iones característicos para evaluación de las Ventanas de Tolerancia Máxima (VTM) en las abundancias relativas, que se pueden seleccionar para asegurar una confianza apropiada en la identificación de THC <sup>1</sup>.

| Descripción Tipo de pico                  | Relación <i>m/z</i><br>( <i>uma / uca</i> ) | Intensidad relativa<br>(%) | VTM<br>(%)     |
|---|---|----------------------------|----------------|
| Pico de ion base 1                        | 299   | 100                        | NA             |
| Pico de ion diagnóstico 2 <sup>2</sup>    | 314   | 82                         | 72 - 92        |
| Pico de ion diagnóstico 3 <sup>2</sup>    | 231   | 82                         | 72 - 92        |
| Pico de ion diagnóstico 4                 | 271   | 50                         | 42 - 58        |
| Pico de ion diagnóstico 5                 | 243   | 34                         | 28 - 40        |
| <b>Pico de ion molecular <sup>3</sup></b> | <b>314</b>                                  | <b>82</b>                  | <b>72 - 92</b> |

<sup>1</sup> Corrida en el método de Escrutinio General en el GC-MS 04, se muestran valores muy puntuales. Esto se debe realizar con el control cercano a secuencia en que se corre la muestra.

<sup>2</sup> Estos iones o picos pueden cambiarse en su orden de intensidad relativa, por aspectos de sensibilidad muy similar y la variabilidad observada experimentalmente.

<sup>3</sup> Este pico se debe observar de forma obligatoria en el espectro para reportar un resultado positivo. Se recomienda consultar lo establecido en **8.7.e1** con relación a picos anómalos sobre el iones molecular, y lo establecido en **8.7.e2** con relación a los picos anómalos debajo del ion molecular, que si pueden aparecer.

**NOTA ADICIONAL:** Todos estos iones o picos aparecen como parte del informe de resultados, el quinto ion puede sustituir a otros por aspectos de sensibilidad y variabilidad, lo importante es utilizar el pico base y tres adicionales de entre estas posibilidades.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 37 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**Cuadro 4.** Picos de iones característicos para evaluación de las Ventanas de Tolerancia Máxima (VTM) en las abundancias relativas, que se pueden seleccionar para asegurar una confianza apropiada en la identificación de CBD <sup>1</sup>.

| Descripción Tipo de pico                 | Relación m/z<br>(uma / uca) | Intensidad relativa<br>(%) | VTM<br>(%)    |
|--|-----------------------------|----------------------------|---------------|
| Pico de ion base 1                       | 231                         | 100                        | NA            |
| Pico de ion diagnóstico 2                | 232                         | 16 <sup>2</sup>            | 11 – 21       |
| Pico de ion diagnóstico 3                | 174                         | 11 <sup>2</sup>            | 5 – 16        |
| Pico de ion diagnóstico 4                | 246                         | 7 <sup>2</sup>             | 2 – 12        |
| Pico de ion diagnóstico 5 <sup>3</sup>   | 314                         | 5 <sup>2</sup>             | 0 – 10        |
| <b>Pico de ion molecular<sup>3</sup></b> | <b>314</b>                  | <b>5<sup>2</sup></b>       | <b>0 – 10</b> |

<sup>1</sup> Corrida en método de Escrutinio General en el GC-MS 04, se muestran valores muy puntuales. Esto se debe realizar con el control cercano a secuencia en que se corre la muestra.

<sup>2</sup> Para estos iones del CBD podría ser crítico lo que se establece para la relación S/R en la Nota 3 de pie del Cuadro 2.

<sup>3</sup> Este pico NO se debe observar obligatoriamente en el espectro para reportar un resultado positivo. Se recomienda consultar lo establecido en 8.7.e1 con relación a picos anómalos que pueden aparecer sobre el ion molecular, y lo establecido en 8.7.e2 con relación a los picos anómalos debajo del ion molecular, que si pueden aparecer.

**NOTA ADICIONAL:** Todos estos iones o picos aparecen como parte del informe de resultados, el quinto ion puede sustituir a otros por aspectos de sensibilidad y variabilidad, lo importante es utilizar el pico base y tres adicionales de entre estas posibilidades.

**Cuadro 5.** Picos de iones característicos para evaluación de las Ventanas de Tolerancia Máxima (VTM) en las abundancias relativas, que se pueden seleccionar para asegurar una confianza apropiada en la identificación de CBN <sup>1</sup>.

| Descripción Tipo de pico                 | Relación m/z<br>(uma / uca) | Intensidad relativa<br>(%) | VTM<br>(%)    |
|--|-----------------------------|----------------------------|---------------|
| Pico de ion base 1                       | 295                         | 100                        | NA            |
| Pico de ion diagnóstico 2                | 296                         | 22 <sup>2</sup>            | 17 - 27       |
| Pico de ion diagnóstico 3                | 238                         | 14 <sup>2</sup>            | 9 - 19        |
| Pico de ion diagnóstico 4 <sup>3</sup>   | 310                         | 10 <sup>2</sup>            | 5 - 15        |
| Pico de ion diagnóstico 5 <sup>3</sup>   | 223                         | 5 <sup>2</sup>             | 0 - 10        |
| <b>Pico de ion molecular<sup>3</sup></b> | <b>310</b>                  | <b>10<sup>2</sup></b>      | <b>5 - 15</b> |

<sup>1</sup> Corrida en el método de Escrutinio General en el GC-MS 04, se muestran valores muy puntuales. Esto se debe realizar con el control cercano a secuencia en que se corre la muestra.

<sup>2</sup> Para estos iones de CBN podría ser crítico lo que se establece para la relación S/R en la Nota 3 de pie del Cuadro 2.

<sup>3</sup> Estos picos se pueden NO observar en el espectro para reportar un resultado positivo. Sin embargo se recomienda consultar lo establecido en 8.7.e1 con relación a picos anómalos que pueden aparecer sobre el ion molecular, y lo establecido en 8.7.e2 con relación a los picos anómalos debajo del ion molecular, que si pueden aparecer.

**NOTA ADICIONAL:** Todos estos iones o picos aparecen como parte del informe de resultados, el quinto ion puede sustituir a otros por aspectos de sensibilidad y variabilidad, lo importante es utilizar el pico base y tres adicionales de entre estas posibilidades (solo en casos excepcionales se permitirá la identificación con el pico base y dos adicionales para el CBN).

**8.6.f** Si el espectro del pico o de los picos cromatográficos de una muestra reúne todos los criterios anteriores, se reporta la sustancia identificada en el dictamen (ya sea THC, CBD y/o CBN). Pero, si los espectros de masas de la muestra no reúnen todos los criterios anteriores, se debe registrar internamente como identificación insuficiente (solo para el registro en la

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 38 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

funcionalidad de Registro de Datos y Resultados en el módulo de Análisis pericial del SADCF formulario de Registro de datos y resultados), porque si este último es el caso, NO se reporta la identificación en el dictamen, en el cual se debe reportar como negativo.

## 9. Cálculos y evaluación de la incertidumbre

### 9.1 Para la determinación o estimación de masa

Seleccione para la determinación de masa, la incertidumbre correspondiente que se encuentra estimada según lo indicado en el PON para la Determinación de la masa de material restringido en objetos relacionados con drogas. Estime la incertidumbre de la estimación de masa neta mínima demostrada, de acuerdo a lo indicado en ese mismo PON, para los indicios con poblaciones mayores a las 10 unidades (ver Nota siguiente).

**Nota No. 35:** La incertidumbre correspondiente al proceso de muestreo, se encuentra en proceso de implementación formal dentro del Sistema de Gestión de Calidad de la Sección de Química Analítica para el momento de esta actualización documental. Cuando esta se autorice formalmente, se deberá utilizar obligatoriamente en los casos de poblaciones mayores a las 10 unidades.

### 9.2 Para los índices de retención de la técnica cromatográfica de GC/MS

#### 9.2.1 Se define el índice de retención o $I_R$ para un analito como:

$$I_R = \frac{t_{XXX}}{t_{STD}}$$

$t_{XXX}$  = tiempo de retención, ya sea del CBD, del THC o del CBN (minutos).

$t_{STD}$  = tiempo de retención del docosano (minutos).

- Cálculo de incertidumbre para el índice de retención o  $I_R$  para GC/MS:

$$I_R = \frac{(t_{THC} \pm 0,038) \text{ min}}{(t_{STD} \pm 0,038) \text{ min}} \quad U(I_R) = 2,00 \sqrt{[(0,019 \text{ min} / t_{XXX})^2 + (0,019 \text{ min} / t_{STD})^2]}$$

En la fórmula anterior, que utiliza el THC como ejemplo ( $t_{THC} = 13,36$  min), una incertidumbre estándar de acuerdo con la validación es de 0,019 min para THC y de 0,019 min para Docosano ( $t_{STD} = 11,56$  min), para los tiempos de retención que fueron indicados por el análisis de las bases de datos con los registros de los picos de cromatogramas de muestras reportadas como positivas, se puede utilizar el mismo estimador de variabilidad de 0,019 min, para el CBD y el CBN). Estos cálculos no se realizan para cada inyección realizada con el método en uso, solamente se incluye el ejemplo anterior, para determinar que la incertidumbre obtenida en la validación, cumple los criterios de aceptación definidos en el apartado 8 con relación al índice de retención. La incertidumbre en este caso para el índice de retención del THC es de solamente 0,0043 UR, lo que representa un 0,37% por ejemplo, mientras que en el apartado 8 se establece una variabilidad aceptable general de hasta un 2% (pero este valor obedece a considerar aspectos de variabilidad mayores incluso a la reproducibilidad de los parámetros).

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 39 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

## 10. Reporte de Análisis y Resultados

**10.1** Para objetos de material vegetal ordinario, en sus formas de picadura dispersa o compacta en apertura (*hemp*, aunque en el análisis microscópico posterior se observe que corresponden a sumidades floridas), para los que se obtiene resultados positivos en los ensayos de morfologías macro y microscópica, así como el ensayo de Duquenois-Levine modificado (DLM), se registra y reporta la presencia de picadura de la planta *Cannabis Sativa*.

Los resultados en el dictamen se redactan de la siguiente forma para indicios u objetos de 10 o menos unidades:

<El/los; *indicar el número de soportes de la población*> <*indicar el tipo de soporte(s)*> recibido(s) contiene(n) en total <*indicar la masa neta total*> gramo(s) de picadura de la planta *Cannabis Sativa*.

Observación: "en total" solamente se utiliza para entre 2 y 10 unidades.

Los resultados en el dictamen se redactan de la siguiente forma para indicios u objetos de más de 10 unidades:

De los <*indicar el número de soportes de la población*> <*indicar el tipo de soportes*>, al menos <*indicar el número de unidades demostradas*> contienen una masa neta estimada de <*indicar la masa neta estimada*> gramo(s) de picadura de la planta *Cannabis Sativa* (con una confianza de 95,XX%). Esto representa una proporción del 75,XX del indicio recibido a partir de una muestra de <*indicar el tamaño de muestra*> unidades.

En ambos resultados de masa (sea neta total o neta estimada), se utilizan las cifras significativas que sean necesarias de acuerdo con la incertidumbre seleccionada o estimada, para expresarlas en singular como gramo (para masas de 1,00 gramo o menores, independientemente del número de cifras decimales en el resultado) o para expresarlas en plural como gramos (para masas mayores a 1,00 gramo, independientemente del número de cifras decimales en el resultado). Para algunos casos de masas mayores a los 1000 gramos se utilizan los decimales necesarios en el resultado, en acuerdo con la selección de cifras significativas finales en función de la incertidumbre estimada (con solamente dos cifras significativas).

**Nota No. 36:** Cuando no todos los ensayos sean consistentemente positivos por *Cannabis Sativa*, ya sea esto para los ensayos complementarios de base (morfologías macro y microscópica, DLM) o el ensayo complementario alternativo (GC/MS), la redacción de resultados implica la re-valoración hipergeométrica de la proporción de la población que se puede justificar como demostrada con esa sustancia restringida para el objeto, pero sin bajar la confianza del 95% como mínima, esto de acuerdo con el PON de muestreo vigente.

**10.2** Para objetos de material vegetal en forma de sumidades floridas como capullos o trozos de capullos con las características estructurales distinguibles desde todos los análisis macroscópicos y microscópicos realizados (esto no aplica para la descripción de apertura), para los que se obtiene resultados positivos en esos ensayos de morfologías, así como el ensayo de

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 40 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

Duquenois-Levine modificado (DLM), se registra y reporta la presencia de capullos de sumidades floridas de la planta *Cannabis Sativa*.

Los resultados en el dictamen se redactan de la siguiente forma para indicios u objetos de 10 o menos unidades:

<El/los; indicar el número de soportes de la población> <indicar el tipo de soporte(s)> recibido(s) contiene(n) en total <indicar la masa neta total> gramo(s) de sumidades floridas de la planta *Cannabis Sativa*.

Observación: "en total" solamente se utiliza para entre 2 y 10 unidades.

#### EN NOTAS

Los capullos de sumidades floridas de la planta *Cannabis Sativa*, son racimos de flores, las cuales aparecen como una masa densa de follaje en la parte más alta de la planta. Varias docenas de capullos pueden crecer en una misma planta y cada una de ellas puede tener varios centímetros de longitud. Las sumidades floridas contienen el porcentaje más alto de THC (tetrahidrocannabinol) en la planta (*Drug Identification Bible*, 2011).

Los resultados en el dictamen se redactan de la siguiente forma para indicios u objetos de más de 10 unidades:

De los <indicar el número de soportes de la población> <indicar el tipo de soportes>, al menos <indicar el número de unidades demostradas> contienen una masa neta estimada de <indicar la masa neta estimada> gramo(s) de sumidades floridas de la planta *Cannabis Sativa* (con una confianza de 95,XX%). Esto representa una proporción del 75,XX del indicio recibido a partir de una muestra de <indicar el tamaño de muestra> unidades.

#### EN NOTAS

Los capullos de sumidades floridas de la planta *Cannabis Sativa*, son racimos de flores, las cuales aparecen como una masa densa de follaje en la parte más alta de la planta. Varias docenas de capullos pueden crecer en una misma planta y cada una de ellas puede tener varios centímetros de longitud. Las sumidades floridas contienen el porcentaje más alto de THC (tetrahidrocannabinol) en la planta (*Drug Identification Bible*, 2011).

En ambos resultados de masa (sea neta total o neta estimada), se utilizan las cifras significativas que sean necesarias de acuerdo con la incertidumbre seleccionada o estimada, para expresarlas en singular como gramo (para masas de 1,00 gramo o menores, independientemente del número de cifras decimales en el resultado) o para expresarlas en plural como gramos (para masas mayores a 1,00 gramo, independientemente del número de cifras decimales en el resultado). Para algunos casos de masas mayores a los 1000 gramos se utilizan los decimales necesarios en el resultado, en acuerdo con la selección de cifras significativas finales en función de la incertidumbre estimada (con solamente dos cifras significativas).

**10.3** Para objetos de material vegetal en forma de hojas o foliólos sueltos, para los que se obtiene resultados positivos en los ensayos de morfologías macro y microscópica, así como el

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 41 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

ensayo de Duquenois-Levine modificado (DLM), se registra y reporta la presencia del material correspondiente de la planta *Cannabis Sativa*.

Los resultados en el dictamen se redactan de la siguiente forma para indicios u objetos de 10 o menos unidades:

*<el/los, la/las; indicar el número de elemento(s) de la población> <indicar el tipo de elemento(s)> recibido/a(s) es/son de la planta Cannabis Sativa.*

Los resultados en el dictamen se redactan de la siguiente forma para indicios u objetos de más de 10 unidades:

*De <los/las; indicar el número de elementos de la población> <indicar el tipo de elementos>, al menos <indicar el número de unidades demostradas> son de la planta Cannabis Sativa (con una confianza de 95,XX%). Esto representa una proporción del 75,XX del indicio recibido a partir de una muestra de <indicar el tamaño de muestra> unidades.*

**10.4** Para objetos de material vegetal en cualquiera de sus otras formas pero con la presencia de hojas (debe observarse tejido foliar obligatoriamente sobre la rama o el tallo), tales como ramas/tallos, plantas o plántulas (estas dos últimas, además con todas las características correspondientes a una planta completa, incluidas sus raíces), para los que se obtiene resultados positivos en los ensayos de morfologías macro y microscópica, así como el ensayo de Duquenois-Levine modificado (DLM), se registra y reporta la presencia del material correspondiente de la planta *Cannabis Sativa*.

Los resultados en el dictamen se redactan de la siguiente forma para indicios u objetos de 10 o menos unidades:

*<el/los, la/las; indicar el número de elemento(s) de la población> <indicar el tipo de elemento(s)> recibido/a(s) es/son de la planta Cannabis Sativa.*

Los resultados en el dictamen se redactan de la siguiente forma para indicios u objetos de más de 10 unidades:

*De <los/las; indicar el número de elementos de la población> <indicar el tipo de elementos>, al menos <indicar el número de unidades demostradas> son de la planta Cannabis Sativa (con una confianza de 95,XX%). Esto representa una proporción del 75,XX del indicio recibido a partir de una muestra de <indicar el tamaño de muestra> unidades.*

**10.5** Para objetos de material vegetal mezclado, que contiene principalmente semillas, pero junta a estas se reciben restos apreciables de picadura sobre los cuales se realizaron los ensayos microscópicos y el ensayo de DLM con resultados positivos, los resultados se redactan de la siguiente forma:

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 42 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

a) En caso de que la masa medida del material vegetal sea menor al valor reportado para la incertidumbre de la balanza:

"En el material vegetal recibido se detectó restos de picadura de la planta Cannabis Sativa."

b) En caso de que la masa medida del material vegetal sea mayor al valor reportado para la incertidumbre de la balanza redacte el resultado como en el punto 10.1.

**Nota No. 37:** Ver diagrama resumen de este apartado en el Anexo 12.

**Nota No. 38:** Si en la Solicitud de Dictamen Pericial F83i se solicita el servicio de identificación de semillas se debe de colocar la nota correspondiente:

"La Sección de Química Analítica no ofrece el servicio de identificación de semillas."

**Nota No. 39:** En el apartado de destino de los indicios del SADCF y el Dictamen Pericial se debe de indicar lo siguiente:

"El/Los ítem(s) generado(s), (cantidad de objetos) se almacenan como testigos en espera de F83 i para ser trasladados a Biología Forense."

**10.6** Para cualquier objeto de material vegetal, para los que se obtiene resultados positivos para los ensayos complementarios de base (morfologías macro y microscópica, así como DLM), así como para los ensayos complementarios alternativos que fueron necesarios (GC/MS), se redactan los resultados de la misma forma correspondiente. Solamente se fortalece el resultado por el nivel confirmatorio del GC/MS como técnica tipo A de acuerdo con SWGDRUG.

**10.7** Para objetos de origen vegetal que se reciben como resinas, para los que se obtienen resultados positivos para el ensayo de morfología microscópica y el ensayo de DLM, se reporta que la resina corresponde con hachís, el cual como todo producto de origen en Cannabis Sativa, contiene THC.

Los resultados en el dictamen se redactan de la siguiente forma:

<El/La; indicar el tipo de soporte> contiene <indicar la masa neta total> gramo(s) de <indicar las características de la resina, por ejemplo, fragmentos color negro>, el cual corresponde con resina de hashis, cuyo origen es la planta Cannabis Sativa.

#### EN NOTAS

1) Todo producto de la planta Cannabis Sativa, contiene en mayor o menor proporción delta-9-tetrahidrocannabinol (THC). Según la literatura consultada, el tetrahidrocannabinol es la principal sustancia con efecto psicoactivo de la planta *Cannabis Sativa* (Drug Identification Bible 2011).

2) La resina separada de la planta, cruda o purificada, es un polvo café o una secreción con apariencia de resina de color negro, conocida en las calles como hachís; sus presentaciones pueden ser polvo fino, polvo fino comprimido, resina prensada o arrollada en forma de losas, barras, esferas y otras (UN 2003).

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 43 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**10.8** Cuando se confirme que un material de origen vegetal pertenece a Cannabis sativa, haga referencia en el resultado e incluya la nota correspondiente que indica su inclusión en los listados en que se indica que el material se encuentra controlado.

**10.9** Para un objeto de origen en material vegetal que corresponde a una muestra de resina, para la que se obtiene resultado negativo para el ensayo de morfología microscópica y resultados positivos para el ensayo de DLM y el ensayo de GC/MS, se fortalece el resultado del dictamen de que la resina corresponde con hachís, pero además se amplía en relación a que, como producto de origen en la planta de *Cannabis Sativa* contiene THC (en las notas del dictamen, incluso se puede ampliar en relación a que contienen los cannabinoides no restringidos, CBD y CBN, cuando estos se detecten y cumplan los criterios de aceptación).

La redacción es muy similar a 10.7, pero la primera Nota ya es parte del resultado:

<El/La; indicar el tipo de soporte> contiene <indicar la masa neta total> gramo(s) de <indicar las características de la resina, por ejemplo, fragmentos de color negro>, en el cual se identificó delta-9-tetrahidrocannabinol (THC).

#### EN NOTAS

La resina separada de la planta, cruda o purificada, es un polvo café o una secreción con apariencia de resina de color negro, conocida en las calles como hachís; sus presentaciones pueden ser polvo fino, polvo fino comprimido, resina prensada o arrollada en forma de losa, barras, esferas y otras (UN 2003).

Cuando en el análisis por GC/MS, además se confirman adicionalmente CBD y/o CBN (porque la combinación de la composición, sensibilidad y cumplimiento de los criterios de aceptación lo permiten), en el apartado de notas del dictamen con la referencia correspondiente se debe incluir lo siguiente:

#### EN NOTAS

Además, en el material se detectaron otros dos cannabinoides, cannabidiol (CBD) y cannabinol (CBN). El Cannabidiol y el Cannabinol no son estupefacientes ni psicotrópicos, por lo que no son sustancias restringidas.

**10.10** Para objetos de origen vegetal que corresponden a muestras de aceites, en las que no se cuenta con resultados para el ensayo de morfología microscópica, y se obtiene resultado positivo para el ensayo de DLM, se debe utilizar obligatoriamente el ensayo de GC/MS para la determinación confirmatoria de THC (ya sea solo) o junto a otros cannabinoides (CBD y CBN, porque la combinación de la composición, sensibilidad y cumplimiento de los criterios de aceptación lo permiten), se reporta que la resina corresponde con hachís, la cual como producto de *Cannabis Sativa* contiene THC. La redacción es la siguiente para la identificación de THC:

<El/La; indicar el tipo de soporte> contiene <indicar el volumen fluido/la masa neta> mililitro(s)/gramo(s) de <indicar las características del aceite, por ejemplo, líquido color miel o caramelo>, en el cual se identificó delta-9-tetrahidrocannabinol (THC).

#### EN NOTAS

El aceite de Cannabis Sativa o aceite de marihuana, consiste de un líquido viscoso y

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 44 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

oscuro obtenido por extracción repetida, ya sea de las plantas o de las resinas de la planta; suele contener un aceite vegetal como soporte del psicoactivo.

Mientras que cuando se confirman adicionalmente CBD y/o CBN, en el apartado de notas del dictamen con la referencia correspondiente se puede incluir lo siguiente:

#### EN NOTAS

Además, en el material se detectaron otros dos cannabinoides, cannabidiol (CBD) y cannabinol (CBN). El Cannabidiol y el Cannabinol no son estupefacientes ni psicotrópicos, por lo que no son sustancias restringidas.

**10.11** Para objetos que corresponden a muestras, ya sea de tinturas, pastas, materiales pastosos, geles o incluso de alimentos en los que se cuestiona la presencia de THC, en todos los casos porque no se observaron restos vegetales para realizar ensayos morfológicos (por lo tanto sin estructuras vegetales macro o microscópicas observables), con o sin resultado positivo para el ensayo de DLM, pero con resultado positivo para el ensayo de GC/MS para la determinación confirmatoria de THC, la redacción es la siguiente:

<El/La; indicar el tipo de soporte> contiene <indicar la masa neta/el volumen fluido> mililitro(s)/gramo(s) de <indicar las características del alimento o el líquido, por ejemplo, líquido color amarillo>, en el cual se identificó delta-9-tetrahidrocannabinol (THC).

Mientras que cuando se confirman adicionalmente CBD y/o CBN, en el apartado de notas del dictamen con la referencia correspondiente se puede incluir lo siguiente:

#### EN NOTAS

Además, en el material se detectaron otros dos cannabinoides, cannabidiol (CBD) y cannabinol (CBN). El Cannabidiol y el Cannabinol no son estupefacientes ni psicotrópicos, por lo que no son sustancias restringidas.

**10.12** Cuando se confirme que algún material de origen vegetal o no relacionado con materiales vegetales, contienen THC u otros cannabinoides, haga referencia en el resultado e incluya las notas correspondientes, que indican su inclusión o exclusión de los listados relacionados con materiales o sustancias controladas.

Para todos los materiales de origen vegetal en los que el escrutinio resulte negativo por THC, pero se detecte algún otro cannabinoide o cannabinoides, es necesaria la referencia y la nota, con la indicación de que el cannabinoide adicional (CBD o CBN) o los cannabinoides adicionales (CBD y CBN), no es controlado o no son controlados, respectivamente.

**10.14** Para objetos que resultan negativos todos los ensayos de morfologías macro y micro, así como resultados negativos para todos los ensayos de DLM (o incluso resultados negativos para los ensayos complementarios, alternativos confirmatorios de GC/MS), se registran internamente como Negativo, en todos los ensayos que se hayan realizado (adicionalmente cuando se haya realizado el ensayo de GC/MS, en este grupo se registra como "No se detecta").

El resultado en el dictamen se redacta de la siguiente forma:

En la muestra de <indicar el tamaño de muestra> unidades, no se detectó ni se identificó la

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 45 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

presencia de materiales con origen en la planta de Cannabis Sativa. El indicio se compone de <indicar el tamaño de la población> <indicar el tipo de soporte>, pero los resultados corresponde a la muestra de análisis.

Claro está que lo anterior aplica, a menos que en el material se apliquen otros métodos de escrutinio y confirmación generales, en cuyo caso el resultado se redacta bajo los términos correspondientes de esos procedimientos y cuando es un resultado negativo también en estos análisis el resultado tiene mayor potencia analítica (por esto se subraya la última parte de la redacción del resultado).

**10.15** Para cuando se reciben solo tallos o ramas sin tejido foliar o solamente raíces, se registra como material insuficiente en los formularios internos de análisis y se informa que no se realizaron pruebas y el resultado se redacta de la siguiente forma:

En <los tallos, ramas y/o raíces>, no se detectó ni se identificó la presencia de tejido foliar que permitiera realizar las pruebas respectivas para la identificación de material restringido.

**10.16** Para todos los materiales, si se obtiene resultados negativos, para los ensayos de base complementarios, porque no se cumplen todos los criterios de aceptación en la evaluación de los resultados, se registra como identificación insuficiente en los formularios internos y se informa que no se detectó la presencia de *Cannabis Sativa* y el resultado se redacta de la siguiente forma:

En el material recibido o contenido en el(los) envoltorio(s) recibido(s) no se detectó ni se identificó la presencia de *Cannabis Sativa*.

**10.17** Para todos los materiales, con resultados negativos para los ensayos de base complementarios y también con resultados negativos para los ensayos de GC/MS, porque no se cumplen todos los criterios de aceptación en la evaluación de los espectros de masas, se registra como identificación insuficiente en los formularios internos y se informa que no se detectó la presencia de *Cannabis Sativa* y el resultado se redacta de la siguiente forma:

En el material recibido o contenido en el(los) envoltorio(s) recibido(s) no se detectó ni se identificó la presencia de componentes propios de *Cannabis Sativa*.

## 11. Medidas de seguridad

**11.1** Es obligatorio la utilización de gabacha y guantes descartables durante la realización de los análisis. El uso de gabacha aplica para el trabajo en el laboratorio de la unidad de drogas en el DCF.

**11.2** Además utilice lentes de seguridad y mascarilla, o trabaje las pruebas de color, las preparaciones de reactivos, las disoluciones de muestra, en capilla de extracción (con la pantalla a la altura de los hombros). Se debe utilizar lentes de seguridad en la manipulación del tejido vegetal (plantas) como precaución.

**11.3** El llenado de los dispensadores de reactivos de ensayo: de Duquenois-Levine modificado, de ácido clorhídrico concentrado y de cloroformo debe realizarse en la campana de extracción de gases utilizando gabacha, lentes de seguridad y guantes desechables.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 46 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**11.4** En caso de que el ácido clorhídrico, el reactivo de Duquenois-Levine o el cloroformo entren en contacto con el individuo:

- Quite inmediatamente la ropa contaminada y lave el área de contacto inmediatamente con agua abundante.
- En caso de contacto con la piel y/o ojos, lave inmediatamente con agua abundante y busque ayuda médica. Para el caso de los ojos se deben lavar con agua como mínimo durante 15 minutos.

**11.5** La preparación del reactivo de Duquenois-Levine modificado (DLM), debe realizarse en la campana de extracción de gases utilizando gabacha, guantes desechables y lentes de seguridad.

**11.6** Con frecuencia se reciben plantas embaladas en bolsas plásticas que conservan la humedad de las mismas, generando las condiciones adecuadas para la descomposición de la materia orgánica y para el crecimiento de hongos e insectos dentro de la muestra. Es común que la apertura del embalaje de muestras secas, provoque el desprendimiento de polvos. Por lo anterior debe utilizarse gabacha, lentes (como precaución) y guantes, además en el caso particular de alergias respiratorias se recomienda el uso de mascarillas durante la realización de los análisis.

## 12. Simbología

*ANAB:* ANSI-ASQ National Accreditation Board

*ANSI:* American National Standards Institute

*ASQ:* American Society for Quality

*CAL:* Nomenclatura para el Aseguramiento de la Calidad.

**CBD:** **Cannabidiol.**

**CBN:** **Cannabinol.**

*° C:* Grado Celsius.

*C18:* Fase de octadecilo.

**DCF:** **Departamento de Ciencias Forenses.**

*DLM:* Duquenois - Levine modificado.

*GC/MS:* Se refiere a la técnica Cromatografía de Gases con Detector de Espectrometría de Masas de Impacto Electrónico o al instrumento.

*I<sub>R</sub>:* Índice de retención, relación entre tiempo de analito y tiempo de retención de estándar interno.

*IS:* Índice de similitud de la correspondencia espectral en análisis de GC/MS, también se denomina Calificador (ver Qual).

*ISTD:* Estándar Interno (Docosano para ensayo de GC-MS).

*m/z:* Razón particular de masa a carga de un ión, en unidades de uma/uca.

*LOD:* Límite de detección

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 47 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

|                  |  |
|------------------|--|
| LOI:             | Límite de identificación   |
| N/A:             | <b>No aplica.</b>  |
| NIST:            | <i>National Institute of Standard and Technology.</i>  |
| PON:             | <b>Procedimiento de Operación Normado.</b>   |
| PSA:             | Fase de amina primaria o secundaria.   |
| Qual:            | Calificador de la correspondencia o similitud espectral en análisis de GC/MS (ver IS).                   |
| SADCF:           | Sistema Automatizado del Departamento de Ciencias Forenses   |
| Scan:            | Modo de adquisición de barrido continuo del espectro de masas en el detector de Espectrometría de Masas. |
| SCD:             | Solicitud de cambio documental.  |
| SGC:             | <b>Sistema de Gestión de la Calidad.</b>   |
| SWGDRUGS:        | <i>Scientific Working Group For The Analysis Of Seized Drugs.</i>  |
| S/R:             | <b>Relación señal (S) sobre ruido (R)</b>  |
| THC:             | <b>Tetrahidrocannabinol</b> ( $\Delta^9$ -THC o $\Delta^1$ -THC).  |
| TIC:             | <i>Total Ion Counter.</i>  |
| t <sub>R</sub> : | Tiempo de retención de los picos en el cromatograma.   |
| U(X):            | Incertidumbre expandida del parámetro o variable IR  |
| uca:             | Unidad de carga atómica.   |
| UGC:             | <b>Unidad de Gestión de la Calidad.</b>  |
| UHP:             | <i>Ultra High Purity</i> , ultra alta pureza.  |
| uma:             | Unidad de masa atómica.  |
| VTM:             | Ventanas de Tolerancia Máxima.   |

### 13. Terminología

|                  |   |
|------------------|---|
| Ápice            | : <b>Extremo superior o punta de algo.</b>  |
| Aquenio          | : Fruto de la planta, que para efectos de este PON se denominarán como "semillas".  |
| Brácteas         | : Hojas pequeña que nace del pedúnculo de las flores de ciertas plantas, situada entre las hojas normales y las hojas florales. Las brácteas son hojas de menor consistencia. |
| <i>C. sativa</i> | : Cannabis sativa. Pero como existen especies de <i>Cannabis indica</i> y <i>Cannabis ruderalis</i> , siempre se mencionan como Cannabis de forma general.                    |
| Cannabinoides    | : Derivados de las benzopironas. Nombre general para una familia de compuestos que se encuentran en las plantas de especie de <i>Cannabis Sativa</i> .                        |

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 48 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

- Caracterización : Revisión de las características indicadas, para el registro cuando son observadas, las cuales permiten un soporte analítico de mayor potencia a los resultados; que para efectos de este procedimiento, aplica para las semillas y para los tricomas glandulares.
- Glándulas sésiles : Son micro-estructuras en forma de pequeños bulbos casi esféricos, generalmente encontrados en la epidermis inferior de la hoja (envés).
- Hachís : Secreción resinosa seca extraída de la planta *C. sativa*, su color puede ser castaño claro, verde, pardo oscuro o negro.
- Hachís líquido o aceite de marihuana : Consiste del líquido viscoso y oscuro obtenido por extracción repetida de la planta o de la resina de la planta; suele contener un aceite vegetal.
- Hoja compuesta : Hoja dividida en dos ó más folíolos o segmentos individuales.
- Hojuelas ó folíolo : Segmento individual de una hoja compuesta.
- Morfología macroscópica : Ciencia biológica que trata de la forma de los seres orgánicos y de las modificaciones que experimentan por observación a simple vista sin ayuda del microscopio. En este procedimiento, además se refiere a la simple apreciación de ciertas características de forma, observables por los analistas con relación a la presentación de los materiales bajo examinación.
- Morfología microscópica : Ciencia biológica que trata de la forma de los seres orgánicos y de las modificaciones que experimentan por observación con ayuda del microscopio.
- Picadura de marihuana : Se entenderá por picadura de marihuana, a un conjunto de pequeños fragmentos principalmente de hojas, el cual también puede contener semillas y trozos de tallos pero en menor cantidad.
- Pistilos y anteras : Partes de los órganos reproductores de las flores femeninas.
- Planta : Se entenderá por planta aquel material vegetal constituido por la raíz, tallos y hojas (todos juntos en cada espécimen). Por ejemplo, para efectos de este PON, cuando el material vegetal no presenta raíces, se considerará como ramas, si además, el material no presenta hojas, se debe considerar como tallos o como raíz según corresponda.
- Sumidades floridas : Las sumidades floridas corresponden a la parte superior de la planta (ápice), la cual es la parte floreciente de la planta y presenta las siguientes características cuando es femenina (la más comúnmente recibida en la Sección):
- a) hojas de diferentes tamaños, algunas de las cuales son pequeñas y cercanas al tallo. En general se observan pequeños tallos casi totalmente cubiertos de hojas.
  - b) estructuras de flores o inflorescencias (pistilos y anteras, de

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 49 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

colores desde amarillos, verdes, cafés y hasta rojizos).

c) presencia o ausencia de "semillas" entre las estructuras floridas (frutos ovoides o aquenios).

Cuando las sumidades floridas no se encuentran directamente en la planta se denominan como "capullos", en tal caso el material suele estar seco y por lo general las estructuras cortadas tienen longitudes menores a los 15 cm, pero con gran cantidad de las estructuras del inciso b.

- Tetrahidrocannabinol (THC) : Cannabinoide al que se le atribuye la actividad psicoactiva de la *Cannabis Sativa*. En realidad THC es la forma resumida de referirse al  $\Delta 9$ -THC o como  $\Delta 1$ -THC. El  $\Delta$  y su número indican la posición de un doble enlace dentro de la estructura. La numeración diferente, obedece a sistemas de numeración diferentes, ya sea cuando la molécula de THC se considera como derivado de cannabinoide ( $\Delta 9$ -THC) o se considera como derivado de terpenoide ( $\Delta 1$ -THC).
- Tricomas cistolíticos : Son micro-estructuras ubicadas principalmente en la cara superior de la hoja (haz), son numerosos, unicelulares, rígidos, curvos, de ápice delgado, puntiagudo, de base abultada, los cuales tienen forma de "garra de oso" y unos depósitos esféricos de cristales de carbonato de calcio en su base. Se pueden observar en el borde de las hojas (aunque se pueden observar sobre las "venas" de la hoja)
- Tricomas glandulares multicelulares : Son micro-estructuras que tienen forma de tallo largo con cabeza globular; ubicados en los alrededores de las flores femeninas.
- Tricomas NO cistolíticos : Son micro-estructuras en forma de "pelillos" más largos y afilados en el envés y que carecen de depósitos de carbonato de calcio, principalmente en la parte inferior (envés).

#### 14. ANEXOS:

| No. de Anexo | Nombre del Anexo   |
|--------------|--|
| 01           | Preparación de Reactivos.  |
| 02           | Registro fotográfico de semillas, una hoja y una plántula de Marihuana.  |
| 03           | Características macroscópicas de sumidades floridas de <i>Cannabis Sativa</i> .<br>(en la planta, como capullos y como picadura) |
| 04           | Ejemplos de aceites y resina de <i>Cannabis sativa</i> .   |
| 05           | Características microscópicas de la planta <i>Cannabis sativa</i> .  |

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 50 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

- 06 : Prueba de color DLM para *Cannabis sativa*.
- 07 : Condiciones del método "ESCRUTINIO GENERAL" para la determinación de cannabinoides por GC/MS (adicional alternativo).
- 08 : Cromatogramas de gases para blanco de extracción y muestra con CBD, THC (principalmente) y CBN por MS (extracto de alimento con QuEChERS).
- 09 : Espectro de masas e iones de diagnóstico para THC.
- 10 : Espectro de masas e iones de diagnóstico para CBD.
- 11 : Espectro de masas e iones de diagnóstico para CBN.
- 12 : Diagrama resumido de los apartados 7.6 y 10.5
- 13 : [Preparación de Testigos](#)

COPIA NO CONTROLADA

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 51 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

## Anexo Número 01

### Preparación de Reactivos

#### A - Preparación del Reactivo de Duquenois-Levine modificado

Disuelva 2,5 mL de acetaldehído calidad reactivo y 2,0 g de vainillina calidad reactivo en 100 mL de etanol al 95 %. Almacene en un lugar fresco y oscuro, dentro de un dispensador y deseche después de seis meses o si toma un acentuado color amarillo.

#### B - Preparación de la disolución de docosano madre

Pese aproximadamente pero exactamente 0,0500 g del reactivo de docosano en balón aforado de 100 mL. Disuelva el docosano sólido totalmente, primero por agitación manual con 10 mL de cloroformo y finalmente afores con la cantidad suficiente de acetato de etilo. Agite para homogeneizar. Se obtiene una concentración aproximada de 500 mg/L dependiendo de la masa y la pureza del reactivo. Esta disolución es la que se agrega directamente en la cantidad señalada o necesaria a las muestras o controles.

#### C - Secado del $MgSO_4$ (cuando no hay reactivo anhidro)

NOTA: Este procedimiento solo es necesario cuando no se tiene mezcla comercial para la realización de la extracción.

Tome aproximadamente 5 g del reactivo y colóquelo en una cápsula de porcelana, tápe la cápsula con papel aluminio y colóquela durante 3 horas a 500 °C en una mufla (o a 250 °C por 5 horas en una estufa).

#### D - Preparación de la mezcla de extracción de fase dispersa

NOTA: Este procedimiento solo es necesario cuando no se tiene mezcla de sólidos de extracción QuEChERS comercial para la realización de la extracción (ya sea Agilent 5982-5650 o Phenomenex EN15562).

En los tubos de plástico de 50 mL, pese o agregue 4 gramos de mezcla previamente preparada con la siguiente composición: 4,0 g de  $MgSO_4$  anhidro o secado como se indica en el inciso C anterior, 1,0 g de Cloruro de Sodio, 1,0 g de dihidrato de citrato tribásico de sodio y 0,5 g de sesquihidrato de citrato dibásico de sodio. Se debe procurar preparar esto en el momento que se pretende utilizar, aunque se puede almacenar por tiempos cortos.

#### E - Preparación de la mezcla de limpieza de fase dispersa

En tubos de plástico de 2 mL, pese previamente 50 mg de C18, 50 mg de PSA y 150 mg de  $MgSO_4$  anhidro o secado como se indica en el inciso C anterior.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 52 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**Anexo Número 02**

**Registro fotográfico de semillas, una hoja adulta y una plántula de Marihuana**



**Figura 1. Semillas de *Cannabis Sativa*.**

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 53 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |



Figura 2. Hoja de *Cannabis sativa*.



Figura 3. Plántulas de *Cannabis sativa*.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 54 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

### Anexo Número 03

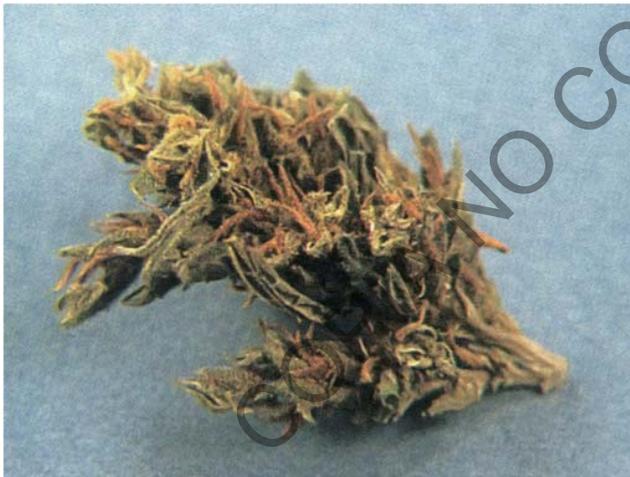
**Características macroscópicas de las sumidades floridas de *Cannabis Sativa*  
(en la planta, como capullos y como picadura)**



**Figura 4. Sumidades floridas en la planta.**



**Figura 5. Sumidades floridas cortadas**



**a) trozo de capullo cortado**



**b) picadura de sumidades floridas**

**Figura 6. Trozos de sumidades floridas.**

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 55 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

#### Anexo Número 04

#### Ejemplos de aceites y resina de *Cannabis Sativa*



**Figura 7.** Aceite de *Cannabis Sativa* (color miel).



**Figura 8.** Aceite de *Cannabis Sativa* (color negro).

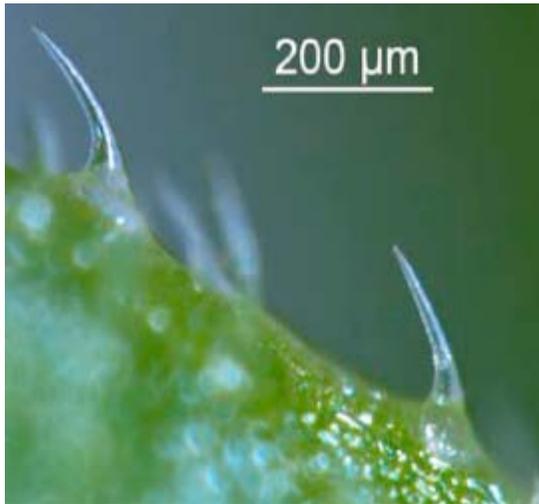


**Figura 9.** Resina de *Cannabis Sativa* (Hachís).

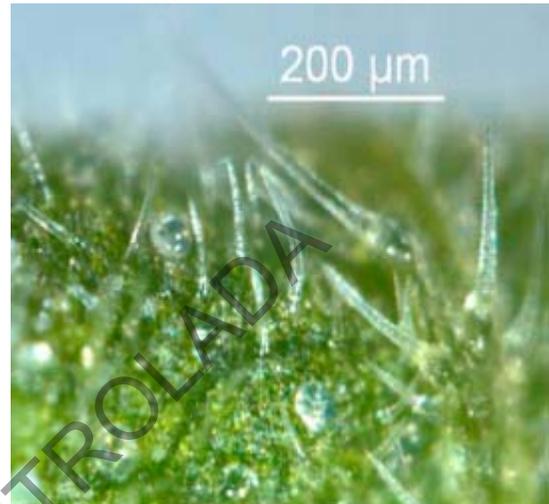
|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 56 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**Anexo Número 05**

**Características microscópicas de la planta *Cannabis Sativa***

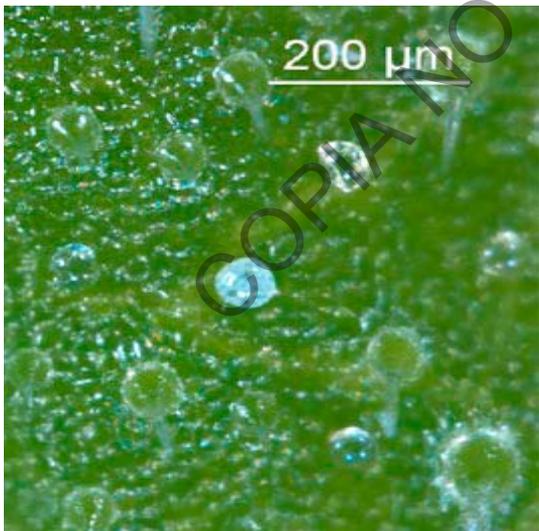


**(A) Tricomas cistolíticos**



**(B) Tricomas NO cistolíticos**

**Figura 10. Tricomas NO glandulares**



**(A) Glándulas sésiles**



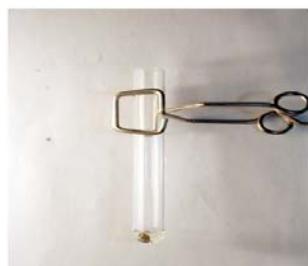
**(B) Tricomas glandulares multicelulares**

**Figura 11. Tricomas glandulares.**

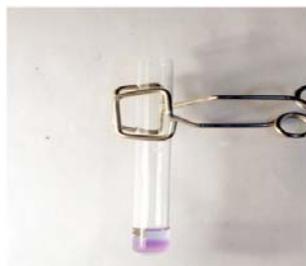
|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 57 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

### Anexo Número 06

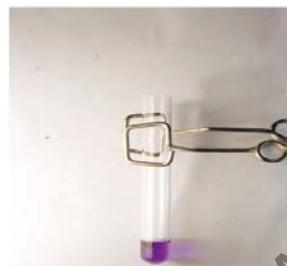
#### Prueba de color DLM para *Cannabis Sativa*



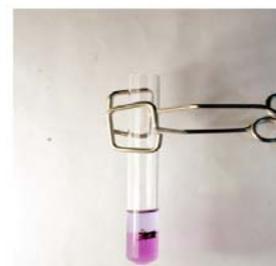
Adición del reactivo de extracción



Adición del ácido clorhídrico



Generación del color por agitación



Adición del solvente orgánico

Etapa única\*:  
Color fase orgánica  
violeta: fase inferior.

**Figura 12.** Pasos de la prueba de Duquenois - Levine modificado (DLM) y resultado final.

Se indica que los volúmenes mostrados en los diferentes pasos de la prueba que se presentan en las fotografías de la figura, no corresponden a los necesarios, solamente se utilizan para claridad de la figura.

\* En algunas pruebas el resultado final puede presentar en la fase acuosa una coloración azul púrpura u oscura (exceso de cannabinoides), verde o amarilla (exceso de clorofila o carotenoides) o del todo no tener coloración alguna, el último caso, es el que se indica en el procedimiento.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 58 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

## Anexo Número 07

### Condiciones del método "ESCRUTINIO GENERAL" para la determinación de cannabinoides por GC/MS (adicional alternativo)

**A** - Nombre y ubicación del método:

C:\MSDCHEM\1\METHODS\ESCRUTINIO GENERAL.M

**B** - Condiciones del inyector:

- Modo: Split
- Volumen de inyección: 1,00 µL
- Temperatura inicial: 250 °C
- Presión: 12,69 psi (ON)
- Flujo total: 17,575mL/min
- Relación de Split: 10:1 (puede ser mayor para muestras concentradas siempre con autorización del Líder Técnico, sin alterar el resultado cromatográfico)
- Ahorro de gas: off
- Tipo de gas: Helio UAP.

**C** - Condiciones del horno:

- Temperatura inicial: 75°C; 2,00 min permanencia
- Programación de temperatura: rampa 20 °C / min, hasta 270 °C
- Temperatura final: 270 °C; 5,00 min permanencia
- Tiempo de corrida: 33,00 min

**D** - Columna capilar:

- Fase enlazada: HP-5MS, 0,25 mm \* 30 m \* 0,25 µm, Agilent 19091S-433HP-5MS
- Flujo inicial nominal: 1,325 mL/min
- Presión inicial: 12,69 psi
- Velocidad promedio: 42,45 cm/s

**E** - Detector:

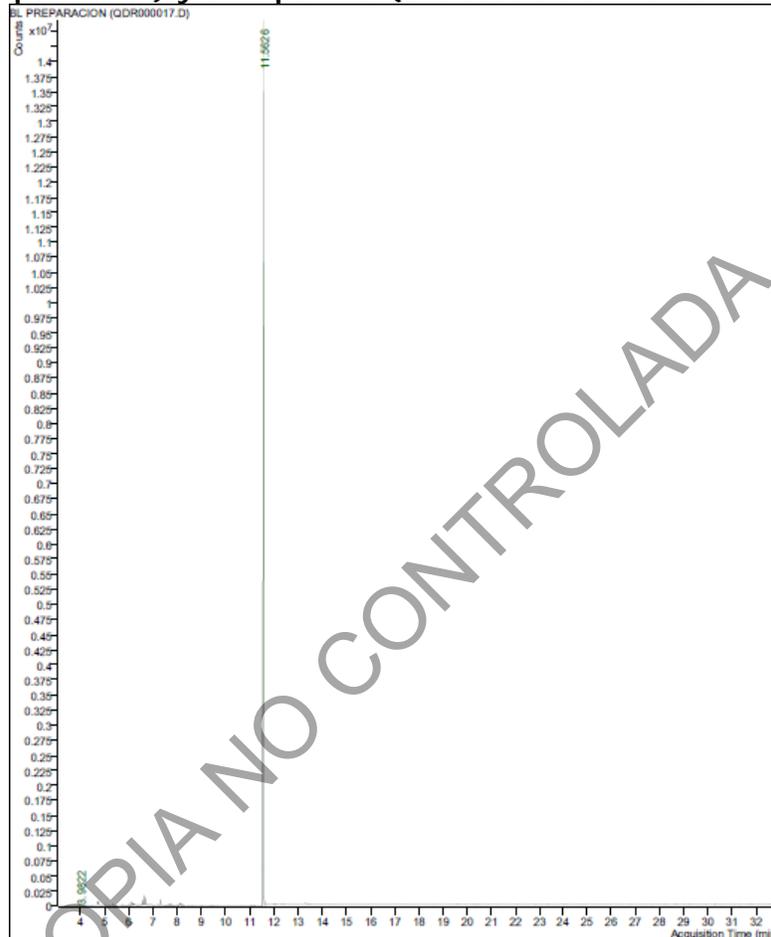
- Retraso de disolvente: 3,00 min
- Factor de ganancia: 1,00
- Voltaje EM resultante: según archivo de sintonización "atune.u"
- Rango de detección de masa: 39 uma - 650 uma
- Umbral: 100-500 (según sea necesario)
- Temperatura de cuadrupolo MS: 150 °C
- Temperatura de fuente MS: 230 °C

Una impresión del método en el GC-MS 04 se encuentra adjunta en el AMPO digital del informe de validación 010-QUI-VAL-2019. En este PON se presentan parámetros de validación con respecto a este método, obtenidos por ANS y BGG (incluidos en informe de validación del 2019 mencionado). Los cromatogramas presentados en este PON (siguiente Anexo), corresponden a resultados obtenidos con este método para el análisis de un elemento de alimentos al cual se le aplicó la extracción con QuEChERS.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 59 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

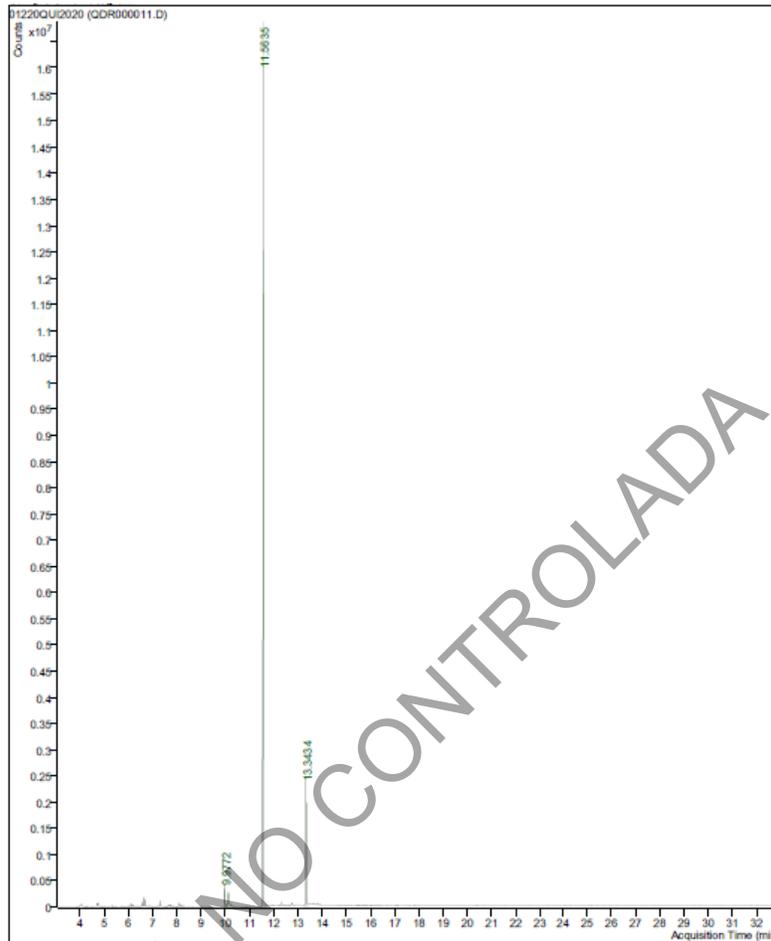
### Anexo Número 08

Cromatogramas de gases para blanco de extracción y muestra con CBD, THC (principalmente) y CBN por MS (extracto de alimento con QuEChERS).



**Figura 13.** Cromatograma de TIC para blanco de extracción con QuEChERS, el pico observado corresponde al *ISTD* (Docosano, 11,26 min) y casi no se observa ruido químico por los componentes de la extracción y limpieza.

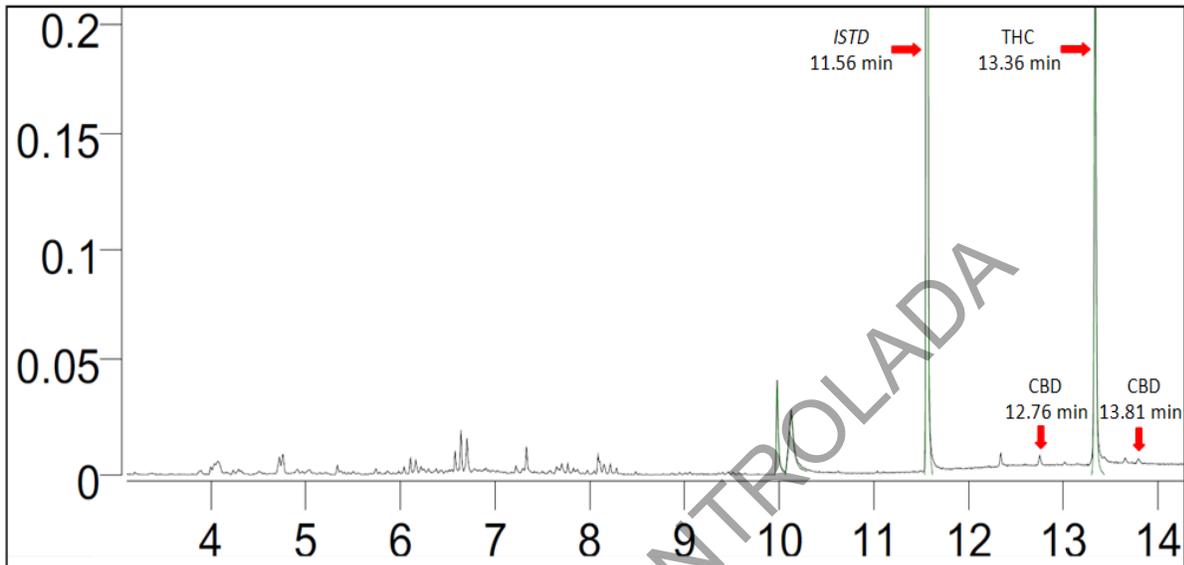
|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 60 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |



**Figura 14.** Cromatograma de TIC para muestra de alimento extraída con QuEChERS, en el que se muestran los picos principales del ISTD (Docosano) y THC.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 61 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

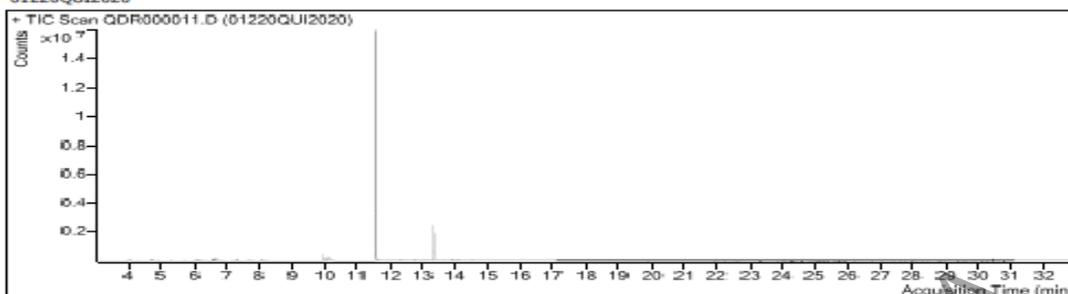
Para apreciarlos picos de CBD y CBN, ver la siguiente figura



**Figura 15.** Ampliación del cromatograma de la Figura 14, para muestra de alimento extraída con QuEChERS, en la que se señalan los picos principales del ISTD (Docosano) y THC; pero además se detallan los picos de CBD y CBN (se recuerda que los productos naturales de *Cannabis Sativa*, contienen una mayor proporción de THC que de CBD y CBN).

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 62 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**Instrumento** GCMS04      **File** QDR00011.D  
**Muestra** 01220QUI2020      **Tipo** Sample  
**Objeto** 3300020832020      **Metodo** Escrutinio General de drogas  
**Vial** 5      **Fecha y hora** 2020-03-26 20:53  
**Vol inyección** 1      **Operador** GCMS04-HP/IBGG  
01220QUI2020



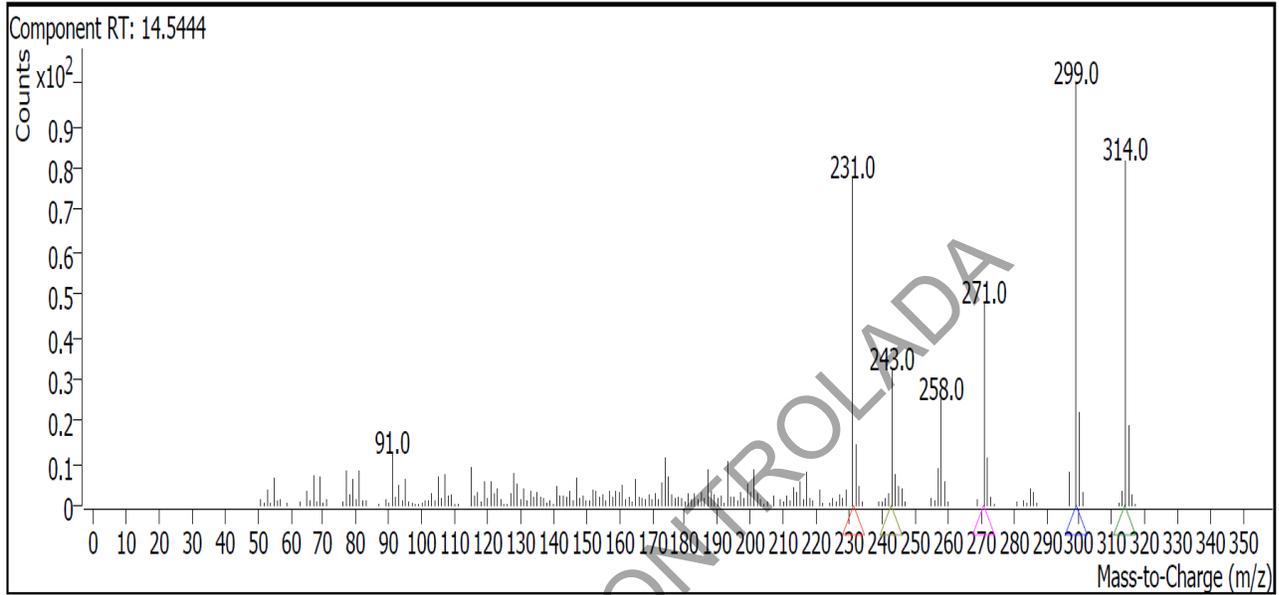
| Compuesto   | TR        | Respuesta | Conc | Iones | (Min-Max)   | Intensidad Relativa |
|-------------|-----------|-----------|------|-------|-------------|---------------------|
| Cannabidiol | 12.755    |           |      | 231.2 |             |                     |
|             |           |           |      | 232.2 | 11.9 - 21.9 | 16.69               |
|             |           |           |      | 246.2 | 9.3 - 19.3  | 8.42                |
|             |           |           |      | 174.1 | 3.7 - 13.7  | 9.69                |
|             |           |           |      | 121.1 | 2.8 - 12.8  | 5.66                |
|             |           |           |      | 193.1 | 3.1 - 13.1  | 5.76                |
|             |           |           |      | 314.2 | 3.5 - 13.5  | 4.16                |
| Dronabinol  | 13.343    |           |      | 91.1  | 0.0 - 9.1   | 6.02                |
|             |           |           |      | 299.0 |             |                     |
|             |           |           |      | 231.0 | 71.0 - 90.4 | 82.21               |
|             |           |           |      | 314.0 | 72.7 - 92.6 | 81.62               |
|             |           |           |      | 271.0 | 39.6 - 59.3 | 49.44               |
|             |           |           |      | 243.0 | 27.3 - 40.9 | 34.46               |
| Cannabinol  | 13.802    |           |      | 258.0 | 21.0 - 31.5 | 26.77               |
|             |           |           |      | 300.0 | 17.1 - 27.3 | 21.53               |
|             |           |           |      | 315.0 | 14.3 - 24.4 | 22.69               |
|             |           |           |      | 295.2 |             |                     |
|             |           |           |      | 296.2 | 19.1 - 29.1 | 20.55               |
|             |           |           |      | 238.1 | 10.1 - 20.1 | 12.05               |
|             |           |           |      | 310.2 | 7.0 - 17.0  | 8.06                |
| 223.1       | 0.0 - 9.5 | 5.49      |      |       |             |                     |
| 251.1       | 0.0 - 9.2 | 6.58      |      |       |             |                     |
| 239.1       | 0.0 - 8.7 | 3.87      |      |       |             |                     |

**Figura 16.** Parte del informe de análisis de resultados automatizado que se incluye en los informes del GC-MS para incorporación en el legajo digital del caso (compárense los intervalos de los criterios de aceptación para cada uno de los analitos, con los establecidos en el apartado 8 del PON, los cuales se cumplen incluso para picos cromatográficos pequeños como los del CBN y el CBD).

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 63 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

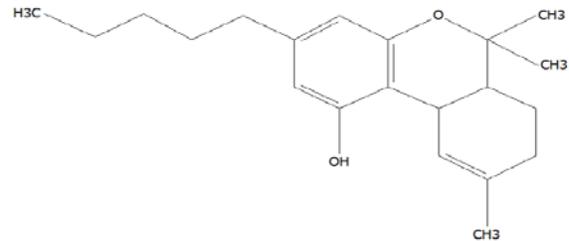
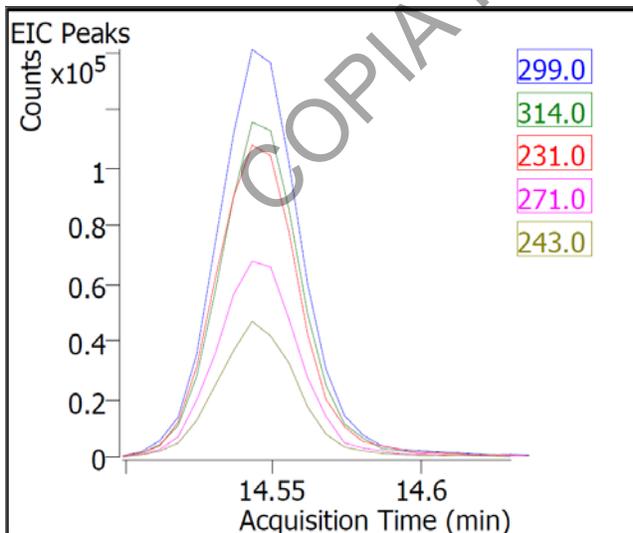
**Anexo Número 09**

**Espectro de masas e iones de diagnóstico para THC**



**(a) Espectro de masas**

Observe que no hay presencia de picos de iones anómalos, ni debajo ni sobre el pico de ion molecular del THC (314 m/z). La abundancia no se representa de forma relativa en el espectro.



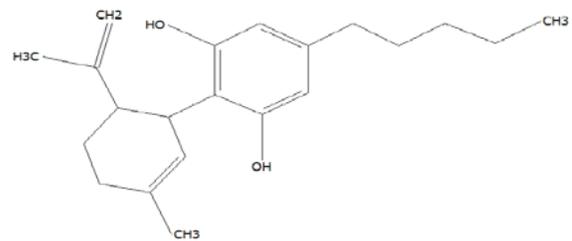
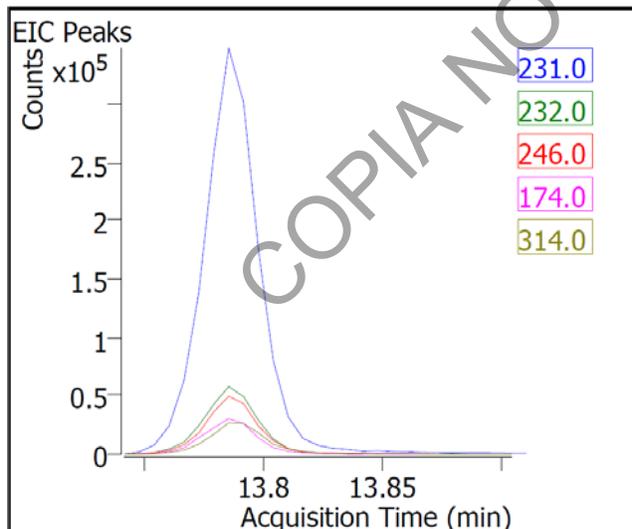
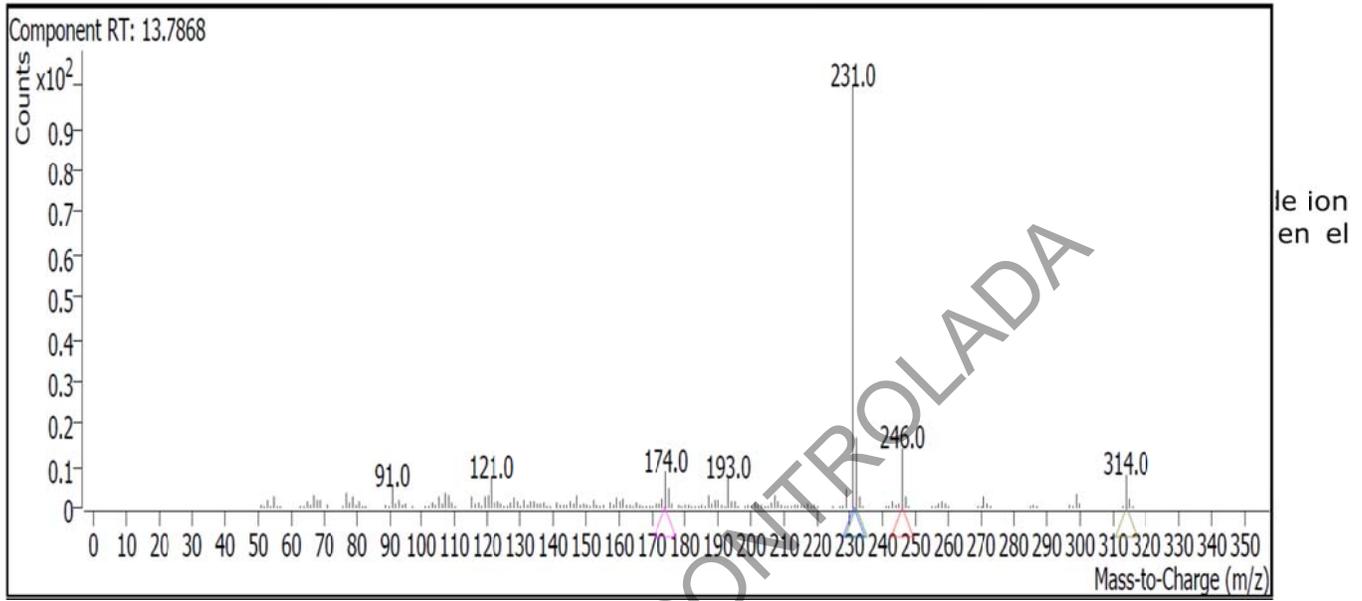
**(b) Iones de diagnóstico con intensidades absolutas y estructura molecular**

**Figura 17.** Características espectrales para el THC.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 64 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

Anexo Número 10

Espectro de masas e iones de diagnóstico para CBD



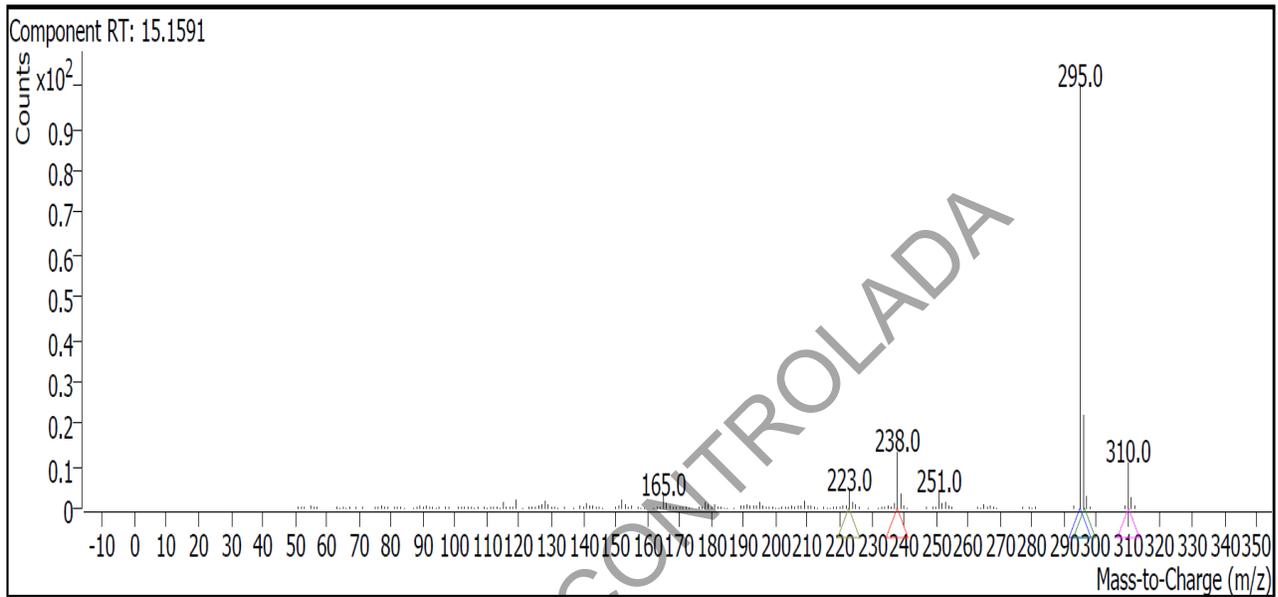
(b) Iones de diagnóstico con intensidades absolutas y estructura molecular

Figura 18. Características espectrales para el CBD.

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 65 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

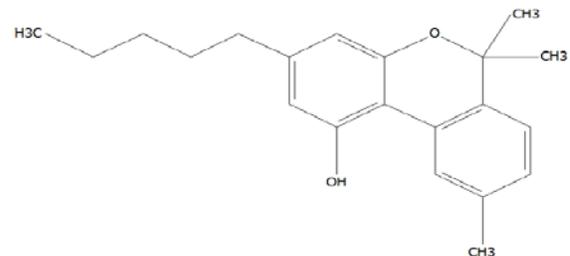
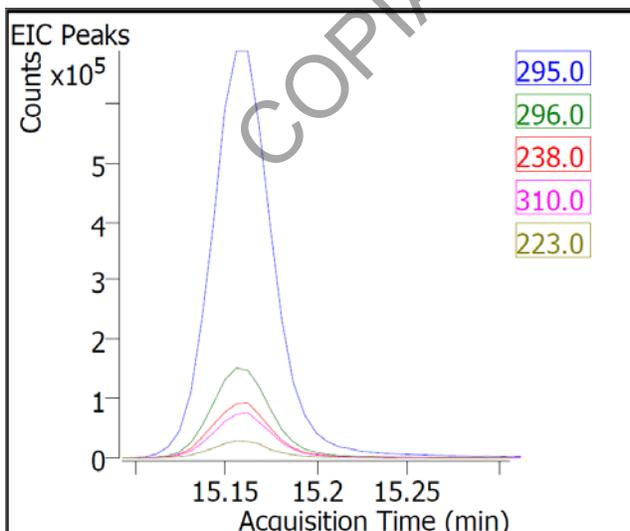
### Anexo Número 11

#### Espectro de masas e iones de diagnóstico para CBN



#### (a) Espectro de masas

Observe que no hay presencia de picos de iones anómalos, ni debajo ni sobre el pico de ion molecular del CBN (310 m/z). La abundancia no se representa de forma relativa en el espectro.



#### (b) Iones de diagnóstico con intensidades absolutas y estructura molecular

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 66 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

**Figura 19.** Características espectrales para el CBN.

**Anexo Número 12**

**Diagrama resumido de paso 7.1 (inciso d) y los apartados 7.6 y 10.5**



|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 67 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |



COPIA NO CONTROLADA

|   |                  |                  |
|---|------------------|------------------|
| DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES   | VERSIÓN 09       | PAGINA: 68 de 68 |
| Determinación Cualitativa de Cannabis Sativa<br>(Cualitativa, Morfológica, GC/MS) | P-DCF-ECT-QUI-04 |                  |

### Anexo Número 13

#### Preparación de las muestras testigo

| Población del indicio (N)                             | Preparación de Muestra Testigo  |
|---|---|
| 1 a 10  | <p style="text-align: center;"><b>Si <math>1 \leq N &lt; 10</math></b></p> <p>a) Si la masa es menor de 1 gramo todo se almacena como testigo.</p> <p>b) Si la masa es mayor de un gramo tome de cada unidad una fracción de muestra de cantidad suficiente que permita repetir los análisis.</p> |
| Más de 10 unidades                                    | <p style="text-align: center;"><b>Si <math>N &lt; 10</math></b></p> <p>a) Si la masa es menor de 1 gramo todo se almacena como testigo.</p> <p>b) Si la masa es mayor de un gramo tome de cada unidad una fracción de muestra de cantidad suficiente que permita repetir los análisis.</p>        |
| Indicios con masas mayores a 2 Kg disperso o compacto | Refiérase al apartado 7.1.1 inciso c  |
| Semillas para Traslado BIO                            | Refiérase al apartado 7.6   |
| Semillas para Almacenar en QUI                        | Refiérase a la Nota 15  |
| Tocolas, semillas quebradas y otros                   | Refiérase a la Nota 14  |
| Tratamiento de Testigo si hay ácaros o moho           | Refiérase a la Nota 12  |