

 <p style="text-align: center;">DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p style="text-align: center;">DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS.</p>	PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO	
	P-DCF-ECT-TOX-44	
VERSION: 02	Rige desde: 21/06/2024	PAGINA: 1 de 30

<p>Elaborado o modificado por:</p> <p style="text-align: center;">Dra. María de los Ángeles Sancho Brenes Perito, Sección Toxicología</p>	<p>Revisado por Líder Técnico:</p> <p style="text-align: center;">Dra. María de los Ángeles Sancho Brenes Líder Técnico de Sección/Unidad de Confirmatorios y Plaguicidas</p>
<p>Visto Bueno Encargado de Calidad:</p> <p style="text-align: center;">Dr. Marco Martínez Esquivel Encargado de Calidad, Sección de Toxicología</p>	<p>Aprobado por:</p> <p style="text-align: center;">Dr. Diego Arias Alfaro Jefatura, Sección de Toxicología</p>

CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

Versión	Fecha de Aprobación	Fecha de Revisión	Descripción del Cambio	SCD	Solicitado por
01	12/02/2024	21/06/2024	Versión Inicial del Procedimiento	01-2024	DAA
02	21/06/2024		Incluir análisis de datos con la señal SCAN. Correcciones por hallazgos de auditoría interna: Referencia en criterios de aceptación y rechazo, unidades de medición, incluir referencia a procedimiento interno de la Sección.	06-2024	DAA

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

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.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 2 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCIÓN LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

1 Objetivo:

El objetivo de este PON es establecer un procedimiento para la determinación cualitativa de cannabinoides en muestras biológicas en la Sección de Toxicología del Departamento de Ciencias Forenses del O.I.J. de Costa Rica.

2 Alcance:

Este procedimiento permite realizar la identificación y confirmación de carboxy-delta-9-THC en muestras de orina que hayan dado positivo en los análisis con métodos de screening o preliminares o en casos donde la Autoridad Judicial solicite específicamente este análisis.

Las muestras de orina son hidrolizadas con NaOH previo a la fase de extracción líquido-líquido para cannabinoides, esto con el fin de determinar la presencia del metabolito carboxy-delta-9-THC que se elimina como glucorónido, posteriormente las muestras son extraídas con extracción líquido-líquido. La identificación y confirmación de los cannabinoides, se realiza mediante análisis en los equipos GC/MS 7890B/5977 de Agilent Technologies o GC/MS Trace 1300/ ISQ 7000 de Thermo Scientific.

La identificación y confirmación del analito se establece con base en los criterios de aceptación indicados en el Procedimiento MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE y cuyo cumplimiento se puede verificar en el informe de validación de esta metodología (3.4). El resumen de los resultados de la validación de cannabinoides se puede observar en el Anexo 3 (3.4).

Para la determinación se requieren muestras de al menos 1 mL de orina idealmente preservada con fluoruro de sodio. El estándar interno utilizado para la determinación de cannabinoides es carboxy-delta-9-THC-D3. El área del pico obtenido del analito es corregida por el área del estándar interno para obtener el área relativa que se usa para ver si la concentración es superior al límite administrativo (LA).

En el Anexo 2 se presentan los parámetros de identificación del analito validado, las intensidades relativas mostradas corresponden a la concentración en el LA. Se estableció 15 ng/mL en orina para carboxy-delta-9-THC como concentración en el LA.

De los resultados obtenidos de estabilidad de las muestras en la validación, se desprende que no debe programarse análisis en el equipo cuando no se tenga personal capacitado en la pericia que pueda revisar el progreso de las inyecciones de la secuencia de análisis al menos a las 12 horas de haber iniciado.

3 Referencias:

- 3.1 AAFS Standard Board (ASB), American National Standards Institute (ANSI). Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology. ANSI/ASB Standard 036, First Edition, 2019.
- 3.2 [Costa Rica. Poder Judicial. Organismo de Investigación Judicial. Departamento de Ciencias Forenses. Procedimiento MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE, versión vigente.](#)
- 3.3 Frazee CC, Kiscoan M, Garg U. Quantitation of total 11-nor-carboxy-delta tetrahydrocannabinol in urine and blood using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Methods in Mol Biol.* 2010; 603: 137-144.
- 3.4 Informe de Validación de cannabinoides en orina por extracción líquido-líquido y GC/MS, código 001-TOX-VAL-2024.
- 3.5 WADA Technical Document TD2021IDCR. Minimum criteria for chromatographic-mass spectrometric confirmation of the identity of analytes for doping control purposes. 2021.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 3 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

4 Equipos y Materiales:

Agitador de tubos de ensayo por inversión (rotatorio).

Agitador disruptor SPEX 1600 Mini-G o similar.

Agitador por vibración tipo vortex.

Agitador magnético.

Balanza analítica, rango 0,00001 a 30 gramos ($\pm 0,00001$ gramos) y de 30 a 120 gramos ($\pm 0,0001$ gramos), similar o superior.

Balones aforados de 5 mL y 100 mL.

Base de datos "RAS electrónico confirmatorios".

Beakers de vidrio de 50 mL y 250 mL.

Botellas de vidrio de 500 mL o similar.

Botellas plásticas de 250 mL, 500 mL o similar.

Cabina de Bioseguridad Clase 2-B2.

Cámara de Bioseguridad tipo I.

Capilla de extracción de gases.

[Centrífuga refrigerada, con capacidad de alcanzar al menos una velocidad de 5000 r.p.m. Thermo Sorvall S16R o similar.](#)

Congelador ($\leq 0^{\circ}\text{C}$).

Etiquetas adhesivas con código micro QR.

Formulario "Lista de chequeo para uso de equipo instrumental (GC/MS)".

[Formulario "Lista de chequeo para uso de equipo instrumental \(GC/MS-3\)".](#)

Formulario "Lista de objetos de análisis por cannabinoides".

Formulario "Registro de preparación de disoluciones".

Formulario "Registro de uso y control de material de referencia".

Gabacha y uniforme de laboratorio.

GC/MS-2: Cromatógrafo de gases Agilent Technologies modelo 7890B/5977A con horno estándar, puerto de inyección split/splitless y con columna capilar polar (HP-5MS) o equivalente; Acoplado a espectrómetro de masas Agilent Technologies modelo 5977A con triple axis detector, bomba turbomolecular y cámara de ionización por impacto electrónico; Un robot multipropósito marca Gerstel, modelo MPS-2, con inyector de líquidos e inyección head space; controlado por una computadora con sistema operativo Windows 7 Professional o superior, capaz de correr el programa "MassHunter Workstation Software" versión B-07.04.2260 o superior que a su vez tenga anidado el software MAESTRO versión 1.4.39.3 / 3.5 para el control de los MPS-2, el programa "MSD Chemstation Rev. F.01.03.2357 o superior.

GC/MS-3: Cromatógrafo de gases Thermo Scientific Trace 1300 ISQ 7000, con horno estándar, puerto de inyección split/splitless y con columna capilar polar (HP-5MS) o equivalente, acoplado a Thermo Scientific™ ISQ 7000™ Single Quadrupole con triple off-axis detector, con filamento dual, bomba turbomolecular, cámara de ionización por impacto electrónico y fuente de ionización de electrones avanzada (AEI); con AI Autoinyector/ Automuestreador Thermo Scientific AS 1310;

P-DCF-GCG-JEF-001-R3, Versión 01

Emitido y Aprobado por Unidad de Gestión de Calidad

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 4 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

controlado por una computadora con sistema operativo Windows 10 o superior, capaz de correr el software Chromeleon, versión 7.2, Chromathography Data System CDS software.

Guantes desechables.

Horno de cromatógrafo, rango 40-250°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) o similar.

Impresora de Etiquetas, Citizen CI-S621 o similar.

Insertos desactivados de vidrio para viales Agilent de 2 mL o similar. Son desechables.

Lector de código de barras.

Lentes de seguridad.

Listado de tipos de caso de la Sección de Toxicología.

Micropipeta ajustable de 100 μL a 1000 μL o similar. Con puntas nuevas.

Micropipeta ajustable de 20 μL a 200 μL o similar. Con puntas nuevas.

Micropipeta ajustable de 2 μL a 20 μL o similar. Con puntas nuevas.

Micropipeta ajustable de 10 μL a 100 μL o similar. Con puntas nuevas.

Micropipeta automática 20 $\mu\text{L} \pm (0,02 \mu\text{L})$. Con puntas nuevas.

pH metro, calibrado a pH 4,0 y 7,0 con las disoluciones amortiguadoras de referencia (la calibración debe ser diaria), rango 2,0 a 12,0 ($\pm 0,1$ unidades de pH). Similar o superior.

Pipetas Pasteur de vidrio de espiga corta con algodón nuevas o similar.

Pipetas plásticas desechables de 2 mL o similar.

Pipeteador automático para repeticiones con dispensado de 1 a 5 mL y sus respectivas puntas (nuevas) de dispensado de 50 mL o similar.

Probetas de 50 mL, 100 mL y 500 mL o similar.

Refrigerador (>0 a 10°C)

Sistema de Evaporación con Nitrógeno N Evap Organomation para 12 muestras con control de temperatura y suministro de Nitrógeno (o similar).

Sistema de Evaporación con Nitrógeno Biotage Turbo Vap LV para 50 muestras con control de temperatura y suministro de Nitrógeno (o similar).

Tubos cónicos de plástico desechables con tapa rosca de 15 mL, nuevos o similar.

Viales ámbar de vidrio de 18 x 32 mm de 2,0 mL tapa rosca o similar.

Viales ámbar de vidrio silanizado de 5 mL, nuevos.

Nota 1. Lave la cristalería y otro material reutilizable según el Procedimiento MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE.

5 Reactivos y Materiales de Referencia:

Acetato de etilo, calidad p.a.r

Ácido acético 1 M. (Ver Anexo 1)

Ácido acético 0,1M. Reactivo crítico (Ver Anexo 1)

P-DCF-GCG-JEF-001-R3, Versión 01

Emitido y Aprobado por Unidad de Gestión de Calidad

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 5 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Ácido acético glacial p.a.

Agua desionizada tipo II.

BSTFA-TMCS 1%: Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida con trimetilclorosilano al 1%, marca Sigma o similar. Reactivo crítico

BSTFA-TMCS/Acetato de Etilo (50:50), 100µL por cada muestra.

CRM de 100 µg/mL o 1 mg/mL de Glucorónido de carboxy-delta-9-THC marca Cerilliant o similar.

CRM de 1 mg/mL de carboxy-delta-9-THC y de estándar interno carboxy-delta-9-THC-D3 marca Cerilliant o similar.

Disolución de carboxy-delta-9-THC-D3 de 2 µg/mL (Ver Anexo 1).

Disolución de cloro al 0,5%. (Ver Anexo 1).

Disolución de glucorónido de carboxy-delta-9-THC de 10 ug/mL (Ver Anexo 1).

Disolución de hipoclorito de sodio al 10%, 12% o similar.

Disolución de CRM de cannabinoides de 10 µg/mL (Ver Anexo 1).

Disolución de CRM de cannabinoides de 1 µg/mL (Ver Anexo 1).

Etanol al 95% industrial.

Hexano p.a.r.

Hidróxido de sodio 10N. (Ver Anexo 1)

Hidróxido de sodio p.a. (NaOH)

Orina blanco. Reactivo crítico.

Tolueno p.a.r.

Nota 2. Para la preparación, verificación y conservación del material de referencia, controles en matriz, disoluciones de CRM, disoluciones de estándares internos, disoluciones de glucorónidos, reactivos y materiales críticos refiérase al Procedimiento MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGÍA FORENSE.

6 Condiciones Ambientales:

No.	Condición ambiental	Valor mínimo	Valor máximo	Otras características
1	Temperatura en la preparación de muestras y extracción líquido-líquido.	No es crítico para el proceso	No es crítico para el proceso	Se puede utilizar Cámara de Bioseguridad tipo I para preparación de la muestra o Cabina de Bioseguridad Clase 2-B2.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 6 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

2	Temperatura durante el análisis en el equipo GC/MS-3	No es crítico para el proceso	35°C	Estos parámetros no requieren monitoreo continuo debido a que en condiciones de aire acondicionado no se alcanza esa temperatura máxima. Si se presenta un fallo en el aire acondicionado debe registrarse la temperatura antes de realizar el análisis.
3	Temperatura durante el análisis en el equipo GC/MS-2	No es crítico para el proceso	40°C	Estos parámetros no requieren monitoreo continuo debido a que en condiciones de aire acondicionado no se alcanza esa temperatura máxima. Si se presenta un fallo en el aire acondicionado debe registrarse la temperatura antes de realizar el análisis.

7 Procedimiento:

7.1 Actividades previas al análisis

- 7.1.1** Para efectos de realizar la extracción de manera eficiente, la cantidad de muestras, blanco de matriz y blancos enriquecidos debe ser de 30 como máximo. El perito encargado de la pericia es el responsable de la lista de análisis de serie, se asigna además un técnico encargado para la preparación e inyección de las muestras.
- 7.1.2** Remita como perito de la Unidad de Confirmatorios y Plaguicidas la lista de casos pendientes de análisis de cannabinoides por GC/MS al técnico encargado de actualizar la Base de datos "RAS electrónico confirmatorios".
- 7.1.3** Realice como técnico encargado una consulta en la Base de datos "RAS electrónico confirmatorios" de los casos pendientes de análisis por cannabinoides en GC/MS y seleccione la información de esos casos, para ir llenando el formulario "Lista de objetos de análisis por cannabinoides".
- 7.1.4** Entregue el Formulario "Lista de objetos de análisis por cannabinoides" al encargado de la bodega de indicios para que proceda a buscar las muestras y entregárselas al técnico encargado del análisis a través del SADCF.

7.2 Preparación del Equipo Instrumental para inyección de muestras líquidas:

- 7.2.1** Siga el punto 7.1 del Procedimiento [USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS \(GC/MS\)](#), o los puntos 7.5 y 7.6 del Procedimiento [USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS THERMO \(GC/MS-3\)](#) para la preparación del Equipo Instrumental para inyección de muestras líquidas.
- 7.2.2** Cerciórese de que la jeringa sea de 1 a 10 µL.
- 7.2.3** Siga los pasos 7.8 y 7.9 del Procedimiento [USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS \(GC/MS\)](#), o los puntos 7.3 y 7.4 del Procedimiento [USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS THERMO \(GC/MS-3\)](#) si es necesario realizar algún mantenimiento al equipo.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 7 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

7.2.4 Realice, si es necesario, un tuning según el punto 7.3 del Procedimiento USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC/MS) y 7.5 del procedimiento USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS THERMO (GC/MS-3). Refiérase a ambos procedimientos para la utilización del formulario "Lista de chequeo para uso de equipo instrumental (GC/MS) y (GC/MS-3)"

7.3 Verificación de reactivos/equipo

7.3.1 Utilice gabacha, guantes desechables y lentes de seguridad.

7.3.2 Limpie las cámaras de bioseguridad y las capillas de extracción de gases según lo señalado en el PON LIMPIEZA, REVISIÓN Y CONTROL DE ÁREAS DE TRABAJO.

7.3.3 Saque del congelador los CRM o las disoluciones de CRM a utilizar y la orina blanco sin estándares internos previamente extraída con esta metodología. Espere aproximadamente 20 minutos para que se atemperen.

7.3.4 Prepare, según corresponda, una disolución de CRM sin extraer, tomando 50 µL de la disolución de CRM de cannabinoides de 10 µg/mL en un vial ámbar silanizado de 5 mL y agregue 20 µL de estándar(es) interno(s). Esta disolución corresponde al control de arrastre en la secuencia.

7.3.5 Seque la disolución de cannabinoides con nitrógeno a temperatura ambiente, añada 100 µL de Tolueno mientras va realizando el secado. Utilice una punta de micropipeta plástica nueva por tubo si realiza el secado en el sistema de evaporación con nitrógeno. Si no dispone de puntas de micropipetas nuevas puede utilizar una pipeta pasteur de espiga corta nueva.

7.3.6 Trasvase cuantitativamente la ampolla de 1 mL de BSTFA-TMCS, a un vial de vidrio ambar silanizado de 5 mL y agregue 1 mL de Acetato de Etilo. Tape y mezcle por inversión manual. Rotule y utilice esta mezcla el mismo día de preparación.

7.3.7 Añada 200 µL de BSTFA/Acetato de Etilo (50:50) al tubo con la disolución sin extraer y a la matriz blanco previamente extraída y seca, coloque los tubos en el agitador tipo vortex por aproximadamente 20 segundos.

7.3.8 Coloque las muestras en el horno y lleve a una temperatura de 60°C por 10 minutos.

7.3.9 Deje enfriar aproximadamente 15 minutos y transvase a los insertos desactivados. Revise que en los insertos no queden burbujas.

7.3.10 Realice el análisis cromatográfico de la disolución de CRM sin extraer seguida de un blanco de corrida y la matriz blanco de orina sin estándares internos. Las matrices blanco corresponden a controles post-arrastre que se analizan antes de la secuencia con muestras reales.

7.3.11 Apruebe como perito de la Unidad de Confirmatorios y Plaguicidas, los resultados de la secuencia de verificación descrita en el punto anterior, antes de realizar el análisis de la secuencia en el equipo si se cumplen los criterios de aceptación y rechazo descritos en este procedimiento. De lo contrario realice las acciones descritas en el apartado 8. de este procedimiento.

7.4 Preparación inicial de las muestras

7.4.1 Utilice como perito encargado del análisis de datos, el SADCF para asignarse a todos los casos del Formulario "Lista de objetos de análisis por cannabinoides" e iniciar el Registro de Análisis en Serie.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 8 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

- 7.4.2** Revise, como funcionario encargado del análisis, que los objetos entregados por el encargado de la bodega de indicios correspondan a lo solicitado en el Formulario "Lista de objetos de análisis por cannabinoides". Si por alguna razón, debe entregarse un objeto diferente al solicitado o no se puede entregar ninguno de los objetos de un caso específico, indíquelo en este formulario. Reciba las muestras que va a analizar a través del SADCF.
- 7.4.3** Registre como perito encargado, cada uno de los indicios a analizar en el Registro de Análisis en serie del SADCF iniciado en el punto 7.4.1, revise que la totalidad de indicios a analizar hayan sido registrados. Imprima al menos un juego de 3 etiquetas con el número de la orden de trabajo y el número de objeto. Recuerde reembalar los tubos después del análisis.
- 7.4.4** Utilice las etiquetas generadas por el SADCF, para rotular un tubo de plástico con tapa rosca de 15 mL, un vial de vidrio ámbar silanizado para trasvasar la fase orgánica, y un vial de vidrio ámbar de 2,0 mL con tapa rosca.
- 7.4.5** Imprima etiquetas adicionales para los controles de análisis que se indican en el Formulario "Lista de objetos de análisis por cannabinoides".
- 7.4.6** Saque del refrigerador, la orina blanco requerida. Coloque las muestras de orina (blanco de matriz e incógnitas) en el agitador rotatorio y espere 20 minutos aproximadamente.
- 7.4.7** Al finalizar el análisis, entregue las muestras mediante el SADCF al funcionario de la bodega de indicios o a algún funcionario que las requiera para otro análisis. Si fuera necesario, puede dejárselas en custodia intermedia hasta que pueda entregarlas al encargado de la bodega de indicios.
- 7.5 Hidrólisis de muestras de orina:**
- 7.5.1** Agregue 20 µL del estándar interno a todos los tubos cónicos de muestras y controles.
- 7.5.2** Tome, con un equipo volumétrico adecuado, 1000 µL de cada muestra incógnita de orina o de la muestra de orina blanco según sea el caso y coloque en tubos cónicos de 15 mL.
- 7.5.3** Coloque 1 mL de muestra de orina blanco en tubo cónico de 15 mL rotulado como blanco enriquecido 1 y agregue 15 µL de la disolución de CRM de cannabinoides de 1,0 µg/mL. Este es un control positivo en la concentración del límite administrativo.
- 7.5.4** Coloque 1 mL de orina blanco en otro tubo cónico de 15 mL rotulado como blanco enriquecido 2 y agregue 30 µL de la disolución de CRM de cannabinoides de 10 µg/mL. Este es un control positivo en un nivel alto.
- 7.5.5** Coloque 1 mL de orina blanco en otro tubo cónico de 15 mL rotulado como glucorónido de 200 ng/mL y agregue 20 µL de la disolución de glucorónido de carboxy-delta-9-THC de 10 µg/mL.
- 7.5.6** Agregue 4 mL de agua desionizada a cada tubo.
- 7.5.7** Adicione 100 µL de NaOH 10N, y aplique vortex por aproximadamente 20 segundos.
- 7.5.8** Deje las muestras en reposo por 15 minutos aproximadamente.
- 7.5.9** Agregue a cada una de las muestras de orina 2 mL de ácido acético 0,1 M y 200 µL de ácido acético glacial.
- 7.6 Extracción líquido-líquido de muestras de orina:**
- 7.6.1** En una probeta de 100 mL mezcle 80 mL de hexano con 20 mL de acetato de etilo. Agregue 5 mL de la mezcla a cada tubo.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 9 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS	P-DCF-ECT-TOX-44	

- 7.6.2** Utilice el disruptor a 1000 rpm por 5 minutos, centrifugue a 1600 rpm por 5 minutos.
- 7.6.3** Transfiera con pipeta pasteur o pipeta plástica, la fase orgánica a un tubo ámbar silanizado de 5 mL. Tenga especial cuidado de no tocar la fase acuosa.
- Nota 3. Si en alguna muestra no se recupera fase orgánica, anote que la muestra es insatisfactoria para el análisis, en el Formulario "Lista de objetos de análisis por cannabinoides".
- 7.6.4** Lleve a sequedad con nitrógeno (temperatura ambiente) con cuidado de no resecar el extracto.
- 7.6.5** Reconstituya en 100 µL de BSTFA/acetato de etilo, aplique vortex por aproximadamente 20 segundos.
- 7.6.6** Derivatice en el horno a 60°C por 10 minutos.
- 7.6.7** Enfríe y trasvase a insertos desactivados en viales ámbar de autoinyector de GC/MS.
- 7.6.8** Continúe el procedimiento en el punto 7.7.5.
- 7.7 Creación de una secuencia de análisis y corrida de muestras.**
- 7.7.1** Tome en cuenta lo señalado para el análisis en serie en el Procedimiento MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE.
- 7.7.2** Elabore la secuencia iniciando con un blanco de corrida, continúe con el blanco de matriz, de aquí en adelante ponga un grupo de muestras incógnitas con blancos de corrida en entre ellas y los blancos enriquecidos 1 y 2, distribuidos entre las muestras incógnitas de manera que no queden 10 o más muestras seguidas sin controles entre ellas. Los controles externos (si están disponibles) o el control de hidrólisis, también debe distribuirlos entre las muestras procurando que quede un control al final de la secuencia.
- 7.7.3** La elaboración de la secuencia puede realizarse a través del lector de código de barras realizando la lectura de los indicios incluidos en el Formulario "Lista de objetos de análisis por cannabinoides".
- 7.7.4** Las condiciones del método "cannabis SIM DDMM_AA.M" se detallan en los Anexo 4 y 5 correspondientes a los equipos GC/MS-2 y GC/MS-3 respectivamente. Cargue el método "LIMPIEZA.M" en el último blanco de corrida de la secuencia.
- 7.7.5** Salve la secuencia de nuevo. Verifique que otro funcionario revise la secuencia antes de ponerla a correr en el equipo. Los viales deben colocarse en el mismo orden en la bandeja del automuestreador del equipo.
- 7.7.6** Si la secuencia se detiene por alguna razón y luego debe reanudarse, guarde de inmediato las muestras en congelación. Las muestras congeladas son estables al menos 24 horas.
- 7.8 Análisis de resultados por GC/MS:**
- 7.8.1** El análisis de resultados se realiza tanto en el software Chromeleon en el GC/MS-3 como en el software ChemStation en el GC/MS-2, utilizando ambas señales SIM y SCAN para identificar el analito.
- 7.8.2** Para el análisis de la señal SIM en el software Chemstation realice lo indicado en 7.8.3 a 7.8.21. Para el análisis de la señal SCAN en el software Chemstation realice lo indicado en 7.8.22 a 7.8.27.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 10 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

7.8.3 Análisis de la señal SIM en el software Chemstation:

- 7.8.4** Vaya al ícono "Load Data File", "Change Path" y busque la secuencia. Luego revise cada uno de los datos de la secuencia y verifique que el equipo los inyectó y capturó la señal.
- 7.8.5** Cuando el equipo captura la señal SIM, solo captura de 3 a 4 iones (fragmentos m/z) específicos por cada analito. Esta señal no puede utilizarse para comparación con las bibliotecas de espectros de MS.
- 7.8.6** Los blancos enriquecidos, se utilizan para calibrar el equipo antes de analizar las muestras y demás controles.
- 7.8.7** Existen tres datos que pueden ser calibrados: tiempo de retención, área del ion cuantificador e intensidad relativa de los iones calificadores. El equipo realiza una curva de calibración, en la que grafica el nivel de concentración versus el área del ion cuantificador de cada analito (response) en cada uno de los niveles de los blancos enriquecidos. Para realizar esta calibración:
- 7.8.8** Abra el software "GCMS Data Analysis" mediante el acceso directo que se encuentra en el escritorio de la computadora. Vaya al menú "Method", seleccione la opción "Load Method", y luego "Yes" en la pregunta que aparece en el centro de la pantalla, se despliega una ventana con la lista de métodos de procesamiento del equipo, seleccione el método "CANNABIS SIM orina DDMM_AA.M".
- 7.8.9** En el menú "File", del software "GCMS Data Analysis", seleccione la opción "Load data file", aparecerá una ventana donde están los cromatogramas de las últimas inyecciones corridas en el equipo. Si desea analizar resultados de otra fecha que no sea la última, seleccione el directorio de la fecha deseada (ddmmm_aa) mediante la opción "Change Path" que está en la ventana que aparece en "Load data file". Una vez ubicados los cromatogramas deseados escoja con el Mouse el correspondiente con el blanco enriquecido con el que desea calibrar el equipo y presione "OK".
- 7.8.10** Vaya luego al menú "Quantitate" del software "GCMS Data Analysis" y seleccione la opción "Calculate". Aparecerá un reporte en la pantalla donde se indica cuales analitos están siendo reconocidos y cuales no.
- 7.8.11** Si alguno de los analitos no está siendo reconocido por tiempo de retención o intensidad relativa, vaya al menú "View" del software "GCMS Data Analysis" y seleccione "QEdit Quant Result". Una nueva pantalla aparecerá. En esta pantalla se despliega la lista de los analitos del blanco enriquecido. Seleccione con clic el analito que no está siendo reconocido y podrá observar cuál(es) de los iones presenta una diferencia entre el tiempo de retención obtenido y el esperado, y/o entre las respuestas relativas obtenidas y esperadas.
- 7.8.12** Para salir del "QEdit" vaya al menú "View" y seleccione "Return to Data Analysis". Si realizó algún cambio en la integración y quiere salvarlo seleccione "Yes" a la pregunta que aparece, de lo contrario seleccione "No".
- 7.8.13** Vaya al menú "Calibrate" del software "GCMS Data Analysis" y seleccione "Update One Level". Seleccione "Yes" a la pregunta que aparece.
- 7.8.14** Aparecerá una pantalla en la que seleccione la opción "Update Level (select existing calibration level ID)". Luego marque las opciones que desea calibrar "Responses" para el área del target, "Retention time" para el tiempo de retención, "Replace Qualifier Ion Responses" para las intensidades relativas de los iones calificadores.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 11 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

- 7.8.15** Luego de un clic en "OK". Al lado derecho de la pantalla escoja con el Mouse el nivel de concentración correspondiente para el blanco enriquecido que está utilizando. De un clic en "OK".
- 7.8.16** Inmediatamente aparecerá una pantalla en la que pueden observarse los datos de tiempo de retención, intensidades relativas de los iones calificadores y la curva de calibración para el compuesto. Si está de acuerdo con los cambios realizados presione "OK" si no "Cancel" y perderá la calibración realizada.
- 7.8.17** Para imprimir el reporte vaya al menú "Quantitate" del software "GCMS Data Analysis" y seleccione "Generate Report" en la pantalla que aparece seleccione "Detailed" y "To printer".
- 7.8.18** Repita el proceso anterior para el siguiente nivel de concentración del blanco enriquecido.
- 7.8.19** Revise la curva de calibración: vaya al menú "Calibrate" del software "GCMS Data Analysis" y seleccione "Edit Compounds" en la pestaña "Calibration" aparece el gráfico y la información de la ecuación de la recta de regresión, vaya al menú "File" y seleccione "Save method".
- 7.8.20** Prosiga con el análisis del control negativo y de las muestras. En la opción "Load data file" del menú "File", en el software "GCMS Data Analysis", ubique el cromatograma deseado y escoja con el Mouse el correspondiente control negativo o muestra a analizar.
- 7.8.21** Vaya luego al menú "Quantitate" del software "GCMS Data Analysis" y seleccione la opción "Calculate". Imprima el reporte en PDF.
- 7.8.22** **Análisis de la señal SCAN en el software Chemstation:**
- 7.8.23** Ingrese en el menú "File", seleccione la opción "Load data file", aparecerá una ventana donde están los cromatogramas de las últimas inyecciones corridas en el equipo. Si desea analizar resultados de otra fecha que no sea la última, seleccione el directorio de la fecha deseada (ddmmmaa) mediante la opción "Change Path" que está en la ventana mencionada.
- 7.8.24** Seleccione la señal SCAN, vaya al menú "File" y seleccione "Select Signals", aparecen dos opciones "data.ms" y "datasim.ms" seleccione solo "data.ms".
- 7.8.25** Vaya a select library, verifique que las bibliotecas seleccionadas en el método sean las siguientes: Mass Spectra of DESIGNER DRUGS 2018 con "limit match search" de 80, NIST 2020 Mass Spectral Library con "limit match search" de 20 y SWGDRUG Mass Spectra Library.
- Nota 4. Cuando se analiza la señal SCAN, es necesario imprimir la comparación con la biblioteca, si lo que desea es obtener un espectro de masas y una comparación con las bibliotecas del analito que no se identifica bien en SIM, porque las intensidades relativas de los iones no cumplen con las ventanas de variación establecidas (ej. en muestras muy concentradas, por la presencia de algún interferente, etc.)
- 7.8.26** Busque el analito en su tiempo de retención característico y cargue su espectro de masa dando doble clic derecho con el Mouse en el pico. Vuelva a dar clic derecho sobre el espectro de masas que aparece, de inmediato se realiza una búsqueda en las bibliotecas de espectro del pico seleccionado y aparecen una lista de posibles aciertos, cada uno con un "match" que indica que tanto se aparece al espectro de la biblioteca. Este valor va de 0 a 100, donde 100 es un espectro idéntico al de la biblioteca.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 12 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

7.8.27 Un "match" que este arriba del 90 % significa que el espectro de masas es muy similar y muy probablemente se trata de la sustancia identificada. Sin embargo, para establecer la identidad de la sustancia es necesario obtener una coincidencia en el tiempo de retención y espectro de masas con el analito en el blanco enriquecido.

7.8.28 Siga lo indicado en 7.8.29 a 7.8.35. para el análisis de la señal SIM en el software Chromeleon. Para el análisis de la señal SCAN en el software Chromeleon refiérase a los puntos 7.8.39 a 7.8.42.

7.8.29 Análisis de la señal SIM en el software Chromeleon:

7.8.30 Refiérase al Procedimiento para el "USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS THERMO (GC/MS-3)" y a "QUICK START GUIDE" del Software Chromeleon, para el análisis de datos de la señal SIM en el software Chromeleon.

Nota 5. Después de finalizada una secuencia de análisis, los datos son procesados en la ventana "Studio" y guardados en el "Processing method".

7.8.31 Abra la ventana "Studio" desde la consola, dando doble clic en cualquier objeto en la secuencia o clic en el botón "Studio".

7.8.32 Refiérase al punto 7.9.6 a 7.9.13 del procedimiento: el "USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS THERMO (GC/MS-3)", para la detección e integración automática o manual de los picos cromatográficos.

7.8.33 Realice la calibración de los analitos con los blancos enriquecidos, se requieren los siguientes pasos:

- Definir en la secuencia de análisis las inyecciones que son "Calibration Standards"
- Asignar los niveles de calibración a esos "Calibration Standards"
- Ingresar la cantidad o concentración de los "Calibration Standards"
- Revisar la curva de Calibración

7.8.34 Refiérase al punto 7.9.17 del procedimiento: el "USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS THERMO (GC/MS-3)" para realizar cada uno de los pasos indicados previamente.

7.8.35 Refiérase al punto 7.9.14 y 7.9.15 del procedimiento: el "USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS THERMO (GC/MS-3)", para modificaciones en la intensidad relativa de los iones calificadores y las ventanas de tolerancia permitidas para estos iones en una secuencia de análisis.

7.8.36 Utilice la plantilla de reporte de drogas abuso, ya personalizada e incluida en el "processing method" para el reporte de los resultados.

7.8.37 Elija "Report Designer" en la barra de categorías, seleccione la inyección que se requiere imprimir en el panel de navegación. En el menú Studio elija "Print" aparecen 3 opciones, clic nuevamente en "Print", se abre una tabla con opciones en la parte superior para imprimir en PDF ya sea la inyección señalada o imprimir toda la secuencia.

7.8.38 Elija con un check cuales hojas de reporte se imprimirán (calibración, integración, componentes de la secuencia) entre otros.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 13 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

7.8.39 Análisis de la señal SCAN en el software Chromeleon:

7.8.40 Refiérase al punto 7.9.20 del Procedimiento para el "USO Y MANEJO DE CROMATÓGRAFOS DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS THERMO (GC/MS-3)", para el análisis de datos de la señal SCAN en el software Chromeleon.

7.8.41 Busque comparaciones espectrales contra las bibliotecas almacenadas en el equipo: vaya al panel "Data Processing Home" y active las pestañas "Results" en "Presets", y "Chromatogram" en "Panels", y en el panel de navegación en "Channels" seleccione "TIC", de clic en el gráfico del cromatograma, de clic derecho sobre el pico cromatográfico, le aparecerá la opción "Find Spectrum in Library", ingrese a esa opción y encontrará una tabla con "hits", índices de similitud y porcentajes de probabilidad.

7.8.42 Confirme la identidad de una sustancia, con una "Prob (%)" que este arriba del 90 % significa que el espectro de masas es muy similar y muy probablemente se trata de la sustancia identificada; sin embargo, es necesario obtener una coincidencia en el tiempo de retención y espectro de masas con el analito en el blanco enriquecido para establecer la identidad de la sustancia. Ver Procedimiento MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE.

7.8.43 Defina como resultado positivo por cannabinoides en orina, la señal que cumpla con los siguientes criterios:

- Tiempo de Retención (TR) con variación menor a 1,0% con respecto al TR de ese mismo analito en los blancos enriquecidos.
- Concentración igual o superior al límite administrativo de 15 ng/mL.
- Que esté presente el ion cuantificador designado para ese analito y al menos tres iones calificadores.
- Las intensidades relativas de los iones calificadores no deben presentar mayor variabilidad que los criterios aceptados en el Procedimiento MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE.

7.8.44 Finalice como perito encargado del análisis de datos, el llenado del formulario "Lista de objetos de análisis por cannabinoides" con los resultados obtenidos en cada una de las muestras y cualquier observación que considere necesaria para alguna de las muestras o controles, firmelo y guárdelo en la unidad de red compartida destinada para el respaldo de los análisis en serie de la Unidad de Confirmatorios y Plaguicidas.

7.8.45 Retire los viales de la bandeja del automuestreador para su posterior descarte.

Nota 6. El revisor del Registro de Análisis en Serie en el SADCF, es el encargado de verificar la transferencia de datos en este formulario.

8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados:

No.	Criterio de Aceptación	Valor Límite	Corrección Aplicable
1	Que no se detecte el analito con una respuesta igual o superior al Límite administrativo en el blanco de muestra posterior al control de arrastre.	El analito cumpla con los criterios señalados en 7.8.43.	Cambie el liner del equipo independientemente del número de inyecciones acumulado, reinyecte el control de arrastre y el blanco de matriz posterior al control de arrastre. Si no se

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 14 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

			corrige el arrastre, cambie los viales de lavado de la jeringa, realice al menos 3 lavados a la jeringa en cada vial de lavado. Corra un blanco de acetato de etilo con el método de limpieza. Si el problema persiste comuníquelo al Líder Técnico.
2	Que se detecte el estándar interno en la muestra incógnita	El estándar interno cumpla con los criterios de identificación de la metodología.	Ver Procedimiento MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE.
3	Que en el blanco de muestra se detecte únicamente el estándar interno y que no se detecte el analito.	Que no se detecte el compuesto en una concentración igual o por encima del LA y que se detecte el estándar interno.	Repita la extracción de las muestras. Si el estándar interno no se detectó, busque una muestra incógnita negativa con estándar interno que valide que no hay contaminación en las muestras.
4	Que esté presente el analito en el blanco de matriz enriquecido, en las diferentes concentraciones preparadas.	Que el analito cumpla con los criterios señalados de 7.8.43.	Debe repetir la extracción de las muestras de orina.
5	Que los picos cromatográficos para el analito sean integrados automáticamente, según los parámetros de integración del método, salvo situaciones justificadas.	No aplica.	En algunos casos puede realizarse una integración manual del pico cromatográfico iniciando en un extremo de la base del pico y finalizando en el otro extremo.

9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

- 9.1** Esta metodología es de carácter cualitativo por esta razón no aplica la evaluación de la incertidumbre.
- 9.2** El software automáticamente grafica una recta de regresión lineal usando las concentraciones de los dos blancos enriquecidos analizados. El área del pico del analito es corregida dividiendo el área del pico de la sustancia entre el área del pico del estándar interno.
- 9.3** Se obtiene una concentración aproximada mediante despeje en la ecuación de una recta de regresión lineal para patrones con concentraciones de cannabinoides de entre 15 y 300 ng/mL, tal y como se muestra a continuación:

$$C_x = \frac{\left(\frac{A_x}{A_{IS}}\right) - b_x}{m_x}$$

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 15 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Donde:

C_x = Concentración del analito en ng/mL

A_x = Área del pico para el analito (abundancia)

A_{IS} = Área para el estándar interno (abundancia)

b_x = Intercepto de la curva de calibración para el analito

m_x = Pendiente de la curva de calibración para el analito

10 Reporte de Análisis y Resultados:

- 10.1 Para el reporte de los resultados, tome en cuenta los criterios generales para la identificación y reporte de sustancias indicados en el PON MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE.
- 10.2 Si se tiene un resultado "Se detectó" en los análisis preliminares o presuntivos se debe utilizar el "Listado de tipos de caso de la Sección de Toxicología" para proceder a realizar o no la confirmación de cannabinoides.
- 10.3 Con el análisis confirmatorio, un resultado igual o por encima del límite administrativo establecido en orina, permite afirmar que el organismo del individuo estuvo expuesto a la droga.
- 10.4 En el dictamen criminalístico se reportan resultados cualitativos como "Se detectó" si el analito se encuentra igual o por encima del límite administrativo establecido.
- 10.5 Los casos con resultados "Se detectó" o "No se detectó" se reportan como tales en el SADCF y en el Dictamen Criminalístico.

11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

- 11.1 Los tubos con muestras deben transportarse dentro del laboratorio en las gradillas destinadas para este uso.
- 11.2 Las muestras deben manipularse con todos los cuidados que requieren las muestras de origen biológico. Utilice siempre gabacha, anteojos de seguridad y guantes desechables al manipular las muestras.
- 11.3 No abra ningún recipiente con disolventes volátiles fuera de la capilla de extracción de gases.
- 11.4 Si ocurre un derrame de algún reactivo refiérase al Manual de Seguridad y Salud Ocupacional del Departamento de Ciencias Forenses.
- 11.5 Informe cualquier accidente donde se presuma contacto con material bioinfeccioso al Jefe de Sección o quién este encargado del laboratorio en ese momento para que se le indique el procedimiento a seguir.
- 11.6 Si ocurre contacto de algún reactivo con los ojos, acuda inmediatamente a la ducha para ojos que se encuentra en el laboratorio.
- 11.7 Si ocurre algún derrame importante de disolventes o ácido en la ropa o la piel utilice la ducha que se encuentra en el laboratorio.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 16 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

11.8 Siempre que salga del área de laboratorios, deseche los guantes, lávese las manos y deje la gabacha en la entrada de éste.

12 Simbología:

BSTFA-TMCS:	bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida con trimetilclorosilano al 1%.
CRM:	material de referencia certificado.
% CV:	coeficiente de Variación Porcentual.
DCF:	Departamento de Ciencias Forenses.
DDMMM_AA:	se refiere a día mes y año, como por ejemplo 07DIC_06.
GC:	cromatógrafo de gases.
GC/MS:	cromatografía de gases con detector de masas.
LA:	límite administrativo.
MS:	espectrometría de masas.
m/z:	relación masa/carga de los iones.
N/A:	no aplica.
O.I.J:	Organismo de Investigación Judicial.
p.a.:	calidad para análisis o calidad reactivo.
p.a.r.:	calidad para análisis de residuos o calidad cromatográfica.
PDF:	Formato de Documento Portátil.
PON:	Procedimiento de Operación Normado.
RAS:	Registro de Análisis en Serie.
rpm:	revoluciones por minuto.
SADCF:	Sistema Automatizado del Departamento de Ciencias Forenses.
SCD:	Solicitud Cambio Documental.
SIM:	Monitoreo de Ion Selectivo.
TR:	Tiempo de Retención.

13 Terminología:

Analito: sustancia o compuesto que se desea determinar.

Blanco de corrida: consiste en la inyección de disolvente en un sistema cromatográfico para evidencia ausencia de sustancias.

Blanco de matriz: contiene matriz blanco, además de todos los reactivos utilizados en la preparación, extracción, dilución o derivatización de las muestras. Se nombra según la matriz que contiene (blanco de orina).

Blanco enriquecido de matriz: corresponde a un control preparado utilizando matriz blanco y enriquecido con el analito, al que se aplican todos los procesos de una muestra incógnita o real (preparación, extracción, dilución o derivatización). Se nombra según la matriz que contiene (blanco enriquecido de orina).

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 17 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Control de arrastre (en análisis cualitativos): Disolución de CRM de una concentración alta del analito (por ejemplo, aproximadamente de 10 a 30 veces el LA), que se inyecta en el equipo antes de un control negativo para demostrar que no hay arrastre.

Control de Hidrólisis: Patrón de Glucorónido de algún compuesto de interés que se utiliza para verificar la hidrólisis de los metabolitos glucorónidos presentes en las muestras de orina.

Estándar interno: sustancia de comportamiento similar a los analitos de interés que se agrega a todas las muestras y controles para asegurar que no se den pérdidas de analitos durante el proceso de análisis.

Disolución de CRM: Corresponde a una disolución de un CRM que contiene uno o varios analitos.

Material de referencia certificado (CRM) en matriz: Material de referencia certificado comercial en matriz que tiene una concentración esperada del analito en la matriz y una incertidumbre asociada o rango aceptable.

Muestra incógnita o real: muestra de orina, que se desea analizar por cannabinoides.

Límite administrativo: Límite de corte definido administrativamente o concentración que está en o sobre el límite de detección o de cuantificación del método y es usado para discriminar entre resultados positivos y negativos.

14 Anexos

No. de Anexo	Nombre del Anexo
1	Preparación de reactivos.
2	Parámetros de identificación de los cannabinoides en el límite administrativo
3	Resumen de los resultados de la validación de cannabinoides
4	Condiciones del método de cannabinoides por GC/MS-2
5	Condiciones del método de cannabinoides por GC/MS-3

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 18 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Anexo 1

PREPARACION DE REACTIVOS

Ácido acético 1,0 M:

En una probeta de 500 mL, agregue a 400 mL de agua desionizada, 28,6 mL de ácido acético glacial p.a.

Lleve a 500 mL con agua desionizada. Agite manualmente y transfiera a un recipiente de vidrio o plástico. Coloque la etiqueta diseñada para reactivos preparados y llene la información requerida Es estable al menos 6 meses después de preparado.

Ácido acético 0,1 M:

En una probeta de 500 mL, agregue 40 mL de Ácido Acético 1,0 M y lleve a 400 mL con agua desionizada, agite manualmente y transfiera a un recipiente de vidrio o plástico. Es estable a temperatura ambiente hasta por seis meses.

Disolución de Glucoronido de carboxy-delta-9-THC de 10 µg/mL:

Siga el mismo procedimiento descrito en la preparación de la disolución de CRM de cannabinoides de 10 µg/mL. Anote la información necesaria en el Formulario "Registro de uso y preparación de disoluciones madre individuales". Conserve en congelación hasta por 1 año.

Hidróxido de Sodio 10N:

Pese 40 gramos de hidróxido de sodio p.a. en un beaker de 250 mL de capacidad. Adicione con una probeta 90 mL de agua desionizada y agite en el agitador magnético hasta disolver. Trasvase a un balón de 100 mL y afore.

Coloque la etiqueta diseñada para reactivos preparados y llene la información requerida.

Almacene en botella de plástico a temperatura ambiente, es estable 6 meses después de preparado.

Disolución de cloro al 0,5 %:

Verifique en la etiqueta de la disolución de cloro concentrada que se adquiere comercialmente la concentración de esta. Determine el volumen que necesita de la disolución de cloro concentrada para preparar el volumen requerido de la disolución de cloro al 0,5%, utilizando la siguiente fórmula:

$$(Cd) \times (Vd) = (Cc) \times (V)$$

despejando se obtiene:

$$(V) = (Cd) \times (Vd) / (Cc)$$

donde:

(CD): Concentración deseada, 0,5%.

(Vd): Volumen requerido de la disolución de la concentración deseada a preparar.

(Cc): Concentración conocida de la disolución de cloro concentrada que se adquiere comercialmente.

(V)= Volumen en mililitros de la disolución de cloro concentrada que se adquiere comercialmente de concentración conocida.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 19 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Utilice una probeta adecuada al volumen a medir, adicione el volumen de la disolución de cloro concentrada adquirida comercialmente(V) al recipiente que va a contener la disolución de cloro al 0,5 % (ejemplo: el recipiente puede ser una pizeta de 500mL, Vd= 500 mL). Utilizando una probeta adecuada al volumen a medir, adicione el volumen de agua desionizada necesario para completar el volumen de la disolución de cloro al 0,5 % deseado. Agite suavemente por inversión manual.

Coloque la etiqueta diseñada para reactivos preparados y llene la información requerida. Almacene a temperatura ambiente. Esta disolución es estable al menos por 1 mes.

Disolución de CRM de cannabinoides de 10 µg/mL:

Tome con micropipeta 50 µL de la disolución madre de cada analito de 1 mg/mL. Deposítelos en un balón aforado de 5 mL. Afore con metanol.

Trasvase a un vial de 5 mL ámbar silanizado con tapa con teflón. Rotule con el código alfanumérico consecutivo, la concentración, disolvente, fecha e iniciales del responsable. Conserve en congelación hasta por 1 año.

Disolución de CRM de cannabinoides de 1 µg/mL:

Para preparar las disoluciones de los analitos de 1 µg/mL tome con micropipeta 500 µL de la disolución de 10 µg/mL. Deposítelos en un balón aforado de 5 mL. Afore con metanol.

Trasvase a un vial de 5 mL ámbar silanizado con tapa con teflón. Rotule con el código alfanumérico consecutivo, la concentración, disolvente, fecha e iniciales del responsable. Conserve en congelación hasta por 1 año.

Disolución de carboxy-delta-9-THC-D3 de 2 µg/mL:

Saque del congelador el CRM de carboxy-delta-9-THC-D3. Colóquela en la capilla de extracción y espere a que alcance temperatura ambiente. Pésela en la balanza analítica y anote la información necesaria en el Formulario "Registro de uso y preparación de disoluciones madre individuales".

Determine el volumen que necesita de la disolución madre para preparar el volumen requerido de la disolución de 2 µg/mL (normalmente se trata de un volumen de 10 µL si la solución madre es de 1 mg/mL). Deposítelos en un balón aforado de 5 mL.

Afore con metanol. Trasvase a un vial de 5 mL ámbar silanizado con tapa con teflón. Rotule con el código alfanumérico consecutivo, la concentración, disolvente, fecha e iniciales del responsable. Conserve en congelación hasta por 1 año.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 20 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS	P-DCF-ECT-TOX-44	

Anexo 2

Cuadro 1. Parámetros de identificación de cannabinoides en el límite administrativo

Equipo GC/MS-2:

ANALITO	TIEMPO DE RETENCION (minutos)	ION CUANTIFICADOR	IONES CALIFICADORES	INTENSIDAD RELATIVA (%)
carboxy-delta-9-THC	7,0	371,3	488,3	17
			473,3	30
			474,3	12
			372,3	32
carboxy-delta-9-THC-D3	7,0	374,3	476,3	26

Equipo GC/MS-3:

ANALITO GC/MS-3	TIEMPO DE RETENCION (minutos)	ION CUANTIFICADOR	IONES CALIFICADORES	INTENSIDAD RELATIVA (%)
carboxy-delta-9-THC	6,0	371,3	488,3	22
			473,3	36
			474,3	15
			372,3	36
carboxy-delta-9-THC-D3	6,0	374,3	476,3	30

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 21 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Anexo 3

Cuadro 2. Resumen de los resultados de la validación de los cannabinoides

Parámetro de Validación	Resultado Obtenido
Arrastre	No se presentó arrastre posterior a la inyección de una disolución con alta concentración del analito.
Interferencias	No se evidencian interferencias en el analito, ni por matriz, ni debido al estándar interno ni por la presencia de otros grupos de drogas.
Límite de detección	Límite administrativo 15 ng/mL para carboxy-delta-9-THC.
Estabilidad de las muestras	A las 12 horas en el automuestreador, el analito carboxy-delta-9-THC mostró una respuesta con una variabilidad dentro de $\pm 20\%$ de la respuesta de este analito en el tiempo cero (recién fortificado).
Precisión en los parámetros de Identificación	Se obtuvieron CV% menores al 1% en el tiempo de retención del analito y del estándar interno en baja y alta concentración, además la intensidad relativa de los iones calificadores cumple con lo establecido en el Procedimiento de MANEJO GENERAL DE CASOS EN LA SECCIÓN DE TOXICOLOGIA FORENSE.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 22 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Anexo 4

CONDICIONES DEL MÉTODO DE CANNABINOIDES POR GC-MS

INSTRUMENT CONTROL PARAMETERS: GCMS-2

D:\GC-MS 5977A\Method\Cannabis SIM 13nov_23.M
Mon Jan 29 15:50:40 2024
Control Information

Sample Inlet : GC
Injection Source : External Device
Mass Spectrometer : Enabled
Injection Location: Front
No Sample Prep method has been assigned to this method.

GC
GC Summary
Run Time 10.083 min
Post Run Time 1 min

Oven

Temperature
Setpoint On
(Initial) 120 °C
Hold Time 0.5 min
Post Run 325 °C
Program
#1 Rate 30 °C/min
#1 Value 280 °C
#1 Hold Time 2 min
#2 Rate 20 °C/min
#2 Value 325 °C
#2 Hold Time 0 min

Equilibration Time 0.5 min
Max Temperature 325 °C
Maximum Temperature Override Disabled
Slow Fan Disabled
Front SS Inlet He
Mode Pulsed Splitless
Heater On 240 °C
Pressure On 16.654 psi
Total Flow On 54.8 mL/min
Septum Purge Flow On 3 mL/min
Gas Saver Off

Injection Pulse Pressure 25 psi Until 0.4 min

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

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 23 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Purge Flow to Split Vent 50 mL/min at 0.75 min
 Liner Agilent 5190-2293: 900 µL (Splitless, single taper, ultra inert)
 Thermal Aux 2 (MSD Transfer Line)
 Temperature
 Setpoint On
 (Initial) 280 °C
 Post Run 0 °C

Column

Column #1
 Flow
 Setpoint On
 (Initial) 1.8 mL/min
 Post Run -1.3784 mL/min
 Agilent 122-5512UI: 02
 DB-5ms Ultra Inert
 0 °C—325 °C (350 °C): 15 m x 250 µm x 0.25 µm

Column lock Locked
 In Front SS Inlet He
 Out Aux EPC 3
 (Initial) 120 °C
 Pressure 16.654 psi
 Flow 1.8 mL/min
 Average Velocity 46.609 cm/sec
 Holdup Time 0.53637 min

Column #2
 Flow
 Setpoint On
 (Initial) 3 mL/min
 Post Run 5.1656 mL/min
 Agilent 160-2625-10
 Ret Gap 0.15 mm
 0 °C—325 °C (325 °C): 0.65 m x 150 µm x 0 µm
 Column lock Locked
 In Aux EPC 3 He
 Out MSD
 (Initial) 120 °C
 Pressure 3.8901 psi
 Flow 3 mL/min
 Average Velocity 442.51 cm/sec
 Holdup Time 0.0024482 min
 Column Outlet Pressure 0 psi
 Aux EPC 1,2,3
 Aux EPC 1 He
 Pressure
 Setpoint Off
 (Initial) 10 psi
 Post Run 0 psi

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 24 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Excluded from Affecting GC's Readiness State

Aux EPC 2 He
Pressure
Setpoint Off
(Initial) 1.4765 psi
Post Run 0 psi
Excluded from Affecting GC's Readiness State

Aux EPC 3 He
Excluded from Affecting GC's Readiness State
Aux EPC 3 He Supplies Column 2
Signals
Signal #1: Test Plot
Description Test Plot

Details
Save Off
Data Rate 50 Hz
Dual Injection Assignment Front Sample
Signal #2: Test Plot
Description Test Plot

Details
Save Off
Data Rate 50 Hz
Dual Injection Assignment Back Sample
Signal #3: Test Plot
Description Test Plot

Details
Save Off
Data Rate 50 Hz
Dual Injection Assignment Back Sample
Signal #4: Test Plot
Description Test Plot

Details
Save Off
Data Rate 50 Hz
Dual Injection Assignment Back Sample

GERSTEL MAESTRO

SYSTEM SETTINGS
Maestro Runtime : 11.08 min
GC Cool Down Time : 4.00 min
GERSTEL MPS PREP
Sample Prep : not used
GERSTEL MPS Liquid Injection
Syringe : 10ul

SAMPLE PARAMETERS

Sandwich : not used
Inj. Volume : 2.0 uL

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 25 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Air Volume below : 0.0 uL
 Inj. Speed : 50.00 uL/s
 Fill Volume : 5.0 uL
 Fill Strokes : 1
 Fill Speed : 5.00 uL/s
 Viscosity Delay : 0 s
 Eject Speed : 50.00 uL/s
 Pre Inj. Delay : 0 s
 Post Inj. Delay : 0 s
 Inj. Penetration : 40.00 mm
 Sample Tray Type : VT98
 Vial Penetration : 27.00 mm

CLEANING PARAMETERS

Preclean Sample : 0
 Wash Station 1 : Wash1
 Preclean Solv.1 : 2
 Postclean Solv.1 : 2
 Fill Speed Solv.1 : 5.00 uL/s
 Viscosity Delay Solv.1 : 0 s
 Eject Speed Solv.1 : 50.00 uL/s
 Wash Station 2 : Wash2
 Preclean Solv.2 : 2
 Postclean Solv.2 : 2
 Fill Speed Solv.2 : 5.00 uL/s
 Viscosity Delay Solv.2 : 0 s
 Eject Speed Solv.2 : 50.00 uL/s

TUNE PARAMETERS for SN: US1450M411

 Trace Ion Detection is ON.
 EMISSION : 34.593
 ENERGY : 70.007
 REPELLER : 3.889
 IONFOCUS : 89.822
 ENTRANCE_LENS : 12.582
 EMVOLTS : 1708.295
 Actual EMV : 1778.4
 GAIN FACTOR : 0.89
 AMUGAIN : 1262.000
 AMUOFFSET : 123.250
 FILAMENT : 1.000
 DCPOLARITY : 1.000
 ENTLENSOFFS : 14.768
 ION BODY: 5.001
 EXTLENS: 0.503
 MASSGAIN : -612.000
 MASSOFFSET : -35.000
 END OF TUNE PARAMETERS

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 26 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Single Quadrupole Acquisition Method - MS Parameters Report

Method file D:\GC-MS 5977A\Method\Cannabis SIM 13nov_23.M

Tune file etune.u

Ion source: EI
 Source temperature (°C) 300
 Quad temperature (°C) 150
 Fixed Electron energy (eV) 70.0
 Acquisition Type SIM/Scan
 Stop time (min) 650.00
 Solvent delay (min) 5.00
 Trace Ion Detection True
 Gain Factor 8
 EM Saver True
 EM Saver Limit 100000000
 Scan Time Segments

Time	Start Mass	End Mass	Threshold	Scan Speed
5.00	40	500	150	1,562 [N=2]

 Timed Events
 Time Type of Event Parameter
 Real-Time Plots

Type of Plot	Label	Low Mass	High Mass
Total Ion	N/A	N/A	N/A
Spectrum	N/A	N/A	N/A
Extracted Ion Scan 1-1		50	550

SIM Time Segment 3

Group Name carboxy-delta-9THC-COOH D3

Start Time

Resolution High

Detector EMV Override

Ion mass-to-charge	Dwell time (ms)	Plot This Ion?	Label
371.3	40	YES	
488.3	40	NO	
374.3	40	YES	
473.3	40	NO	
372.3	40	NO	
474.3	40	NO	
476.3	40	NO	

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 27 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

Anexo 5

CONDICIONES DEL MÉTODO DE CANNABINOIDES POR GC-MS

INSTRUMENT CONTROL PARAMETERS: GCMS-3

Instrument Method: CANNABIS SIM 13-11-23

Last Update Operator: ISQ7000

Run time 11.080 [min]
Instrument ISQ7N2001018 on isq7n2001018
Created 9/3/2021 8:22:49 AM -06:00 ISQ7000
Last Update 1/10/2024 9:43:17 AM -06:00 ISQ7000

GC.FrontInlet.FlowMode	FlowCtrl
Sampler.DrawSpeed	Fast
Sampler.FillStrokes	5
Sampler.AirVolume	1.00 [µl]
Sampler.SampleDepth	Bottom
Sampler.GcType	TRACE_1300_1
	310
Sampler.PostWash	3
Sampler.PostWashVial	B
Sampler.SampleWash	1
Sampler.PreWash	3
Sampler.PreWashVial	A
GC.PrepRunTimeout	10.00 [min]
GC.EquilibrationTime	0.10 [min]
GC.ReadyDelay	0.10 [min]
GC.SendParametersOnly	Disabled
GC.FrontInlet.SplitMode	SplitlessWithSurge
GC.FrontInlet.SplitFlow.Nominal	50.0 [ml/min]
GC.FrontInlet.SplitFlowCtrl	On
GC.FrontInlet.SplitlessTime	0.75 [min]
GC.FrontInlet.PurgeFlow.Nominal	3.000 [ml/min]
GC.FrontInlet.PurgeFlowCtrl	On
GC.FrontInlet.ConstSeptumPurge	On
GC.FrontInlet.PulsePressure	172.00 [kPa]
GC.FrontInlet.PulseTime	0.40 [min]
GC.FrontInlet.VacuumCorrection	On
GC.FrontInlet.GasSaverFlow	25.0 [ml/min]
GC.FrontInlet.GasSaverTime	1.50 [min]
GC.FrontInlet.GasSaverCtrl	On

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 28 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

GC.FrontInlet.Temperature.Nominal	240 [°C]
GC.FrontInlet.TempCtrl	On
GC.FrontInlet.FlowCtrl	On
GC.TempCtrl	On
Sampler.PreInjDelayTime	0.1 [s]
Sampler.PostInjDelayTime	0.0 [s]
Equilibration	
0.000	
GC.FrontInlet.Flow.Nominal	1.800 [ml/min]
GC.Temperature.Nominal	120.0 [°C]
Inject	
Preparation	
0.000	
Wait	MSDevice.Ready And Sampler.Ready And GC.Ready
Inject	
0.000	
Sampler.Inject	
Run	Duration = 11.080 [min]
0.000	
0.500	
GC.Temperature.Nominal	120.0 [°C]
5.833	
GC.Temperature.Nominal	280.0 [°C]
7.833	
GC.Temperature.Nominal	280.0 [°C]
10.083	
GC.Temperature.Nominal	325.0 [°C]
Stop Run	
11.080	
GC.FrontInlet.Flow.Nominal	1.800 [ml/min]
MSDevice.StopAcquisition	

End

Property	Value
General Settings	
Method Type	Acquisition - Timed
MS Transferline Temperature	280 °C
Ion Source Temperature	230 °C
Use Acquisition Threshold	No
Ionization Mode	EI
Run Completion Type	GC Run Time
Positive Tune File	AutoTune_EI
Use Tune File Emission Current	Yes
Use Last Tuned Detector Gain	No

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 29 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS		P-DCF-ECT-TOX-44

DetectorGain	False
Q1 Resolution	Normal
Min Baseline Peak Width	3 sec.
Desired Scans Per Peak	10
Resulting Total Scan Time	0.3 sec.
SRM/SIM Time	0.2125966666666667 sec.
Full Scan Time	0.08333333333333333 sec.
Min Dwell Time	0.01763 sec.
Use Full Scan	Yes
Full Scan Mass Range	40 - 570 amu
Full Scan Start Time	3 min.
Full Scan End Time	14.25 min.
Allow for Asymmetric Acquisition Windows	No
Scan Event Type	SIM

Compound: 10	
Compound Name	COOH Delta 9 THC
Retention Time	6.75 min.
Polarity	Positive
Window	1 sec.
SIM Mass	371.3 amu

Compound: 11	
Compound Name	COOH Delta 9 THC
Retention Time	6.75 min.
Polarity	Positive
Window	1 sec.
SIM Mass	474.3 amu

Compound: 12	
Compound Name	COOH Delta 9 THC D3
Retention Time	6.75 min.
Polarity	Positive
Window	1 sec.
SIM Mass	374.3 amu

Compound: 13	
Compound Name	COOH Delta 9 THC
Retention Time	6.75 min.
Polarity	Positive
Window	1 sec.
SIM Mass	473.3 amu

Compound: 14	
Compound Name	COOH Delta 9 THC D3

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 02	PAGINA: 30 de 30
DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE CANNABINOIDES EN MATRICES BIOLÓGICAS POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y GC/MS	P-DCF-ECT-TOX-44	

Retention Time 6.75 min.
Polarity Positive
Window 1 sec.
SIM Mass 476.3 amu

Compound: 15
Compound Name COOH Delta 9 THC
Retention Time 6.75 min.
Polarity Positive
Window 1 sec.
SIM Mass 488.3 amu

Compound: 16
Compound Name COOH Delta 9 THC
Retention Time 6.75 min.
Polarity Positive
Window 1 sec.
SIM Mass 372.3 amu

COPIA NO CONTROLADA