

INDICE DE CONTENIDOS

1. RESUMEN	9
2. INTRODUCCIÓN	10
2.1 Generalidades de las benzodiazepinas	10
2.1.1 Estructura química.....	10
2.1.2 Aplicaciones terapéuticas.....	11
2.1.3 Mecanismo de acción.....	11
2.1.4 Metabolismo.....	11
2.1.5 Toxicidad.....	12
2.1.6 Uso ilegal.....	12
2.1.7 Datos a nivel nacional.....	12
2.2 Electroforesis capilar	13
2.2.1 Elementos del sistema de EC.....	13
2.2.2 Teoría de la doble capa eléctrica.....	14
2.2.3 Ventajas.....	15
2.2.4 Desventajas.....	16
2.2.5 Métodos de pre-concentración on-line.....	16
a- Normal stacking.....	16
b- Sweeping-MEKC.....	17
2.3 Cromatografía de gases	18
2.4 Validaciones analíticas en el ámbito forense	20
2.5 Extracción en fase sólida	21
3. RESEÑA DEL LABORATORIO	23
3.1 Visión.....	23
3.2 Misión.....	23
3.3 Unidades del SML.....	23
4. OBJETIVO GENERAL	25
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
6. VALIDACIÓN DE UN MÉTODO DE CONFIRMACIÓN PARA CLONAZEPAM Y ALPRAZOLAM POR GC/ECD	26
6.1 DESARROLLO	26
6.1.1 Equipos, Instrumental, reactivos y otros insumos.....	26
6.1.2 Metodología de trabajo.....	27

6.1.3 Condiciones cromatográficas	27
6.1.4 Preparación de muestras	28
6.1.5 Extracción en fase sólida de benzodiazepinas.....	28
6.1.6 Validación del método analítico.....	28
<i>a-Linealidad</i>	28
<i>b-Límites de detección y cuantificación</i>	29
<i>c-Sensibilidad</i>	30
<i>d-Selectividad</i>	30
<i>e-Precisión y exactitud</i>	30
<i>f-Incertidumbre</i>	31
<i>g-Porcentaje de recuperación</i>	31
6.2 RESULTADOS	32
6.2.1 Linealidad.....	32
6.2.2 Límites de detección y cuantificación.....	34
6.2.3 Sensibilidad.....	34
6.2.4 Selectividad.....	34
6.2.5 Precisión.....	36
6.2.6 Exactitud.....	36
6.2.7 Incertidumbre.....	37
6.2.8 Porcentaje de recuperación	38
7. IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO INSTRUMENTAL ALTERNATIVO PARA LA DETECCIÓN DE BENZODIAZEPINAS	39
7.1 DESARROLLO	39
7.1.1 Equipos, Instrumental, reactivos y otros insumos.....	39
7.1.2 Metodología de trabajo.....	40
7.1.3 Electroforesis capilar de zona.....	40
7.1.4 Cromatografía electrocinética micelar	40
7.1.5 Electro cromatografía capilar.....	41
7.1.6 Descripción de la metodología a Implementar.....	41
7.1.7 Optimización del método.....	42
7.2 RESULTADOS	43
7.2.1 Soluciones tamponeas seleccionadas	43
7.2.2 Condiciones electroforéticas	43
7.2.3 Preparación de la muestra	44

7.2.4 Tiempos de migración	44
7.2.5 Ventana de elución	45
7.2.6 Electroferogramas	45
7.2.7 Espectros.....	46
8. DISCUSIÓN.....	47
9. CONCLUSIÓN.....	49
10. REFERENCIAS	50
11. ANEXOS	54
11.1 Valores de áreas obtenidas para clonazepam y alprazolam en los distintos parámetros de la validación.	54
11.2 Preparación de soluciones tampones utilizadas en la técnica Implementada.....	60

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1. Metabolismo de algunas benzodiazepinas.....	11
Tabla N° 2. Concentraciones tóxicas y terapéuticas de las principales BDZs.....	12
Tabla N° 3. Resumen de los métodos de pre-concentración.....	18
Tabla N° 4. Condiciones cromatográficas del método validado	27
Tabla N° 5. Protocolo de SPE para BDZs	28
Tabla N° 6. Resultados de linealidad para clonazepam.....	32
Tabla N° 7. Resultados de linealidad para alprazolam.....	33
Tabla N° 8. Límites de detección y cuantificación para clonazepam y alprazolam.....	34
Tabla N° 9. Dispersión para los tiempos de los clonazepam y alprazolam	34
Tabla N° 10. Tiempos de otros analitos.....	35
Tabla N° 11. Precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad para clonazepam..	36
Tabla N° 12. Precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad para alprazolam..	36
Tabla N° 13. Exactitud para clonazepam y alprazolam	37
Tabla N° 14. Incertidumbre expandida para clonazepam y alprazolam	37
Tabla N° 15. Porcentaje de recuperación para clonazepam y alprazolam	38
Tabla N° 16. Variables optimizadas del método implementado	42
Tabla N° 17. Tiempos de migración de las BDZs analizadas por EC.....	44
Tabla N° 18. Áreas obtenidas de las distintas concentraciones de clonazepam y alprazolam, para la curva de calibración y estudio de linealidad.....	55
Tabla N° 19. Áreas obtenidas de las distintas concentraciones de clonazepam y alprazolam para la curva de calibración pequeña, y estudio de límites de detección y cuantificación	56
Tabla N° 20. Áreas obtenidas para el estudio de repetibilidad.....	57
Tabla N° 21. Áreas obtenidas para el estudio de reproducibilidad.....	58
Tabla N° 22. Áreas de BDZs sin extraer obtenidas para el estudio del porcentaje de recuperación.....	59
Tabla N° 23. Áreas de BDZs con extracción en fase sólida obtenidas para el estudio del porcentaje de recuperación	60

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 1. Estructura química de las principales benzodiazepinas	10
Figura N° 2. Partes principales del sistema de electroforesis capilar	14
Figura N° 3. Representación del flujo electroosmótico	14
Figura N° 4. Representación de <i>stacking</i> con eliminación de matriz	17
Figura N° 5. Representación de <i>Sweeping-MEKC</i>	18
Figura N° 6. Etapas básicas en la SPE	21
Figura N° 7. Gráfico de linealidad para clonazepam.....	33
Figura N° 8. Gráfico de linealidad para alprazolam	33
Figura N° 9. Dispersión para los tiempos de los clonazepam y alprazolam	35
Figura N° 10. Mecanismo de cromatografía electrocinética micelar con <i>stacking-sweeping</i>	42
Figura N° 11. Electroferogramas de estándares evaporados y reconstituidos	45
Figura N° 12. Electroferogramas de estándares evaporados y reconstituidos	45
Figura N° 13. Espectros de absorción de BDZs	46