

**VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFÍA DE GAS-LÍQUIDO Y
REACCIÓN COLORIDA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA Y METANFETAMINA EN MUESTRAS
DECOMISADAS**

**VALIDATION OF AN ANALYTICAL METHOD TO IDENTIFY COCAINE AND METHAMPHETAMINE IN SEIZED DRUGS
BY GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY AND COLOURED REACTIONS**

Martínez-Quiroz J.¹

Lozada Sosa J. F.²

Lázaro Rangel J. M²

¹Catedrático del Instituto de Medicina Forense de la Universidad Veracruzana. Experto en Química Forense en la Dirección General de los Servicios Periciales. FGE-Veracruz.

²Químico Farmacéutico Biólogo. Universidad Veracruzana.
México.

Correspondencia: joemartinez@uv.mx

Resumen: El consumo de cocaína y de metanfetamina representa un problema de salud pública por el número de intoxicaciones y defunciones que conlleva su abuso, lo que obliga al Estado mexicano a implementar nuevas estrategias de combate al tráfico y consumo de estas sustancias. El presente estudio propone un método de dos pasos para el análisis de muestras decomisadas de cocaína o metanfetamina, una prueba colorida como técnica de *screening* seguida de una técnica por cromatografía de gas-líquido con detector de ionización de flama. La prueba de *screening* consistió de una reacción de color para distinguir entre una amina secundaria y una terciaria empleando nitroferrocianuro de sodio y tiocianato de cobalto, respectivamente. Se encontró que el método es libre de interferencia de los adulterantes más comunes: acetaminofén, cafeína, ácido acetilsalicílico, benzocaína y fenacetina. El límite de detección con la técnica colorida fue de 20 µg y de 4 µg para cocaína y metanfetamina, respectivamente; mientras que para la técnica cromatográfica fue de 2 mg/mL para ambas drogas. No hubo arrastre cromatográfico en ninguna de las drogas ensayadas. Se determinó la validez del método que es simple, económico y selectivo para la identificación de cocaína y metanfetamina en muestras decomisadas.

Palabras clave: validación, GC-FID, droga decomisada, cocaína, metanfetamina.

Abstract: In Mexico there is an increase in morbidity and mortality rates due to cocaine and methamphetamine consumption, which has become a main public health issue. Thus, new strategies against traffic and use of narcotics must be developed in order to reduce drug demand. This study proposes a two-step method to analyze seized drug samples containing cocaine or methamphetamine by means of color and chromatographic techniques. The preliminary test consists of color reactions to distinguish between secondary and tertiary amines by using sodium nitroferrocyanide and cobalt thiocyanate, respectively. The next step requires a gas-liquid chromatograph equipped with a flame ionization detector that is universally available and affordable for most forensic laboratories. The results showed that there are no interferences of common adulterants, such as acetaminophen, caffeine, acetylsalicylic acid, benzocaine and phenacetin. The limit of detection for color tests was 20 µg and 4 µg for cocaine and methamphetamine, respectively. The limit for chromatographic technique was 2 mg/mL for both substances. Carryover effect was not seen with drug concentration up to one order of magnitude. The qualitative method was validated and found to be simple, economic and selective for identification of cocaine and methamphetamine in seized drug samples.

Keywords: validation, GC-FID, seized drug, cocaine, methamphetamine.

INTRODUCCIÓN

Las drogas ilícitas representan la mayor parte de las evidencias de naturaleza química que son recolectadas en la escena del crimen (1). De acuerdo a datos proporcionados por la Oficina Nacional de Política de Drogas, en el lapso de diciembre de 2012 a junio de 2018, el decomiso de la droga denominada cristal o metanfetamina fue de 123.56

toneladas, mientras que el de cocaína fue de 52.24 toneladas respectivamente; lo que las posiciona como la segunda y tercera con mayor número de incautaciones en el país sólo detrás de la marihuana. En lo que respecta a muertes asociadas al consumo, la cocaína superó a la metanfetamina en ese mismo periodo (2).

Al clasificarse la cocaína como un estupefaciente y la metanfetamina como un psicotrópico de acuerdo a la Ley General de Salud, resulta imperativo el análisis químico forense que permita su identificación. El análisis toxicológico cualitativo tiene como objetivo determinar, mediante una serie de procesos, la presencia o ausencia de sustancias tóxicas en una muestra (3). La base del análisis toxicológico moderno es un examen de dos pasos: las técnicas preliminares (*screening*) y las técnicas confirmatorias (4). Las pruebas presuntivas o de *screening* son ensayos comúnmente empleados para iniciar el proceso de identificación de una sustancia. Estas reacciones simples no dan certeza acerca de la identidad de la sustancia a analizar; sin embargo, brindan información preliminar de la presencia de un grupo funcional o de una estructura molecular genérica (5). Por su parte, las pruebas confirmatorias poseen un alto poder de discriminación y selectividad que permiten validar la identificación de la droga con sustento científico y sin ambigüedad (4).

El análisis preliminar para identificar cocaína o metanfetamina implica una reacción colorida, en la que los reactivos empleados generan un producto colorido, al cambiar la propiedad de absorción de luz de la droga (5). El tiocianato de cobalto, presente tanto en el reactivo de Scott como en el de aminas terciarias suele reaccionar con la cocaína produciendo un color azul rey (6). Por su parte, el reactivo de Marquis y el de aminas secundarias, que emplea nitroferrocianuro de sodio, permiten identificar a la metanfetamina. (7). Aunque el reactivo de Marquis produce distintas coloraciones que permiten diferenciar a la metanfetamina de otras drogas, se requiere de la prueba colorida de aminas secundarias para distinguir a la metanfetamina de la anfetamina (8). Mientras la metanfetamina origina un color azul con este reactivo, la anfetamina no genera un color (9).

Entre las técnicas usualmente empleadas para la identificación inequívoca de una droga se encuentran la cromatografía de líquidos, la espectrometría de masas y la espectrofotometría de absorción infrarroja (1). Los inconvenientes en el empleo de estas técnicas son el costo elevado en el mantenimiento de estos instrumentos, el necesario adiestramiento del personal operativo de estos equipos, los tiempos de análisis prolongados, así como los requerimientos adicionales de optimización y mantenimiento (10). La técnica de Cromatografía gas-Líquido con detector de ionización de flama (GC-FID, por sus siglas en inglés), ha presentado resultados repetibles y reproducibles del perfil de impurezas de una droga. El detector FID se considera universal y sensible para distintas drogas incautadas, por lo que requiere pequeñas cantidades de muestra (11). Además, por su costo, el uso de un cromatógrafo con detector FID es accesible para la mayoría de los laboratorios forenses en el mundo (12).

De acuerdo a la Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito, la validación consiste en que los métodos utilizados en un laboratorio de análisis químico han de ser evaluados y sometidos a prueba para asegurarse de que producen resultados válidos y coherentes con el objetivo previsto (13). Al emplear métodos validados es posible asegurar la obtención de resultados de alta calidad, adquirir la aprobación de organismos internacionales y elevar un método al rango de método oficial o de referencia de acuerdo a las instancias reguladoras, además de cumplir el requisito de acreditación exigido por la norma ISO 17025 en lo que respecta a laboratorios de análisis de prueba (14).

Para considerarse válidos, los métodos cualitativos de análisis de drogas exigen el cumplimiento de una serie de parámetros, *i.e.* selectividad, límite de detección y precisión, en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad en laboratorio (13). Pueden estar referidos en la literatura otros parámetros adicionales como la estabilidad, la especificidad y la sensibilidad; pero los tres primeros cumplen con el criterio establecido por el grupo de trabajo en toxicología forense (15).

El objetivo del presente estudio es implementar un método que permita la identificación de cocaína y metanfetamina mediante el análisis presuntivo con reacción de desarrollo de color y el análisis confirmatorio mediante cromatografía gas-líquido, validando los parámetros de límite de detección, selectividad, especificidad, sensibilidad y arrastre cromatográfico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Reactivos

Se utilizó cocaína y metanfetamina en su forma de clorhidrato (Lipomed, USA), y metanol como su diluyente (Sigma-Aldrich, USA). Se emplearon estándares de ácido acetilsalicílico (Merck, USA), acetaminofén, benzocaína, cafeína y fenacetina (Sigma-Aldrich, USA).

Para las reacciones coloridas se empleó agua destilada (Herco Tec, Mexico), así como los siguientes compuestos grado reactivo analítico: cloruro de cobalto (Karal, Mexico), glicerina (Omnichem, Mexico), tiocianato de amonio (Analit, Mexico), carbonato de sodio anhidro (Reasol, Mexico), nitroprusiato de sodio (Meyer, Mexico) y acetaldehído (Merck, USA).

El reactivo de tiocianato de cobalto se preparó disolviendo 6.8 g de cloruro de cobalto y 4.3 g de tiocianato de amonio en 100 mL de agua destilada y diluyendo la solución en proporción 1:1 con glicerina. La reacción se llevó a cabo agregando una a dos gotas de reactivo directamente al sólido depositado en una placa de porcelana. El reactivo de aminos secundarios consistió en dos soluciones, la primera se preparó disolviendo 1 g de nitroprusiato de sodio en 10 mL de acetaldehído y diluyéndolo con 90 mL de agua destilada; la segunda solución se preparó disolviendo 2 g de carbonato de sodio en 100 mL de agua destilada. La reacción se realizó añadiendo una gota de la primera solución a una pequeña porción de sólido depositada en una placa de porcelana, seguida de una gota de la segunda solución. En ambos casos, el desarrollo del color es inmediato.

Instrumentación.

Se utilizó un cromatógrafo de gas-líquido Clarus 500 (*Perkin Elmer Instruments*), con automuestreador de líquidos y detector de ionización de flama. Se dispuso de una jeringa cromatográfica en el automuestreador con capacidad de 5 µL, un inyector *split/splitless*, una columna Zebron 1701 de 30 m con 0.53 mm x 1 µm, así como aire e hidrógeno a una relación 10:1 respectivamente para el detector FID, el cual se ajustó a un rango de 1 y atenuación de 0. El gas acarreador fue nitrógeno a una velocidad de flujo de 13 mL/minuto. Las condiciones de temperatura desarrolladas para el instrumento fueron las siguientes (tabla I):

Tabla I. Condiciones de tiempo y temperatura para el análisis cromatográfico de cocaína y metanfetamina.

Método	Cocaína	Metanfetamina
Inyector	240°C	
Horno	180 °C (1 min) ↓ 20 °C/min 260 °C (3 min)	140 °C (1 min) ↓ 30 °C/min 260 °C (1-3 min)
Detector	260 °C	260 °C
Tiempo de análisis	8 min	6-8 min

Todos los ensayos se realizaron mediante depósito de 1 mL de la alícuota de prueba en un vial de vidrio para automuestreador automático de líquidos con capacidad de 2 mL, cubierto con una tapa de rosca con septum de teflón.

Límite de detección

Se prepararon distintas concentraciones de cocaína y metanfetamina cercanas al límite de detección reportado por O'Neal *et al.* (7) y se ensayaron con los reactivos de tiocianato de cobalto y de aminas secundarias respectivamente en placas de porcelana. La concentración determinada como límite de detección se probó con veinte réplicas y se tomó lectura de la coloración a los diez segundos transcurridos desde el inicio de la reacción.

Para el análisis instrumental, se consideró evaluar la repetibilidad y reproducibilidad en el límite de detección mediante corridas individuales de tres réplicas de cada analito durante tres días distintos, acorde con el criterio del SWGTOX (15).

Selectividad

La selectividad se llevó a cabo evaluando la interferencia de fármacos adulterantes potencialmente presentes en la droga decomisada, *e.g.* acetaminofén, ácido acetilsalicílico, benzocaína, cafeína y fenacetina. Este parámetro se determinó mediante el análisis individual por quintuplicado de cada adulterante para la prueba de color mientras que para la prueba instrumental se analizó simultáneamente por triplicado. El disolvente empleado en ambos casos fue metanol.

Arrastre cromatográfico

Para valorar el arrastre cromatográfico (*carryover*), se consideró el análisis de una concentración elevada de cada analito. Posterior a ello, se realizó una inyección sin analito; esta secuencia por triplicado. Se contempló valorar tanto el posible *carryover* de automuestreador como el de la columna, como lo descrito por Hughes *et al.* (16).

Especificidad y sensibilidad

Se consideró el ensayo de una prueba de competencia (PC) mediante el análisis ciego de veinte muestras de mezclas con diversos adulterantes con o sin analito.

Análisis de los datos

La formación de color derivado de las reacciones de tiocianato de cobalto para cocaína y de nitroferrocianuro de sodio para metanfetamina se valoró por la apreciación visual del color desarrollado en placas de porcelana y por la preponderancia del color azul respectivo en la imagen obtenida de la mezcla de reacción empleando la aplicación *What a color* (BiOM software v. 1.05) instalada en un teléfono celular iPhone 8 v. iOS13.1.2.

El análisis de los resultados del equipo se realizó con el tiempo de retención de los picos cromatográficos como parámetro cualitativo y con la altura de los picos como parámetro cuantitativo mediante el software *Totalchrom* v. 6.3.1 (Perkin Elmer Inc.). Se calculó la media de los replicados como medida de tendencia central, así como la desviación estándar y el coeficiente de variación como medidas de dispersión. Se utilizó el software *Statistica* v. 6.0 y un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS

Límite de detección

Se determinó que 20 µg y 9 µg es el límite de detección en la prueba de desarrollo de color para determinar cocaína (panel izquierdo, figura 1) y metanfetamina respectivamente (panel derecho, figura 1).

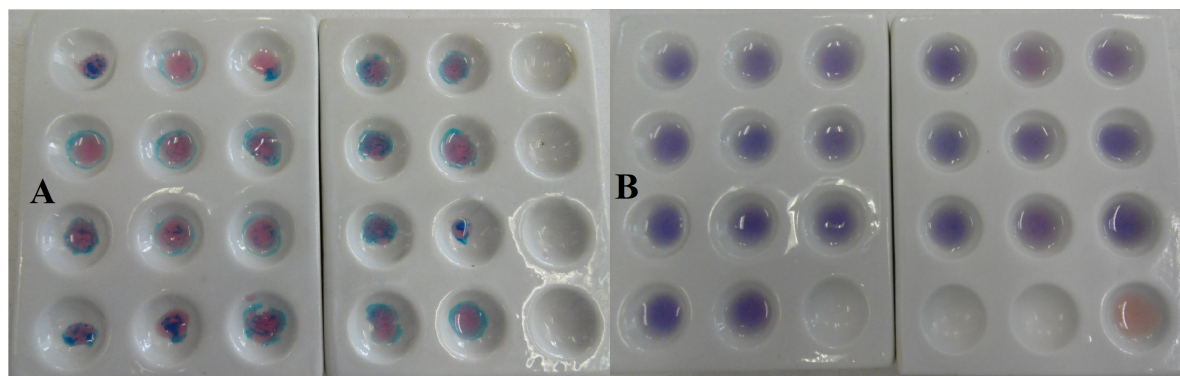


Figura 1. Resultados de la prueba colorida de cocaína a 20 µg (panel A) y de metanfetamina a 9 µg (panel B)

En el análisis cromatográfico se consideró como el límite de detección una concentración de 2 mg/mL para cocaína y para metanfetamina respectivamente. En la tabla II se indican los resultados obtenidos para las réplicas a esta concentración.

Tabla II. Resultados de la altura de los picos cromatográficos de réplicas de cocaína y metanfetamina a una concentración de 2 mg/mL.

Réplica	Cocaína			Metanfetamina		
	Día					
	1	2	3	1	2	3
1a	130.72	137.27	161.11	93.24	91.48	92.61
1b	151.79	126.58	172.15	95.54	90.39	96.38
2a	140.54	133.52	173.13	79.64	96.62	111.17
2b	134.73	160.70	174.41	92.24	100.56	111.66
3a	157.00	172.36	144.80	95.40	78.50	91.95
3b	162.96	165.65	138.65	88.24	96.20	108.67
Media	146.29	149.35	160.71	90.81	92.29	102.07
DE	12.90	19.17	14.22	6.07	7.70	9.41
CV	8.82%	12.84%	8.85%	6.68%	8.34%	9.22%
CV global	10.17%			8.08%		

DE = desviación estándar, CV = coeficiente de variación

Selectividad

No hubo interferencia de los adulterantes anteriormente mencionados para la prueba de desarrollo de color, considerando una concentración de 20 µg para cada uno de ellos, sea para el reactivo de tiocianato de cobalto o para el reactivo de nitroferrocianuro de sodio.

Para el análisis instrumental y con base en los cromatogramas para valorar la selectividad de la cocaína (figura 2) y de la metanfetamina (figura 3), se determinaron valores de resolución suficientes para considerar que no existe interferencia de ninguno de los adulterantes ensayados (tabla III).

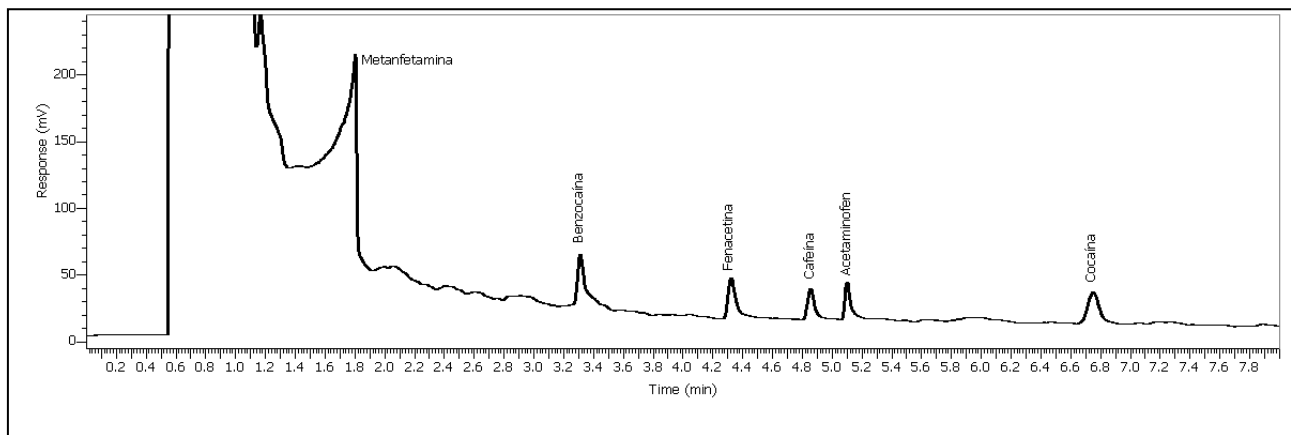


Figura 2. Cromatograma del ensayo de selectividad para cocaína con diversos adulterantes.

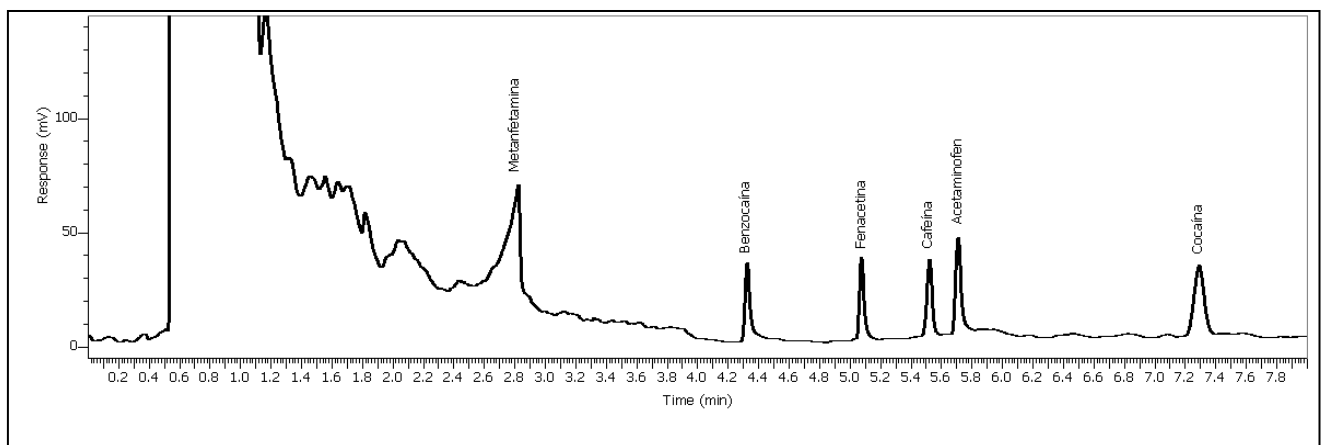


Figura 3. Cromatograma del ensayo de selectividad para metanfetamina con diversos adulterantes.

Tabla III. Resultados de la resolución cromatográfica de los adulterantes para cocaína y metanfetamina

Adulterante	Resolución para cocaína	Resolución para metanfetamina
Metanfetamina	26.7	---
Benzocaína	18.8	10.5
Fenacetina	15.4	17.3
Cafeína	12.4	19.5
Acetaminofén	10.5	20.4
Cocaína	---	25.9
Ac. Acetilsalicílico	N/A	N/A

N/A = No apareció la señal

Arrastre cromatográfico

No hubo arrastre cromatográfico de la cocaína al inyectarse una concentración de 20 mg/mL del analito (figura 4):

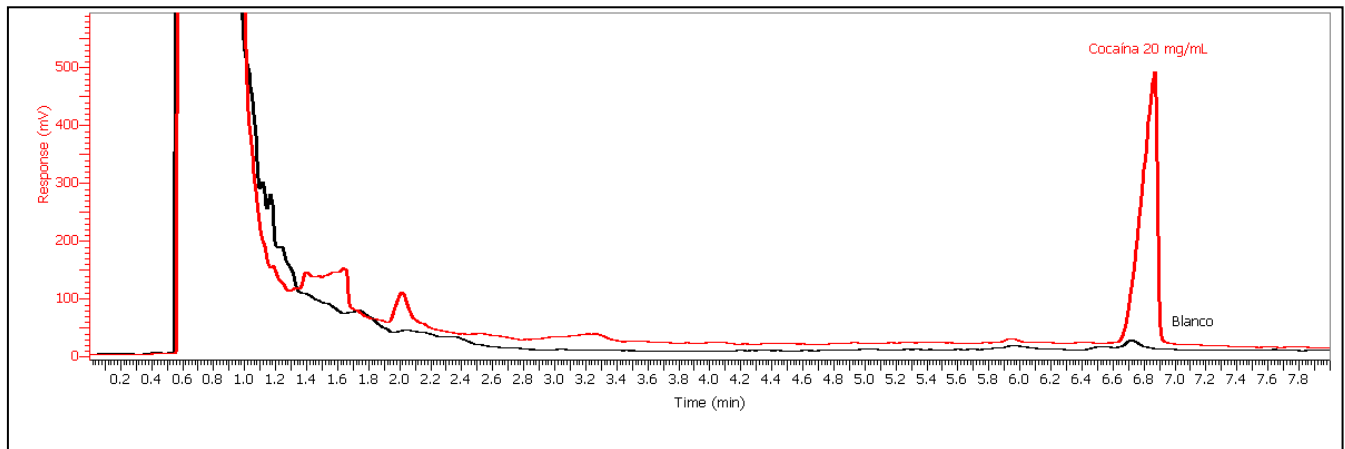


Figura 4. Cromatograma del ensayo de arrastre cromatográfico para cocaína.

No se observó arrastre cromatográfico de la metanfetamina a una concentración de 10 mg/mL, como se observa en el cromatograma de la figura 5:

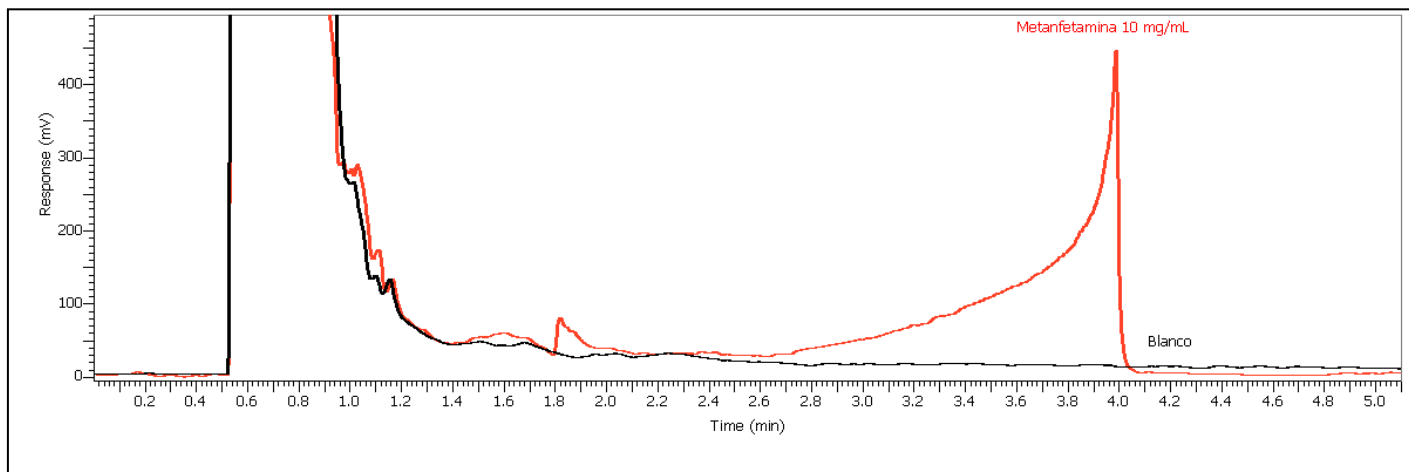


Figura 5. Cromatograma del ensayo de arrastre cromatográfico para metanfetamina.

Especificidad y Sensibilidad

Se procesaron veinte muestras para el ensayo de cada droga y se obtuvieron los valores de especificidad y sensibilidad (tabla IV), basados en el criterio empleado por Rodríguez-Cruz & Montreuil, (4):

Tabla IV. Resultados de la prueba de competencia con ensayos ciegos

Droga	Prueba colorida		Prueba Instrumental	
	Cocaína	Metanfetamina	Cocaína	Metanfetamina
Positivos reales	7	5	7	5
Negativos reales	13	15	13	15
Falsos positivos	5	0	0	0
Falsos Negativos	0	0	0	1
Especificidad	0.72	1.0	1.0	1.0
Sensibilidad	1.0	1.0	1.0	0.83

DISCUSIÓN

El presente trabajo propone un método alternativo para el análisis de muestras decomisadas de cocaína y metanfetamina basado en dos etapas: una prueba colorida como técnica de *screening* seguida de una técnica por cromatografía de gas-líquido con detector de ionización de flama. Aunque la técnica instrumental no se equipara con el poder de discriminación que tienen algunas técnicas espectroscópicas, sí permite disponer de un método económico, válido, simple y fácil de manejar con respecto al uso de un cromatógrafo acoplado a un espectrómetro de masas, como lo destaca Phonchai *et al.* (12).

La prueba colorida con tiocianato de cobalto en placa permitió obtener un límite de detección de 20 µg y asimismo para el reactivo de nitroferrocianuro de sodio se obtuvo un límite de detección de 9 µg para metanfetamina; los cuales son valores menores a los reportados por O'Neal *et al.* (7) y el *National Institute of Justice* (17). La secuencia de las técnicas propuestas en este trabajo no contempla a la prueba colorida de Marquis, ampliamente conocida para el *screening* de narcóticos, ya que se tuvo en cuenta que varias drogas reaccionan de modo similar que la metanfetamina y además este reactivo no tiene reacción con la cocaína (18). Cabe destacar el uso de una aplicación de teléfono móvil para el análisis resultante de la reacción colorida. La escala RGB suministrada por el software brinda la información cualitativa respecto a la magnitud en la intensidad de cada color e inclusive se ha reportado que existe una buena correlación entre los cambios en la intensidad del color con los datos obtenidos del detector cromatográfico FID al variar la concentración de la metanfetamina (19).

La concentración de 2 mg/mL como límite de detección para cocaína y metanfetamina en el cromatógrafo de gas-líquido aunque es elevada comparada contra otros estudios antes reportados (20), no demerita la utilidad del método, debido a que generalmente las muestras a examinar presentan cantidad suficiente para varios ensayos. Se denota también que se cumple con el criterio de repetibilidad y reproducibilidad señalado por el SWGTOX (15), dado que la variabilidad en las réplicas ensayadas no supera el 15% del coeficiente de variación.

La mayoría de las drogas ilícitas incautadas se encuentran adulteradas hasta en un 90% de su contenido (1). Entre los adulterantes reportados para metanfetamina se han valorado al acetaminofén, a la cafeína y a la fenacetina (21). Otro estudio reporta cocaína, MDMA, heroína y en el caso de adulterantes de la cocaína, se tiene a la benzocaína, la fenacetina y al levamisol (22). La selectividad de las pruebas de desarrollo de color fue adecuada considerando que no hubo interferencia de los adulterantes estudiados, como ya lo había señalado Marcelo *et al.*, (6) para estas sustancias. Se enfatiza la necesidad de realizar el ensayo con poca cantidad de muestra. En particular, Tsumura *et al.* (23), afirman que el peso de la muestra es crucial para asegurar la exactitud de la prueba de tiocianato de cobalto. Se ha reportado que a medida que se incrementa el peso de la muestra, aumenta la posibilidad de obtener resultados falsos positivos con este reactivo (6). Por lo tanto, se recomienda no exceder un miligramo de muestra para no correr el riesgo de obtener un resultado falso positivo y se requiere entrenar al personal de laboratorio acerca de emplear el muestreo adecuado para no rebasar esta cantidad durante el análisis (23).

Respecto a la selectividad de la técnica instrumental, se destaca la eficiencia al existir una clara separación de la mezcla de analitos y adulterantes en el sistema cromatográfico, con valores de resolución mayores a 1.5, como lo sugiere McNair & Miller (24). Con estos resultados, es posible distinguir el tipo de adulterante que acompaña a la droga, lo que provee al método de versatilidad, ya que al conocer cuáles sustancias forman parte de la mezcla podría explicar la toxicidad no esperada por alguna droga durante su consumo y asimismo disponer de un registro que permita manejar la información sobre las sustancias más comúnmente empleadas en la adulteración de las drogas; como lo señalaron Fiorentin *et al.* (25).

El cumplimiento del parámetro de *carryover* es crítico cuando se requiere analizar varias muestras en serie, ya que es indispensable que no haya contaminación del sistema cromatográfico entre un ensayo y otro. Con el presente método, puede descartarse el arrastre cromatográfico cuando se analice droga a una concentración no mayor a 20 mg/mL para cocaína y 10 mg/mL para metanfetamina respectivamente.

Se corroboró una especificidad limitada de la prueba colorida de tiocianato de cobalto, lo que delimita a esta técnica para producir un resultado negativo cuando el analito no se encuentra presente en una muestra. No obstante, la alta especificidad obtenida con la técnica cromatográfica permite descartar los resultados falsos positivos para cocaína. Por otra parte, la gran sensibilidad mostrada por la técnica de aminas secundarias, contrasta con la sensibilidad limitada de la técnica cromatográfica para identificar metanfetamina, es decir, esta última no posee el nivel óptimo para detectar o identificar al analito cuando éste está presente (4).

CONCLUSIONES

El método para identificar cocaína y metanfetamina en muestras decomisadas mediante el ensayo con una reacción colorida y posterior confirmación con la técnica de cromatografía de gas-líquido con detector de ionización de flama es sencillo, rápido, preciso. El método propuesto es válido para distinguir a estas drogas de sus adulterantes comunes como acetaminofén, cafeína, ácido acetilsalicílico, benzocaína y fenacetina. Las técnicas empleadas se consideran universales y fáciles de implementar para todos los laboratorios forenses. Además, este método permite determinar la pureza de la droga siempre que se disponga de estándares de referencia de la misma. Se destaca que el tiempo de análisis es notablemente reducido comparado con la técnica de espectrometría de masas y la preparación de la muestra es mínima por lo que se considera como un método económico.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al M.C. Héctor Ronzón García el apoyo institucional para el desarrollo e implementación del método analítico.

REFERENCIAS

- 1).- Darsigny C., Leblanc-Couture M. & Desgagné-Penix I. (2018). Forensic Chemistry of Alkaloids: Presumptive Color Test. *Austin Journal of Forensic Science and Criminology*, 5 (1), 1-9.
- 2).- CONADIC. Informe sobre la situación del consumo de drogas en México y su atención integral 2019. Comisión Nacional contra las Adicciones. Secretaría de Salud. México. 2019 Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/477564/Informe_sobre_la_situacion_de_las_drogas_en_Mexico.pdf
- 3).- Martínez-González M A. Criterios cualitativos en toxicología forense. *Revista Española de Medicina Legal* 2012; 38 (2);, 68-75
- 4).- Rodríguez-Cruz S E & Montreuil R S. Assessing the quality and reliability of the DEA drug identification process. *Forensic Chemistry* 2017; 6:36-43
- 5).- Khan J I, Kennedy T J & Christian Jr. D R. *Basic Principles of Forensic Chemistry*. Humana Press. New York, 2012
- 6).- Marcelo M C A, Mariotti K C, Ortiz R S, Ferrão M F & Anzanello M J. Scott test evaluation by multivariate image analysis in cocaine samples. *Microchemical Journal* 2016;127:87-93.
- 7).- O'Neal C L, Croucha D J & Fatah A A. Validation of twelve chemical spot tests for the detection of drugs of abuse. *Forensic Science International* 2000; 109:189-201.
- 8).- Choodum A & NicDaeid N: Quantitative colorimetric assays for methamphetamine. En: *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse*. Elsevier. London, 2016, pp. 349-359.

- 9).- Cuyppers E, Bonneure A J & Tytgat J. The use of presumptive color tests for new psychoactive substances. *Drug Testing and Analysis* 2016; 8:136-140.
- 10).- Philp M, Shimmion R, Tahtouh M & Fu S. Development and validation of a presumptive color spot test method for the detection of synthetic cathinones in seized illicit materials. *Forensic Chemistry* 2016; 1:39-50.
- 11).- Chan K W, Tan G H & Wong R C S. Gas chromatographic method validation for the analysis of major components in illicit heroin seized in Malaysia. *Science and Justice* 2012; 52:9-16.
- 12).- Phonchai A, Janchawee B, Prutipanlai S & Thainchaiwattana S. GC FID Optimization and Validation for Determination of 3,4 Methylenedioxymethamphetamine, 3,4 Methylenedioxyamphetamine and Methamphetamine in Ecstasy Tablets. *Journal of Analytical Chemistry* 2010; 65 (9): 951-959.
- 13).- UNODC, Oficina de las Naciones Unidas contra la droga y el delito. Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos. Nueva York 2010. Disponible en:
https://www.unodc.org/documents/scientific/Validation_Manual_STNAR41_Ebook_S.pdf
- 14).- Peris-Vicente J, Esteve-Romero J & Carda-Broch S: Validation of Analytical Methods Based on Chromatographic Techniques: An Overview. En: *Analytical Separation Science*. Wiley-VCH. Weinheim, 2015, pp. 1757-1808
- 15).- SWGTOX. Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX) Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology. *Journal of Analytical Toxicology* 2013; 37:452-474.
- 16).- Hughes N C, Wong E Y K, Fan J & Bajaj N. Determination of carryover and contamination for mass spectrometry-based chromatographic assays. *The AAPS Journal* 2007; 9(3):E353-E360.
- 17).- National Institute of Justice. Color Test Reagents/Kits for Preliminary Identification of Drugs of Abuse. *NIJ Standard-0604.01*. U.S. Department of Justice. 2000 Washington. Disponible en:
<https://www.ncjrs.gov/pdffiles1/nij/183258.pdf>
- 18).- Swiatko J, De Forest P R & Zedeck M S. Further Studies on Spot Tests and Microcrystal Tests for Identification of Cocaine. *Journal of Forensic Sciences* 2003; 48 (3):1-5.
- 19).- Choodum A, Parabun K, Klawach N, Daeid N C, Kanatharana P & Wongniramaikul W. Real time quantitative colourimetric test for methamphetamine detection using digital and mobile phone technology. *Forensic Science International* 2014; 235:8-13.
- 20).- Jufer R A, Darwin W D & Cone E J: Current methods for the separation and analysis of cocaine analytes. En: *Handbook of Analytical Separations*. Elsevier. Amsterdam, 2000, pp. 67-106
- 21).- Choe S, Heo S, Choi H, Kim E, Chung H & Lee J. Analysis of pharmaceutical impurities in the methamphetamine crystals seized for drug trafficking in Korea. *Forensic Science International* 2013; 227:48-51.
- 22).- Peck Y, Clough A R, Culshaw P N & Liddell M J. Multi-drug cocktails: Impurities in commonly used illicit drugs seized by police in Queensland, Australia. *Drug and Alcohol Dependence* 2019; 201:49-57.
- 23).- Tsumura Y, Mitome T & Kimoto S. False positives and false negatives with a cocaine-specific field test and modification of test protocol to reduce false decision. *Forensic Science International* 2015; 155:158-164.
- 24).- McNair H M, Miller J M. *Basic Gas Chromatography*. John Wiley & Sons. New Jersey, 2009.
- 25).- Fiorentin T R, Krotulski A J, Martin D M, Browne T, Triplett J, Conti T. & Logan B K. Detection of cutting agents in drug-positive seized exhibits within the United States. *Journal of Forensic Sciences* 2019; 64 (3):888-896.