

Recibido: 9 de Marzo de 2015. Aceptado: 31 de Marzo de 2015

Análisis de cocaína en diferentes muestras por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (CG-FID)

Resumen

En este estudio se realizó la validación de los métodos establecidos por la UNODC para la cuantificación y extracción de benzometilecgonina (cocaína) presente en las hojas de *Erythroxylum coca*, en té de coca y en clorhidrato de cocaína. El primer método de extracción, recomendado por la UNODC, es una extracción sólido-líquido (ESL), sin embargo, los resultados obtenidos indican que esta no es lo suficientemente eficiente para lograr una señal de analito distinguible de la relación señal a ruido (S/N) para las muestras de hojas de *Erythroxylum coca* y té de coca. El segundo método propuesto es la extracción soxhlet, los resultados indican que esta resulta más eficiente para aislar y cuantificar el analito de interés por cromatografía de gases acoplada a un detector de ionización por llama (CG-FID). Después de someter las muestras al proceso de extracción soxhlet y cuantificación por CG-FID se encontró que la hoja de té posee $7,66 \times 10^2$ mg de cocaína/kg de muestra, las hojas de coca 17,15 mg de cocaína/kg de muestra y el clorhidrato de cocaína $7,15 \times 10^5$ mg de cocaína/kg de muestra. El método de análisis escogido se caracteriza por arrojar bajos límites de detección (0,169 mg/L) y por poseer parámetros estadísticos y cromatográficos ideales.

Palabras claves: *Erythroxylum coca*, cromatografía de gases con detector de ionización de llama (CG/FID), benzoilmetilecgonina (cocaína), extracción soxhlet.

Analysis of cocaine in different samples by gas chromatography flame ionization detector (GC-FID)

Abstract

In this study validate the methods established by the UNODC for quantification and extraction benzometilecgonina (cocaine) in the leaves of *Erythroxylum coca*, coca tea and cocaine hydrochloride. The first extraction method recommended by the UNODC is a solid-liquid extraction (ESL), however, the results indicate that this is not efficient enough to achieve analyte signal distinguishable from the signal to noise ratio (S/N) for samples *Erythroxylum coca* leaves and coca tea. The second proposed method is soxhlet extraction, the results indicate that this is more efficient to isolate and quantify the analyte of interest by gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-FID). After submitting the samples to the soxhlet extraction process and quantification by GC-FID it found that tea leaf has 7.66×10^2 mg of cocaine/kg sample, coca leaves 17.15 mg of cocaine/kg sample and cocaine hydrochloride concentration corresponded to 7.15×10^5 mg of cocaine/kg sample. The chosen analysis method is characterized by low detection limits shed (1.69 mg/L) and possessing ideal chromatographic and statistical parameters.

Keywords: *Erythroxylum coca*, gas chromatography with flame ionization detector (GC/FID), benzoilmetilecgonina (cocaine), soxhlet extraction.

Análise de cocaína em diferentes amostras por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID)

Resumo

Neste estudo validaram-se os métodos estabelecidos pelo UNODC para a quantificação e extração de benzometilecgonina (cocaína) nas folhas de *Erythroxylum coca*; em chá de coca e cloridrato de cocaína. O primeiro método de extração recomendado por UNODC é uma extração sólido-líquido (ESL), no entanto, os resultados indicam que esta não é suficientemente eficaz para atingir um sinal de analito distinguível da relação sinal-ruído (S/N) para amostras de folhas *Erythroxylum coca* e chá de coca. O segundo método proposto é uma extração soxhlet, os resultados indicam que este é mais eficiente para isolar e quantificar o analito de interesse por cromatografia gasosa acoplada a um detector de ionização de chama (GC-FID). Depois de enviar as amostras para o processo de extração soxhlet e quantificação por GC-FID descobriu-se que as folhas de chá têm $7,66 \times 10^2$ mg de cocaína/kg de amostra, as folhas de coca 17,15 mg de cocaína/kg de amostra e o cloridrato de cocaína $7,15 \times 10^5$ mg de cocaína/kg de amostra. O método de análise escolhido é caracterizado por ter baixos limites de detecção (1,69 mg/L) e possuir parâmetros estatísticos e cromatográficos ideais.

Palabras clave: *Erythroxylum coca*, cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC / FID), benzoilmetilecgonina (cocaína), extração soxhlet.

Introducción

La *Erythroxylum coca* ha sido utilizada desde tiempos antiguos en donde los nativos las mascaban como parte de sus rituales. Sin embargo, no fue hasta 1859 cuando el químico Alemán Albert Niemann realizó la extracción de benzoilmetilecgonina (cocaína) a partir de las hojas de *Erythroxylum coca*. Esta se empezó a utilizar como medicamento en 1880, pero su uso se prohibió en 1922 tras observar sus efectos estimulantes y adictogénicos sobre el sistema nervioso (1). Su uso prolongado representa un alto riesgo debido al bloqueo en los receptores de dopamina (2,3), creando una adicción y estimulación en el sistema nervioso central.

En este estudio se desarrolló una metodología de análisis (4) de benzoilmetilecgonina (cocaína) en distintas matrices (té de coca, hojas de *Erythroxylum coca* secas y clorhidrato de cocaína), con la finalidad de cuantificar la cantidad de alcaloide presente en cada una de ellas. Este estudio resulta relevante pues la cocaína es extraída en su mayoría de las hojas de *Erythroxylum coca* (5). El proceso de cuantificación requiere de una mayor exigencia y calidad para determinar con precisión y exactitud la cantidad del alcaloide presente por hectárea de coca cultivada en el país.

El sistema integrado de Monitoreo de Cultivos Ilícitos (SIMCI) ha realizado la determinación de benzoilmetilecgonina en *Erythroxylum coca*, usando las imágenes satelitales del Landsat 8 OLI. De esta manera se cuantificó la cantidad aproximada de cocaína por hectárea producida en el país en el período de 2001 a 2013 (5). Además, la UNODC cuantificó la cocaína presente en hojas de coca seca y pulverizada de tres variedades de *Erythroxylum coca* (6). Estos resultados (Tabla 1), expresados como porcentaje en peso, se utilizaron para verificar los resultados de este estudio.

Materiales y métodos

Material vegetal

Las muestras que se usaron en este trabajo son: clorhidrato de cocaína, hojas de *Erythroxylum coca* y té de coca comercial (Figura 1); las dos

primeras fueron suministradas por la Fiscalía General de la Nación, y la tercera fue conseguida en un mercado local. Se empleó etanol como agente de extracción. (Con un n=3 para cada método de extracción).

Preparación de muestras y extractos

El clorhidrato de cocaína se preparó mediante su disolución en etanol con el estándar interno de tetracosano (C_{24}) a 100 mg/L. Las muestras de hoja de *Erythroxylum coca* y el té de coca se prepararon de acuerdo a los procedimientos descritos por la UNODC (4), este método consiste en un calentamiento de la muestra a 40 °C por 12 h, seguido de un proceso de molienda. Luego se pesan 0,5 g de muestra y se añaden 10 mL de etanol con tetracosano (C_{24}) (100 mg/L).

Además se realizó un análisis de las muestras para mejorar el proceso de extracción de los analitos presentes por extracción sólido líquido tipo soxhlet en un equipo Büchi Extraction System B-811. El procedimiento de lavado cíclico con disolvente mejoró la extracción y se obtuvo una señal del analito por encima del límite de detección. Para el análisis se tomaron 0,1 g de muestra y 60 mL de etanol. La mezcla resultante se sometió a tres ciclos de lavado de aproximadamente 30 minutos; esta metodología permitió aumentar la solubilidad de los analitos en etanol. Posteriormente las soluciones fueron filtradas con una membrana de PVDF (Polifluoruro de vinilideno) de 0,45 μ m. Finalmente se analizaron las muestras bajo los siguientes rangos de concentración, correspondientes a: clorhidrato de cocaína entre 200 a 800 mg/L; té de coca entre 20 a 100 mg/L y hoja de coca entre 100 a 1000 μ g/L.

Análisis cromatográfico

El análisis cuantitativo y cualitativo del analito (cocaína $t_R=13,50 \pm 0,25$ min) se realizó por medio de estándar de cocaína-HCl (Lipomed COC-156-HC), realizando una curva de calibración con estándar interno (n-tetracosano C_{24} $t_R=11,50 \pm 0,25$ min) y una posterior inyección por la técnica de cromatografía de gases acoplada a un detector de ionización de llama (GC-FID). La solución de partida se trató con florisil para eliminar los pigmentos coloreados y con sulfato de sodio anhidro para

Tabla 1. Cantidad de cocaína presente normalmente en tres variedades de *Erythroxylum coca*

Variedad <i>Erythroxylum coca</i>	Contenido normal de cocaína en la hoja seca
Coca Var. <i>Ipadu</i>	0,11-0,41% p/p
Novo Var. <i>Novogranatense</i>	0,17-0,76% p/p
Novo Var. <i>Truxillense</i>	0,42-1,02% p/p

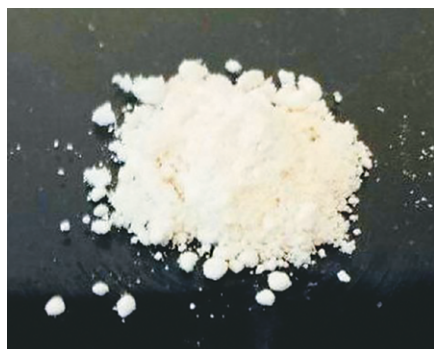


Figura 1. Muestras a analizar. Izquierda. Clorhidrato de cocaína. Centro. Té de coca. Derecha. Hoja de coca

eliminar el agua. Se inyectó 1 μL de muestra en un equipo Shimadzu referencia QP-2010 plus. Las condiciones fueron las siguientes: se utilizó una columna DB-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) con He como gas de arrastre y gas auxiliar a un flujo de 1,4 mL/min y 28,6 mL/min respectivamente. La temperatura del inyector fue de 280 °C. El flujo del Split fue de 7,0 mL/min y su relación de 1:5. El flujo de purga del septum de 3,0 mL/min. El detector se utilizó con flujos de 30,0 mL/min de hidrógeno y 300,0 mL/min de aire a una temperatura de 280 °C. Finalmente el programa de temperatura del horno fue de 180 °C (Durante 3 min) seguido de una rampa a 10 °C/min hasta 280 °C (Durante 25 min) con un tiempo de equilibrio de 0,5 min para un tiempo total de corrida de 38 min.

Resultados y discusión

Cuantificación de cocaína en diferentes matrices

Se estudiaron un total de dieciocho muestras entre clorhidrato de cocaína, té de coca y hoja de coca de una sola variedad. La concentración de benzoilmetilecgonina (cocaína) se calculó por medio de interpolación en la curva de calibración con estándar interno a partir de las muestras de clorhidrato de cocaína mostrando valores de $7,15 \times 10^5$ mg de cocaína/kg de muestra (71,47% p/p), en el té de coca se encontró una mayor dispersión en los valores obtenidos, además, dado que el resultado varió en cada una de las réplicas se obtuvo un valor promedio de $7,66 \times 10^2$ mg de cocaína/kg de muestra (0,077% p/p). La cuantificación del analito en la hojas secas representó un desafío en la medida en la que su concentración era inferior a 2,0 mg de cocaína/kg de muestra, de ahí que la

metodología de extracción establecida por UNODC no fue exhaustiva para este análisis. Para la cuantificación de las muestras se generaron tres rectas de calibración correspondientes (Figura 2A-C), las cuales son lineales en el rango de concentración trabajado (Tabla 2).

Validación del método

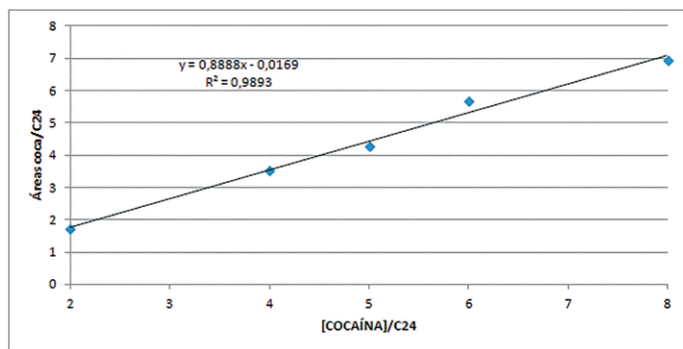
Los parámetros cromatográficos (resolución ($R_s > 1,5$), factor de retención ($k' > 0,5$), factor de separación o selectividad ($k \text{ o } \alpha > 1,0$) y número de platos teóricos ($N > 60000$) (Tabla 2) y las características analíticas de desempeño (rango de linealidad, coeficiente de regresión (R^2), límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ), precisión (RSD) y porcentaje de recuperación) indican que el método utilizado tiene capacidades de desempeño suficientes para la cuantificación de cocaína en las diferentes matrices estudiadas (7).

Los parámetros cromatográficos indican que para cada tipo de matriz se cumplen los criterios de aceptación, esto sugiere que la metodología es útil para separar y resolver los analitos presentes en las distintas matrices estudiadas con una buena separación y resolución. Los límites de detección cuantificación son bajos y cumplen con las exigencias del análisis. Además, se evaluó la eficacia del proceso de extracción por medio de la cuantificación de la concentración real de los puntos de la curva de calibración, la desviación estándar relativa (%RDS) y el porcentaje de recuperación (%R) sobre estándares a bajas, medias y altas concentraciones de la curva de calibración (Ecuación [1]). En esta ecuación, X_r es el valor verdadero y \bar{X} el promedio de tres mediciones (Tabla 3).

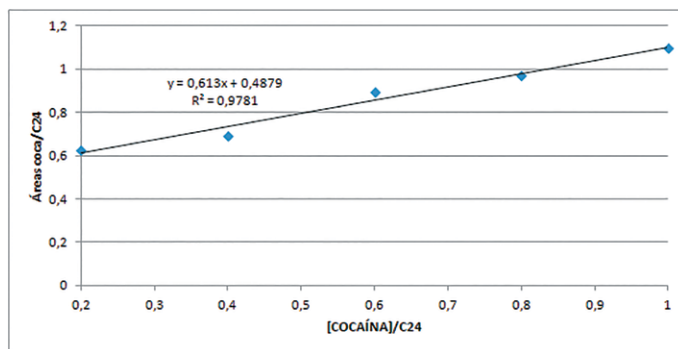
$$\%R = \frac{\bar{X}}{X_t} \times 100 \quad [1]$$

Figura 2. Curvas de calibración correspondientes a las diferentes matrices de estudio para la respectiva cuantificación de cocaína. (C24: Estándar interno de n-Tetracosano)

A. Clorhidrato de cocaína



B. Té de coca



C. Hoja de coca

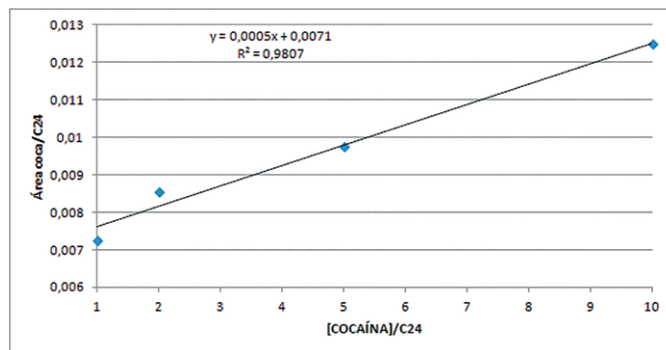


Tabla 2. Parámetros cromatográficos establecidos para la validación del método

Parámetros cromatográficos: [1] R^2 – Resolución, [2] LOD – Límite de detección, [3] LOQ – Límite de cuantificación. [4] R_s – Resolución, [5] y [6] k' – Factor de retención, [7] α – Factor de separación, y [8] N – Número de platos teóricos. *LOD y LOQ en $\mu\text{g/L}$.

N°	Parámetro	Clorhidrato de cocaína	Té Coca	Hoja Coca
1	R^2	0,99	0,97	0,98
2	LOD (mg/L)	0,97	0,17	1,69*
3	LOQ (mg/L)	3,23	0,57	5,66*
4	R_s	14,43	10,63	12,70
5	k' de C_24	3,78	4,18	3,41
6	k' de Cocaína	3,13	3,54	8,44
7	k o α	1,21	1,18	2,47
8	N	99191	73713	64783

Tabla 3. Parámetros estadísticos establecidos para la exactitud y precisión del método.

Clorhidrato de cocaína				Té de coca			
[ppm]	[Cocaína] _{Real}	% RDS	% R	[ppm]	[Cocaína] _{Real}	% RDS	% R
200	192,49	6,97	96,25	20	22,37	2,638	111,84
400	394,15	2,92	98,54	40	33,25	0,33	83,12
500	479,96	5,53	95,99	60	66,07	1,04	110,11
600	635,79	8,32	105,97	80	78,78	1,87	98,42
800	778,62	5,44	99,63	100	99,63	0,62	97,33

Conclusiones

La metodología de extracción con solvente (método UNODC) no resultó eficiente porque no fue posible discriminar la señal del analito del ruido instrumental. Esto se debe a que el método de extracción es poco exhaustivo y al poco contenido de la benzometilecgonina en las muestras. Como resultado se recomienda utilizar métodos de preparación de muestras como la extracción soxhlet utilizada y métodos miniaturizados asistidos por ultrasonido (8). La metodología de extracción soxhlet aumentó el factor de concentración del analito de interés. Esto permitió su cuantificación en las distintas matrices estudiadas (hoja de coca, 17,15 mg de cocaína/kg de muestra y té de coca 7,66 $\times 10^3$ mg de cocaína/kg de muestra). El método de extracción soxhlet cumplió con los criterios cromatográficos y estadísticos que otorgaron una buena confiabilidad, precisión y exactitud; obteniendo intervalos entre 2,9 %RSD a 6,9 %RSD de desviación estándar relativa (%RSD) y un porcentaje de recuperación (%R) entre 95 %R a 98 %R para el estándar utilizado en las rectas de calibración.

Referencias

- Volkow, N. D. Cocaína: abuso y adicción. *NIH publication*. **2010**, 10-4166(S), 1-8.
- Guerri, C. Bioquímica de las adicciones. *SEBBM*. **2012**, 172, 4-7.
- Cruz Martin del Campo, S. L. El cerebro y el consumo de droga. *Cinvestav*. **2006**, Abril-Junio, 36-45.
- Reyes, A. Informe consultoría taller “análisis de muestras de interés forense por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)”. La Paz, Bolivia, 13 al 17 de agosto. **2012**, 40-52. Disponible en: <http://www.comunidadandina.org/DS/Inf.%20GC-MS.pdf> [Consultado el 10 de Enero de 2015].
- SIMCI. Colombia. Monitoreo de cultivos de coca 2013. **2014**, 14-20. Disponible en: https://www.unodc.org/documents/cropmonitoring/Colombia/Colombia_Monitoreo_de_Cultivos_de_Coca_2013_web.pdf [Consultado el 12 de Diciembre de 2014].
- Oficina de las Naciones Unidas Contra la Droga y el Delito. Métodos recomendados para la identificación y el análisis de cocaína en materiales incautados. Nueva York, **2012**, 17-36. Disponible en: https://www.unodc.org/documents/scientific/Cocaine_S.pdf [Consultado 02 de Enero de 2015].
- Centro Nacional de Metrología. Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. 2^{da} ed. Los Cués, México. Disponible en: <http://www.metroquimica.com.ar/descargas/Eurachem-Guia-Validacion-CNM-MRD-030-2da-Ed.pdf> [Consultado el 05 de Febrero de 2015].
- Rosero-Moreano, M. H. Desarrollo de métodos miniaturizados de preparación de muestras para el análisis de diversos analitos en matrices ambientales. Tesis de Doctorado, Universidad de Zaragoza, Diciembre 2013.

Article citation:

López, A. M.; Garzón, W. F.; Rosero-Moreano, M.; Taborda, G. Análisis de cocaína en diferentes muestras por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (CG-FID). *Rev. Colomb. Quim.* **2015**, 44(1), 19-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v44n1.54010>