



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

**Determinación cuantitativa de cocaína y heroína
por GC/MSD**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-QUI-073

VERSION: 02

Rige desde: 04/05/2022

PAGINA: 1 de 13

<p>Elaborado o modificado por:</p> <p>M Sc Manuel Oreamuno Zepeda Perito Judicial 2</p> <p>Dipl. Susana Alfaro Soto Técnico Especializado 6</p> <p>Bach. Beatriz Guerrero Gamboa Técnico Especializado 6</p>	<p>Revisado por Líder Técnico:</p> <p>Licda. Ginnette Amador Godoy Líder Técnica de Sección Química Analítica</p>
<p>Visto Bueno Encargado de Calidad:</p> <p>M Sc. Jorge Cartín Elizondo Encargado de Calidad</p>	<p>Aprobado por:</p> <p>Licda. Patricia Fallas Meléndez Jefatura, Sección de Química Analítica</p>

CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

Versión	Fecha de Aprobación	Fecha de Revisión	Descripción del Cambio	SCD	Solicitado por
01	29/09/2021	04/05/2022	Versión Inicial del Procedimiento	14-21	PFM
02	04/05/2022		Se corrige que las inyecciones es por triplicado y no por duplicado. Nuevo formato de procedimientos Referencias de PON de Gestión de Casos de la Sección de Química Analítica	06-22	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**

	<p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p>
<p>Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD</p>	<p>P-DCF-ECT-QUI-073</p>	
<p>VERSION: 02</p>	<p>Rige desde: 04/05/2022</p>	<p>PAGINA: 2 de 13</p>

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 02	PAGINA: 3 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

1 Objetivo:

Determinación cuantitativa de cocaína y heroína en material decomisado por GC/MSD.

2 Alcance:

Este procedimiento describe una metodología por GC/MSD para la determinación cuantitativa de cocaína y heroína en material decomisado como bloques o material sólido en polvo.

Para realizar la determinación se requiere disponer de al menos 80 mg de muestra. La determinación cuantitativa se puede realizar en muestras con un contenido de cocaína y/o heroína en concentración entre el 7,1 % y 12,5% respectivamente y hasta el 100 % de sustancia en su forma base.

La metodología permite la determinación cuantitativa de cocaína y heroína en presencia de las siguientes sustancias evaluadas: fenacetina, ketamina, codeína, morfina y 6-acetilmorfina.

3 Referencias:

- Informe de validación **017-QUI-VAL-2021**, Validación de la metodología para la determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD en material decomisado de cocaína y/o heroína en polvo.
- [Procedimiento de Operación Normado Gestión de Casos de la Sección de Química Analítica P-DCF-ECT-QUI-034 versión vigente.](#)

4 Equipos y Materiales:

4.1 Equipo instrumental:

- Agitador de vórtice estándar con regulador de la intensidad de agitación o similar
- Balanza semi-micro analítica (rango de 0,00001 a 80 g; menor división 0,00001 g) o similar
- Cromatógrafo de gases con detector de masas Agilent 7890A-5975C, con columna HP5-MSUI de 30 m de longitud con 0,25 mm de diámetro interno y un grosor de filme de fase estacionaria de 0,25 μ m y gas de arrastre de helio, internamente identificado GCMSD02

4.2 Materiales y Cristalería:

- Balones aforados de 10 mL, clase A
- Balones aforados de 5 mL, clase A
- Colador fino de uso culinario o sistema similar con una malla < 1 mm
- Embudo de pesaje o pesasustancias
- Espátulas
- Formulario de Sección "Cuantificación por GC/MSD", código P-DCF-ECT-QUI-034-R13

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 4 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

- Micropipetas automáticas diferentes volúmenes
- Mortero con pistilo o similar
- Pipetas pasteur de vidrio, descartables o similar
- Viales ámbar silanizados, de 4 mL
- Viales de 1,5 mL para el automuestreador del cromatógrafo (transparentes)

5 Reactivos y Materiales de Referencia:

5.1 Reactivos:

- Acetona, grado cromatográfico
- Acetonitrilo, grado cromatográfico
- Tolueno, grado cromatográfico

5.2 Materiales de referencia:

- Material de referencia en disolución (por ejemplo 1,000 mg/mL como cocaína base) o sólido de cocaína HCl, grado mínimo material de referencia certificado ISO 17034.
- Material de referencia en disolución (por ejemplo 1,000 mg/mL como heroína base) o sólido de heroína HCl, grado mínimo material de referencia certificado ISO 17034.
- Material de referencia de tetrafeniletieno (TFE), grado mínimo estándar analítico.

Ver en Anexo 01 la preparación de las disoluciones madre, intermedias y niveles de calibración.

6 Condiciones Ambientales:

No.	Condición ambiental	Valor mínimo	Valor máximo	Otras características
1	Ver PON de Gestión de Casos de la Sección de Química Analítica en el apartado 6 párrafo 1.	No Aplica	No Aplica	No Aplica
2	Conforme al informe de validación de esta metodología, las condiciones ambientales controladas del laboratorio y del cuarto de cromatógrafos no afectan los resultados.	No Aplica	No Aplica	No Aplica

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 5 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

7 Procedimiento:

7.1 Controles mínimos para la determinación cuantitativa de cocaína y heroína:

7.1.1 Establezca, a partir de los resultados iniciales cualitativos si la determinación requiere la preparación de los controles para uno de los dos analitos o ambos.

7.1.2 Curva de calibración: Prepare 1000 uL de cada una de las disoluciones de trabajo de los niveles de calibración 1, 3, 5, 8, y 10 a partir de la disolución intermedia en acetonitrilo de cocaína 50,0 ug/mL y/o heroína 75,0 ug/mL, utilizando el formulario "Cuantificación por GC/MSD".

Nota No. 1: Utilice para la preparación de la curva de calibración y el control de cuantificación ampollas de 1,000 mg/mL preferiblemente nuevas. En caso de no disponer de ampollas, se utiliza la madre de 2,000 mg/mL recién preparada en el laboratorio.

7.1.3 Control de cuantificación: Prepare 1000 uL de un nivel de calibración 7 a partir de una disolución intermedia en acetonitrilo de cocaína 50,0 ug/mL y/o heroína 75,0 ug/mL. Esta preparación deber realizarse a partir de una disolución intermedia preparada a su vez a partir de un material de referencia idealmente de otra marca o de un lote diferente. Distribuya esta preparación en una cantidad de viales equivalente a 1 por cada 10 muestras diferentes a cuantificar.

Nota No. 2: Asegúrese que la misma preparación de la disolución intermedia del estándar interno se utilice tanto para la curva de calibración como para el control de cuantificación y las muestras de la misma secuencia.

7.2 Selección de muestra y homogenización:

7.2.1 Tome, si la muestra es de un bloque (solo una unidad), una muestra compuesta de aproximadamente 1,0 g de al menos tres partes diferentes del bloque. Por ejemplo de un borde o esquina del bloque (A), del centro del bloque (C) y de una parte intermedia entre el borde y el centro del bloque (B) (Ver ubicación de los puntos de selección de muestra en el Diagrama 1).

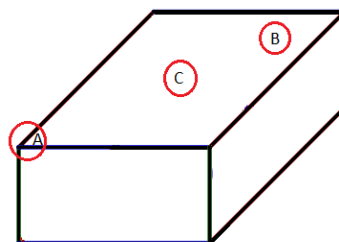


Diagrama 1: Ubicación de los tres puntos de selección de muestra de un bloque para la preparación de la muestra compuesta. **A.** punto de selección del borde o esquina del bloque, **C.** pun-

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 6 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

to de selección del centro del bloque y **B.** punto de selección de una zona intermedia entre el centro y el borde del bloque.

7.2.2 Tome, si la muestra es de un envoltorio o bolsa (solo una unidad), una muestra compuesta no mayor a 1,0 g de al menos tres partes diferentes del envoltorio o bolsa. Previamente triture y mezcle el contenido de la bolsa de forma manual.

7.2.3 Tome, si la muestra es de más de una unidad, una muestra compuesta no mayor a 2,0 g en total. Para esto tome de cada bloque o envoltorios cantidad suficiente de al menos de tres partes diferentes.

7.2.4 Homogenice la muestra compuesta tomada en 7.2.1, 7.2.2 o 7.2.3 mediante el triturado en un mortero con el pistilo hasta la consistencia de polvo fino. Pase el polvo por el colador. Repita al menos tres veces este proceso (mortero + colador).

7.2.5 Almacene la muestra homogenizada en un contenedor y cierre de forma hermética (e.g. bolsa ziploc, tubo con tapa, entre otros).

7.3 Preparación de cada muestra para la determinación cuantitativa:

7.3.1 Mida por triplicado en una balanza semi-micro analítica aproximadamente pero exactamente 20,00 mg de la muestra homogenizada, colocando cada muestra en un embudo de pesaje o directamente en balones aforados de 10,00 mL. Registre la masa de las tres muestras en el SADCF.

Nota No. 3: Si utiliza el embudo de pesaje, transfiera cuantitativamente al balón de 10,00 mL con acetonitrilo.

7.3.2 Disuelva la muestra de cada balón con una pequeña cantidad de acetonitrilo, posteriormente lleve a la marca de aforo con el mismo disolvente, tape y agite por inversión.

7.3.3 Tome de cada balón una alícuota de 125,0 uL y dispense directamente en balones aforados de 5,00 mL, posteriormente lleve a la marca de aforo con acetonitrilo, tape y agite por inversión.

7.3.4 Agregue a tres viales del automuestreador de 1,5 mL, 700 uL de acetonitrilo y 50,0 uL de la disolución intermedia del estándar interno.

7.3.5 Tome de cada disolución del balón de 5,00 mL, una alícuota de 250,0 uL y dispense directamente en uno de los viales del automuestreador anteriores. Tape y agite en el vortex por al menos 30 s.

7.3.6 Identifique cada uno de los tres viales con la etiqueta del SADCF que incluye el número de orden de trabajo, del objeto y la indicación del 1 al 3.

7.4 Determinación por GC/MSD:

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 7 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

7.4.1 Cargue el método "P-DCF-ECT-QUI-073 Cuantificación" y verifique las condiciones con lo indicado en el Anexo 02.

7.4.2 Limpie la jeringa del autoinyector con acetona y acetonitrilo.

7.4.3 Llene los viales de lavado de la jeringa A (antes de la inyección) con acetonitrilo y los viales de lavado B (después de la inyección) con tolueno/acetonitrilo 1:1 o solo tolueno.

7.4.4 Prepare los blancos instrumentales en viales transparentes de 2 mL con acetonitrilo.

7.4.5 Prepare la secuencia de inyección inyectando en el siguiente orden:

- Dos inyección de blancos instrumentales,
- Una inyección de un nivel de carga (preparación del nivel 1),
- Los cinco niveles de calibración, cada uno por triplicado y en orden ascendente de concentración,
- Un blanco de arraste,
- Para cada muestra a cuantificar: dos blancos instrumentales, una inyección de carga (preparación de la misma muestra) y seguidamente cada una de las tres preparaciones por triplicado.
- Un control de cuantificación por triplicado, incluido y distribuido en la secuencia a razón de uno cada 10 muestras. Este control debe ir precedido de un blanco instrumental y una inyección de carga.

7.4.6 Ejecute la verificación del equipo como se indica en el PON de Gestión de Casos.

7.4.7 Evalúe los resultados de la curva de calibración utilizando el Formulario "Cuantificación por GC/MSD".

7.4.8 Evalúe los resultados del blanco de arrastre, cada blanco instrumental antes de cada muestra y de cada muestra como se indica en el apartado 8 de este procedimiento.

7.4.9 Evalúe los resultados cuantitativos de el o los controles de cuantificación contra el valor nominal de la preparación. Ver criterio de aceptación en el apartado 8 de este procedimiento.

7.4.10 Registre los resultados en el SADCF.

7.4.11 Registre en el SADCF para cada caso el control correspondiente a la curva de calibración y el control de cuantificación.

7.4.12 Incorpore en el legajo del SADCF para el caso correspondiente el documento pdf fusionado que incluye los cromatogramas de la muestra cuestionada para cada uno de los objetos de un caso.

7.4.13 Incorpore en el legajo del SADCF la hoja de cálculo con los resultados cuantitativos.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 8 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados:

8.1 Criterios de cuantificación por GC/MSD:

No.	Criterio de Aceptación	Valor Límite	Corrección Aplicable
1	No se detecte cocaína y/o heroína en el blanco de arrastre ni en el blanco instrumental previo a la muestra	Criterio C1 del PON de Gestión de Casos	Si el que falla es el blanco instrumental: repetirlo, así como la inyección de la muestra. Si el que falla es el blanco de arrastre, reportar al encargado del equipo.
2	Que se detecte un pico cromatográfico de cocaína y/o heroína en cada nivel de la curva de calibración	Criterio C2a del PON de Gestión de Casos Criterios C2.b y C3 del PON de Gestión de Casos	Reporte al encargado del equipo
3	Linealidad de la curva de calibración	$r^2 \geq 0,995$ ($p \leq 0,05$)	Repita la preparación de la curva de calibración
4	Control de cuantificación	El valor teórico del control de cuantificación (nivel 7) no debe diferir en más de un $\pm 5,0$ % del valor interpolado en la curva de calibración $\%error = (interpolado - teórico) * 100 / teórico$	Repita el control de cuantificación, en caso que la repetición no de resultados satisfactorios reporte al encargado del equipo.
5	Que se detecte un pico cromatográfico de cocaína y/o heroína en la muestra a cuantificar	Criterio C2a del PON de Gestión de Casos de la Sección de Química Analítica Criterios C2.b y C3 del PON de Gestión de Casos de la Sección de Química Analítica.	Reporte al encargado del equipo
6	Que el nivel interpolado de cocaína y/o heroína sea mayor al límite de cuantificación	Límite de cuantificación para cocaína 0,90 ug/mL y para heroína 1,7 ug/mL	No aplica corrección, reporte como no cuantificable
7	Dispersión de los datos de las tres determinaciones en la muestra a cuantificar	$CV < 5 \%$	Repita la preparación de las muestras

9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

Los cálculos y evaluación de la incertidumbre se realizan utilizando el Formulario "Cuantificación por GC/MSD", en la hoja "Cuantificación".

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 9 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

10 Reporte de Análisis y Resultados:

10.1 Reporte en el Dictamen Pericial de la siguiente forma:

Nota No. 4: La redacción del resultado de la identificación de cocaína y/o heroína y de la masa del material decomisado está fundamentada en el o los PON que describan esos ensayos. Después de la redacción del resultado cualitativo se incluye el resultado cuantitativo.

"Bajo la metodología utilizada, la (*muestra cuestionada analizada*) tiene una concentración de (valor de tendencia central determinado) g/100g como (cocaína o heroína) base".

Nota No. 5: Para la Sección de Química Analítica se ha determinado que el valor de tendencia central se reporta en el dictamen pericial sin decimales y sin la incertidumbre. El valor de la Incertidumbre debe ser reportado en el Formulario de Datos y Resultados del SADCF.

Nota No. 6: La incertidumbre se reporta en el Dictamen Pericial o mediante Ampliación al Dictamen Pericial cuando sea solicitado por la Autoridad Judicial. El resultado se redacta como se indica en punto 10.2 y el valor de tendencia central debe tener las posiciones decimales que la incertidumbre asociada y esta incertidumbre debe tener dos cifras significativas.

10.2 Reporte en el Dictamen Pericial cuando la Autoridad Judicial solicite el resultado con su incertidumbre asociada, de la siguiente forma:

"Bajo la metodología utilizada, la (*muestra cuestionada analizada*) tiene una concentración de (valor de tendencia central determinado) g/100g como (cocaína o heroína) base con una incertidumbre expandida de (valor determinado como incertidumbre) g/100g, y un coeficiente de cobertura $k = 2$.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 10 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

11.1 Diríjase al apartado 11 del PON de Gestión de Casos de la Sección de Química Analítica.

12 Simbología:

- DCF: Departamento de laboratorio de Ciencias Forenses.
- GC/MSD: Se refiere a la técnica Cromatografía Gas Líquido con Detector Selectivo de Masas de Impacto Electrónico o al instrumento.
- SADCF: Sistema automatizado del Departamento de Ciencias Forenses.
- S/N: razón señal ruido.
- SCD: solicitud de cambio documental.

13 Terminología:

No aplica.

14 Anexos:

No. de Anexo	Nombre del Anexo
01	Preparación de disoluciones
02	Condiciones del método de GC/MSD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 11 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

Anexo Número 01

Preparación de disoluciones

Preparación de la disolución madre individual de cocaína o heroína 2,00 mg/mL:

En caso de no disponer de un material de referencia certificado en disolución 1,000 mg/mL de cada droga, prepare las disoluciones madre como se indica en el PON de Gestión de Casos de la Sección de Química Analítica, utilizando acetonitrilo como disolvente. Almacene en viales sililizados de 4 mL con tapa rosca de baquelita con septa de teflón, en congelación < -18 °C. El tiempo de preservación de las disoluciones madre preparadas en el laboratorio es de no más de 24 meses en congelación.

Preparación de la disolución madre de tetrafeniletileno, 2,00 mg/mL:

Prepare las disoluciones madre como se indica en el PON de Gestión de Casos de la Sección de Química Analítica, utilizando tolueno como disolvente. Almacene en viales sililizados de 4 mL con tapa rosca de baquelita con septa de teflón, en refrigeración 2 °C – 8 °C. El tiempo de preservación de las disoluciones madre preparadas en el laboratorio es de no más de 24 meses en congelación.

Preparación de las disoluciones intermedias de cocaína y/o heroína:

Para la preparación de la disolución intermedia de cocaína y/o heroína, utilice el formulario "Cuantificación por GC/MSD", para calcular las alícuotas a tomar de cada disolución madre y volumen final de la preparación de la disolución intermedia. Todas las disoluciones intermedias se preparan en acetonitrilo. Deseche el sobrante.

En caso que se requiere almacenar para ser utilizada al día siguiente almacene en viales sililizados, en congelación < -18 °C.

Preparación de la disolución intermedia de TFE 0,150 mg/mL en acetonitrilo:

Para la preparación de esta disolución siga lo indicado en el formulario "Cuantificación por GC/MSD" en la hoja "preparación de disoluciones". Tape y agite en el vortex por 1 min. Rotule con número de reactivo crítico y el número de trazabilidad y almacene, en refrigeración entre 2 °C - 8 °C. El tiempo de preservación es de no más de 24 meses en congelación.

Preparación de la disolución de trabajo niveles de calibración:

Calcule la alícuota a dispensar, para cada nivel de calibración a preparar, a partir de la disolución intermedia seleccionada. Para esto complete en el formulario "Cuantificación por GC/MSD" en la hoja "preparación de disoluciones", el dato del volumen final de la preparación de niveles de calibración (normalmente 1000 uL). De acuerdo con cada nivel a preparar, pipetee en un vial transparente de 1,5 mL el volumen que se indica en la columna del acetonitrilo seguido del volumen de disolución intermedia del estándar interno y finalmente el volumen que se indica en la columna "Alícuota" respectiva. Tape y agite en el vortex por 30 s.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 12 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

Rotule como se indica en el PON de Gestión de Casos de la Sección de Química Analítica. Normalmente estas disoluciones se preparan para ser utilizadas inmediatamente y luego se descartan.

COPIA NO CONTROLADA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 13 de 13
Determinación cuantitativa de cocaína y heroína por GC/MSD	P-DCF-ECT-QUI-073	

Anexo Número 02

Condiciones del método de GCMSD

Cuadro I: Condiciones del cromatógrafo de gases:

Nombre del método	P-DCF-ECT-QUI-073 cuantificación
Volumen inyección	1 uL, "Sample Depth" – "Enable 5 mm"
Temperatura del inyector	250 °C
Flujo de purga del septum	3 mL/min, modo estándar
Modo inyección	splitless pulsado Presión del pulso de inyección: 25 psi hasta 0,5 min; un flujo de purga hacia el Split vent de 60 mL/min a partir del 1 min Ahorro de gas, "On" en 16,4 mL/min después de 3 min
Flujo de la columna	Modo: "flujo constante" a 1,2 mL/min El flujo post corrida en 1,5 mL/min
Horno	70,0 °C por 1,0 min, luego a una tasa de 40 °C/min hasta 280°C. Tiempo de corrida: 10,5 min. Temperatura post corrida 300 °C por 0,5 min
Temperatura interfase:	280 °C

Verifique que la configuración de la columna esté seleccionada la columna correcta con los resultados correspondientes a la última calibración.

Cuadro II: Condiciones del espectrómetro de masas:

Temperatura de la fuente de iones	280 °C				
Temperatura del cuadrupolo	150 °C				
Corte del disolvente	3,5 min				
Configuración del electro-multiplicador (EM)	Factor de ganancia: 1,000 "EM Saver" desactivado				
Tipo de adquisición	SIM				
Segmentos de tiempo de SIM	Igual para todos los métodos				
	tiempo/min	Nombre grupo	Iones m/z (dwell time en ms)	resolución	Factor de ganancia
	3,50	cocaína	182,10 (100) – pico base 198,10 (100); 272,10 (100) y 303,10 (100)	alta	1,0
	7,80	tetrafeniletileno	332,25 (100) – pico base 253,15 (100)	alta	1,0
9,20	heroína	327,20 (100) – pico base 268,10 (100); 310,20 (100); y 369,20 (100)	alta	1,0	

Nota No. 7: Los segmentos de tiempo e iones en SIM deben ser verificados con la corrida de los controles positivos.