



Universidad  
**Norbert Wiener**

Powered by **Arizona State University**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y**  
**BIOQUÍMICA**

**Tesis**

“Determinación de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Lima 2023”

**Para optar el título profesional de**  
**Químico Farmacéutico**

**Autora:** Bach. Puchoc Quispe, Sayuri Yasumi

**Código ORCID:** 0000-0002-5831-1501

**Autora:** Bach. Vega Salazar, Antony

**Código ORCID:** 0000-0001-8903-5880

**Asesor:** Mg. Ramos Jaco, Antonio Guillermo

**Código ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0491-8682>

**Lima - Perú**

**2024**

	<b>DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN</b>		
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033	VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01	FECHA: 08/11/2022

Yo, Puchoc Quispe, Sayuri Yasumi y Vega Salazar, Antony egresado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica Escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica /  Escuela de Posgrado de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico "Determinación de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Lima 2023", Asesorado por el docente Ramos Jaco, Antonio Guillermo DNI 04085562 ORCID <https://orcid.org/0000-0002-0491-8882> tiene un índice de similitud de 13 (TRECE) % con código oid:14912:334592975 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



.....  
 Firma de autor 1  
 Puchoc Quispe Sayuri Yasumi  
 DNI: 71922093



.....  
 Firma de autor 2  
 Vega Salazar Antony  
 DNI: 75750481



.....  
 Firma  
 Ramos Jaco Antonio Guillermo  
 DNI: 04085562

Lima, 22 de febrero de 2024



Tesis:

“Determinación de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Lima 2023”.

Línea de investigación:

Salud y bienestar (Toxicología)

Asesor:

Mg. Antonio Guillermo Ramos Jaco

Código ORCID: 0000-0002-0491-8682

Coasesor:

Mg. Elder Miler Reyes Avalos

Código ORCID: 0000-0001-7260-2404

## **Dedicatoria**

La presente Tesis está dedicada a Dios, gracias a él he logrado concluir mi carrera profesional, por cuidarme y ser parte de mi vida en cada momento, por brindarme la fortaleza y vencer los obstáculos que se presentan.

A mis padres Edilberto Vega Vera y Aida Salazar Huamán, porque ellos estuvieron a mi lado brindándome su apoyo y sus consejos para hacer de mí una mejor persona y a mi hermano Sidane Vega Salazar por sus palabras y compañía.

A mi compañera de tesis que ha sido fundamental para poder lograr todo y al fin lo logramos.

A mis tíos Vidauro Vera Burga y María Palomino Laboriano por brindarme el tiempo su apoyo, mis amigos y compañeros que de una u otra forma a contribuido para el logro de mis objetivos.

**Antony Vega Salazar**

## **Dedicatoria**

La presente Tesis está dedicada a Dios, por haber permitido llegar hasta aquí hoy, por darme fuerza y salud para llevar a cabo mis metas y objetivos. Quiero darle las gracias por su amor infinito.

A mi ángel, mi hermano Roberto Puchoc Quispe, que desde el cielo me sigue cuidando siendo mi mayor motivación para llegar a cumplir mi mayor sueño. A mis padres Eduardo Puchoc y Esperanza Quispe que son el motivo y razón por la cual pueda seguir adelante por sus enseñanzas, consejos y valores que permiten ser una persona de bien.

A mis hermanos, por darme su apoyo incondicional, por la confianza y el amor que nos tenemos. Para mis sobrinos Isabella, Romina y Gabriel que son mi mayor tesoro quiero agradecerles por cada momento de felicidad.

A mi compañero de tesis por su gran apoyo y ayuda en el presente proyecto fue un camino largo, pero al fin lo logramos.

A las personas que llegan a formar parte de mi vida por brindarme su apoyo en momentos difíciles.

**Sayuri Yasumi Puchoc Quispe**

## **Agradecimiento**

A todos los docentes de Facultad de Farmacia y Bioquímica que aportaron sus conocimientos y experiencias en nuestra formación profesional.

A nuestro asesor el Mg. Q.F. Antonio Ramos Jaco, a nuestro Coasesor Perito Químico Farmacéutico PNP. Mg. Elder Miler Reyes Avalos, al Mg. Q.F. Segundo Martin Silva Romero, Dr. Federico Malpartida Quispe, por sus apoyos en nuestra investigación, dedicando su tiempo, paciencia y orientación en nuestra tesis.

Al Departamento de Química y Toxicología Forense de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, al Coronel Wilder Alcántara Malca y a los Peritos Químicos Farmacéuticos Forenses Ángel Castañeda Uribe quien ha sido nuestra guía y a la Dra. Marleny García León por su paciencia, dedicación, orientación, enseñanzas y a todos los Peritos Q.F. del departamento por su apoyo en concretar la presente investigación.

**Los autores**

## Índice general

	<b>Pág.</b>
Dedicatoria.....	<b>i</b>
Agradecimiento .....	<b>iii</b>
Índice general.....	<b>iv</b>
Índice de figuras.....	<b>xii</b>
Resumen .....	<b>xiv</b>
Abstract .....	<b>xv</b>
Introducción .....	<b>xvi</b>
<b>CAPÍTULO I: EL PROBLEMA .....</b>	<b>1</b>
1.1. Planteamiento del problema .....	1
1.2. Formulación del problema.....	3
1.2.1. Problema general.....	3
1.2.2. Problemas específicos.....	3
1.3. Objetivo general y específicos .....	5
1.3.1. Objetivo general.....	5
1.3.2. Objetivos específicos .....	5
1.4. Justificación.....	6
1.4.1. Teórica.....	6

1.4.2. Metodológica .....	6
1.4.3. Práctica .....	7
1.5. Limitaciones de la investigación .....	7
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>8</b>
2.1. Antecedentes de la investigación .....	8
2.2. Bases teóricas .....	13
2.2.1. Conceptualización de la determinación de etanol en sangre .....	13
2.2.2. Teorías en la determinación de etanol en sangre .....	14
2.2.3. Análisis de alcohol en sangre .....	14
2.2.4. Evolución histórica.....	14
2.2.5. Alcoholes.....	15
2.2.5.1. Definición .....	15
2.2.5.2. Química de los alcoholes o clasificación.....	16
2.2.6. Etanol .....	17
2.2.6.1. Definición de etanol .....	17
2.2.6.2. Toxicocinética del etanol .....	18
2.2.6.2.1. Absorción.....	18
2.2.6.2.2. Distribución.....	18
2.2.6.2.3. Metabolismo.....	18
2.2.6.2.4. Excreción .....	24
2.2.6.3. Toxicodinámica del etanol.....	24
2.2.6.4. Intoxicación por etanol .....	24

2.2.6.5. Fórmulas teóricas para el cálculo de etanol.....	24
2.2.6.6. Importancia médico legal del etanol.....	25
2.2.7. Métodos analíticos para la determinación de etanol en sangre .....	26
2.2.7.1. Método de Cromatografía de gases .....	26
2.2.7.1.1. Descripción del cromatógrafo de gases .....	26
2.2.7.1.2. Componentes de la cromatografía de gases .....	27
2.2.7.2. Método de espectrofotometría ultravioleta visible.....	33
2.2.7.2.1. Ley de Lambert - Beer .....	34
2.2.7.2.2. Método sheftel modificado para espectrofotometría ultra violeta visible .....	36
2.2.7.2.3. Descripción del espectrofotómetro.....	39
2.2.7.2.4. Fundamento de la absorción Ultravioleta Visible .....	41
2.2.7.3. Características de desempeño para la validación de los métodos de cromatografía de gases con detector de ionización por flama y espectrofotometría ultravioleta visible.....	41
2.2.7.3.1. Selectividad.....	42
2.2.7.3.2. Sensibilidad.....	42
2.2.7.3.3. Linealidad .....	43
2.2.7.3.4. Precisión.....	43
2.2.7.3.5. Exactitud .....	43
2.2.7.3.6. Robustez.....	43
2.3.1. Hipótesis general .....	44
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA .....</b>	<b>45</b>
3.1. Método de la investigación.....	45

3.2. Enfoque de la investigación.....	45
3.3. Tipo de investigación.....	45
3.4. Diseño de la investigación.....	46
3.5. Población, muestra y muestreo .....	46
3.5.1. Población .....	46
3.5.2. Muestra .....	47
3.5.3. Muestreo.....	47
3.6. Variables y operacionalización .....	48
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	51
3.7.1. Técnica .....	51
3.7.1.1. Elementos empleados para la validación de los métodos analíticos.....	51
3.7.1.1.1. Materiales.....	51
3.7.1.1.2. Equipos .....	51
3.7.1.1.3. Reactivos.....	52
3.7.1.2. Procedimiento para la validación de los métodos analíticos para determinar etanol en sangre por GC-FID y UV-VIS. ....	52
3.7.1.2.1. Calibración de los métodos para determinar etanol en sangre por GC-FID y UV-VIS.....	52
3.7.1.2.2. Preparación de las soluciones para la validación de GC-FID y UV-VIS .....	55
3.7.1.2.3. Análisis de las características de desempeño de los métodos analíticos .....	56
3.7.1.2.3. Análisis para determinar etanol en muestras de sangre para GF-FID y UV-VIS .....	62

3.7.2. Descripción del instrumento (ficha de recolección de datos) .....	64
3.7.3. Validación .....	65
3.7.4. Confiabilidad .....	65
3.7.5. Plan de procesamiento y análisis de datos.....	65
3.7.6. Aspectos éticos.....	66

## **CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS..... 67**

4.1. Resultados .....	67
4.1.1 Características de desempeño para determinar etanol en sangre por GC-FID .....	67
4.1.1.1. Calibración del cromatógrafo de gases con detector de ionización por flama. ....	67
4.1.1.2. Validación del método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama. ....	68
4.1.2. Características de desempeño para determinar etanol por UV-VIS .....	75
4.1.2.1. Calibración del método de Espectrofotometría Ultravioleta Visible para determinar alcoholemia. ....	75
4.1.2.2. Validación del método para determinar alcoholemia por UV-VIS .....	76
4.1.3. Determinación de la concentración de etanol por GC-FID.....	84
4.1.4. Determinación de la concentración de etanol por espectrofotometría UV-VIS .....	85
4.1.5. Diferencias de la concentración de etanol por los dos métodos analíticos (GC-FID y UV- VIS).....	86
4.1.6. Prueba de Hipótesis: .....	86
4.2. Discusión de los resultados.....	88

## **CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES ..... 97**

5.1. Conclusiones .....	97
5.2. Recomendaciones .....	98
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>100</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>110</b>
Anexo 1. Matriz de consistencia.....	110
Anexo 2. Ficha de recolección de datos .....	112
Anexo 3. Certificados de validez del instrumento .....	113
Anexo 4. Prueba piloto .....	116
Anexo 5. Carta de presentación para la ejecución del proyecto de tesis. ....	117
Anexo 6. Aprobación del comité de ética.....	118
Anexo 7. Dossier fotográfico .....	118
Anexo 8. Reporte de turnitin .....	122

## Índice de tablas

	<b>pág.</b>
Tabla 1. <u>Longitudes de ondas del campo electromagnético.....</u>	<b>34</b>
Tabla 2. <u>Soluciones para la curva de calibración de GC-FID y UV-VIS.....</u>	<b>54</b>
Tabla 3. <u>Soluciones para la validación de GC-FID y UV-VIS.....</u>	<b>56</b>
Tabla 4. <u>Soluciones para la selectividad de UV-VIS .....</u>	<b>57</b>
Tabla 5. <u>Condiciones para evaluar la robustez del método de CG-FID. ....</u>	<b>60</b>
Tabla 6. <u>Variaciones en el análisis de la robustez en el método GC-FID .....</u>	<b>61</b>
Tabla 7. <u>Condiciones para el análisis de la robustez para UV-VIS. ....</u>	<b>61</b>
Tabla 8. <u>Soluciones para la curva de calibración de GC-FID y UV-VIS.....</u>	<b>62</b>
Tabla 9. <u>Concentración en gramos por litro de las muestras fortificadas.....</u>	<b>69</b>
Tabla 10. <u>Porcentajes de recuperación para evaluar la exactitud en el CG-FID.....</u>	<b>71</b>
Tabla 11. <u>Concentraciones para el análisis de la repetibilidad para el método CG-FID .....</u>	<b>72</b>
Tabla 12. <u>Concentraciones para la evaluación de la precisión intermedia en el CG-FID.....</u>	<b>73</b>
Tabla 13. <u>Representación de los tiempos de retención ante las variaciones en el método de GC-</u> <u>.....</u>	<b>74</b>

Tabla 14. Espectro reportado por UV-VIS con solución conteniendo metanol, etanol, acetona y 2-propanol a concentración de 1,0 g/L. ....	<b>76</b>
Tabla 15. Concentración en gramos por litro de las muestras fortificadas. ....	<b>77</b>
Tabla 16. Porcentajes de recuperación para evaluar la exactitud en el UV-VIS. ....	<b>80</b>
Tabla 17. Concentraciones para el análisis de la repetibilidad para el método UV-VIS. ....	<b>81</b>
Tabla 18. Concentraciones para la evaluación de la precisión intermedia en el UV-VIS. ....	<b>82</b>
Tabla 19. Representación de las absorbancias ante las variaciones en el método de UV-VIS. ....	<b>83</b>
Tabla 20. Determinación de la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el Método de GC-FID .....	<b>84</b>
Tabla 21. Determinación de la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el método de Espectrofotometría UV-VIS. ....	<b>85</b>
Tabla 22. Diferencias entre las medias de las variables. ....	<b>86</b>

## Índice de figuras

	Pág.
Figura 1_ Estructura química del etanol.....	17
Figura 2. Reacción química del etanol a acetaldehído.....	20
Figura 3 . Reacción química de etanal a ácido etanoico. ....	20
Figura 4. Diseño del GC-FID. ....	27
Figura 5. Flujo de inyección de la muestra para cromatografía de gases. ....	29
Figura 6_ Espectro del campo electromagnético .....	33
Figura 7_ Interpolación de la concentración de analito en las muestras (señal vs concentración) .....	35
Figura 8_ Reacción de óxido-reducción del etanol y dicromato de potasio. ....	37
Figura 9. Esquema de un espectrofotómetro ultravioleta visible.....	39
Figura 10_ Curva de calibración para la determinación de etanol por GC-FID. ....	67
Figura 11. Cromatograma reportado por el CG-FID para la selectividad. ....	68
Figura 12. Soluciones para evaluar la linealidad del instrumento con concentración de etanol para el CG-FID. ....	70
Figura 13. Soluciones para evaluar la linealidad del método en el CG-FID. ....	71

Figura 14. Curva de calibración para la determinación de etanol por UV-VIS. ....	75
Figura 15. Soluciones para evaluar la linealidad del instrumento con concentración de etanol para UV-VIS. ....	78
Figura 16. Soluciones para evaluar la linealidad del método UV-VIS. ....	79

## Resumen

El presente estudio tuvo por objetivo validar los métodos para alcoholemia por GC-FID y UV-VIS y determinar la diferencia entre las concentraciones de etanol en sangre en individuos examinados en el Laboratorio Central de la DIRCRI-PNP. La metodología empleada fue el método hipotético - inductivo, enfoque cuantitativo, básica, descriptiva de corte longitudinal y de nivel comparativo. Las características de desempeño evaluadas en la validación fueron: selectividad, sensibilidad, linealidad, exactitud, precisión y robustez, empleando muestras de sangre con etanol. Para la determinación de etanol en individuos, se procesaron 240 muestras biológicas de sangre del servicio de Toxicología – Toma de muestras de la DIRCRI-PNP y fueron analizadas por los métodos GC-FID y UV-VIS y el procesamiento de datos para la validación se realizó con ANOVA, regresión lineal, prueba F, t de Student que fueron ejecutadas por los métodos mencionados. Las características de desempeño encontradas en los métodos de GC-FID y UV-VIS fueron de: límite de detección 0,00191 g/L y 0,0123 g/L; límite de cuantificación 0,00636 g/L y 0,0411 g/L; exactitud como % de recuperación 96,59 – 100,16 % y 86,17 – 101,16 %; repetibilidad como coeficiente de variación 2,01 % y 26,47 %; precisión intermedia como coeficiente de variación 1,88 % y 22,11 %. Se concluye que el método GC-FID no puede ser intercambiable o sustituible por el UV-VIS debido a que se observa una amplia variabilidad en las concentraciones de sus características de desempeño.

**Palabras claves:** Concentración, etanol, cromatografía, espectrofotometría, validación.

### **Abstract**

The objective of the present study was to validate the methods for alcohol testing by GC-FID and UV-VIS and to determine the difference between blood ethanol concentrations in individuals examined at the DIRCRI-PNP Central Laboratory. The methodology used was the hypothetical - inductive method, quantitative, basic, descriptive, longitudinal and comparative level approach. The performance characteristics evaluated in the validation were: selectivity, sensitivity, linearity, accuracy, precision and robustness, using blood samples with ethanol. For the determination of ethanol in individuals, 240 biological blood samples from the Toxicology Service – Sampling of the DIRCRI-PNP were processed and analyzed by the GC-FID and UV-VIS methods and data processing for validation was carried out. performed with ANOVA, linear regression, F test, Student's t that were executed by the mentioned methods. The performance characteristics found in the GC-FID and UV-VIS methods were: detection limit 0.00191 g/L and 0.0123 g/L; limit of quantification 0.00636 g/L and 0.0411 g/L; accuracy as % recovery 96.59 – 100.16% and 86.17 – 101.16%; repeatability as coefficient of variation 2.01% and 26.47%; intermediate precision as coefficient of variation 1.88% and 22.11%. It is concluded that the GC-FID method cannot be interchangeable or replaceable with UV-VIS because a wide variability is observed in the concentrations of its performance characteristics.

**Keywords:** Concentration, ethanol, chromatography, spectrophotometry, validation.

## **Introducción**

El etanol es una sustancia de amplio consumo en la población global, como bebida alcohólica en cualquiera de sus presentaciones, causante de embriaguez, intoxicación y dependencia a lo largo del tiempo. Esta circunstancia constituye un elemento que predispone a los consumidores a perpetrar actos criminales y controlar su consumo es tomado como desafío jurídico y social, donde los profesionales de la salud estamos comprometidos en ayudar en la determinación en el examen del dosaje del etanol en el organismo (alcoholemia).

Esta investigación titulada “Determinación de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023”, está estructurada en cinco (05) capítulos: Capítulo I, describe el planteamiento del problema, formulación del problema, los objetivos, justificación en sus tres dimensiones (teórica, metodológica y práctica) y las limitaciones de la investigación. Capítulo II, comprende el marco teórico, con los antecedentes de la investigación nacionales e internacionales, las bases teóricas que dan sustento al estudio (definición del etanol y sus teorías, toxicocinética, toxicodinámica, métodos analíticos para la determinación de etanol) y la formulación de las hipótesis. Capítulo III, describe la parte de la metodología entre ellos: el método, enfoque, tipo, diseño, población, muestra y muestreo; también las técnicas e instrumentos que se usó para la recolección y procesamientos de los datos; finalmente, los aspectos éticos involucrados en la investigación. Capítulo IV, comprende la presentación y discusión de los resultados obtenidos y capítulo V, da a conocer las conclusiones y recomendaciones de la investigación.

## CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

### 1.1. Planteamiento del problema

Con el paso de la historia, el etanol es la más frecuente causa de toxicofilia y drogadicción en todo el mundo, lo que plantea una complicación médico, legal y social (1). Todas las bebidas alcohólicas, el etanol es el componente principal y el tóxico socialmente más aceptado y consumido, que tiene el potencial de trascender las fronteras sociales, familiares, salud y laborales (2).

En el mundo, el uso desmedido del etanol es un dilema que afronta la salud pública de gran magnitud. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el etanol es partícipe de una gran cantidad de decesos, confirmando que alrededor de 1,3 millones mueren y entre 20 a 50 millones sufren discapacidades anualmente (3). Además, se aprecia que el uso per cápita de alcohol ha aumentado en varias regiones del mundo en las últimas décadas, lo que plantea preocupaciones adicionales (4).

En términos de determinar en sangre al etanol, existen estándares y directrices internacionales para avalar la precisión y credibilidad de los resultados. Sin embargo, la implementación de estos estándares puede variar entre países y laboratorios, lo que

puede generar discrepancias en los resultados y afectar la comparabilidad de los datos a nivel mundial ya que los laboratorios utilizan pruebas analíticas y muestras biológicas diferentes para determinar la concentración (5).

En el contexto latinoamericano, el uso de sustancias alcohólicas figura un gran reto significativo. Según datos de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), varios países de la zona presentan altas tasas de consumismo de etanol per cápita y dificultades vinculadas, como conducir en estado de ebriedad, accidentes de trabajo, suicidio, violación y violencia familiar. Estas situaciones plantean la urgencia de tener métodos analíticos precisos y confiables con el fin de proporcionar la concentración que está presente en el individuo, garantizando una aplicación fiable de las leyes (6).

En muchos países latinoamericanos, la infraestructura y los recursos disponibles para llevar a cabo análisis de laboratorio pueden ser limitados, lo que dificulta la consistencia y los resultados no puedan ser de calidad. Además, la falta de armonización de los protocolos de análisis y la capacitación insuficiente del personal pueden ser obstáculos para obtener resultados confiables y comparables en toda la región (7).

En el ámbito nacional, el Perú enfrenta desafíos similares para la determinación de alcoholemia. El consumo de alcohol es una preocupación importante, especialmente en términos de seguridad vial y delitos relacionados. El análisis preciso y confiable de las concentraciones es fundamental para proteger a la ciudadanía gracias a la correcta aplicación de las leyes (8).

Sin embargo, el acceso a laboratorios de calidad y personal capacitado puede ser limitado en algunas regiones del país, lo que puede resultar en demoras y deficiencias en el análisis. Además, la falta de armonización en los métodos analíticos utilizados por

diferentes laboratorios y coordinación entre las entidades pertinentes pueden contribuir a la falta de uniformidad y comparabilidad de los resultados en todo el país (9,10).

Actualmente en el Perú, se emplean dos metodologías analíticas para determinar etanol en sangre, el método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama (GC-FID) y el método espectrofotometría ultravioleta visible (UV-VIS), en ese sentido es de importancia que a partir de los análisis del Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú se pueda evaluar la confiabilidad de ambos métodos y que se garantice la precisión y comparabilidad de las concentraciones.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

¿Cuáles serán las concentraciones de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?

### **1.2.2. Problemas específicos**

1. ¿Cuáles serán las concentraciones de las características de desempeño para el método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama para determinar etanol en sangre en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?

2. ¿Cuáles serán las concentraciones de las características de desempeño para el método espectrofotometría ultravioleta visible para determinar etanol en sangre en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?
3. ¿Cuál será la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?
4. ¿Cuál será la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el método de espectrofotometría ultravioleta visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?
5. ¿Existirá diferencia entre la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por los métodos de cromatografía de gases con detector de ionización por flama y espectrofotometría ultravioleta visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?

### **1.3. Objetivo general y específicos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar las concentraciones de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

1. Analizar las concentraciones de las características de desempeño para el método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama para la determinación de etanol en sangre en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.
2. Analizar las concentraciones de las características de desempeño para el método de espectrofotometría ultravioleta visible para la determinación de etanol en sangre en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.
3. Determinar la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.
4. Determinar la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el método de espectrofotometría ultravioleta visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.
5. Determinar la diferencia entre las concentraciones de etanol en sangre en individuos examinados por el método de cromatografía de gases con detector de ionización por

flama y espectrofotometría ultravioleta visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.

## **1.4. Justificación**

### **1.4.1. Teórica**

Desde una perspectiva teórica, la investigación se sustenta en el conocimiento científico que aportará sobre el consumismo de etanol y el interés de su detección en diversos contextos legales. Se parte de la premisa de que la evaluación precisa de los niveles de etanol en sangre es fundamental para establecer la influencia del alcohol en la capacidad de una persona frente a diferentes delitos, así como en la atribución de implicancia legal en delitos que tengan relación con el uso de etanol, siendo necesario evaluar y comparar las diferentes metodologías empleadas en tal proceso como las que mencionan Trigo M. (2) y Narváez D. y Quito N. (11).

### **1.4.2. Metodológica**

Se centra en la necesidad de comparar y evaluar la eficacia de dos métodos analíticos utilizados en los laboratorios de toxicología forense en Perú para determinar etanol en sangre. Este enfoque metodológico busca identificar y validar la exactitud, precisión y sensibilidad de los métodos empleados, garantizando que los resultados evidenciados tengan un control de calidad y la confiabilidad para su uso en el ámbito forense.

### **1.4.3. Práctica**

Con este estudio se pone en evidencia los resultados que sirven para proporcionar información relevante entre los métodos analíticos propuestos al momento de determinar la concentración de etanol en los individuos examinados. Con esta información se ven beneficiados el personal que se desempeña en el rubro legal; entre ellos, Peritos Químicos Farmacéuticos, médicos legistas, abogados; ante un caso relacionado porque ayudará al esclarecimiento de los hechos por medio de los informes periciales. Además, demuestra cuál metodología presenta mayores ventajas en la determinación de etanol en sangre.

### **1.5. Limitaciones de la investigación**

Las limitaciones se basan en la disposición al acceso a los equipos empleados, de recursos y materiales, así como la disponibilidad del personal encargado que nos dirigió y supervisó durante todo el procesamiento.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de la investigación

Reyes E. (12) tuvo como objetivo “Desarrollar y validar un nuevo método para determinar alcoholemia por cromatografía gaseosa/espectrometría de masas y su aplicación forense en Perú”. La metodología que realizó fue por inyección de cabeza usando como estándar interno al 1-propanol y para el cromatógrafo de gases lo configuró a una temperatura 40 °C, evaluando las características de sensibilidad, selectividad, exactitud, linealidad, repetibilidad, precisión intermedia y finalmente la robustez. Obtuvo resultados que, su método desarrollado fue selectivo para etanol, metanol, propanona, etanal, 2-propanol y 1-propamol, el límite de detección fue 0,00213 g/L y el límite de cuantificación de 0,00710 g/L, en el rango de 0,1 g/L a 4,0 g/L fue lineal,  $R^2 = 0,9994$ ; fue exacto, con un porcentaje de recuperación del 98,39 % al 101,67 %, con buena precisión, estadísticamente un método robusto. Se concluye que desarrolló y validó una nueva metodología para la determinación alcoholemia y su aplicación en el ámbito forense del Perú.

Canales C. (13) en su investigación tuvo como objetivo “Comparar la variación de la concentración de alcohol etílico en el tiempo en varones vivos en el distrito de Lima Metropolitana utilizando el método de Cromatografía de Gases con Detector de Ionización a la Llama”. Realizó un estudio experimental, descriptivo. Su investigación lo realizó en 40 individuos vivos (varones), sanos y mayores de edad. Las muestras de sangre fueron procesadas usando cromatografía de gases con detector de ionización a la llama con espacio de cabeza. Encontrando una variación de la concentración de etanol en sangre de 0,216 g/L con una  $S = 0,01$ , de los valores hallados la correlación se representa mediante la siguiente ecuación  $l: 1,829 - 0,216X$ . Se concluye que se evidencia una variación de la concentración de etanol en la sangre en varones sanos.

Silva S. (14) en su investigación tuvo como objetivo “Comparar diferentes matrices con el mismo método en personas intervenidas y cadáveres”. Realizó un estudio experimental, enfoque cuantitativo. Las muestras que analizó fueron de 285 personas intervenidas, de las cuales 224 fueron orina y 277 a sangre, el método que empleo para analizar sus muestras fue el método Cromatografía de Gases con Detector de Ionización a la Llama (GC-FID). Se encontró un coeficiente de correlación entre orina y sangre de 0,844 y empleó la prueba no paramétrica de Spearman con un  $\alpha = 0,05$ ; los índices de orina y sangre tienen un valor de  $1,32 \pm 0,03$  y una regresión lineal de  $y = 0,025 + 1,28X$  con un  $R^2 = 0,726$ . Se concluye que se evidencia una correlación significativa entre las concentraciones de etanol en orina y sangre.

Pinares L. y Villa E. (15) tuvieron como objetivo “Comparar dos coeficientes de etil – oxidación, para la determinación de etanolamina en circunstancias reales de consumo de alcohol etílico, en bebedores sociales varones de la ciudad del Cusco”.

Realizaron una investigación experimental, cuantitativo y retrospectivo, se realizó en 45 individuos voluntarios varones de la ciudad de Cusco, realizando 90 lecturas de etanol utilizando el método de Cromatografía de Gases, los coeficientes de etil-oxidación 0,15 g/L y 0,21 g/L. Se encontraron que 32 muestras que representan el 71,11 % aproximándose al coeficiente de 0,21 g/L/h y 13 muestras que representaron el 28,89 % aproximándose al coeficiente de 0,15 g/L/h. Donde para la primera muestra obtuvieron una media= 2,0820 y una S=0,68229 como valor máximo de 2,91 g/L y valor mínimo de 1,07g/L, para el segundo grupo de muestra obtuvieron una media = 0,7124 y S = 0,32538 como valor máximo de 1,45 g/L y valor mínimo de 0,089 g/L. Se concluye que el coeficiente de etil-oxidación 0,21 g/L se acopla de mejor forma a los resultados de alcoholemia.

Intiquilla S. y Montoya M. (16) tuvieron como objetivo “Determinar la correlación entre la concentración de etanol en sangre y orina de personas sometidas a exámenes de ley en Lima Metropolitana de agosto 2016 – marzo 2017”. Realizaron un estudio con enfoque cuantitativo, correlacional, diseño no experimental. Se realizó en 45 individuos entre mujeres y varones, recolectaron dos tipos de muestras orina y sangre, utilizando la técnica de Espectrofotometría Ultravioleta Visible para su procesamiento en el Laboratorio de Toxicología y Química Forense de la DIREJCRI de la Policía Nacional del Perú. Se encontró una correlación de 0,92 entre la concentración de etanol en orina y sangre. Indicando; el coeficiente de determinación  $R^2 = 84,6 \%$ , por lo que no se recomienda inferir la concentración de alcohol en la muestra de san a partir de la orina. Se concluye que existe una buena correlación entre alcoholuría y alcoholemia.

Trigo M. (2) tuvo por objetivo “Validar el método para la cuantificación de alcohol en sangre por Cromatografía Gaseosa con Detector de Ionización de Llama y espacio de cabeza y correlacionar con el método enzimático”. Realizó un estudio longitudinal retrospectiva, la muestra fue sangre fortificada procesándose por GC-FID y espacio de Cabeza. La validación del método fue bajo las características de: límite de detección, límite de cuantificación, precisión, especificidad, exactitud, linealidad. Se observó que el método fue selectivo para el etanol, teniendo una respuesta lineal en el rango de 0,125 – 1,0 mg/mL. La recuperación media fue de 99,06 % y finalmente fue comparado con el método validado que utilizan en la División de Dosaje Etfílico. Se concluye que existe muy buena correlación en las respuestas analíticas de ambos métodos.

Polo D. (17) tuvo como objetivo “Determinar la relación entre los niveles de alcohol obtenidos por cromatografía y colorimetría en el Hospital de la Policía Nacional del Perú Augusto Bernardino Leguía – 2015”. Realizó un estudio descriptivo, correlacional, las muestras analizadas fueron 173 que se sometieron al procedimiento sheftel modificado y Cromatografía de Gases. Se encontró, que se evidencia diferencias significativas entre los resultados de etanol hallados por los dos métodos y una correlación alta y positiva = 0,990 y el CV,  $R^2 = 0,98$  %; la apreciación de los resultados en términos del método cromatográfico a partir del método colorimétrico sheftel sería de la siguiente manera: Resultado en Cromatografía = (1,025 x Resultado de Sheftel) -0,026. Se concluye que el método de Sheftel puede ser empleado de manera fiable para la determinación de etanol.

Narváez D. y Quito N. (11) tuvieron como objetivo “Estandarizar el método para alcoholemia por Cromatografía de Gases”. Realizaron un estudio descriptivo, analítico y cuantitativo. Las muestras de sangre del estudio fueron recolectadas en 11 personas voluntarias utilizando el equipo de Cromatografía de Gases inyección directa y Detección de Ionización de Llama (GC-FID) los resultados reportados por el equipo fueron evaluados en el programa Excel 2007. Se encontró que lograron optimizar la primera fase del método a través del tratamiento de la muestra, la linealidad, a bajas concentraciones y su aplicación en muestras de sangre. Para que cuantifiquen la el etanol en sangre realizaron mediante el estándar interno (n-butanol) y estándar externo (curva de calibración con cuatro estándares a diferentes concentraciones). Se concluye que se logró estandarizar el método de alcoholemia.

Quispe Y. y Loaiza E. (1) tuvieron como objetivo “Evaluar el método analítico colorimétrico de Dosaje Etilico frente al método de Cromatografía de Gases: estudio en bebedores sociales y diabéticos abstemios de la Ciudad del Cusco, determinación de interferentes: especial interés en acetona e isopropanol”. Realizaron un estudio cuasi experimental, descriptivo, enfoque cuantitativo, transversal y de laboratorio. La muestra estaba conformada por 45 sujetos y para recolectar sus datos emplearon una ficha de evaluación. Determinaron por el método de colorimetría y Cromatografía de Gases. Se encontró que el método colorímetro presenta una desviación estándar de 0,21 y 0,29 mientras que para Cromatografía de Gases una desviación estándar de 0,10 y 0,15, al momento de comparar los métodos analíticos se determinó que, si existe una diferencia significativa estadísticamente, por lo tanto, el método analítico colorimétrico en presencia de sustancias reductoras no es específico, como acetona, isopropanol y metanol. Se

concluye que el método analítico colorimétrico es lineal, exacto y preciso para la cuantificación de alcoholemia y que no es un método específico en otras sustancias reductoras.

Dorubet D. et. al. (18) en su investigación tuvo como objetivo “Desarrollar y validar un método de determinación cuantitativa de etanol en sangre mediante cromatografía de gases con espacio de cabeza”. En su metodología utilizaron estándar interno isopropanol, con dos columnas, el número de muestras de sangre fue de 350, con su anticoagulante oxalato de potasio, las temperaturas que manejaron fueron de horno y circuito, el tiempo de incubación fue de 15 minutos y el software fue ChemStation. Obtuvieron resultados que es lineal en el rango de 0,5 – 4,0 g/L, precisión del método y recuperación en porcentaje que fue entre 98,8 % - 3,0 g/L) y 107,70 % (0,5 g/L), el límite de detección fue de 0,05 g/L y el límite de cuantificación 0,187. Se concluye que el método desarrollado y validado es lineal, preciso y exacto.

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Conceptualización de la determinación de etanol en sangre**

La prueba analítica para determinar la presencia de etanol en muestras sanguíneas (alcoholemia) usualmente requerida en los laboratorios de toxicología. Esto se debe a que el etanol, una sustancia fácilmente accesible para las personas, está implicado en una gran cantidad de delitos. El uso de sustancias alcohólicas contribuye en la ocurrencia de accidentes automovilísticos cada hora que pasa y también está asociado con crímenes como la violencia doméstica, entre otros (19). Por lo tanto, es

crucial determinar la concentración de etanol para ayudar a esclarecer estos actos delictivos.

### **2.2.2. Teorías en la determinación de etanol en sangre**

Existen documentos internacionales indicando las teorías de los procedimientos en matrices biológicas para determinar sustancias relacionadas con el alcohol, entre ellos la “Guía para Laboratorios Forenses de la Sociedad de Toxicólogos Forenses y la Sección Toxicología de la Academia Americana de Ciencia Forenses (SOFT/AAFS)” (20), la “Guía de toma de muestra, conservación y transporte para análisis toxicológico del ministerio de salud de la nación” (21) y el “Protocolo unificado de los Ministerios Públicos de la República Argentina: guía para el levantamiento y conservación de la evidencia” (22), estas guías describen distintos procedimientos y protocolos fundamentales para realizar estudios toxicológicos para la obtención de un resultado verídico.

### **2.2.3. Análisis de alcohol en sangre**

Esta sustancia es estudiada porque tiene una relación directa en las decisiones y reacciones que se manifiestan en las funciones biológicas del ser humano. La forma indicada para conocer el grado alcohólico, debe analizarse la matriz por técnicas y metodologías analíticas, el examen legal y exacto es realizado por GC-FID (23).

### **2.2.4. Evolución histórica**

Durante el siglo XX, con el arribo de máquinas con una elevada rapidez empezaron a desarrollar los ensayos de alcohol. A mediados de la década de 1940, la

metodología primordial para medir el grado de etanol consistía en tomar una muestra de sangre, luego era estudiada en un Hospital por GC. En la década de 1950, los test de alcoholemia reemplazaron a los exámenes de etanol en sangre, resultando ser muy evidente sus resultados. El investigador Borkenstein en 1962, diseñó un método que se basaba en hacer una expiración profunda por medio de un tubo pequeño en un medio que estaba compuesta de dicromato de potasio 0,25%, ácido sulfúrico 50% y con nitrato de plata 0,25% que actuaba como acelerador, posteriormente era comparado por colorimetría en dos fotocélulas la variación de color en la dilución por medio de ampolla de observación sellada indicando que es directo a la concentración en el aliento y a la vez permitió determinar medir la concentración semejante equivalente de etanol en circulación sistemática al momento de los hechos (24).

Desde 1992 se opera una inspección cuantitativo anual de los alcoholímetros empleados por las autoridades policiales, otorgando a las pruebas realizadas un mayor carácter probatorio y también los métodos de colorimetría y Cromatografía de Gases ya usadas para muestras biológicas para saber las concentraciones de etanol que pueda existir (23).

## **2.2.5. Alcoholes**

### **2.2.5.1. Definición**

En química, los tipos de alcoholes contienen en su estructura química un grupo hidroxilo, que les da la característica de compuestos orgánicos, están unidos por enlaces covalentes, el carbono tiene que presentar sus cuatro enlaces, a partir de ello se distinguen los tipos de alcoholes (25).

### 2.2.5.2. Química de los alcoholes o clasificación

Existen varios tipos de alcoholes que pueden clasificarse como primarios, secundarios y terciarios, se diferencian por su estructura química y propiedades. Aquí se mencionan los tipos de alcoholes (25):

**Alcohol primario:** El átomo de carbono que une al grupo -OH solo está enlazado a un grupo alquilo. La oxidación va a aldehídos y ácidos carboxílicos. Algunos ejemplos incluyen: metanol, etanol y propanol.

- **Alcohol metílico (metanol, CH<sub>3</sub>OH):** Es un alcohol líquido e incoloro. Se utiliza como disolvente y como combustible. Sin embargo, el metanol es altamente tóxico y consumirlo puede causar ceguera o incluso la muerte. De uso común en laboratorio.
- **Alcohol butílico (butanol, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>OH):** Es un alcohol líquido que puede presentar diferentes isómeros, como el butanol-1, butanol-2, etc. Se utiliza como disolvente en la producción de productos químicos y como aditivo en combustibles. De uso común en laboratorio.
- **Alcohol propílico (propanol, C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>OH):** Es un alcohol líquido que también puede presentar diferentes isómeros, como el 1-propanol y 2-propanol. Se emplea como disolvente y en la producción de productos químicos. De uso común en laboratorio.

**Alcohol secundario:** el átomo de carbono unido con el grupo -OH se enlaza a dos grupos alquilo, que podrían ser diferentes o iguales. Se oxidan hasta cetonas. Algunos ejemplos incluyen: isopropanol, 2-butanol.

- **Alcohol isopropílico (isopropanol, C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>OH):** alcohol en forma líquida sin color con un olor propio. Se utiliza ampliamente como desinfectante, disolvente y en productos de cuidado personal. De uso común en laboratorio.

**Alcohol terciario:** el átomo de carbono que se une al grupo -OH se enlaza a tres grupos alquilo, que puede en diversa asociación del mismo o diferentes. No hay oxidación de estos alcoholes. Algunos ejemplos incluyen 2-metilpropan-2-ol y 2-metilbutan-2-ol.

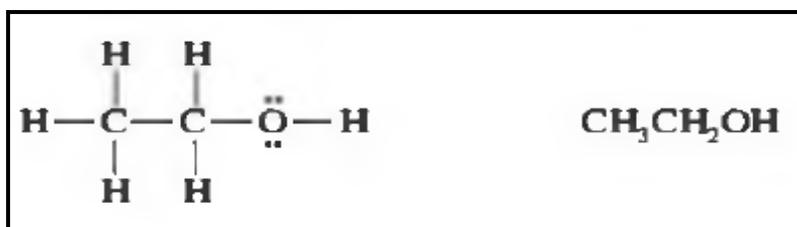
## 2.2.6. Etanol

### 2.2.6.1. Definición de etanol

El alcohol etílico (etanol) es volatilizable con un olor gustoso, cuya fórmula química es CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, punto de fusión de -114 °C y punto de ebullición 78 °C (26). Según Schlesinger A. et.al (27) definen que el etanol es un líquido sin color, traslúcido, de olor peculiar, buen solvente, con menor densidad que el agua ( $\rho = 0,789 \text{ g/mL}$ ), cuyo PM. de 46,0634 daltons.

#### Figura 1

*Estructura química del etanol.*



Fuente: Wade. Química Orgánica (25)

## **2.2.6.2. Toxicocinética del etanol**

### **2.2.6.2.1. Absorción**

La forma de ingesta del alcohol etílico mayormente es por vía oral absorbido rápidamente por medio de los tejidos biológicos, en la mucosa gástrica se absorbe del 20 - 25% y en el intestino delgado en un 85 - 90% pasando a la vena porta posterior al hígado y redistribuirse a la circulación sistémica (28).

### **2.2.6.2.2. Distribución**

Después de la absorción, ingresa al torrente sanguíneo y se expande por cada órgano y tejido en el cerebro, pulmones, riñones, hígado, entre otros. La molécula química del etanol tiene un extremo hidrófilo, lo que lo hace soluble en agua en lugar de lípidos, como resultado, su distribución en el cuerpo es similar a la del agua, atravesando con facilidad la barrera placentaria y hematoencefálica. Además, penetra en los pulmones a través de la sangre vaporizándose y eliminándose rápidamente (29).

### **2.2.6.2.3. Metabolismo**

El etanol se transporta al hígado y se metaboliza el 90 % del alcohol y el 2 - 10% restante es metabolizado por los riñones y pulmones. Cuando el alcohol se encuentra en el organismo, se va a metabolizar o transformar por medio de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) a acetaldehído y por la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) a ácido acético y después convertirse en anhídrido

carbónico y agua (30). Este procedimiento ocurre en el hígado principalmente en el hepatocito que consta de dos fases:

**Fase 1:** El etanol se oxida a acetaldehído, ocurre mediante tres vías:

- Vía de la enzima alcohol deshidrogenasa (DHA).
- Vía del sistema microsómico alcohol oxidante (MEOS).
- Vía de las catalasas.

**Fase 2:** está presente la oxidación a ácido etanoico y luego a dióxido de carbono.

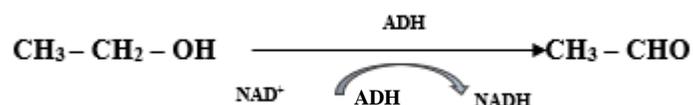
Ocurre mediante dos vías:

- Vía principal.
- Vía de las liasas.

### Fase 1

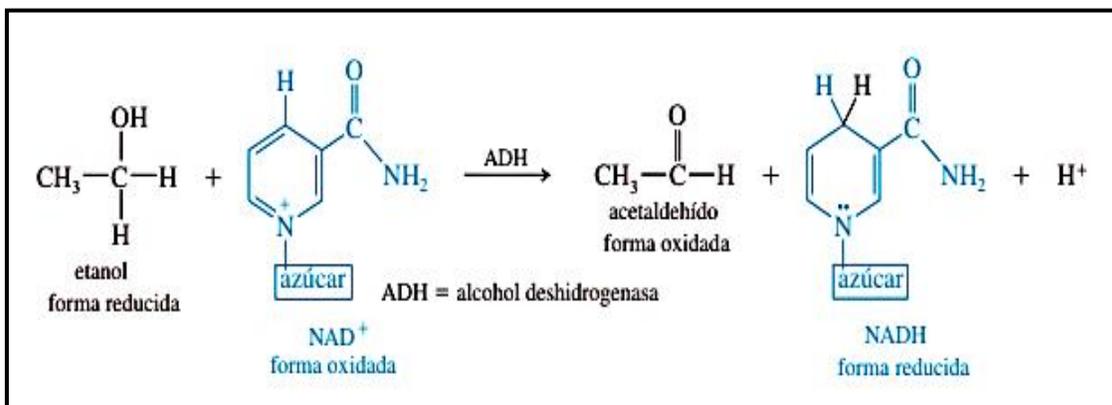
#### Vía de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH)

Esta vía es la más importante ubicada en las células del hígado (hepatocitos) que acelera la producción de etanal mediante traspaso de hidrogeno de un grupo hidroxilo al cofactor (NAD) que se convierte en NADH (31).



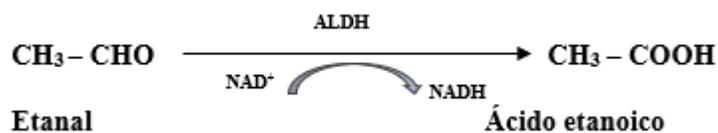
**Figura 2**

*Reacción química del etanol a acetaldehído.*

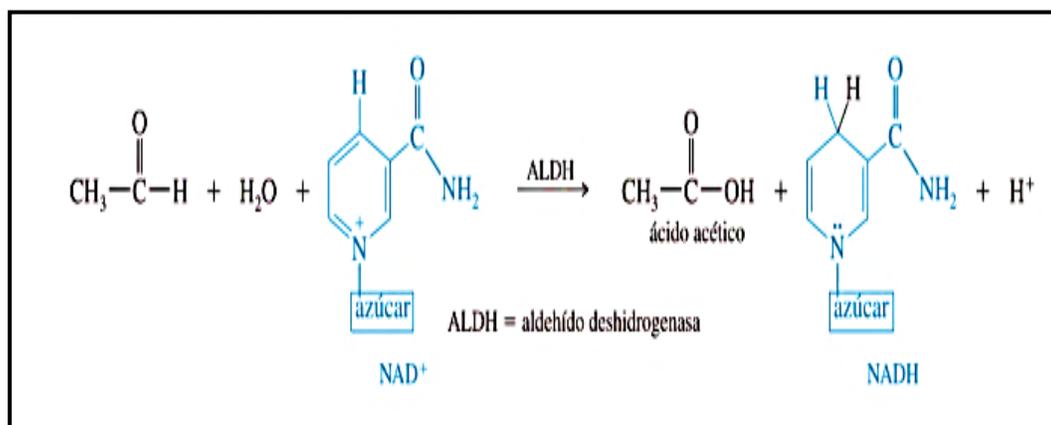


Fuente: Wade J. Química Orgánica (25).

A posteriori, el etanal por medio de una oxidación se convierte ácido etanoico por la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) con la colaboración de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD<sup>+</sup>) (31).

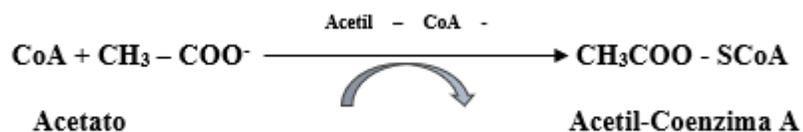
**Figura 3**

*Reacción química de etanal a ácido etanoico.*

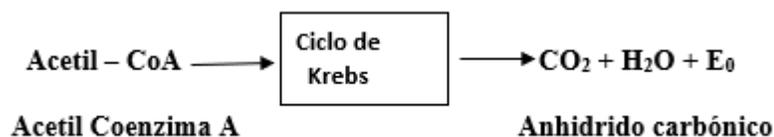


Fuente: Wade J. Química Orgánica (25).

El ácido acético formado con la coenzima A va a reaccionar dando formación al acetil coenzima A.



Finalmente, el acetil coenzima A que se ha formado va a ingresar al ciclo de los ácidos tricarboxílicos y por último se transforma en dióxido de carbono y agua desprendiendo energía (31).



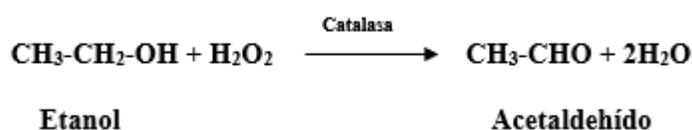
### Vía del microsomal oxidación del etanol (MEOS)

Este proceso se lleva a cabo en el retículo endoplasmático que está conformado por las enzimas oxidasas de función mixta (MOF) que hace uso del fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido (NADP) participando el citocromo P450 en su variedad P-450-2E1(31).

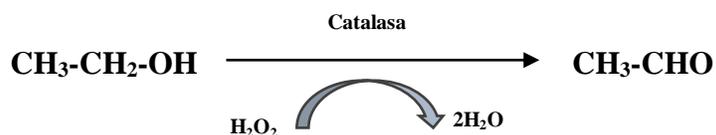


### Vía de las catalasas

En los peroxisomas se localizan estas enzimas y funcionan como enzimas deshidrogenasas no específicas, encargándose de oxidar una amplia variedad de compuestos. Su función principal es erradicar el peróxido de hidrógeno que se genera durante los mecanismos bioquímicos y que puede ser nocivo para el cuerpo humano (31).



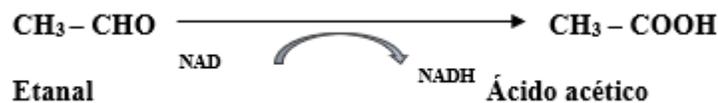
Se puede representar de la siguiente manera la reacción:



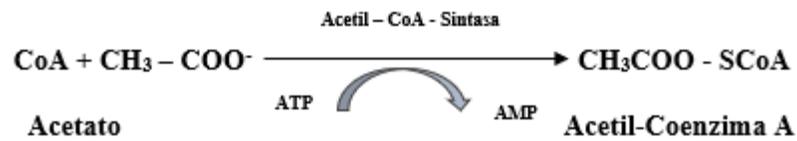
### Fase II

#### Vía principal

Esta etapa corresponde a la fase 2 la biotransformación del alcohol, el etanal se oxida hasta ácido acético, mediante las acciones de las enzimas deshidrogenasas (31).



El ácido acético originado va a reaccionar con la coenzima A (CoA) formando el acetil coenzima A.



El acetil coenzima A entra en varios mecanismos biológicos como el ciclo de Krebs para



finalmente convertirse finalmente en agua y anhídrido carbónico.

### Vía de las liasas

El acetaldehído se centra para formar catabolitos como los aminoácidos, así como más biomoléculas como el ciclo de las pentosas, la treonina, la alotreonina, la acetoína, entre otras (31).

#### **2.2.6.2.4. Excreción**

El etanol se elimina a través de varias vías, el 50 - 60% por los pulmones, el 25-30% por los intestinos, el 5-7% por los riñones y una cantidad mínima se excreta a través del sudor, saliva y lágrimas (32).

#### **2.2.6.3. Toxicodinámica del etanol**

El alcohol etílico aumenta la capacidad del GABA para inhibir el Sistema Nervioso Central y bloquear al receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) de aspartato, lo que reduce la actividad glutamatérgica. Esto logra aumentar la penetrabilidad del ion cloro, lo que facilita su pase a la neurona y promueve la repolarización y se disminuye la función del sistema nervioso, causando depresión e intoxicación (33).

#### **2.2.6.4. Intoxicación por etanol**

La intoxicación puede ser:

- a) **Aguda:** El efecto es de corta duración y se absorbe rápidamente con la administración única o repetida durante un corto período de tiempo. La enfermedad se manifiesta rápidamente por pseudoexcitación, desinhibición, hipnosis, narcosis y parálisis respiratoria, con muerte o tratamiento en un corto período de tiempo.
- b) **Crónica:** causada por la exposición repetida al etanol durante un largo período de tiempo que se manifiesta con alteraciones nutritivas, hepáticas entre otros (34).

#### **2.2.6.5. Fórmulas teóricas para el cálculo de etanol**

##### **2.2.6.5.1. Fórmula para calcular la determinación retrospectivamente de etanol en sangre**

El método fue desarrollado por el químico sueco Erik Mateo Prochet Widmark, que creó la fórmula  $C_o = C_t + \beta \times t$  ampliamente utilizada en ciencias forenses, en la que  $C_o$  representa la concentración de alcohol en el momento en que se produjo el suceso,  $C_t$  representa el nivel de alcohol en el momento de la recogida de la muestra,  $\beta$  es el coeficiente de oxidación etílica (0,0025 en varones y 0,0026 en mujeres), y  $t$  representa el tiempo transcurrido entre  $C_o$  y  $C_t$  expresado en minutos (35).

#### 2.2.6.5.2. Fórmula para determinar la cantidad de etanol tomado

Para calcular el etanol ingerido, dicha fórmula se detalla a continuación:

$$C.A.I. = C.s \times p \times Fr$$

**Donde:**

**C.A.I.** concentración de etanol ingerido

**C.s.** concentración transportada en la sangre (g/L),

**p.** peso del individuo

**Fr.** factor de reducción, varones de 0,682/Kg y en mujeres 0,601/Kg) (31).

#### 2.2.6.6. Importancia médico legal del etanol

Determinar el estado de intoxicación es primordial para cuantificar la cantidad de etanol en el cuerpo de una persona mientras está pendiente un caso penal. Entre ellos, conducta desordenada, lesiones corporales, asesinato, desobediencia,

delitos sexuales y, más comúnmente, accidentes que requieren la mayor parte de los análisis de toxicidad en los laboratorios de inspección de tránsito (36).

## **2.2.7. Métodos analíticos para la determinación de etanol en sangre**

### **2.2.7.1. Método de Cromatografía de gases**

La cromatografía reúne complejos importantes de varios métodos para ayudar a determinar sustancias mediante la separación e identificación en soluciones difíciles, estas divisiones no serían posibles de otra manera. Las muestras cuando están en el proceso de la separación entra en contacto con la fase móvil, que puede ser un líquido o gas que fluye en una fase estacionaria inmisible fijada a la superficie de una columna (37).

La cromatografía de gases es un método analítico moderno para la evaluación específica y selectiva, donde la matriz se evapora y será inyectada en la parte superior de una columna cromatográfica. La partición se da a través de la fase móvil, que es un gas inerte, que no debe interactuar con el analito y cumple únicamente una función de transporte. Estos gases pueden ser (helio, nitrógeno e hidrógeno) y también presenta una fase estacionaria que está adherida en el equipo (37).

#### **2.2.7.1.1. Descripción del cromatógrafo de gases**

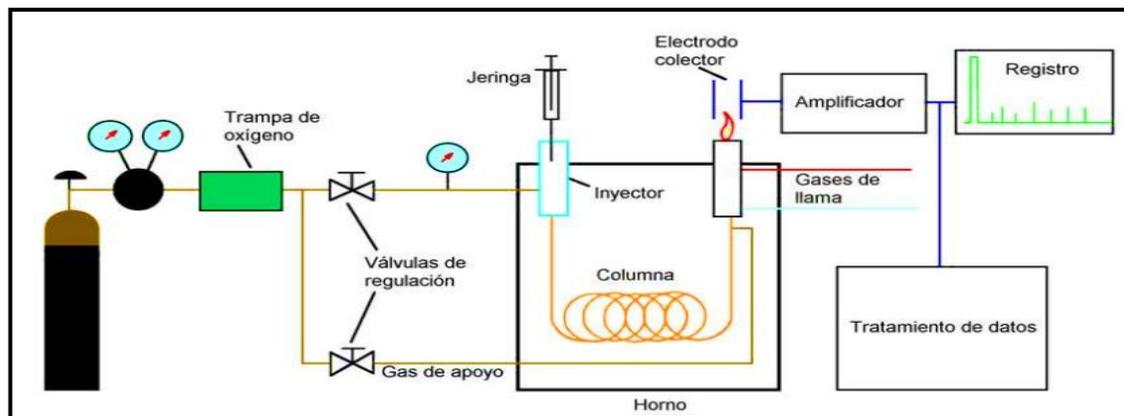
El equipo está conformado básicamente por:

- Fase móvil: gas portador
- Fase estacionaria: columna
- Inyector

- Horno
- Detector
- Ordenador

**Figura 4**

*Diseño del GC-FID.*



Fuente: Canales C. (13).

Este sistema funciona de esta manera. Después de inyectar la muestra, pre-volatilizarse y transferirla a la columna que se encuentra el horno, la llama del FID quema la muestra para emitir una señal captada por un detector posicionado en los lados la llama de hidrógeno y, finalmente, todas estas señales se envían al software y 2se muestran en un cromatograma.

### 2.2.7.1.2. Componentes de la cromatografía de gases

#### Sistema de gas portador

En cromatografía de gases, el gas portador se denomina fase móvil. El gas utilizado es el helio; además, se emplean gases como el argón, el nitrógeno y el

hidrógeno. Los sistemas de gas portador también suelen contener tamices moleculares responsables de eliminar la humedad y otras impurezas (38).

### **Sistema de introducción de muestras**

Los dispositivos de introducción de muestras para GC están diseñados para vaporizar y contener una muestra para análisis en una corriente de gas portador enviada a una columna. La evaporación y la inyección de muestras en el sistema deben cumplir requisitos específicos (38):

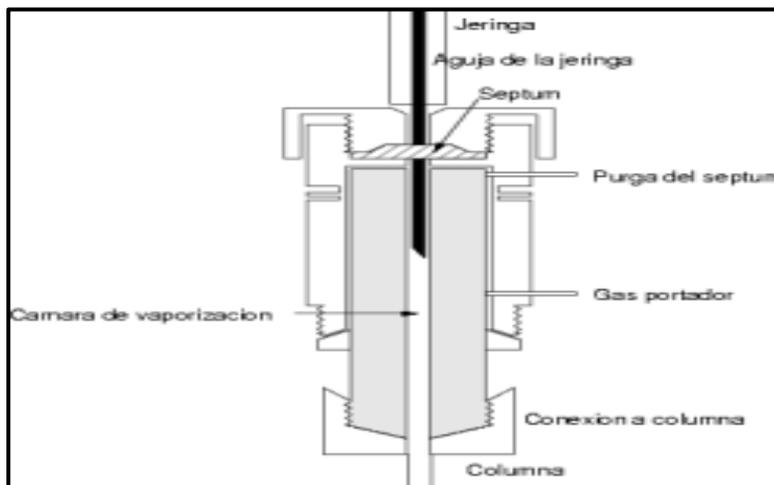
- La evaporación del espécimen debe ser rápidamente.
- La evaporación suele ejecutarse sin separar los componentes del espécimen.
- El espécimen debe ser lo más delgada posible para que llegue a la columna.

### **Sistemas de inyecciones de la muestra**

La muestra se inyecta con una jeringa hipodérmica a través de un tabique siliconado de vidrio en un bloque de metal, la cual se evapora y barre la columna. En este bloque, la temperatura debe mantenerse elevada para que se transforme en gas.

## Figura 5.

*Flujo de inyección de la muestra para cromatografía de gases.*



Fuente: Gutiérrez C. (38)

### Tipos de inyecciones de muestra

También llamada inyección dividida, esta es una inyección muy simple utilizada en cromatografía capilar. Consta esencialmente de iguales componentes que un inyector convencional, el agregado de un conjunto de separación de flujo de la cámara de mezcla a la salida, de manera que una parte ingresa a la columna y la diferencia sale del sistema por medio de una válvula de aguja y sistema automático cerrado (38).

#### Inyección con división de muestra (Split)

También llamada inyección dividida, esta es una inyección muy simple utilizada en cromatografía capilar. Consta esencialmente de iguales componentes que un inyector convencional, el agregado de un conjunto de separación de flujo de la cámara de mezcla a la salida, de manera que una parte ingresa a la columna y la

diferencia sale del sistema por medio de una válvula de aguja y sistema automático cerrado (38).

### **Inyección splitless**

En este método, la muestra se introduce completamente dirigiéndose a una columna cuya temperatura es menor al punto de ebullición del analito más volátil que contiene la muestra. Este uso evita el sesgo de la muestra, lo que aumenta la sensibilidad y el potencial de análisis a nivel de trazas (38).

### **Inyectores por espacio de cabeza**

Se puede aplicar para analizar la muestra directamente en la atmósfera, la muestra debe colocarse en un recipiente sellado y calentarse durante un período de tiempo para permitir que las dos fases alcancen el equilibrio. Una alícuota de aire atmosférico en la que se equilibran los componentes de la muestra (38).

### **Columna cromatográfica**

Es la parte más importante y central del cromatógrafo de gases, ya que es el elemento infalible para separar los componentes de la muestra y siempre debe estar en buen estado de funcionamiento. El interior consta de una fase estacionaria, un tubo que puede estar hecho de varios materiales inertes (38).

### **Columna capilar**

También llamados tubos abiertos, estos tubos consisten en una fina capa que oscila entre 0,1 y 10  $\mu\text{m}$  de fase estacionaria. Esta fase es un polímero de alto peso molecular resistente al calor. El tubo también tiene una fina capa de cubierta, que

normalmente está hecha de vidrio o sílice fundida con un diámetro interior de 0,05-0,52 mm (38).

Debido a su naturaleza permeable, puede tener una longitud mayor. Esta propiedad se debe a que mantiene un flujo estable en la columna y brinda las siguientes características:

- Número de Platos: Hay varios platos desde 30 000 hasta 50 000. Esta propiedad es de fundamental importancia ya que permite separar bien mezclas complejas.
- No requiere alta selectividad, lo que permite una fácil y conveniente separación de varios compuestos.
- Tiene el inconveniente de no poder utilizar muchas muestras, por lo que es mejor tener más cuidado con las muestras inyectadas.

### **Analizador por espacio cabeza o headspace**

El análisis de espacio de cabeza se basa en el principio de tapar una muestra en un vial y operar bajo condiciones específicas como agitación, temperatura y tiempo. Permite que las fases gaseosa y líquida se equilibren cuando el compuesto orgánico en estudio es volátil. El vial se presuriza y una parte de la muestra se retira del espacio de cabeza (38).

### **Detectores**

Se necesita un sistema de detección que pueda señalar la elución de los componentes de la muestra a medida que la columna los separa, al mismo tiempo que

proporciona una señal proporcional a la cantidad de material que pasa a través de ella (38).

Los detectores deben presentar algunas características como:

- **Señal del detector:** Mide la característica que distingue el gas portador de la mezcla de sustancia eluida/gas portador.
- **Sensibilidad:** Cambio de la señal medida a causa de una variación en la concentración del eluyente en el gas portador.
- **Linealidad:** Proporcionalidad constante de la relación entre el logaritmo de la señal de la onda y el logaritmo de la concentración del eluyente.

### **Detector por ionización por flama (FID)**

Es un detector adecuado para aplicaciones de GC en las que el flujo de la columna se direcciona a una pequeña flama entre el aire y el hidrógeno. La detección implica recolectar estos portadores de carga y controlar la corriente generada. Este tipo de detector responde al número de átomos de carbono que ingresan durante un período de tiempo y es más sensible a la masa que los detectores de concentración (37).

### **Características del detector de Ionización por flama**

- Sensibilidad óptima.
- Buena reproductibilidad y estabilidad.
- Respuesta lineal
- Intervalo de temperaturas (- 400 °C)

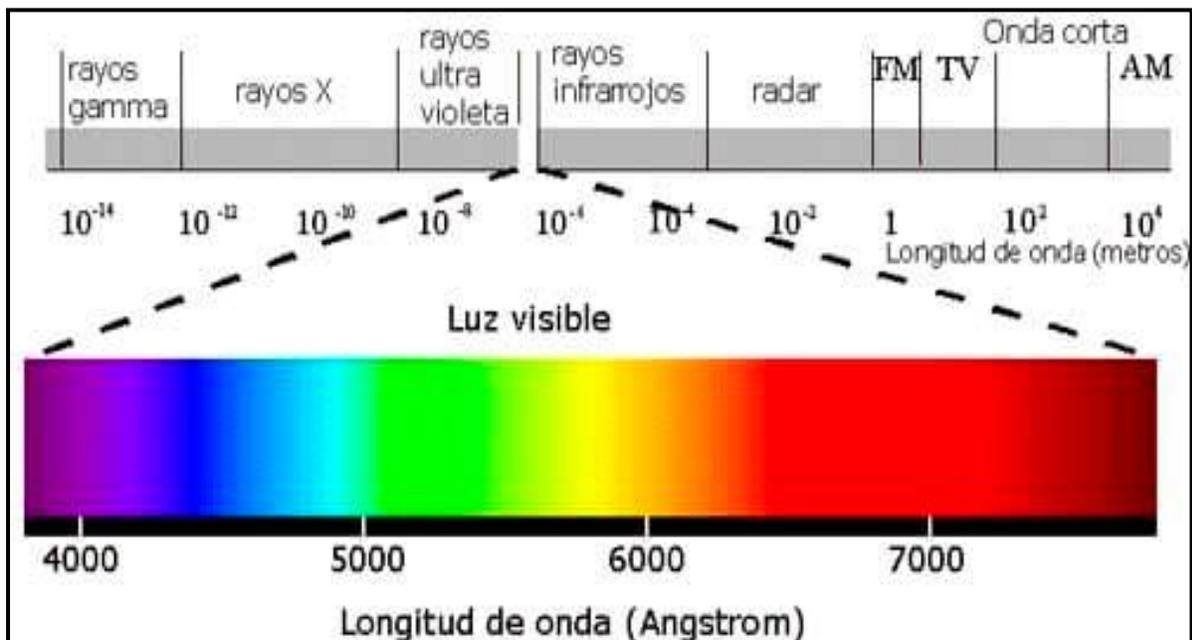
- Tiempo de respuesta corto.
- Alta confiabilidad
- Respuesta semejante y selectiva.

### 2.2.7.2. Método de espectrofotometría ultravioleta visible

Este método de análisis calcula por la proporción luz absorbida en una longitud de onda específica, lo que indica que la luz ultravioleta se encuentra en el rango de 100 a 400 nm y la luz visible se detecta en el rango de 400 nm a 780 nm. Se define como el espectro electromagnético (39).

**Figura 6**

*Espectro del campo electromagnético*



Fuente: Frontal B. (40)

**Región ultravioleta:** rango donde se concentra la energía muy elevada y lastima al ojo humano. Los sistemas aromáticos, enlaces peptídicos, compuestos con enlaces dobles y triples y grupos carbonilo en su estructura química tienen máxima absorción

en esta región. Factores como la concentración de sal, el pH y el solvente cambian la carga de las moléculas, provocando cambios en el espectro ultravioleta (41).

**Región visible:** el rango del color visible de una solución se estima mediante las transmisiones de las longitudes de onda y no de las longitudes de onda que absorbe. Es decir, para medir la absorbancia, se requiere una longitud de onda en la que una solución coloreada absorba la luz (41).

**Tabla 1**

*Longitudes de ondas del campo electromagnético*

Longitud de onda aproximadamente	Color de luz que se absorbe	Color de luz que se refleja o ve
390 – 435 nm	Violeta	Amarillo verdoso
435 – 490 nm	Azul	Amarillo
490 – 580 nm	Verde	Rojo
580 – 595 nm	Amarillo	Azul
595 – 650 nm	Naranja	Azul verdoso
650 – 780 nm	Rojo	Verde azulado

Fuent

e: Andrade A. y Bonifacio R. (41)

#### **2.2.7.2.1. Ley de Lambert - Beer**

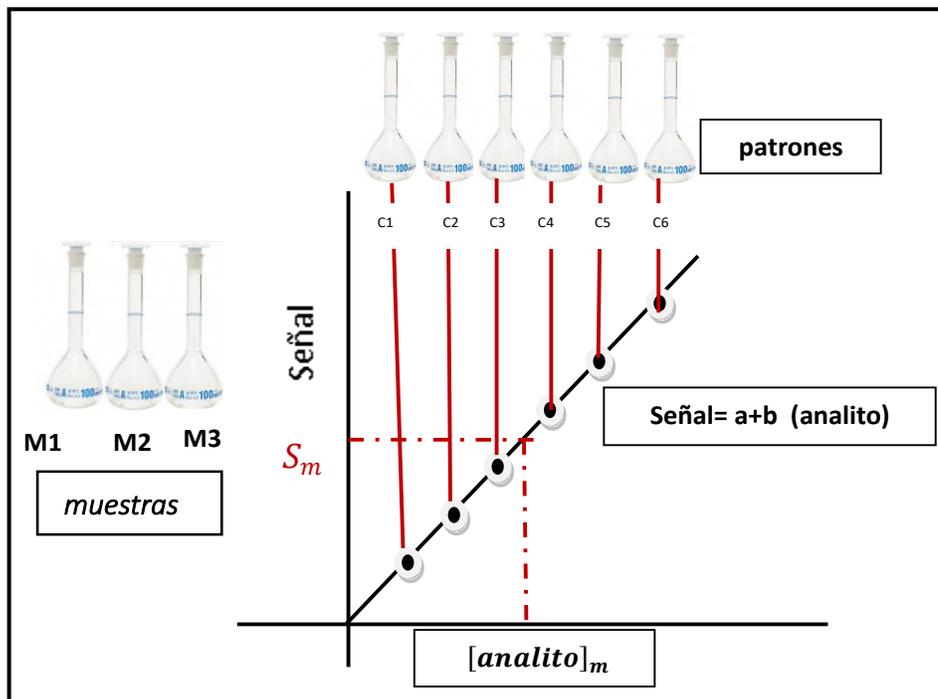
Este método es útil y aplicable para el análisis cuantitativo de mezclas orgánicas, donde la absorción (A) de radiación a una longitud de onda específica es proporcional a la concentración del analito (C), el camino óptico (B) y constante de absorción.

$$A = \epsilon \cdot B \cdot C$$

Al momento de analizar una muestra, cuando la concentración y espesor de la cubeta o el camino óptico sea mayor, la absorción de la radiación será mayor.

**Figura 7**

*Interpolación de la concentración de analito en las muestras (señal vs concentración)*



Fuente: Interpolación de la concentración (42)

La aplicación de la Ley de Beer permite cuantificar varias sustancias incluido el etanol, y requiere para la comparación preparar soluciones de sustancias conocidas (absorbancia frente a concentración), que se interpola por la concentración que presenta la sustancia de análisis\_(29).

Esta ley cambia cuando ocurren ciertos errores en los análisis que utilizan este método, denominados como desviaciones que pueden ser causadas por:

**Limitaciones fundamentales:** esta regla es restrictiva para bajas concentraciones de analito, menos de 0,001 M. Mientras que, a concentraciones elevadas, las partículas absorbentes disminuyen su independencia. Es decir, cuando se acercan excesivamente las moléculas interactúan entre sí y alteran sus propiedades eléctricas (43).

**Interferencia química:** ocurre como resultado de la reacción de las especies de interés entre la asociación o disociación y depende principalmente del pH de la muestra, la concentración del agente complejante y del tampón. En definitiva, cualquier factor que pueda afectar al equilibrio de la reacción (43).

**Interferencia espectral:** ocurre porque se emite radiación no monocromática, es decir, más de una longitud de onda y el intervalo debe tener un coeficiente de absorción (43).

**Interferencia instrumental:** ocurre siempre, pero es causada por errores de lectura que son más severos en absorbancias bajas o muy altas (43).

Es importante minimizar cualquier tipo de interferencia, ya que dicha interferencia conducirá automáticamente a errores de análisis.

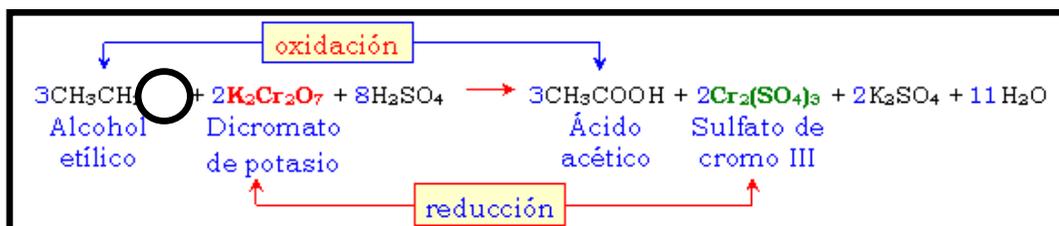
#### **2.2.7.2.2. Método sheftel modificado para espectrofotometría ultra violeta visible**

Este método consiste en la reacción activa de reducción del etanol al agente oxidante dicromato de potasio por absorción a una longitud de onda de 420 nm. Para ello, una mezcla oxidante de dicromato de potasio y ácido sulfúrico químicamente puro se hace reaccionar con etanol para oxidar a ácido etanoico y el dicromato de color naranja ( $\text{Cr}^{+6}$ ) se reduce a sulfato de cromo (III) ( $\text{Cr}^{+3}$ ) de color

verde, teniendo en cuenta que depende de la concentración de alcohol de la muestra en análisis (41).

### Figura 8

*Reacción de óxido-reducción del etanol y dicromato de potasio.*



Fuente: elaboración propia.

La representación de la reacción de una mezcla de dicromato de potasio y exceso de ácido sulfúrico. Aquí, cuando el etanol reacciona con el dicromato de potasio, los iones de dicromato de color amarillo-naranja se reducen a iones de cromo azul-verde, convirtiendo el alcohol en etanal, ácido etanoico, anhídrido carbónico y agua. También puede haber alguna interferencia en esta reacción, como los volátiles (cuerpos cetónicos, metanol y formaldehído) (25).

### Interferencias del método de sheftel para determinar etanol en sangre.

En la sangre humana, los tipos de sustancias con características similares al etanol que se pueden encontrar generalmente son los productos de descomposición del alcohol etílico o etanol, que es la sustancias comúnmente consumido en presentaciones alcohólicas y que pueden reaccionar con el dicromato de potasio el cual es un agente oxidante fuerte que puede reaccionar con diversas sustancias reducibles. Algunas de las sustancias que se pueden encontrar en la sangre humana y pueden generar un falso positivo con el dicromato de potasio son (44):

- **Etanal:** Es el primer producto de la descomposición del etanol en el cuerpo humano. El etanal es un compuesto que se origina en el cuerpo mediante un proceso de metabolismo conocido como oxidación del etanol (44).
- **Ácido acético:** El etanal se descompone aún más en ácido acético, que es un compuesto comúnmente encontrado en la sangre y también es producido en otros procesos metabólicos (44).
- **Ácido úrico:** Es un de desecho propio del organismo de las purinas. Es una sustancia reducible y puede reaccionar con el dicromato de potasio en una reacción de óxido-reducción (44).
- **Bilirrubina:** La bilirrubina es un pigmento amarillo producido durante la muerte de los glóbulos rojos en el hígado. En su forma reducible, la bilirrubina puede reaccionar con el dicromato de potasio (44).
- **Ácido ascórbico (vitamina C):** Es un antioxidante natural que se encuentra en la sangre. A pesar de su función como agente antioxidante, en ciertas condiciones, el ácido ascórbico puede actuar como reductor y participar en reacciones de óxido-reducción con el dicromato de potasio (44).

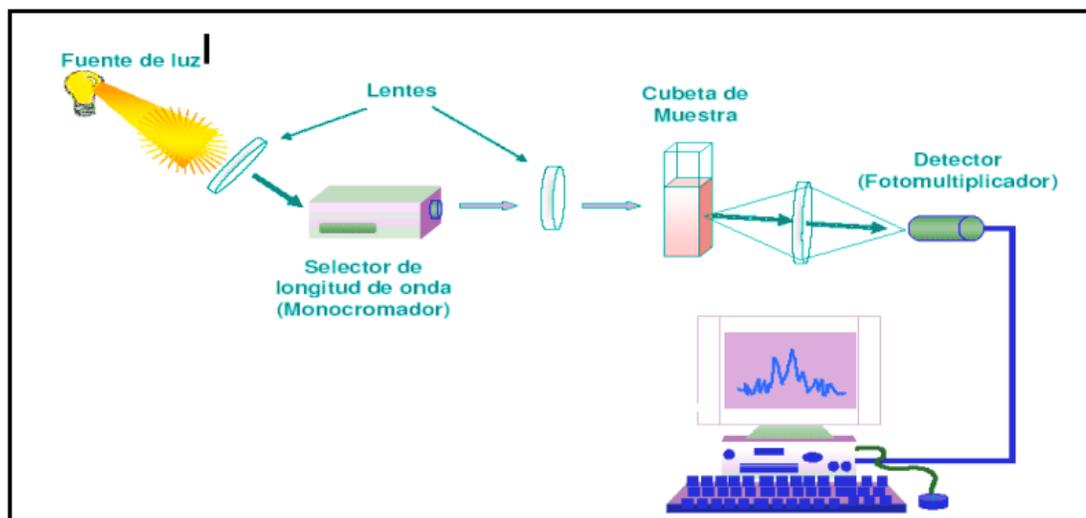
Estos son solo algunos ejemplos de sustancias presentes en la sangre humana que podrían reaccionar con el dicromato de potasio en una reacción de óxido-reducción. Sin embargo, es importante destacar que el dicromato de potasio no es utilizado rutinariamente en pruebas de laboratorio clínico para analizar muestras de sangre. Las pruebas de óxido-reducción en el contexto clínico suelen realizarse

utilizando otros reactivos y métodos específicos para determinar diferentes componentes en la sangre (45).

### 2.2.7.2.3. Descripción del espectrofotómetro

**Figura 9**

*Esquema de un espectrofotómetro ultravioleta visible*



Fuente: Andrade A. y Bonifacio R. (41)

#### **Componentes de un espectrofotómetro**

Los principales elementos de un espectrofotómetro son (43):

- Fuente de luz
- Monocromador
- Cubeta de muestra
- Foto multiplicador
- Amplificador de señal

- Ordenador

### **Fuente de luz**

Se encarga de proporcionar la luz a la muestra como estabilidad, direccionalidad, distribución continua de energía espectral y larga vida útil. La fuente de luz utilizada en el espectrofotómetro es una lámpara de tungsteno de bajo voltaje (43).

### **Monocromador**

Este es un camino óptico a través del cual pasan las ondas electromagnéticas. El recipiente de la muestra tiene un tamaño de 0,5 a 0,5 cm y una forma rectangular, y el material utilizado es diferente para las diferentes regiones del espectro electromagnético para la región visible; mediante una celda cuarzo fundido, plástico infrarrojo (43).

### **Fotomultiplicador**

Un detector es un transductor que transforma la energía de radiación en una señal eléctrica. Una propiedad común de un detector es su idoneidad (o aptitud) para generar una señal eléctrica cuando es golpeado por fotones. Se deben presentar algunas características (43):

- Tiempo de respuesta pequeños.
- Estabilidad
- Posibilidad de ampliación de la señal.
- Elevada sensibilidad
- Elevada relación señal/ruido
- Señal proporcional a la concentración.

#### **2.2.7.2.4. Fundamento de la absorción Ultravioleta Visible**

Esta absorción consiste en una transición de una forma en estado estacionario o fundamental con una energía mínima ( $E_0$ ), que luego debe cambiar a una forma excitada ( $E^*$ ) con una energía más alta. Estos cambios de energía están directamente relacionados con la radiación electromagnética ultravioleta visible, donde se producen cambios en el nivel de energía según los electrones de valencia presentes en la solución atómica analizada (46).

#### **2.2.7.3. Características de desempeño para la validación de los métodos de cromatografía de gases con detector de ionización por flama y espectrofotometría ultravioleta visible.**

Ante la falta de técnicas analíticas definitivas, se emplean métodos analíticos para examinar los componentes de una matriz mediante la modificación de un método preexistente con el equipo o los materiales necesarios para su implementación.

La validación de un método analítico implica verificar los análisis y proporcionar evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos específicos para su uso previsto y determinar los límites del método en condiciones normales de operación. La Oficina de las Naciones Unidas Contra la Droga y el Delito (UNODC) sugiere validar métodos no estandarizados, métodos desarrollados o creados en laboratorio, métodos estandarizados utilizados más allá de su ámbito de aplicación y extensiones de métodos estandarizados. La validación debe realizarse según sea necesario para demostrar que las características de rendimiento del método son

adecuadas para el uso previsto (47).

La EURACHEM en su declaración sobre la adecuación al uso de métodos analíticos, refiere que “validar un método es básicamente el proceso para definir un requisito analítico y la confirmación de que cuenta con las aplicaciones requeridas”. Por su lado la ISO 17025 menciona que la validación consiste en la “confirmación a través del examen y aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto” (48).

#### **2.2.7.3.1. Selectividad**

Se refiere al "nivel en el que un método puede ser utilizado para determinar sustancias específicas en mezclas o matrices sin que otros componentes de comportamiento similares interfieran", y este parámetro determina la capacidad de un método para medir la sustancia de interés en muestras a las que se les han añadido interferencias específicas de manera intencional (48).

#### **2.2.7.3.2. Sensibilidad**

La sensibilidad de un método analítico asegura que se produzcan respuestas a los cambios más pequeños en la concentración (48).

- **Límite de detección (LOD):** Este parámetro se refiere a la concentración más baja del analito que pueda detectarse mediante el método con un nivel de confianza específico.
- **Límite de cuantificación (LOQ):** Evalúa el nivel más bajo en que el rendimiento se puede presentar en una aplicación común.

#### 2.2.7.3.3. Linealidad

Es la capacidad de obtener resultados de prueba que sean proporcionales al contenido del analito en la muestra durante un período de tiempo, ya sea directamente o mediante transformaciones matemáticas bien definidas (48).

#### 2.2.7.3.4. Precisión

Se refiere a la coherencia de los resultados de mediciones repetidas durante el análisis en condiciones específicas. También conocida como función de error aleatorio (48).

**Repetibilidad:** medida de variación en los resultados cuando un solo analista realiza una prueba utilizando el mismo equipo durante un corto periodo de tiempo (48).

**Precisión intermedia:** estima la variación en los resultados cuando las mediciones se realizan en un solo laboratorio por dos analistas, pero en condiciones que son más variadas que las condiciones de repetibilidad (48).

#### 2.2.7.3.5. Exactitud

Este es el grado de concordancia que existe entre el resultado del valor medido y el valor real (48).

#### 2.2.7.3.6. Robustez

Este parámetro hace alusión a “una medida de la capacidad del método para no ser afectado por pequeñas variaciones premeditadas de sus parámetros”(48).

## **2.3. Formulación de la hipótesis:**

### **2.3.1. Hipótesis general**

Existe diferencia en la concentración de etanol en sangre en individuos determinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1. Método de la investigación**

El método que se usó fue hipotético - inductivo, porque se estableció hipótesis para explicar dicho fenómeno, desde un razonamiento particular a uno general para la determinación de etanol en sangre por dos métodos analíticos, se obtuvo una conclusión a partir de las hipótesis y objetivos planteados (49).

### **3.2. Enfoque de la investigación**

El enfoque es cuantitativo porque utiliza la recolección de datos para probar las hipótesis con base en la medición numérica y el análisis estadístico, con el fin establecer pautas de comportamiento y probar teorías (49).

### **3.3. Tipo de investigación**

El tipo de investigación fue básica, porque se generó conocimiento mediante la aplicación directa en el ámbito toxicológico sobre los métodos analíticos para la determinación de etanol en sangre, de una forma rigurosa, organizada y sistemática (49).

### **3.4. Diseño de la investigación**

El diseño de la investigación fue descriptiva, de corte longitudinal porque se realizó mediciones de las variables de interés sin manipular. De nivel comparativa, porque permite analizar las variables e identificar diferencias y similitudes entre conceptos o variables (49).

### **3.5. Población, muestra y muestreo**

#### **3.5.1. Población**

Estuvo conformada por 500 muestras biológicas de sangre del servicio de Toxicología – Toma de muestras de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú de la ciudad de Lima, durante el mes de noviembre del 2023.

#### **Criterios de inclusión y exclusión**

##### **Criterios de inclusión**

- Muestras de personas que hayan ingerido etanol.
- Muestras de personas que se encuentren dentro de las 8 horas de haber ingerido etanol.
- Muestras con un valor de alcoholemia positivo

##### **Criterios de exclusión**

- Muestras de personas que se encuentren pasadas de las 8 horas de haber ingerido etanol.
- Muestras de personas que se nieguen a pasar su examen de Dosaje Etílico.
- Muestras con un valor de alcoholemia negativo.

### 3.5.2. Muestra

La muestra obtenida de la población de estudio (500) se fijó en 240 muestras biológicas de sangre analizadas en el servicio de Toxicología – Toma de muestras de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú por cometer actos delictivos bajo los efectos de etanol.

### 3.5.3. Muestreo

Para determinar el tamaño de muestra se utilizó la fórmula correspondiente para la estimación de la relación, la cual está dada por la siguiente expresión:(50)

$$n = \frac{4Z_{\alpha/2}^2}{\left[ \ln \left( \frac{L(r^2+1)+2\sqrt{L^2r^2+(r^2-1)^2}}{(L-2)(r^2-1)} \right) \right]^2} + 3$$

**Dónde:**

$Z_{\alpha/2} = 1,96$  (Para una estimación con un nivel de confianza del 95%)

$r = 0,961$  relación previa entre las variables, se determinó con un piloto (ver anexo 4)

$L=0,02=$ Longitud del intervalo de confianza=  $2 \times$  Margen de error

**Reemplazando:**

$$n = \frac{4(1,96^2)}{\left[ \ln \left( \frac{0,02(0,961^2+1)+2\sqrt{0,02^2 \cdot 0,961^2+(0,961^2-1)^2}}{(0,02-2)(0,961^2-1)} \right) \right]^2} + 3 = 232$$

Luego el tamaño mínimo es de 232, pero si se considera un porcentaje de pérdidas del 3% tenemos:

$$n_c = \frac{n}{1 - \%perdida} = \frac{232}{1 - 0,03} = 240$$

El tipo de muestreo que se usó es el método probabilístico de tipo aleatorio simple.

### 3.6. Variables y operacionalización

**Variable 1:** Etanol en sangre

**Definición operacional:** Es la impregnación alcohólica y se mide en gramos de etanol por litro en sangre (g/L) por los métodos analíticos.

Dimensiones	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición	Escala valorativa (niveles o rangos)
Alcholemla	Es la cantidad de etanol en sangre circulante como resultado de la ingestión de las bebidas alcohólicas (23).	La concentración de etanol en sangre y se mide en gramos por litro g/L.	Concentración de etanol en sangre	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sub clínico</li> <li>- Ebriedad</li> <li>- Ebriedad absoluta</li> <li>- Grave alteración de la conciencia</li> <li>- Coma</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- &lt; 0,5 g/L</li> <li>- 0,5 g/L a 1,5 g/L</li> <li>- 1,51 g/L a 2,5 g/L</li> <li>- 2,51 g/L a 3,5 g/L</li> <li>- &gt; 3.51 g/L</li> </ul>

Fuente: Elaboración propia

## Variable 2: Métodos analíticos

**Definición operacional:** Son los procedimientos que establece cada método analítico para medir y expresar los resultados de la concentración del etanol en gramos por litro de sangre.

Dimensiones	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición	Escala valorativa (niveles o rangos)
Cromatografía de Gases con Detector de Ionización por flama	Técnica analítica utilizada para separar y analizar componentes de una muestra gaseosa.	Criterios específicos que se utilizan para evaluar la validez y la confiabilidad de los resultados obtenidos mediante técnicas analíticas.	Características de desempeño	- Selectividad - Sensibilidad - Límite de detección - Límite de cuantificación	- Tiempo de retención - g/L - g/L
Espectrofotometría Ultravioleta Visible	Técnica analítica utilizada para medir la absorbancia de luz en la región ultravioleta y visible del espectro electromagnético.			- Linealidad - Exactitud - Precisión - Repetibilidad - Robustez	- R <sup>2</sup> - % - CV - CV - Tiempo de retención

---

Fuente:

Elaboración

propia

### **3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.7.1. Técnica**

En la investigación se procedió a realizar validación de los métodos y el recojo de información mediante los métodos de GC-FID y UV-VIS (37).

##### **3.7.1.1. Elementos empleados para la validación de los métodos analíticos**

Los ensayos en la validación de los métodos para determinar alcoholemia por GC-FID y UV-VIS fueron realizadas en la DIRCRI-PNP en el periodo de julio – octubre del año 2023.

###### **3.7.1.1.1. Materiales**

Matraces aforados de 10 mL, 100 mL y 1000 mL, micropipeta de 100 – 1000  $\mu$ L, puntas para micropipeta de 1000  $\mu$ L, viales de 20 mL, frascos de vidrio de 60 mL, tapas para los viales, columna capilar 30 m x 0,25 mm x 0,15  $\mu$ m TG-ALC1®.

###### **3.7.1.1.2. Equipos**

Cromatógrafo de gases marca Thermo Scientific modelo Trace 1300 con detector de ionización por flama, con un auto muestreador de espacio de cabeza marca Thermo Scientific® Triplus RSH, balanza analítica Boeco 220 g max, ultra purificador de agua marca Thermo Scientific® modelo GenPure Pro, vortex marca FOUR E'S SCIENTIFIC®, Espectrofotómetro UV-VIS SHIMADZU® modelo UV-1900, baño maría marca Ovan®, campana extractora.

### **3.7.1.1.3. Reactivos**

Metanol HPLC, Etanol HPLC, acetona HPLC, 1-propanol HPLC, 2-Propanol HPLC, gas helio UHP 5.0, cloruro de sodio, agua ultrapura, hidrógeno, aire sintético, dicromato de potasio, ácido sulfúrico 98,0 % y sangre humana.

### **3.7.1.2. Procedimiento para la validación de los métodos analíticos para determinar etanol en sangre por GC-FID y UV-VIS.**

#### **3.7.1.2.1. Calibración de los métodos para determinar etanol en sangre por GC-FID y UV-VIS**

##### **a. Preparación del estándar interno (1-propanol 0,02 %) para GC-FID**

En un matraz aforado de 1 L, agregar 100 mL de agua ultrapura y con una micropipeta medir 200 µL de 1-propanol, se aforó y agitó.

##### **b. Preparación de la mezcla sulfocrómica para UV-VIS**

- **Solución dicromato de potasio:**
  - Dicromato de potasio 4,26 g.
  - Agua ultrapura 500 mL
- **Ácido sulfúrico Q.P.:** 500 mL
- **Descripción de la preparación**
  - Se pesó 4,26 g del reactivo de dicromato de potasio en una balanza analítica.

- En un beaker de 250 mL se vació el dicromato de potasio y agregó agua ultrapura.
- Se procedió a mover y homogeneizar, luego se le trasvasó a una a un matraz aforado de 500 mL y se aforó con agua ultrapura y fue la solución A.
- El ácido sulfúrico químicamente puro fue la solución B.
- Finalmente teniendo mucho cuidado se agregó la solución B en la A, antes tuvo que ser sometido a enfriamiento a una refrigeradora debido a la reacción exotérmica, todo esto se realizó en la campana extractora.

**c. Preparación de las soluciones estándares para la calibración de los métodos para determinar etanol en sangre GC-FID y UV-VIS**

**Solución madre de etanol (10,0 g/L):** Se pesó 1,0 g de etanol (aproximadamente a 1,27 mL) en balanza analítica en un matraz aforado de 100 mL, se llevó a volumen con agua ultrapura y agitar.

**Soluciones de calibración:** Para los métodos se preparó las siguientes soluciones de calibración: 0,1g/L; 0,5g/L; 1,0g/L; 2,0g/L, 3,0g/L y 4,0g/L, de esta forma:

En matraces aforados de 10 mL, se rotuló las soluciones de calibración, agregando 5 mL de agua ultrapura y se adiciona solución stock conforme se muestra en la tabla 2 y finalmente agua ultrapura hasta enrasar y agitar.

**Tabla 2**

*Soluciones para la curva de calibración de GC-FID y UV-VIS*

Soluciones	Cantidad adicionado de la solución madre
0,1 g/L	100 $\mu$ L
0,5 g/L	500 $\mu$ L
1,0 g/L	1000 $\mu$ L
2,0 g/L	2000 $\mu$ L
3,0 g/L	3000 $\mu$ L
4,0 g/L	4000 $\mu$ L

Fuente: Elaboración propia

#### **d. Preparación de las soluciones para GC-FID y UV-VIS**

- Para el GC-FID, en un vial head Space, se agregó 1 mL de 1-propanol 0,02%, 100 mg de cloruro de sodio y 200  $\mu$ L de solución de análisis, se agitó por 1 minuto y se llevó al equipo cromatógrafo de gases a leer.
- Para el UV-VIS:
  - Agregar 1 mL de la mezcla sulfocrómica a un frasco de 60 mL. Empleando una micropipeta de volumen de 1000  $\mu$ L.
  - Con la micropipeta se agregó 200  $\mu$ L de sangre en el papel filtro doblado en forma de tira que estuvo adherido a un alfiler en el tapón. A continuación, se colocó al frasco que contiene la solución sulfocrómica, teniendo cuidado que no tenga contacto con el reactivo ni la pared del frasco.
  - Se tapó y se llevó a hervor por 10 minutos, retirar y dejar enfriar.

- Después se adicionó 8 mL de agua ultrapura, se agitó y se llevó al equipo espectrofotómetro SHIMADZU UV-1900 a leer a una longitud de onda de 420 nm con una celda de cuarzo de 1 cm.

### **3.7.1.2.2. Preparación de las soluciones para la validación de GC-FID y UV-VIS**

#### **a. Solución madre de etanol a 10,0 g/L**

En un matraz aforado de 100 mL, se pesó 1,0 g de etanol, se llevó a volumen con agua ultrapura y se agitar.

#### **b. Soluciones fortificadas con etanol**

Para ambos métodos se empleó material fortificado a base de etanol a concentraciones de: 0,1g/L; 0,5g/L; 1,0g/L; 2,0g/L; 3,0g/L y 4,0g/L: se agregó 1,0 mL de agua ultrapura y solución madre según la tabla 3, en matraces aforados de 10,0 mL, se adicionó fluido sanguíneo, y llevar a volumen con agua ultrapura y agitar constante.

**Tabla 3***Soluciones para la validación de GC-FID y UV-VIS*

Soluciones	Cantidad adicionada de la solución madre
0,1 g/L	100 µL
0,5 g/L	500 µL
1,0 g/L	1000 µL
2,0 g/L	2000 µL
3,0 g/L	3000 µL
4,0 g/L	4000 µL

Fuente: Elaboración propia

**3.7.1.2.3. Análisis de las características de desempeño de los métodos analíticos**

En la validación de los métodos para determinar etanol por CG-FID y UV-VIS se evaluaron las características de desempeño estipuladas por la EURACHEM.

**a. Selectividad**

- Para el GC-FID, se empleó una solución de metanol, 2-propanol, etanol, acetona y 1-propanol, en matraz aforado de 1 L se agregó 1,0 g de cada sustancia, llevó a volumen con agua ultrapura y agitar. Se inyectó la solución de selectividad dos veces.
- Para el UV-VIS, se agregó en el papel filtro 50 µL de cada componente a la concentración de 1 g/L y se evaluó evaluar las absorbancias y en los resultados cuantitativos de etanol, así como se ilustra en la siguiente tabla 4.

**Tabla 4***Soluciones para la selectividad de UV-VIS*

Experimento	Componente
01	Etanol (50 µL)
02	Metanol (50 µL)
03	Isopropanol (50 µL)
04	Acetona (50 µL)
05	Etanol (50 µL) + metanol (50 µL)
06	Etanol (50 µL) +acetona (50 µL)
07	Etanol (50 µL) + isopropanol (50 µL)
08	Etanol (50 µL) + isopropanol (50 µL) + metanol (50 µL)
09	Etanol (50 µL) + acetona (50 µL) +isopropanol (50 µL)
10	Etanol (50 µL) + acetona (50 µL) + isopropanol (50 µL) + metanol (50 µL)

Fuente: Elaboración propia

**b. Sensibilidad**

Se evaluó mediante el límite de cuantificación y detección. Para determinar, el equipo fue calibrado y analizado en condiciones de repetibilidad utilizando soluciones GC-FID y UV-VIS 10 veces. La concentración fue 0,1 g/L con material fortificado. El resultado obtenido se utilizó para calcular la desviación estándar corregida ( $S'0$ ).

$$S'0 = \frac{DS}{\sqrt{n}}$$

DS: desviación estándar típica,

n: número de inyecciones

**Límite de detección (LD)**

Para el cálculo se realizó mediante la multiplicación de la desviación

estándar corregida por 3.

$$LD = S'_0 \times 3$$

### **Límite de cuantificación (LC)**

Para el cálculo se realizó mediante la multiplicación de la desviación estándar corregida por 10.

$$LC = S'_0 \times 10$$

### **c. Linealidad**

Se evaluó la linealidad de los instrumentos GC-FID y UV-VIS para determinar la concentración de alcohol en sangre dentro del rango de 0,1 g/L – 4,0 g/L.

Para evaluar la linealidad del instrumento, empleó 3 soluciones para la calibración del GC-FID y UV-VIS hasta el 120%, utilizadas las concentraciones de 0,1g/L; 0,5g/L; 1,0g/L; 2,0g/L; 3,0g/L, 4,0g/L y 5,0g/L, y para la linealidad del método dentro del rango de trabajo, se calibraron el GC-FID y UV-VIS, se evaluaron 3 soluciones por triplicado a concentraciones de 0,1g/L; 0,5g/L; 1,0g/L; 2,0g/L; 3,0g/L y 4,0g/L

### **d. Exactitud**

Se midió numéricamente en recuperación, se analizaron soluciones para GC-FID y UV-VIS a concentraciones de 0,1g/L; 0,5g/L; 1,0g/L; 2,0g/L; 3,0g/L y 4,0g/L por 6 veces.

**e. Precisión**

La precisión para el GC-FID y UV-VIS son:

**Repetibilidad**

Se preparó puntos para GC-FID y UV-VIS a concentraciones de 0,1g/L; 0,5g/L; 1,0g/L; 2,0g/L; 3,0g/L y 4,0g/L por 6 veces.

**Precisión intermedia**

Se procesó en días diferentes por dos analistas a concentraciones de 0,1 g/L; 0,5 g/L y 4,0 g/L por 6 veces en el GC-FID y UV-VIS; luego, los resultados se compararon estadísticamente para ver cómo se distribuyeron.

**f. Robustez**

La evaluación se realizó mediante cambios en los métodos de GC-FID y UV-VIS a las concentraciones de 0,5g/L y 2,0g/L, según el modelo de Reyes E (12) modificado.

**Tabla 5***Condiciones para evaluar la robustez del método de CG-FID.*

Muestreador de espacio de cabeza	A. Temperatura de horno	Normal	70 °C
		+	72 °C
		-	68 °C
	B. Tiempo de incubación	Normal	15 min
		+	17 min
		-	13 min
	C. Temperatura de la aguja	Normal	70 °C
		+	72 °C
		-	68 °C
D. Volumen de inyección	Normal	1,0 mL	
	+	1,1 mL	
	-	0,9 mL	
Cromatógrafo de gases	E. Split	Normal	20
		+	21
		-	19
F. Temperatura del horno	Normal	40 °C	
	+	41°C	
	-	39 °C	
Preparación de muestra	G. Volumen del estándar interno	Normal	1000 µl
		+	1005 µl
		-	995 µl
H. Volumen de muestra	Normal	200 µl	
	+	203 µl	
	-	197 µl	

Fuente: Reyes E (12) modificado.

**Tabla 6***Variaciones en el análisis de la robustez en el método GC-FID*

Soluciones (g/L)	Variaciones realizadas							
	A	B	C	D	E	F	G	H
0,5	+	+	+	+	+	+	+	-
0,5	+	+	+	+	+	+	-	-
0,5	-	+	+	-	+	+	+	+
0,5	+	+	+	-	-	+	-	-
0,5	-	-	-	+	+	-	+	+
2,0	+	+	+	+	+	+	-	-
2,0	-	-	-	-	-	-	+	+
2,0	-	-	-	+	+	+	-	-
2,0	+	+	+	-	-	-	+	+
2,0	+	-	+	+	-	-	-	-

Fuente: Reyes E (12) modificado.

**Tabla 7***Condiciones para el análisis de la robustez para UV-VIS.*

	A. Volumen de la muestra	Normal	200 µl
		+	203 µl
		-	197 µl
	B. Solución Sulfocrómica	Normal	1000 µl
		+	1003 µl
		-	997 µl
Preparación de la muestra	C. Volumen de Agua	Normal	8000 µL
		+	8100 µl
		-	7900 µl
	D. Tiempo de ebullición	Normal	10 min
		+	11min
		-	9 min
Espectrofotómetro UV-VIS	E. Longitud de Onda	Normal	420 nm
		+	421 nm
		-	419 nm

Fuente: Elaboración propia.

### 3.7.1.2.3. Análisis para determinar etanol en muestras de sangre para GF-FID y UV-VIS

#### a. Solución madre de etanol a 10,0 g/L

En un matraz aforado se agregó 1,0 g de etanol, se llevó a volumen con agua ultrapura y agitar.

#### b. Soluciones de calibración para los métodos

Para el GC-FID y UV-VIS se formuló soluciones de calibración con etanol en concentración de 0,1g/L; 0,5g/L; 1,0g/L; 2,0g/L, 3,0g/L y 4,0g/L. En matraces aforados de 10 mL, se rotuló los puntos de calibración, agregando 1 mL de agua ultrapura y se adiciona solución stock conforme se muestra en la tabla 8 y finalmente agua ultrapura hasta enrasar y agitar.

**Tabla 8**

*Soluciones para la curva de calibración de GC-FID y UV-VIS*

Soluciones	Cantidad adicionada de la solución madre
0,1 g/L	100 µL
0,5 g/L	500 µL
1,0 g/L	1000 µL
2,0 g/L	2000 µL
3,0 g/L	3000 µL
4,0 g/L	4000 µL

Fuente: Elaboración propia

#### c. Preparación de las soluciones para la calibración del GC-FID y UV-VIS

- Para el GC-FID, en un vial head Space, se agregó 1 ml de 1-propanol 0,02 %, 100 mg de cloruro de sodio y 200 µL de solución de calibración, se agitó por 1 minuto y se llevó al equipo cromatógrafo de gases a leer.

- Para el UV-VIS:
  - Agregar 1 mL de la mezcla sulfocrómica a un frasco de 60 mL. Usando una micropipeta de volumen de 1000 uL.
  - Con la micropipeta se agregó 200 µL de la solución de calibración en el papel filtro doblado en forma de tira que estuvo adherido a un alfiler en el tapón. A continuación, se colocó al frasco que contiene la solución sulfocrómica, teniendo cuidado que no tenga contacto con el reactivo ni la pared del frasco.
  - Se Tapó y se llevó a hervor por 10 minutos, retirar y dejar enfriar.
  - Después se adicionó 8 mL de agua ultrapura, se agitó y se llevó al equipo espectrofotómetro SHIMADZU UV-1900 a leer a una longitud de onda de 420 nm con una celda de cuarzo de 1 cm.

#### **d. Análisis de muestras de sangre con alcohol por GC-FID y UV-VIS**

Se realizaron dos lecturas para el análisis de alcoholemia utilizando los métodos de GC-FID y UV-VIS, en matriz sanguínea de sujetos detenidos que pasaron sus análisis toxicológicos en la DIRCRI-PNP los resultados fueron evaluados y se analizó su intercambiabilidad con fines forenses de la siguiente manera:

- Para el GC-FID, en un vial head Space, se agregó 1 ml de 1-propanol 0,02 %, 100 mg de cloruro de sodio y 200 µL de solución de calibración, se agitó por 1 minuto y se llevó al equipo cromatógrafo de gases a leer.
- Para el UV-VIS:
  - Agregar 1 mL de la mezcla sulfocrómica a un frasco de 60 mL. Usando una micropipeta de volumen de 1000 uL.

- Con la micropipeta se agregó 200  $\mu\text{L}$  de sangre en el papel filtro doblado en forma de tira que estuvo adherido a un alfiler en el tapón. A continuación, se colocó al frasco que contiene la solución sulfocrómica, teniendo cuidado que no tenga contacto con el reactivo ni la pared del frasco.
- Se tapó y se llevó a hervor por 10 minutos, retirar y dejar enfriar.
- Después se adicionó 8 mL de agua ultrapura, se agitó y se llevó al equipo espectrofotómetro SHIMADZU UV-1900 a leer a una longitud de onda de 420 nm con una celda de cuarzo de 1 cm.

### **3.7.2. Descripción del instrumento (ficha de recolección de datos)**

Se solicitó el permiso correspondiente al jefe del Departamento de Química y Toxicología Forense para la autorización del tratamiento de los datos (ver anexo 5). El instrumento que se desarrollo fue una ficha de recolección de datos, (ver anexo 2) elaborado por los investigadores que constó de cinco puntos correspondiente a las variables:

- Numero correlativo
- Numero de muestra de sangre
- Concentración de etanol en g/L por el método de GC-FID
- Concentración de etanol en g/L por el método de UV-VIS
- Promedio de las lecturas por ambos métodos

### **3.7.3. Validación**

El instrumento que se empleó fue sometido al juicio de tres Químicos Farmacéuticos encargados del área quienes proporcionaron la aplicabilidad y validez del instrumento (ver anexo 3).

### **3.7.4. Confiabilidad**

No aplicó la medición de la confiabilidad

### **3.7.5. Plan de procesamiento y análisis de datos**

#### **Procesamiento de datos GC-FID y UV-VIS**

Los equipos emiten por cada muestra de sangre un cromatograma para el GC-FID y una absorbancia para UV-VIS que fueron constatadas con la curva calibrada que se realizó, emitiendo en valores numéricos la concentración del etanol en g/L.

#### **Análisis de datos para GC-FID y UV-VIS**

Los datos que se recolectaron para la validación de los métodos analíticos fueron en Microsoft Excel® 2019, se aplicó ANOVA, regresión lineal y gráficos de dispersión. Para la determinación de etanol en sangre fueron analizados en el programa IBM SPSS Statistics® 24 para su análisis. Dada la naturaleza cuantitativa de los datos para alcanzar los objetivos de la investigación se realizaron cálculos de los estadígrafos como el promedio y la desviación estándar, así mismo se compararon los promedios mediante la prueba T de Student en el tamaño grande de la muestra, así mismo se aplicó la prueba Kolmogórov-Smirnov donde se rechazó la normalidad de la distribución de los datos por lo que para la comprobación de la hipótesis se usó la prueba de diferencias de las medias.

### 3.7.6. Aspectos éticos

Acorde con la declaración de Helsinki (investigación biomédica no terapéutica), el presente estudio cumplió los siguientes principios:

Primero, se requirió la autorización de la Universidad Privada Norbert Wiener y de la Facultad Farmacia y Bioquímica para dar inicio a la recolección de las muestras.

Segundo, se requirió la autorización del jefe del Departamento de Química y Toxicología Forense de la Dirección de criminalística para la recolección de los datos.

Tercero, se requirió la aprobación del comité de ética de la universidad Privada Norbert Wiener para su ejecución (ver anexo 6).

En esta investigación se respeta los valores éticos del buen investigador, por lo tanto, informando como resultados verídicos; además, el trabajo pasó por el sistema antiplagio turnitin (ver anexo 8).

Todas las fuentes consultadas han sido debidamente referenciadas para no usurpar a los investigadores que antecedieron esta investigación.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

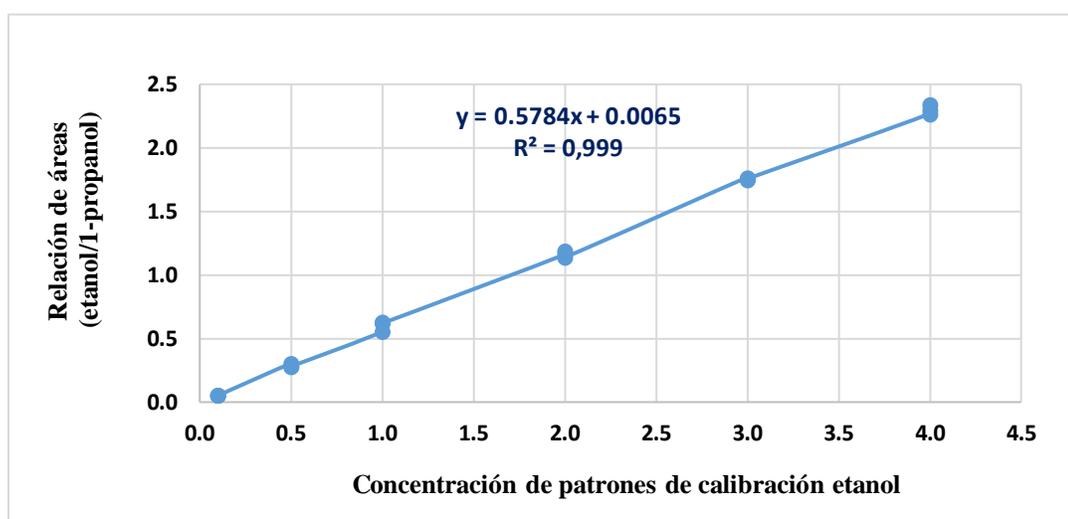
### 4.1. Resultados

#### 4.1.1 Características de desempeño para determinar etanol en sangre por GC-FID

##### 4.1.1.1. Calibración del cromatógrafo de gases con detector de ionización por flama.

**Figura 10**

*Curva de calibración para la determinación de etanol por GC-FID.*



Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

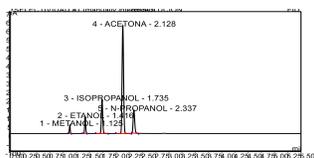
En la figura se evidencia los puntos de las soluciones para la representación de la curva de calibración para el GC-FID a las concentraciones que establecidas.

#### 4.1.1.2. Validación del método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama.

##### 4.1.1.2.1. Selectividad

### Figura 11

*Cromatograma reportado por el CG-FID para la selectividad.*



Fuente: elaboración propia.

Interpretación:

En la figura se aprecia el cromatograma reportado por el CG-FID la selectividad al inyectar las soluciones, apreciamos que para el metanol ( $t_R$ : 1,125 min), etanol ( $t_R$ : 1,416 min), 2-propanol ( $t_R$ : 1,735 min), acetona ( $t_R$ : 2,128 min) y 1-propanol ( $t_R$ : 2,337 min) en sangre total.

#### 4.1.1.2.2. Sensibilidad

**Tabla 9**

*Concentración en gramos por litro de las muestras fortificadas.*

Muestras	Resultados en (g/L)
M-F-1	0,102
M-F-2	0,098
M-F-3	0,096
M-F-4	0,101
M-F-5	0,099
M-F-6	0,100
M-F-7	0,098
M-F-8	0,098
M-F-9	0,096
M-F-10	0,101
$\bar{x}$	<b>0,099</b>
<b>DS</b>	<b>0,002</b>
<b>CV</b>	<b>0,020</b>

Fuente: Elaboración propia

#### Interpretación

En la tabla se observa los resultados de las 10 lecturas reportadas por el GC-FID y calcular la  $S'_0$  a través de la evaluación de 0,1 g/L, evidenciando el promedio de 0,099 g/L, DS de 0,002% y CV de 0,020%.

**Desviación estándar corregida ( $S'_0$ )**  $s'_0 = \frac{DS}{\sqrt{n}}$

$$s'_0 = \frac{0,002}{\sqrt{10}} \quad s'_0 = 0,00064$$

#### **Cálculo del límite de detección (LD)**

$$LD = S'_0 \times 3 = 0,00064 \times 3 = 0,00191 \text{ g/L}$$

#### **Cálculo del límite de Cuantificación (LC)**

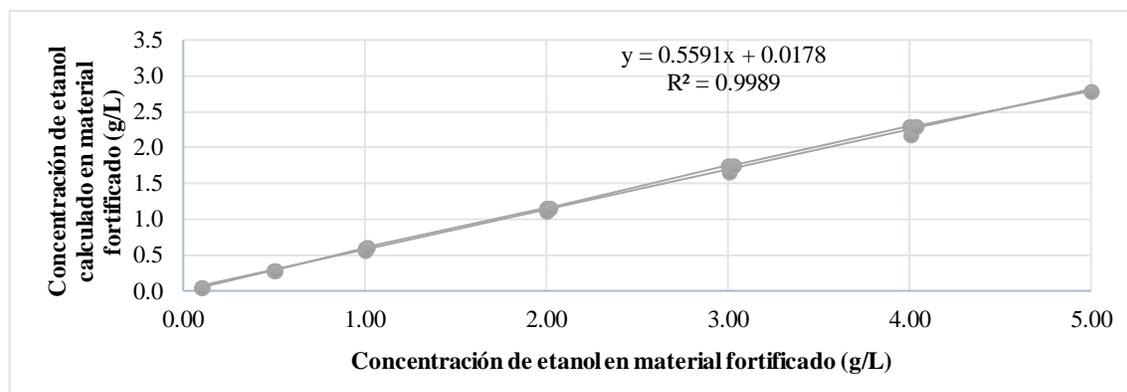
$$LC = S'_0 \times 10 = 0,00064 \times 10 = 0,00636 \text{ g/L}$$

#### 4.1.1.2.3. Linealidad

##### Linealidad del instrumento CG-FID

##### Figura 12

*Soluciones para evaluar la linealidad del instrumento con concentración de etanol para el CG-FID.*



Fuente: Elaboración propia

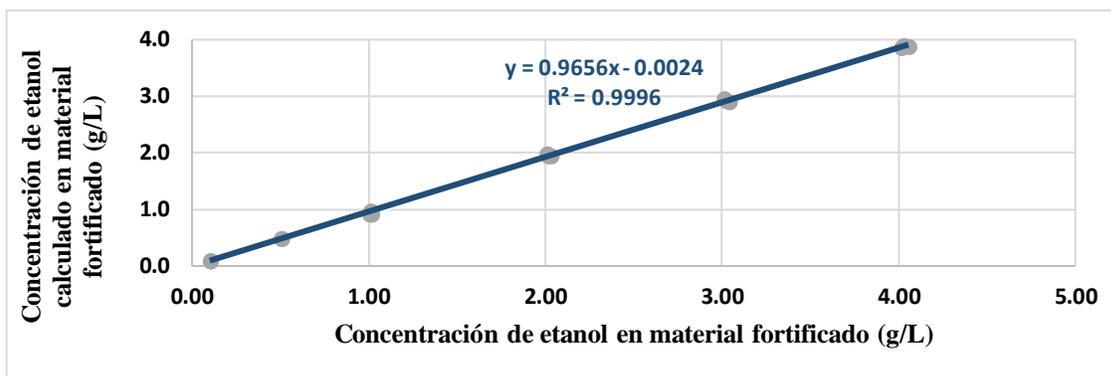
Interpretación:

Se observa en la figura la evaluación de la linealidad del instrumento se trabajó hasta la concentración de 5,0g/L, teniendo un  $R^2 = 0,9989$ , pronosticando buenos resultados.

## Linealidad del método.

**Figura 13**

*Soluciones para evaluar la linealidad del método en el CG-FID.*



Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Se observa en la figura las concentraciones para la evaluación del intervalo desde 0,5 g/L a 4 g/L, obteniendo un  $R^2 = 0,9996$ , la cual es muy buena.

### 4.1.1.2.4. Exactitud

**Tabla 10**

*Porcentajes de recuperación para evaluar la exactitud en el CG-FID*

Concentraciones	Recuperación						$\bar{x}$	DS	CV (%)
	(%)								
<b>0,1 g/L</b>	100,15	92,70	99,11	100,33	101,07	102,63	<b>100,16</b>	<b>1,68</b>	<b>1,68</b>
<b>0,5 g/L</b>	100,92	96,81	97,90	97,56	100,91	96,51	<b>98,44</b>	<b>1,98</b>	<b>2,01</b>
<b>1,0 g/L</b>	97,60	97,19	95,57	97,52	96,56	95,81	<b>97,21</b>	<b>0,95</b>	<b>0,97</b>
<b>2,0 g/L</b>	95,69	95,94	96,93	96,72	98,25	95,99	<b>96,59</b>	<b>0,95</b>	<b>0,98</b>
<b>3,0 g/L</b>	96,94	96,74	95,11	96,98	98,39	96,02	<b>96,70</b>	<b>1,09</b>	<b>1,13</b>
<b>4,0 g/L</b>	98,87	98,34	98,64	97,21	98,28	98,48	<b>98,30</b>	<b>0,58</b>	<b>0,59</b>

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

Se observa en la tabla la evaluación de la precisión se trabajó desde 0,1 g/L a 4 g/L, obteniendo los resultados en porcentajes de recuperación por la solución preparada a una concentración determinada, teniendo como mayor porcentaje de recuperación a la concentración de 0,1 g/L con un 100,16 % y 0,5 g/L 98,44 %, la importancia de este punto porque tiene una importante función en tema penal.

#### 4.1.1.2.5. Precisión

##### Repetibilidad

**Tabla 11**

*Concentraciones para el análisis de la repetibilidad para el método CG-FID*

Concentraciones	Resultados de etanol medidos aplicando el método (g/L)						$\bar{x}$ (g/L)	DS (g/L)	CV (%)
<b>0,1 g/L</b>	0,101	0,507	0,980	1,921	2,919	3,970	<b>0,101</b>	<b>0,002</b>	<b>1,68</b>
<b>0,5 g/L</b>	0,098	0,486	0,976	1,926	2,913	3,948	<b>0,494</b>	<b>0,010</b>	<b>2,01</b>
<b>1,0 g/L</b>	0,099	0,491	0,989	1,946	2,864	3,961	<b>0,976</b>	<b>0,010</b>	<b>0,97</b>
<b>2,0 g/L</b>	0,101	0,490	0,979	1,942	2,920	3,903	<b>1,939</b>	<b>0,019</b>	<b>0,98</b>
<b>3,0 g/L</b>	0,101	0,506	0,969	1,972	2,963	3,946	<b>2,912</b>	<b>0,033</b>	<b>1,13</b>
<b>4,0 g/L</b>	0,103	0,484	0,962	1,927	2,892	3,954	<b>3,947</b>	<b>0,023</b>	<b>0,59</b>

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

Se observa en la tabla, que se ha trabajado en concentraciones de 0,1 g/L a 4,0 g/L, obteniendo una muy buena repetibilidad reportada por el equipo, muy cercano a la concentración real y con una máximo de coeficiente de variación del 2 %.

## Precisión intermedia

**Tabla 12**

*Concentraciones para la evaluación de la precisión intermedia en el CG-FID.*

Concentraciones teóricas		Concentraciones prácticas						$\bar{x}$ (g/L)	DS (g/L)	CV (%)
<b>0,1 g/L</b>	<b>A1</b>	0,101	0,098	0,099	0,101	0,101	0,103	<b>0,101</b>	<b>0,0015</b>	<b>1,47</b>
	<b>A2</b>	0,102	0,100	0,101	0,102	0,099	0,100			
<b>0,5 g/L</b>	<b>A1</b>	0,507	0,486	0,491	0,490	0,506	0,484	<b>0,498</b>	<b>0,0093</b>	<b>1,88</b>
	<b>A2</b>	0,503	0,497	0,507	0,501	0,492	0,513			
<b>4,0 g/L</b>	<b>A1</b>	3,970	3,948	3,961	3,903	3,946	3,954	<b>3,961</b>	<b>0,0304</b>	<b>0,77</b>
	<b>A2</b>	3,961	3,996	3,932	4,006	3,949	4,006			

Fuente: Elaboración propia, A1: Analista 1, A2: Analista 2.

### Interpretación:

Se observa en la tabla, el análisis para la precisión intermedia en 3 puntos, 0,1 g/L; 0,5 g/L y 4,0 g/L, con dos analistas, en días diferentes obteniendo una muy buena precisión intermedia con un coeficiente de variación no mayor a 1,88 %.

#### 4.1.1.2.6. Robustez

**Tabla 13**

*Representación de los tiempos de retención ante las variaciones en el método de GC-FID*

Material fortificado (g/L)	$t_R$ (min)		Material fortificado (g/L)	$t_R$ (min)	
	Etanol	1-propanol		Etanol	1-propanol
0,5	1,413	2,306	<b>2,0</b>	1,402	2,297
0,5	1,441	2,406	<b>2,0</b>	1,447	2,418
0,5	1,408	2,299	<b>2,0</b>	1,412	2,308
0,5	1,403	2,294	<b>2,0</b>	1,409	2,304
0,5	1,408	2,299	<b>2,0</b>	1,406	2,304
0,5	1,410	2,970	<b>2,0</b>	1,408	2,305
0,5	1,435	2,394	<b>2,0</b>	1,449	2,420
0,5	1,400	2,290	<b>2,0</b>	1,415	2,313
0,5	1,443	2,411	<b>2,0</b>	1,449	2,422
0,5	1,450	2,418	<b>2,0</b>	1,447	2,416
$\bar{x}$	<b>1,421</b>	<b>2,349</b>	$\bar{x}$	<b>1,424</b>	<b>2,351</b>
<b>DS</b>	<b>0,019</b>	<b>0,055</b>	<b>DS</b>	<b>0,021</b>	<b>0,059</b>
<b>CV</b>	<b>0,013</b>	<b>0,024</b>	<b>CV</b>	<b>0,014</b>	<b>0,025</b>

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

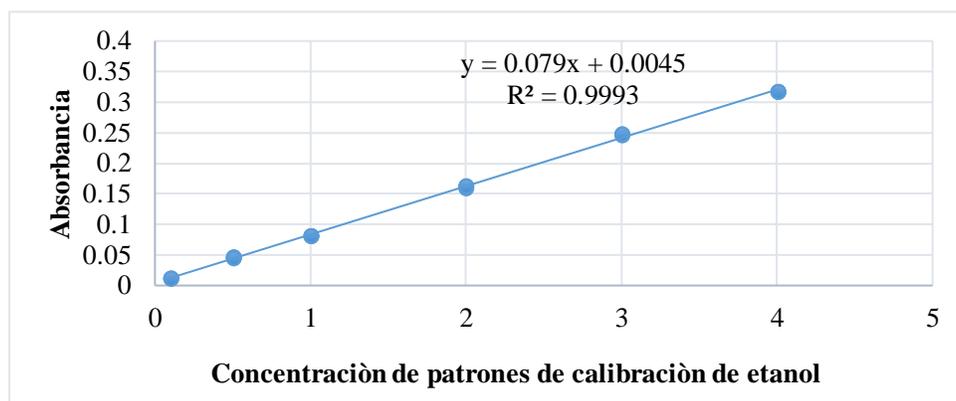
Se observa en la tabla, la evaluación de robustez en dos concentraciones 0,5 g/L y 2,0 g/L, y se realizó variaciones pequeñas para observar cómo responde ante esos cambios, observándose que los tiempos de retención eran similares y las concentraciones también.

## 4.1.2. Características de desempeño para determinar etanol por UV-VIS

### 4.1.2.1. Calibración del método de Espectrofotometría Ultravioleta Visible para determinar alcoholemia.

**Figura 14**

*Curva de calibración para la determinación de etanol por UV-VIS.*



Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Se aprecia en la figura los puntos de las soluciones para la representación de la curva de calibración del método UV-VIS a las concentraciones que se aprecian.

#### 4.1.2.2. Validación del método para determinar alcoholemia por UV-VIS

##### 4.1.2.2.1. Selectividad

**Tabla 14**

*Espectro reportado por UV-VIS con solución conteniendo metanol, etanol, acetona y 2-propanol a concentración de 1,0 g/L.*

Componente	Lectura 1		Lectura 2	
	Conc.	Abs.	Conc.	Abs.
Etanol	1,136	0,088	0,924	0,072
Metanol	2,540	0,200	2,344	0,184
2-propanol	2,236	0,176	2,508	0,196
Acetona	1,000	0,080	0,812	0,064
Etanol + metanol	2,908	0,228	2,872	0,224
Etanol + acetona	2,460	0,192	2,736	0,200
Etanol + 2-propanol	3,836	0,300	3,700	0,292
Etanol + 2-propanol + metanol	4,012	0,316	4,320	0,340
Etanol + acetona + 2-propanol	3,820	0,300	3,636	0,280
Etanol + acetona + 2-propanol + metanol	4,040	0,316	4,464	0,352

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En cuanto a la tabla, se aprecia las soluciones con sus respectivas absorbancias y concentraciones para evaluar la selectividad del método de UV-VIS, la cual es difícil de poder realizar, por lo que el método no es selectivo para dichas sustancias.

#### 4.1.2.2.2. Sensibilidad

##### Cálculo de la desviación estándar corregida UV-VIS

**Tabla 15**

*Concentración en gramos por litro de las muestras fortificadas.*

Solución Sulfocrómica con etanol	Concentración (g/L)
ST-F-0,1-1	0,095
ST-F-0,1-2	0,120
ST-F-0,1-3	0,108
ST-F-0,1-4	0,095
ST-F-0,1-5	0,082
ST-F-0,1-6	0,120
ST-F-0,1-7	0,108
ST-F-0,1-8	0,095
ST-F-0,1-9	0,120
ST-F-0,1-10	0,108
$\bar{x}$	<b>0,105</b>
<b>DS</b>	<b>0,013</b>
<b>CV</b>	<b>0,124</b>

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En la tabla se aprecia los resultados de las 10 lecturas reportadas por el UV-VIS y calcular la  $S'_0$  a partir de 0,1 g/L, evidenciando el promedio de 0,105 g/L, DS de 0,013% y CV de 0,124%.

$$\text{Desviación estándar corregida (S`_0)} \quad s'_0 = \frac{DS}{\sqrt{n}}$$

$$s'_0 = \frac{0,013}{\sqrt{10}} \quad s'_0 = 0,00411$$

**Cálculo del límite de detección (LD)**

$$LD = S'_0 \times 3 = 0,00411 \times 3 = 0,0123 \text{ g/}$$

### Cálculo del límite de Cuantificación (LC)

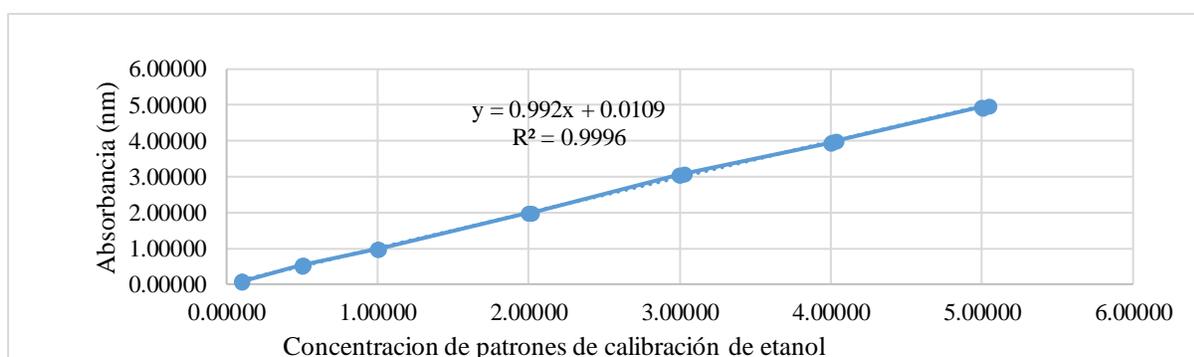
$$LC = S'_0 \times 10 = 0,00411 \times 10 = 0,0411 \text{ g/L}$$

#### 4.1.2.2.3. Linealidad

##### Linealidad para el instrumento UV-VIS

##### Figura 15

*Soluciones para evaluar la linealidad del instrumento con concentración de etanol para UV-VIS.*



Fuente: Elaboración propia

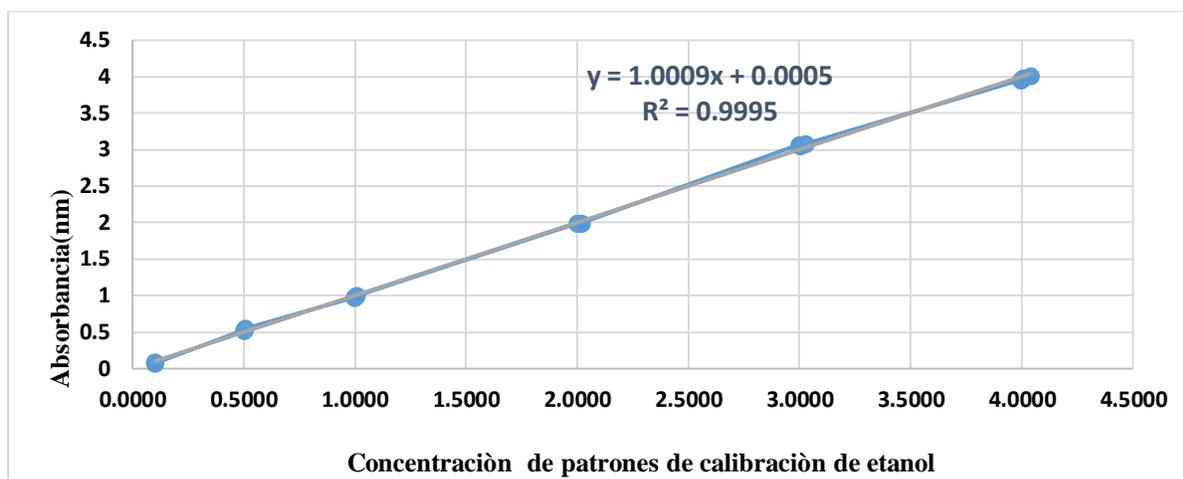
##### Interpretación:

Se observa en la figura, la evaluación de la linealidad del instrumento se trabajó hasta la concentración de 5,0 g/L, teniendo un  $R^2 = 0,9996$ , pronosticando buenos resultados.

## Linealidad para el método

**Figura 16**

*Soluciones para evaluar la linealidad del método UV-VIS.*



Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

Se observa en la figura, las concentraciones para la evaluación del intervalo desde 0,5 g/L a 4 g/L, obteniendo un  $R^2 = 0,9995$ , la cual es muy buena.

## 4.1.2.2.4. Exactitud:

Tabla 16

Lecturas	Porcentajes por UV-VIS					
	0,1 g/L (%)	0,5 g/L (%)	1,0 g/L (%)	2,0 g/L (%)	3,0 g/L (%)	4,0 g/L (%)
Lec,1	69,36	89,53	87,64	86,70	102,35	94,73
Lec,2	94,58	92,06	90,16	93,63	99,83	95,37
Lec,3	69,36	89,53	96,47	89,22	100,25	94,73
Lec,4	81,97	104,67	90,16	99,31	104,04	99,15
Lec,5	94,58,	99,62	90,16	99,94	99,83	98,20
Lec,6	107,19	99,62	87,64	92,37	100,67	95,68
$\bar{x}$	<b>86,17</b>	<b>95,84</b>	<b>90,37</b>	<b>93,53</b>	<b>101,16</b>	<b>96,31</b>
<b>DS</b>	<b>15,27</b>	<b>6,33</b>	<b>3,23</b>	<b>5,31</b>	<b>1,69</b>	<b>1,89</b>
<b>CV</b>	<b>17,72</b>	<b>6,61</b>	<b>3,58</b>	<b>5,68</b>	<b>1,67</b>	<b>1,96</b>

*Porcentajes de recuperación para evaluar la exactitud en el UV-VIS.*

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En cuanto a la tabla se aprecia que, para la evaluación de la precisión, se trabajó desde 0,1 g/L a 4 g/L, obteniendo los resultados en porcentajes de recuperación por la solución preparada a una concentración determinada, teniendo como mayor porcentaje de recuperación a la concentración de 3,0 g/L con un 101,16 % y 0,5 g/L 95,84 %, la importancia de este punto porque tiene una importante función en tema penal.

#### 4.1.2.2.5. Precisión

##### Repetibilidad

**Tabla 17**

*Concentraciones para el análisis de la repetibilidad para el método UV-VIS.*

Concentraciones	Resultados (g/L)						$\bar{x}$ (g/L)	DS (g/L)	CV (%)
<b>0,1 g/L</b>	0,070	0,133	0,082	0,070	0,095	0,108	<b>0,093</b>	<b>0,025</b>	<b>26,47</b>
<b>0,5 g/L</b>	0,551	0,462	0,525	0,449	0,500	0,449	<b>0,489</b>	<b>0,043</b>	<b>8,72</b>
<b>1,0 g/L</b>	0,880	0,905	0,968	0,880	0,905	0,905	<b>0,907</b>	<b>0,032</b>	<b>3,58</b>
<b>2,0 g/L</b>	1,741	1,880	1,791	1,994	2,006	1,854	<b>1,878</b>	<b>1,107</b>	<b>5,68</b>
<b>3,0 g/L</b>	3,082	3,006	3,019	3,133	3,006	3,032	<b>3,046</b>	<b>0,051</b>	<b>1,67</b>
<b>4,0 g/L</b>	3,981	3,829	3,982	3,804	3,943	3,804	<b>3,867</b>	<b>0,076</b>	<b>1,96</b>

Fuente: Elaboración propia.

##### Interpretación:

En cuanto a la tabla, se aprecia que se ha trabajado en concentraciones de 0,1 g/L a 4,0 g/L, obteniendo no buena repetibilidad reportada por el equipo, muy cercano a la concentración real y con una máximo de coeficiente de variación del 26,47 %.

**Precisión intermedia,****Tabla 18***Concentraciones para la evaluación de la precisión intermedia en el UV-VIS.*

Concentraciones		Resultados (g/L)						$\bar{x}$ (g/L)	DS (g/L)	CV (%)
0,1 g/L	A1	0,082	0,133	0,70	0,108	0,095	0,70	<b>0,096</b>	<b>0,0212</b>	<b>22,11</b>
	A2	0,108	0,070	0,082	0,108	0,120	0,108			
0,5 g/L	A1	0,551	0,462	0,449	0,525	0,500	0,449	<b>0,511</b>	<b>0,0793</b>	<b>15,53</b>
	A2	0,335	0,627	0,551	0,614	0,538	0,525			
4,0 g/L	A1	3,981	3,829	3,842	3,804	3,943	3,804	<b>3,858</b>	<b>0,0620</b>	<b>1,61</b>
	A2	3,753	3,854	3,842	3,880	3,867	3,892			

Fuente: Elaboración propia.

**Interpretación:**

Se evidencia en la tabla, el análisis para la precisión intermedia en 3 puntos, 0,1 g/L; 0,5 g/L y 4,0 g/L, con dos analistas, en días diferentes obteniendo una no buena precisión intermedia con un coeficiente de variación de 22,11 %.

#### 4.1.2.2.6. Robustez

**Tabla 19**

*Representación de las absorbancias ante las variaciones en el método de UV-VIS.*

Material fortificado (g/L)	Abs, Etanol	Material fortificado (g/L)	Abs, Etanol
0,5	0,047	2,0	0,163
0,5	0,044	2,0	0,165
0,5	0,045	2,0	0,16
0,5	0,048	2,0	0,159
0,5	0,045	2,0	0,168
0,5	0,042	2,0	0,159
0,5	0,043	2,0	0,161
0,5	0,045	2,0	0,166
0,5	0,045	2,0	0,159
0,5	0,045	2,0	0,165
$\bar{x}$	<b>0,045</b>	$\bar{x}$	<b>0,163</b>
<b>DS</b>	<b>0,002</b>	<b>DS</b>	<b>0,003</b>
<b>CV</b>	<b>0,039</b>	<b>CV</b>	<b>0,021</b>

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Se evidencia en la tabla, la evaluación de robustez en dos concentraciones 0,5 g/L y 2,0 g/L, y se realizó variaciones pequeñas para observar cómo responde ante esos cambios, observándose que las absorbancias eran similares.

### 4.1.3. Determinación de la concentración de etanol por GC-FID

**Tabla 20**

*Determinación de la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el Método de GC-FID*

Método de Cromatografía de Gases con Detector de Ionización a la Llama	Concentración de etanol g/L
N	240
Media	1,182
Mediana	1,193
Desviación estándar	0,600
Varianza	0,360
Mínimo	0,105
Máximo	2,595
	25
Percentiles	0,728
	50
	1,193
	75
	1,611

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Se evidencia en la tabla, que la media fue de 1,182 g/L, mediana 1,193, con una desviación estándar de 0,600 %.

#### 4.1.4. Determinación de la concentración de etanol por espectrofotometría UV-VIS

**Tabla 21**

*Determinación de la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el método de espectrofotometría UV-VIS.*

Método de Espectrofotometría Ultravioleta Visible	Concentración de etanol g/L
N	Válido 240
Media	1,348
Mediana	1,375
Desviación estándar	0,620
Varianza	0,384
Mínimo	0,195
Máximo	2,750
Percentiles	25 0,867
	50 1,375
	75 1,789

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En cuanto a la tabla, se aprecia que la media fue de 1,348 g/L, mediana 1,375, con una desviación estándar de 0,620 %.

#### 4.1.5. Diferencias de la concentración de etanol por los dos métodos analíticos (GC-FID y UV-VIS)

**Tabla 22**

*Diferencias entre las medias de las variables*

Prueba t para igualdad de medias				
Métodos	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
GC-FID	240	1,1816	0,59993	0,03873
UV-VIS	240	1,3484	0,61996	0,04002

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En cuanto a la tabla se observa, el análisis estadístico para la evaluación de las medias, donde se evidencia una diferencia.

#### 4.1.6. Prueba de Hipótesis:

$H_0$ : No existe diferencia entre los valores de etanol en la sangre determinados por el método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama y el método de espectrofotometría ultravioleta visible.

$H_1$ : Existe diferencia entre los valores de etanol en la sangre determinados por el método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama y el método de espectrofotometría ultravioleta visible.

**Método estadístico:** Prueba t Student para igual de muestras independientes.

**Criterio:**

- Si el P valor es mayor a 0,05 se rechaza la hipótesis alterna  $H_1$  y se acepta la hipótesis nula  $H_0$ .
- Si el P valor es menor a 0,05 se rechaza la hipótesis nula  $H_0$  y se acepta la hipótesis alterna  $H_1$ .

**Tabla 23**

*Diferencias entre la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el método de Cromatografía de Gases con Detector de Ionización por flama y Espectrofotometría Ultravioleta Visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.*

Prueba t para igualdad de medias					
Métodos	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	p
GC-FID	240	1,1816	0,59993	0,03873	0,003
UV-VIS	240	1,3484	0,61996	0,04002	

Fuente: Elaboración propia.

**Interpretación:**

En cuanto a la tabla, se aprecia como el p valor es menor al 5% se rechaza la  $H_0$  y se acepta la hipótesis alterna, es decir a un nivel de significancia del 5% podemos concluir que existe diferencias entre los valores de etanol en la sangre determinados por el método de Cromatografía de Gases y el método de Espectrofotometría Ultravioleta Visible, con  $p = 0,003$ , como se planteó en el quinto objetivo específico.

## 4.2. Discusión de los resultados

La medición de la alcoholemia representa un desafío recurrente en la gestión judicial del país, dado que delitos de variada índole se perpetran de manera constante. La motivación subyacente a esta investigación radica en evaluar la viabilidad de realizar un análisis de alcoholemia mediante Cromatografía de Gases y Espectrofotometría Ultravioleta Visible al momento de intervenir a un individuo sospechoso de cometer un delito. Tras analizar los resultados obtenidos, se pueden destacar los siguientes resultados respecto a este estudio:

Con respecto a la evaluación de las características de desempeño del método de GC-FID y UV-VIS, se aprecia en la figura 10 y 14 la curva de calibración a las diferentes concentraciones de alcohol que va desde 0,1 g/L; 0,5 g/L; 1,0 g/L; 2,0 g/L; 3,0 g/L y 4,0 g/L en relación al estándar interno 1-propanol para el GC y absorbancias para UV-VIS. Para GC-FID se evidencia un  $R^2$  de 0,999 y para UV-VIS de 0,9993, comparado con el estudio de Jimenes M. et. al. (54) con un  $R^2$  de 0,978 lo cual es un valor aceptable. Por lo tanto, podemos decir que son métodos lineales con un orden cero, por lo que nos predice excelente relación en los datos, para avanzar con la validación.

En la selectividad para ambos métodos, se aprecia en la figura 11 para GC-FID y en la tabla 14 para UV-VIS, en el primero se aprecia el cromatograma con los componentes de etanol, 1-propanol, metanol, 2-propanol y propanona, todos a una concentración de 1,0 g/L, logrando obtener excelente resolución, evidenciándose una buena selectividad, comparado con los resultados reportados por Tiscinone et al. (51).

Para el segundo, las concentraciones con sus respectivas absorbancias obtenidas después de leer metanol, etanol, acetona, 1-propanol y 2-propanol a concentración de 1,0 g/L y se apreció que al momento de combinarse diferentes sustancias las absorbancias se incrementan e interfieren en los resultados y valores reales del etanol, debido a que la forma de tratar la muestra se puede oxidar o reducir, de esa forma generando valores no reales a la sustancia de interés al analizar. Estos componentes se analizaron, porque son los más frecuentes en los laboratorios toxicológicos porque son biomarcadores de intoxicaciones y enfermedades que se pueden encontrar en una prueba de alcoholemia diario.

En cuanto a la sensibilidad de los métodos, en la tabla 9 y 15 se muestran el cálculo de la desviación estándar corregida cuando se evaluó las soluciones con etanol a 0,1 g/L para determinar la sensibilidad. Los resultados emitidos por el GC-FID se calculó y se logró demostrar de que el método presentado tiene buena sensibilidad, que para el límite de detección de 0,00191 g/L y límite de cuantificación de 0,00636 g/L, estos resultados son comparados con el estudio que realizó Trigo M. (2) donde reportó valores de 0,012 mg/mL para límite de detección y 0,023 mg/mL para límite de cuantificación, de igual modo, para el UV-VIS se logró demostrar límite de detección de 0,0123 g/L y límite de cuantificación de 0,0411 g/L, comparando con Rusli H. (55) en su estudio reportó un LOD de 0,0113 g/L y un LOQ de 0,0509 g/L, estableciendo una excelente sensibilidad. Esto resalta la importancia del método en análisis de alcoholemia y también en la investigación clínica, recalando que para temas forenses existen dos valores cruciales que pueden determinar la inocencia o culpabilidad que son 0,25 g/L y 0,5 g/L en los ámbitos legales.

La linealidad de los instrumentos, se aprecian en la figura 12 y 15 donde se muestra el gráfico de las concentraciones del etanol y la respuesta instrumental, para evaluar la linealidad del instrumento de cromatografía de gases – detector de ionización por flama entre las concentraciones 0,1 g/L - 5,0 g/L, con un  $R^2$  de 0,9989 considerándose un método lineal y para UV-VIS con un  $R^2$  de 0,9996, apreciándose un también un método lineal. Se realizó el análisis hasta 5,0 g/L, debido a que los protocolos recomiendan realizar hasta el 120 % del último valor de trabajó. Esto se justifica con los cálculos matemáticos realizados para determinar si es lineal o no, como la regresión lineal, prueba F y la prueba estadística t, lo que avalan su la linealidad del método.

Las figuras 13 y 16 se aprecian los gráficos de las diferentes concentraciones de etanol en material fortificado 1,0 g/L - 4,0 g/L, para el GC-FID y UV-VIS logrando buena linealidad del método, con un  $R^2$  de 0,9996 y  $R^2$  0,9995. Se trabajó hasta 4,0 g/L debido a que dicha concentración puede ocasionar la muerte según autores (52). Además, la linealidad del método se fundamenta mediante los cálculos matemáticos mencionados anteriormente. Con estos cálculos se evidencia la linealidad del método para CG-FID en el rango de 0,00636 g/L y 4,0 g/L, parecido a lo reportado por Trigo M (2) y Dorubet D. et.al. (18), y UV-VIS de 0,0411 g/L y 4,0 g/L. Para la linealidad se trabajó en el rango de 0,1 g/L a 4,0 g/L con un  $R^2$  superior a 0,998.

Los resultados de la recuperación, en las tablas 10 y 16, se realiza un resumen de todos los porcentajes de recuperación a las diferentes concentraciones de etanol en material fortificado, trabajado en repeticiones de 6 veces en el GC-FID y UV-VIS, apreciándose que el método recuperó en las concentraciones entre 96,59 % a 100,16

%, indicando que presenta una excelente exactitud (48), recalcando a la concentración de 0,5 g/L obtuvo un buen porcentaje de 98,44 %, dejando un mínimo margen de error casi obtenido el valor real, y para el UV-VIS el método recuperó en las concentraciones desde el 86,17% - 101,16%, calificándose con una mala exactitud, recalcando a la concentración de 0,5 g/L obtuvo un mal porcentaje de 95,84 %, dejando un gran margen de error casi obtenido el valor real, comparando con el estudio Rusli H. (55) dando resultados 83,85 % - 84,72 %, no teniendo una buena exactitud.

La precisión de los métodos se evaluó mediante la repetibilidad y precisión intermedia. La tabla 11 y 17 refleja estadísticamente un resumen para el ensayo de repetibilidad que fue analizado a diferentes concentraciones de etanol en material fortificado por 6 veces para ambos métodos, observándose para el GC-FID en los resultados un coeficiente de variación no mayor al 2,01%, logrando decir que si tiene buena repetibilidad comparado con la bibliografía que recomienda un coeficiente de variación no mayor 10% (53), resaltando que la concentración de 0,5 g/L obtuvo un porcentaje de 2,01 % , esto quiere decir que cuando se analice muestras idénticas se van obtener resultados precisos, en comparación del UV-VIS en sus resultados un coeficiente de variación del 26,47%, logrando decir que no tiene buena repetibilidad comparado con la bibliografía que recomienda un coeficiente de variación no mayor 10% (53), resaltando que la concentración de 0,5 g/L obtuvo un porcentaje de 8,72 % , esto quiere decir que cuando se analice muestras idénticas no se van obtener resultados precisos, así mismo los resultados de Rusli H. (55) tiene un resultado de 11,42 % que tampoco indica una no buena precisión en los resultados

En la tabla 12 y 18 se aprecian estadísticamente el resumen de la precisión intermedia de las concentraciones analizadas con material fortificado por dos analistas procesados en días distintos. El análisis reportó para el GC-FID un coeficiente de variación menor a 1,88 % en las diferentes concentraciones, comparado con los resultados reportados por Narváez D y Quito N (11) reportaron coeficientes de variación menores a 5 %, lo que muestra una menor dispersión de los resultados fortaleciendo al análisis de la precisión del método, en los cálculos matemáticos el análisis de varianza de un factor con la prueba estadística F muestra que los resultados hallados entre el analista 1 y analista 2 son estadísticamente iguales, recalcando que el método presenta una buena precisión para realizar análisis cuantitativos, como los análisis forenses toxicológicos relacionado al etanol, mientras que para el UV-VIS el estudio reportó un coeficiente de variación de 22,11%, indicando que no tiene una buena precisión intermedia y que se ampara en los cálculos matemáticos y estadísticos.

Finalmente, la robustez se observa en la tabla 13 y 19 se presentan los resultados acerca del tiempo de retención del etanol y del 1-propanol para el GC-FID y absorbancias para el UV-VIS, al momento de realizar las variaciones para GC indicadas en las tablas 4 y 5 a las concentraciones de 0,5 g/L y 2,0 g/L, en su análisis estadístico, se reporta un coeficiente de variación para el tiempo de retención máximo para el etanol de 0,014 % y para el 1-propanol de 0,025 %, tiempos que se encuentran dentro de la ventana que se da al momento de la integración que se realiza automáticamente en el equipo. Además, el cálculo estadístico al momento de aplicar la prueba estadística F demuestra que los valores

son estadísticamente iguales, siendo un método robusto, mientras que para el UV-VIS se reportó unas variaciones de 0,039% para la concentración de 0,5 g/L y 0,021% para 2,0 g/L, presentando así una robustez el método.

Así mismo, se evidenció en la tabla 20 que la determinación de la concentración de etanol en sangre por el método de GC-FID es posible teniendo valores como media un valor de 1,182 g/L, así mismo el valor de la mediana 1,193 g/L, la desviación estándar fue 0,600 indicando una moderada dispersión y con una varianza de 0,360, como lo menciona Quispe Y. y Loaiza E. (1) en su estudio que realizó en el Cusco obteniendo un valor de la media es 1,31 g/L, la mediana es 1,31 g/L indicando que el 50 % de los valores obtenidos por el método de cromatografía de gases – *head Space* tuvieron valores menores o iguales a dicho valor. La desviación estándar fue 0,10 indicando que no existe un grado de dispersión de la variable y así como en otros estudios realizados por Canales C. (13), Costilla E. y Mejía A. (56), Gutiérrez J. (57) y Vaca E. y Henao L. (58) demostrando la determinación de la concentración de etanol en muestras de sangre.

Con respecto al UV-VIS, se evidenció que la tabla 21 que la determinación de concentración de etanol en sangre por el método de espectrofotometría ultravioleta visible también es posible teniendo como media un valor de 1,348 g/L, así mismo, el valor de la mediana de 1,375 g/L, la desviación estándar fue 0,620 indicando una moderada dispersión y una varianza de 0,384, como lo menciona Quispe Y. y Loaiza E. (1) en su estudio que realizó en el Cusco obteniendo un valor de la media es 1,30 g/L, la mediana es 1,24 g/L indicando que el 50 % de los valores obtenidos por el método colorimétrico tuvieron valores menores o iguales a dicho valor. La

desviación estándar fue 0,21 indicando que no existe un grado de dispersión de la variable. Así como en otros estudio que realizaron Barrientos N. (29), Bautista A. y Damián E. (59) y Vera M. (60) que realizaron la determinación de la concentración de etanol en muestras de sangre.

Basándonos en los resultados obtenidos de las pruebas estadísticas, se puede inferir que existen diferencias significativas entre los valores de concentración de etanol en sangre determinados por el método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama (GC-FID) y el método de espectrofotometría ultravioleta visible (UV-VIS).

En la tabla 22, se aprecia donde se representa las diferencias de las medias en las concentraciones de alcohol en sangre en los examinados por GC-FID frente al método de UV-VIS. La prueba t de Student para muestras independientes arrojó un p-valor de 0,003, que es menor al nivel de significancia del 5% (0,05). Esto se corrobora con la validación de los métodos analíticos, donde el método de cromatografía de gases es el ideal para este tipo de análisis toxicológicos así también como lo menciona Rusli H. (55), en sus resultados de validación teniendo unas amplias diferencias en sus resultados de cromatografía de gases y espectrofotometría ultravioleta visible, Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) que plantea que no existen diferencias entre los valores de etanol en la sangre determinados por ambos métodos. En su lugar, se acepta la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) que sugiere que hay diferencias entre los dos métodos analíticos.

Esto indica que los promedios de concentración de etanol en sangre obtenidos por GC-FID y UV-VIS son estadísticamente diferentes. Es crucial

considerar estas diferencias al interpretar y comparar los resultados obtenidos por ambos métodos. La variación en los resultados podría deberse a las diferencias inherentes en los principios y procesos de cada técnica analítica.

En ese sentido, la existencia de diferencias estadísticamente significativas no invalida necesariamente la aplicabilidad de ambos métodos. Sin embargo, subraya la importancia de validar y evaluar cada método de manera independiente. Ambos métodos deben cumplir con los criterios de validación, como linealidad, precisión, exactitud y robustez, para garantizar su idoneidad y confiabilidad en la determinación de la concentración de etanol en sangre.

En resumen, aunque se ha demostrado que hay diferencias estadísticas significativas entre los métodos GC-FID y UV-VIS, la validez y confiabilidad de cada método individualmente deben ser evaluadas de manera exhaustiva para respaldar su implementación en el contexto forense y garantizar resultados precisos y consistentes, ante lo expuesto en los resultados partir de ello se puede decir que el método de espectrofotometría ultravioleta visible puede ser utilizado para la determinación de la concentración de etanol en sangre; sin embargo, no es recomendable, porque en los estudios no se ha evaluado de manera integral en todos los niveles los factores que puedan estar involucrados en las variaciones en ambos métodos, como el consumo de ciertos medicamentos, o de sustancias que puedan generar en sangre una reacción cruzada con el método espectrofotométrico ya que este no tiene alta selectividad y especificidad como el que muestra el método por cromatografía de gases con detector de ionización por flama, por lo que se recomienda el uso de este método en condiciones ideales, que permitan conocer el

buen estado de salud de la persona y el uso o consumo de otras sustancias que puedan interferir en el análisis (61).

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

- a) Se analizó las concentraciones características de desempeño para el método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Límite de detección 0,00191 g/L, límite de cuantificación 0,00636 g/L, exactitud 96,59 % - 100,16 %, repetibilidad 2,01 %, precisión intermedia 1,88 %.
- b) Se analizó las concentraciones de las características de desempeño para el método de espectrofotometría ultravioleta en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Límite de detección 0,0123 g/L, límite de cuantificación 0,0411 g/L, exactitud 86,17 % - 101,16 %, repetibilidad 26,47 %, precisión intermedia 22,11 %.
- c) Se determinó la concentración de etanol en sangre en individuos examinados en el laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú por el método de Cromatografía de Gases con Detector de Ionización por flama, la

cual se evidenció la media 1,182 g/L.

- d) Se determinó la concentración de etanol en sangre en individuos examinados en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú por el método de Espectrofotometría Ultravioleta Visible, la cual se evidencia que es de 1,348 g/L.
- e) Se determinó que existe diferencias significativas ( $p = 0,003$ ) en las concentraciones de etanol en sangre en individuos examinados por el método de Cromatografía de Gases con Detector de Ionización por flama y Espectrofotometría Ultravioleta Visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.

## 5.2. Recomendaciones

- Se deben desarrollar este tipo de estudios en otras regiones del Perú, ya que las diferentes condiciones climáticas y latitudes crean otros factores intrínsecos o extrínsecos que pueden interferir con la determinación de las concentraciones de etanol en sangre.
- Realizar más estudios para determinar si existe relación entre los métodos de Cromatografía de Gases y Espectrofotometría Ultravioleta Visible evaluando todos factores posibles para una información más consistente, por lo que no hay muchas investigaciones basadas en estos métodos.
- Realizar estudios para determinar si sustancias oxidantes o reductoras presentes en la sangre si influyen o no al momento de la determinación de etanol.

- Proporcionar conferencias educativas e informativas para la concientización de la población sobre el consumo del alcohol en el estilo de vida de las personas y sus consecuencias.

## REFERENCIAS

1. Quispe Y, Loaiza E. Evaluación del método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método de Cromatografía de Gases: estudio en bebedores sociales y diabéticos abstemios de la ciudad de Cusco, determinación de interferentes: especial interés en acetona e isopropanol. [Internet] [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. [Cusco]: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2011 [citado 29 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://docplayer.es/78978592-Universidad-nacional-de-san-antonio-abad-del-cusco.html>
2. Trigo M. Validación del método para la cuantificación de alcohol en sangre por Cromatografía Gaseosa con Detector de Ionización de Llama y espacio de cabeza y correlación con el método Enzimático. Con-ciencia (La Paz) [Internet]. 2017 [citado 29 de agosto de 2022];5(2):29-42. Disponible en: [http://www.scielo.org.bo/pdf/rcfb/v5n2/v5n2\\_a04.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/rcfb/v5n2/v5n2_a04.pdf)
3. Espinoza J. El estado de embriaguez como agravante en los delitos que atentan contra la integridad de las personas [Internet] [Tesis para optar el Título de Derecho]. [Santo Domingo - Ecuador.]: Universidad Regional Autónoma de los Andes; 2020 [citado 9 de julio de 2023]. Disponible en: <https://dspace.uniandes.edu.ec/handle/123456789/12669>
4. Flores P, López K, Guzmán FR, Rodríguez L, Jiménez B. Consumo de alcohol y su relación con la agresividad en adolescentes de secundaria: Consumo de Alcohol y Agresividad en Adolescentes. Rev Int Investig En Adicciones [Internet]. 3 de julio de 2019 [citado 9 de julio de 2023];5(1):31-8. Disponible en: <https://riiad.org/index.php/riiad/article/view/riiad.2019.1.05>
5. Roque C. La Toxicología Forense. Ciencias Forenses de Honduras [Internet]. marzo de 2016 [citado 17 de septiembre de 2022];2(63):5. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/326838879\\_La\\_Toxicologia\\_Forense\\_The\\_Forensic\\_Toxicology](https://www.researchgate.net/publication/326838879_La_Toxicologia_Forense_The_Forensic_Toxicology)
6. Fiestas F. Reduciendo la carga de enfermedad generada por el consumo de alcohol en el Perú: propuestas basadas en evidencia. Revista Peruana de Medicina Experimental y

- Salud Publica [Internet]. marzo de 2012 [citado 7 de septiembre de 2022];29(1):112-8. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1726-46342012000100017&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1726-46342012000100017&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
7. Haarkötter C. El Laboratorio de Criminalística y su implementación: un análisis con vistas a su diseño para la Universidad de Granada. [Internet] [Tesis para optar el Grado en Criminología]. [Granada -España]: Universidad de Granada; 2018 [citado 9 de julio de 2023]. Disponible en: <https://digibug.ugr.es/handle/10481/51603>
  8. Salvatierra K. Modificación de alcoholemia en muestras sanguíneas positivas durante su periodo de conservación en la UNIDDEP-Trujillo, septiembre 2019 – marzo 2020 [Internet] [Tesis]. [Trujillo-Perú]: Universidad Nacional de Trujillo; 2021 [citado 6 de diciembre de 2022]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/17336>
  9. Serrano M, Vélez M. Comparación de valores de alcohol etílico en muestras de sangre y humor vitreo en cadáveres de la morgue del Hospital Vicente Corral Moscoso, Cuenca - Ecuador. [Internet] [Tesis]. [Cuenca-Ecuador]: Universidad de Cuenca; 2018 [citado 17 de septiembre de 2022]. Disponible en: <http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/1110714>
  10. Ferrel M. Determinación de etanol en bebidas refrescantes por método enzimático [Internet] [Tesis]. [Lima-Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.; 2011 [citado 17 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/2321>
  11. Narváez D, Quito N. Estandarización del método para alcoholemias por cromatografía de gases [Internet] [Tesis para obtener el Título de Bioquímica Farmacéutica.]. [Cuenca-Ecuador]: Universidad de Cuenca; 2015 [citado 30 de agosto de 2022]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/21835>
  12. Reyes EM. Validación de un método para determinar Alcoholemia por Cromatografía de Gases/Espectrometría de masas y su aplicación forense en Perú. [Internet] [Tesis de Maestría]. [Lima-Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.; 2023 [citado 20 de

noviembre de 2023]. Disponible en:  
<https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/19625>

13. Canales C. Determinación de la variación de la concentración de alcohol etílico en el tiempo en varones vivos en el distrito de Lima Metropolitana utilizando el método de cromatografía de gases. [Internet] [Tesis para optar el grado académico de Doctor en Farmacia]. [Lima-Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.; 2020 [citado 29 de agosto de 2022]. Disponible en:  
<https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/11759>
14. Silva S. Niveles de Alcohol etílico en la sangre humor vitreo y orina en personas intervenidas y cadáveres. [Internet] [Tesis para optar la segunda especialidad en Toxicología y Química Forense]. [Trujillo-Perú]: Universidad Nacional de Trujillo; 2020 [citado 29 de agosto de 2022]. Disponible en:  
<https://www.udocz.com/apuntes/234044/niveles-de-alcohol-etilico-en-la-sangre-humor-vitreoorina-en-personas-intervenidas-y-cadaveres>
15. Pinares L, Villa E. Estudio comparativo de dos coeficientes de Etil–Oxidación, aplicando el cálculo retrospectivo para la determinación de etanolemia en circunstancias reales de consumo de alcohol etílico, en bebedores sociales varones de la ciudad del Cusco [Internet] [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. [Cusco-Perú]: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2019 [citado 29 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/4314>
16. Intiquilla S, Montoya M. Correlación entre la concentración de etanol en sangre y orina de personas sometidas a exámenes de ley en Lima Metropolitana de agosto 2016 - marzo 2017 [Internet] [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. [Lima-Perú]: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2017 [citado 29 de agosto de 2022]. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2040>
17. Polo D. Relación entre los niveles de alcohol obtenidos por cromatografía y colorimetría en el Hospital Policía Nacional del Perú Augusto B. Leguía - 2015 [Internet] [Tesis para optar el grado académico de Magister en Tecnología Médica]. [Chimbote-Perú]:

- Universidad San Pedro; 2016 [citado 29 de agosto de 2022]. Disponible en: <http://repositorio.usanpedro.edu.pe/handle/USANPEDRO/922>
18. Dorubet D, Moldoveanu S, Mircea C, Butnaru E, Astărăstoae V. Development and validation of a quantitative determination method of blood ethanol by gas chromatography with headspace (GC-HS). *Romanian J Leg Med*. 1 de diciembre de 2009;17:303-8.
  19. Nivel de alcohol permitido en la sangre en el Perú. [Internet]. [Lima-Perú]: Universidad de Lima; [citado 28 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.ulima.edu.pe/departamento/servicio-psicologico/si-tomas-no-manejes>
  20. Jones G, Peat M. Forensic toxicology laboratory guidelines. *J Anal Toxicol* [Internet]. 1999;23(7):636. Disponible en: [http://www.the-ltg.org/data/uploads/guidelines/soft-guidelines\\_2006.pdf](http://www.the-ltg.org/data/uploads/guidelines/soft-guidelines_2006.pdf)
  21. Guía para la obtención, conservación y transporte de muestras para análisis toxicológicos [Internet]. Ministerio de Salud de la Nación. Programa Nacional de Prevención y Control de las Intoxicaciones, 2015. Buenos Aires. Argentina. 48 p.; 20 x15 cm.; 2006 [citado 2 de julio de 2023]. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/guia-para-la-obtencion-conservacion-y-transporte-de-muestras-para-analisis-toxicologicos>
  22. Protocolo unificado de los ministerios públicos de la República Argentina. Guía para el levantamiento y conservación de la evidencia. [Internet]. 1era. edición. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: SAIJ; 2017 [citado 2 de julio de 2023]. 57 p. Disponible en: <http://www.bibliotecadigital.gob.ar/items/show/1724>
  23. Pons J, Azpeitia F. Alcohol y alcoholímetros: Historia, fundamentos científicos y aplicación didáctica. *An Quím RSEQ* [Internet]. 2003 [citado 28 de noviembre de 2022];(1):53-62. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=637814>
  24. Fuentes V. Robert Borkenstein y control de alcoholemia. *Motorpasión* [Internet]. 10 de octubre de 2017 [citado 7 de diciembre de 2022]; Disponible en: <https://www.motorpasion.com/seguridad/gracias-a-un-tenaz-senor-llamado-robert-borkenstein-soplaras-en-un-control-este-fin-de-semana>

25. Wade L. Química orgánica [Internet]. Séptima edición. Vol. 1. México: Pearson Educación; 2011 [citado 2 de julio de 2023]. 744 p. Disponible en: [https://www.academia.edu/35083932/Qu%C3%ADmica\\_organica\\_Vol\\_1\\_Wade\\_7ma](https://www.academia.edu/35083932/Qu%C3%ADmica_organica_Vol_1_Wade_7ma)
26. Téllez J, Cote M. Alcohol etílico: Un tóxico de alto riesgo para la salud humana socialmente aceptado. Revista de la Facultad de Medicina [Internet]. marzo de 2006 [citado 30 de agosto de 2022];54(1):32-47. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0120-00112006000100005&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-00112006000100005&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
27. Schlesinger A, Pescador B, Roa L. Neurotoxicidad alcohólica. Revista Med [Internet]. 25 de junio de 2017 [citado 30 de agosto de 2022];25(1):87-101. Disponible en: <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rmed/article/view/2924>
28. Alfonso M. Farmacología y toxicología del alcohol etílico, o etanol. Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid [Internet]. 2014 [citado 30 de agosto de 2022];(51):241-8. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5361614>
29. Barrientos N. Correlación entre alcoholemia y alcoholuria en la valoración de la ebriedad [Internet] [Tesis]. [Ica-Perú]: Universidad Nacional San Luis Gonzaga; 2022 [citado 30 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/handle/20.500.13028/3745>
30. Villanueva E, Gisbert A. Medicina Legal y Toxicología. [Internet]. 6ta. Edición. Elsevier Masson; [citado 30 de agosto de 2022]. 1408 p. Disponible en: [https://www.academia.edu/44486862/Medicina\\_Legal\\_y\\_Toxicologia\\_Gisbert\\_Calabuig\\_6a\\_Edicion](https://www.academia.edu/44486862/Medicina_Legal_y_Toxicologia_Gisbert_Calabuig_6a_Edicion)
31. Aragón C, Miquel M, Correa M, Sanchis C. Alcohol y metabolismo humano. Adicciones [Internet]. 15 de diciembre de 2002 [citado 30 de agosto de 2022];14(5):20. Disponible en: <https://www.adicciones.es/index.php/adicciones/article/view/541>

32. Díaz M, Calderín J. Síndrome de abstinencia alcohólica: Resultado del estrés oxidativo y desequilibrio neuronal. *Revista Biomédica* [Internet]. 12 de mayo de 2020 [citado 30 de agosto de 2022];31(2):13. Disponible en: <https://www.revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/722>
33. Evora S. Alcohol y fisiología humana: Capítulo 2- Donde todo comienza: el alcohol en el aparato digestivo. Elsevier Connect [Internet]. 30 de octubre de 2017 [citado 30 de agosto de 2022];11. Disponible en: <https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/alcohol-y-fisiologia-humana-capitulo-2-donde-todo-comienza-el-alcohol-en-el-aparato-digestivo>
34. Mora M. Intoxicación alcohólica. *Medicina Legal de Costa Rica* [Internet]. diciembre de 2016 [citado 30 de agosto de 2022];33(2):66-76. Disponible en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1409-00152016000200066&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1409-00152016000200066&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
35. Príncipe DW. Aplicabilidad del Método de Widmark y Factores Asociados en los casos de Alcoholemia registrados en la Unidad Desconcentrada de Dosaje Étílico, Lambayeque, 2022 [Internet]. Universidad Privada Norbert Wiener; 2023 [citado 12 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/8447>
36. Rivera P, González R, Rebollar E. Revisión bibliográfica para el análisis de etanol (alcohol étílico) en orina, humor vítreo y plasma en cadáveres. *Rev Mex Cienc Penal* [Internet]. 21 de enero de 2022 [citado 30 de agosto de 2022];5(16):189-211. Disponible en: <http://revistaciencias.inacipe.gob.mx/index.php/02/article/view/505>
37. Skoog A, Holler F, Crouch R. Principios de análisis instrumental. [Internet]. Sexta Edición. México: Cengage Learning Editores; 2007 [citado 5 de septiembre de 2022]. Español. Disponible en: [https://www.academia.edu/43268766/Principios\\_de\\_an%C3%A1lisis\\_instrumental\\_Skoog\\_Douglas\\_A\\_Holler\\_F\\_James\\_Crouch\\_Stanley\\_R\\_Sexta\\_Edici%C3%B3n\\_Cengage\\_Learning\\_Editores\\_2008\\_M%C3%A9xico](https://www.academia.edu/43268766/Principios_de_an%C3%A1lisis_instrumental_Skoog_Douglas_A_Holler_F_James_Crouch_Stanley_R_Sexta_Edici%C3%B3n_Cengage_Learning_Editores_2008_M%C3%A9xico)
38. Gutiérrez C. Aplicación de la cromatografía de gases en la determinación de metanol en bebidas alcohólicas [Internet] [Tesis]. [La Paz - Bolivia]: Universidad Mayor de San

- Andrés; 2014 [citado 7 de abril de 2023]. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/10798>
39. Owen T. Fundamentos de la espectroscopía UV-visible moderna.pdf - Fundamentos de la espectroscopía UV-visible moderna Conceptos básicos Tony Owen Copyright | Course Hero [Internet]. [citado 30 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.coursehero.com/file/71994804/Fundamentos-de-la-espectroscop%C3%ADa-UV-visible-modernapdf/>
40. Fontal B. El espectro electromagnetico y sus aplicaciones [Internet]. Editorial. Venezuela: Escuela Venezolana para la Enseñanza de la Química; 2005. 151 p. Disponible en: [http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/16746/espectro\\_electromagnetico.pdf;jsessionid=3843814E0B3AB1A0487058242EF419D8?sequence=1](http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/16746/espectro_electromagnetico.pdf;jsessionid=3843814E0B3AB1A0487058242EF419D8?sequence=1)
41. Andrade A, Bonifacio R. Variación en la concentración de alcohol étílico en sangre entre muestras frescas y sin conservar a las 36 horas - Arequipa-2022 [Internet] [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. [Arequipa]: Universidad Privada Autónoma del Sur; 2023 [citado 2 de julio de 2023]. Disponible en: <http://portal-academico.upads.edu.pe/browse?type=subject&value=Alcoholemia>
42. Martín Y, Torres S. Guía multimedia de operaciones básicas en análisis químico, farmacéutico y medioambiental. [Internet]. 2008 [citado 5 de marzo de 2023]; Disponible en: <https://roderic.uv.es/handle/10550/16012>
43. Martínez F, Pérez I. Calibración de un Espectrofotómetro UV-Visible y Evaluación de la Incertidumbre. [Internet] [Tesis]. [León - Nicaragua]: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.; 2009 [citado 3 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://docplayer.es/20292817-Calibracion-de-un-espectrofotometro-uv-visible-y-evaluacion-de-la-incertidumbre.html>
44. Petrucci R, Herring G, Madura J, Bissonnette C. Química general, principios y aplicaciones modernas. [Internet]. Décima edición. España: Pearson Educación; 2011 [citado 2 de julio de 2023]. 1432 p. Disponible en:

[https://www.academia.edu/45065400/Qu%C3%ADmica\\_General\\_Petrucci\\_Herring\\_Madura\\_y\\_Bissonnette](https://www.academia.edu/45065400/Qu%C3%ADmica_General_Petrucci_Herring_Madura_y_Bissonnette)

45. Gutiérrez I. La Fisiopatología como Base Fundamental del Diagnóstico Clínico. Ed. Médica Panamericana; 2011. 1016 p.
46. Abril N, Bárcena A, Fernández E, Galván A. Espectrofotetría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. [citado 30 de agosto de 2022];8. Disponible en: [https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biolmol/pdfs/08\\_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf](https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biolmol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf)
47. La Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC) [Internet]. [citado 13 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://www.unodc.org/unodc/es/unodc.html>
48. Barwick V, Morillas P, Patriarca M. La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados [Internet]. 1era. edición. España: Eurolab; 2016 [citado 2 de julio de 2023]. 66 p. Disponible en: [https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV\\_guide\\_2nd\\_ed\\_ES.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf)
49. Hernández R, Fernández C. Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. [Internet]. Sexta edición. Baptista Lucio P, editor. México D.F.: McGraw-Hill Education; 2014. 634 p. Disponible en: <https://www.uca.ac.cr/wp-content/uploads/2017/10/Investigacion.pdf>
50. Rojas G. Muestreo para correlaciones por contingencias y de Pearson [Internet] [Tesis de Maestría]. [Cuba]: Universidad Central Marta Abreu de las Villas; 2007 [citado 22 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://1library.co/document/q2n9oerq-muestreo-para-correlaciones-por-contingencias-y-de-pearson.html>
51. Tiscione NB, Alford I, Yeatman DT, Shan X. Ethanol analysis by headspace gas chromatography with simultaneous flame-ionization and mass spectrometry detection. J Anal Toxicol. septiembre de 2011;35(7):501-11.
52. Bruton LL. Las bases farmacológicas de la Terapéutica.

53. Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology | American Academy of Forensic Sciences [Internet]. 2021 [citado 12 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://www.aafs.org/asb-standard/standard-practices-method-validation-forensic-toxicology>
54. Lara MM, Hernández RA, Beristain NA, Hernández V, Vázquez ME. Método a bajo costo para la cuantificación del grado alcohólico en muestras de tequila blanco. *Cienc Lat Rev Científica Multidiscip* [Internet]. 22 de febrero de 2022 [citado 20 de noviembre de 2023];6(1):2852-66. Disponible en: <http://ciencialatina.org/index.php/cienciala/article/view/1693>
55. Determination Of Ethanol In Enviromental Water. [Internet]. [citado 12 de diciembre de 2023]. Disponible en: <http://utpedia.utp.edu.my/id/eprint/9421/1/2005%20Bachelor%20-%20Determination%20Of%20Ethanol%20In%20Enviromental%20Water.pdf>
56. Costilla E, Mejía A. Determinación por cromatografía de gases, el valor del cociente: etanol en humor vitreo/sangre en cadáveres necropsiados de la Morgue del Cusco. *Horiz Méd Lima* [Internet]. abril de 2014 [citado 29 de agosto de 2022];14(2):34-8. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1727-558X2014000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1727-558X2014000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
57. Gutiérrez J. Evaluación de la concentración de etanol en sangre, orina y humor vítreo en cadáveres de género masculino necropsiados en el Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses del Perú, setiembre - noviembre 2016 [Internet] [Tesis de Segunda Especialidad en Toxicología y Química Legal]. [Lima-Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.; 2017 [citado 30 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/6991>
58. Vaca E, Henao L. Validación de la determinación de alcoholemia y metanol por Cromatografía de Gases con automuestreador de volátiles e identificación de acetaldehído, acetona y 2-propanol [Internet] [Tesis]. [Pereira-Colombia]: Universidad Tecnológica de Pereira; 2010 [citado 17 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/11059/1685>

59. Bautista A, Damian E. Determinación del grado de eliminación del etanol en muestras biológicas (sangre) en personas adultas de Mangamarca-San Juan de Lurigancho. Mayo 2018. [Internet] [Tesis]. [Lima-Perú]: Universidad Privada Norbert Wiener; 2020. Disponible en: [https://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5088/T061\\_70247703\\_45932277\\_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5088/T061_70247703_45932277_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
60. Vera M. Relación entre tipos de accidentes de tránsito y alcoholemia determinada en la Unidad Desconcentrada de Dosaje Etílico – Sede Trujillo, abril 2018 – marzo 2019 [Internet] [Tesis]. [Trujillo-Perú]: Universidad Nacional de Trujillo; 2019 [citado 17 de septiembre de 2022]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/15438>
61. Canales C, Rivas W. Variación de la concentración de alcohol etílico en sangre de cadáveres en relacion al tiempo. Cienc E Investig [Internet]. 2017 [citado 7 de julio de 2023];20(2):9-12. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/14804>

## ANEXOS

## Anexo 1. Matriz de consistencia

**Título de la Investigación: “Determinación de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Lima 2023”**

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
<p><b>Problema General</b></p> <p>¿Cuáles serán las concentraciones de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?</p> <p><b>Problemas específicos</b></p> <p>¿Cuáles serán las concentraciones de las características de desempeño para la determinación de etanol del método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?</p> <p>¿Cuáles serán las concentraciones de las características de desempeño para la determinación de</p>	<p><b>Objetivo General</b></p> <p>Determinar la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <p>Analizar las concentraciones de las características de desempeño para la determinación de etanol del método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Lima 2023</p> <p>Analizar las concentraciones de las características de desempeño para la determinación de etanol del método de Espectrofotometría Ultravioleta Visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Lima 2023.</p> <p>Determinar la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el</p>	<p><b>Hipótesis General</b></p> <p>Existe diferencia en la concentración de etanol en sangre en individuos determinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.</p>	<p><b>Variable 1</b> Etanol en sangre</p> <p><b>Variable 2</b> Métodos Analíticos</p>	<p><b>Tipo de investigación:</b> Básica</p> <p><b>Método de investigación</b> Hipotético - Inductivo</p> <p><b>Diseño de la investigación:</b> Descriptiva de corte longitudinal: De nivel comparativa.</p> <p><b>Población:</b> 500 muestras biológicas de sangre</p> <p><b>Muestra:</b> 240 muestras biológicas de sangre</p>

---

etanol del método de Espectrofotometría ultravioleta visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?

¿Cuál será la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?

¿Cuál será la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el método de espectrofotometría ultravioleta visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?

¿Existirá diferencia entre la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por los métodos de cromatografía de gases con detector de ionización por flama y espectrofotometría ultravioleta visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, Lima 2023?

---

método de cromatografía de gases con detector de Ionización por flama en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.

Determinar la concentración de etanol en sangre en individuos examinados por el método de espectrofotometría ultravioleta visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú

Determinar la diferencia entre las concentraciones de etanol en sangre en individuos examinados por el método de cromatografía de gases con detector de Ionización por flama y espectrofotometría ultravioleta visible en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú.

### Anexo 2. Ficha de recolección de datos

N° correlativo	Método de cromatografía de gases con detector de ionización por flama			Método de Espectrofotometría Ultravioleta Visible		
	I.D de la muestra de sangre	Concentraci ón de g/L en sangre	Promedio de la concentración	I.D de la muestra de sangre	Concentraci ón de g/L en sangre	Promedio de la concentración
1	M.1			M.1		
	M.1			M.1		
2	M.2			M.2		
	M.2			M.2		
3	M.3			M.3		
	M.3			M.3		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
239	M.239			M.239		
	M.239			M.239		
240	M.240			M.240		
	M.240			M.240		

**Anexo 3. Certificados de validez del instrumento**

**CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DE LOS INSTRUMENTOS**

**TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN:** "Determinación de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Lima 2023"

Nº	DIMENSIONES / ítems	Pertinencia <sup>1</sup>		Relevancia <sup>2</sup>		Claridad <sup>3</sup>		Sugerencias
	<b>VARIABLE: determinación de etanol en sangre</b>							
	<b>DIMENSIÓN: Única</b>	Si	No	Si	No	Si	No	
1	Cuantificación de concentración de etanol en sangre según los métodos analíticos.	×		×		×		
	<b>VARIABLE 2: Métodos analíticos</b>							
	<b>DIMENSIÓN: Única</b>	Si	No	Si	No	Si	No	
2	Cromatografía de gases	×		×		×		
3	Espectrofotometría ultravioleta - Visible (Sheftel modificado)	×		×		×		

<sup>1</sup>**Pertinencia:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.  
<sup>2</sup>**Relevancia:** El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo.  
<sup>3</sup>**Claridad:** Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo.

*Nota:* Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

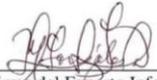
**Observaciones (precisar si hay suficiencia):** Si hay suficiencia

**Opinión de aplicabilidad:**

Aplicable [  ]  
 Aplicable después de corregir [  ]  
 No aplicable [  ]

**Apellidos y nombres del juez validador.** Mg. Gonzáles Dávila, Victoria Maribel  
**DNI:** 09447289  
**Especialidad del validador:** Gerencia en Administración Farmacéutica

09 de diciembre de 2022

  
 ...Firmado del Juez de Informante  
 OS - 299411  
 Victoria Maribel GONZALES DÁVILA  
 CORONEL S PNP  
 PERITO QUÍMICO FARMACÉUTICO  
 C.Q.F.P. N° 00958

**Anexo 2. Ficha de recolección de datos**

Nº correlativo	Método de cromatografía de gases			Método de Espectrofotometría Ultravioleta-Visible		
	I.D de la muestra de sangre	Concentración de g/L en sangre	Promedio de la concentración	I.D de la muestra de sangre	Concentración de g/L en sangre	Promedio de la concentración
1	M.1			M.1		
	M.1			M.1		
2	M.2			M.2		
	M.2			M.2		
3	M.3			M.3		
	M.3			M.3		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
239	M.239			M.239		
	M.239			M.239		
240	M.240			M.240		
	M.240			M.240		

  
 ...Firmado del Juez de Informante  
 OS - 299411  
 Victoria Maribel GONZALES DÁVILA  
 CORONEL S PNP  
 PERITO QUÍMICO FARMACÉUTICO  
 C.Q.F.P. N° 00958

**CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DE LOS INSTRUMENTOS**

**TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN:** "Determinación de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Lima 2023"

N°	DIMENSIONES / ítems	Pertinencia <sup>1</sup>		Relevancia <sup>2</sup>		Claridad <sup>3</sup>		Sugerencias
VARIABLE: determinación de etanol en sangre		Si	No	Si	No	Si	No	
DIMENSIÓN: Única								
1	Cuantificación de concentración de etanol en sangre según los métodos analíticos.	X		X		X		
VARIABLE 2: Métodos analíticos		Si	No	Si	No	Si	No	
DIMENSIÓN: Única								
2	Cromatografía de gases	X		X		X		
3	Espectrofotometría ultravioleta - Visible (Sheftel modificado)	X		X		X		

<sup>1</sup>**Pertinencia:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

<sup>2</sup>**Relevancia:** El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo.

<sup>3</sup>**Claridad:** Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo.

*Nota:* Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

**Observaciones (precisar si hay suficiencia):** si hay suficiencia.

**Opinión de aplicabilidad:**

Aplicable [ X ]

Aplicable después de corregir [ ]

No aplicable [ ]

**Apellidos y nombres del juez validador.** Mg. Lazo Vílchez, Alexis

DNI: 45511877

**Especialidad del validador:** Gestión en Servicios de la Salud

09 de diciembre de 2022

Firma del Experto Informante

05-392991  
Alexis Eduardo LAZO VILCHEZ  
CAPITAN S.PNP  
PERITO QUIMICO FARMACEUTICO  
RQFP N° 17630

Anexo 2. Ficha de recolección de datos

N° correlativo	Método de cromatografía de gases			Método de Espectrofotometría Ultravioleta-Visible		
	I.D de la muestra de sangre	Concentración de g/L en sangre	Promedio de la concentración	I.D de la muestra de sangre	Concentración de g/L en sangre	Promedio de la concentración
1	M.1			M.1		
	M.1			M.1		
2	M.2			M.2		
	M.2			M.2		
3	M.3			M.3		
	M.3			M.3		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
239	M.239			M.239		
	M.239			M.239		
240	M.240			M.240		
	M.240			M.240		

05-392991  
Alexis Eduardo LAZO VILCHEZ  
CAPITAN S.PNP  
PERITO QUIMICO FARMACEUTICO  
RQFP N° 17630

**CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DE LOS INSTRUMENTOS**

**TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN:** "Determinación de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Lima 2023"

Nº	DIMENSIONES / ítems	Pertinencia <sup>1</sup>		Relevancia <sup>2</sup>		Claridad <sup>3</sup>		Sugerencias
		Si	No	Si	No	Si	No	
<b>VARIABLE: determinación de etanol en sangre</b>								
<b>DIMENSIÓN: Única</b>								
1	Quantificación de concentración de etanol en sangre según los métodos analíticos.	X		X		X		
<b>VARIABLE 2: Métodos analíticos</b>								
<b>DIMENSIÓN: Única</b>								
2	Cromatografía de gases	X		X		X		
3	Espectrofotometría ultravioleta - Visible (Sheftel modificado)	X		X		X		

<sup>1</sup>**Pertinencia:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.  
<sup>2</sup>**Relevancia:** El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo.  
<sup>3</sup>**Claridad:** Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo.

*Nota:* Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

**Observaciones (precisar si hay suficiencia):** SÍ HAY SUFICIENCIA.

**Opinión de aplicabilidad:**

Aplicable [ X ]  
 Aplicable después de corregir [   ]  
 No aplicable [   ]

**Apellidos y nombres del juez validador.** Mg. Cenizaro Miranda, Ivanner  
**DNI:** 42794255  
**Especialidad del validador:** Maestría en Ciencia Criminalística

09 de diciembre de 2022

  
 Firma del Experto Informante  
 OS - 36867  
 Ivanner CENIZARIO MIRANDA  
 MAJOR S PNP  
 PERITO QUÍMICO FARMACÉUTICO  
 COFP 13842

**Anexo 2. Ficha de recolección de datos**

Nº correlativo	Método de cromatografía de gases			Método de Espectrofotometría Ultravioleta-Visible		
	I.D de la muestra de sangre	Concentración de g/L en sangre	Promedio de la concentración	I.D de la muestra de sangre	Concentración de g/L en sangre	Promedio de la concentración
1	M.1			M.1		
	M.1			M.1		
2	M.2			M.2		
	M.2			M.2		
3	M.3			M.3		
	M.3			M.3		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
.	.			.		
239	M.239			M.239		
	M.239			M.239		
240	M.240			M.240		
	M.240			M.240		

  
 OS - 36867  
 Ivanner CENIZARIO MIRANDA  
 MAJOR S PNP  
 PERITO QUÍMICO FARMACÉUTICO  
 COFP 13842

#### Anexo 4. Prueba piloto

N°	Método de Cromatografía de Gases	Método de Espectrofotometría Ultravioleta Visible
1	1,105	1,0115
2	2,035	2,009
3	1,85	1,7845
4	2,503	2,541
5	1,4945	1,3955
6	1,638	1,9965
7	1,3285	1,1455
8	1,4565	1,652
9	0,908	1,0015
10	1,425	1,3895
11	0,292	0,2095
12	1,515	1,641
13	1,8475	1,9165
14	1,1465	0,9545
15	1,7475	1,6865
16	1,7305	1,7315
17	1,7795	2,0705
18	1,5135	1,3735
19	1,708	1,5905
20	0,7965	0,8555
<b>Correlación Pearson</b>		<b>0,961</b>



## Anexo 6. Aprobación del comité de ética



### COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA PARA LA INVESTIGACIÓN

#### CONSTANCIA DE APROBACIÓN

Lima, 16 de febrero de 2023

Investigador(a)  
**Antony Vega Salazar**  
**Sayuri Yasumi Puchoc Quispe**  
**Exp. N°: 2559-2022**

De mi consideración:

Es grato expresarle mi cordial saludo y a la vez informarle que el Comité Institucional de Ética para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener (CIEI-UPNW) **evaluó y APROBO** los siguientes documentos:

- Protocolo titulado: **“Determinación de etanol en sangre en individuos examinados por dos métodos analíticos en el Laboratorio Central de la Dirección de Criminalística de la Policía Nacional del Perú. Lima 2023” Versión 02 con fecha 11/01/2023.**
- Formulario de Consentimiento Informado Versión **(no aplica)** con fecha **(no aplica)**

El cual tiene como investigadores principales a los Srs. Antony Vega Salazar y Sayuri Yasumi Puchoc Quispe y a los investigadores colaboradores (no aplica)

La APROBACIÓN comprende el cumplimiento de las buenas prácticas éticas, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo de investigación y la confidencialidad de los datos, entre otros.

El investigador deberá considerar los siguientes puntos detallados a continuación:

1. **La vigencia** de la aprobación es de **dos años** (24 meses) a partir de la emisión de este documento.
2. **El Informe de Avances** se presentará cada 6 meses, y el informe final una vez concluido el estudio.
3. **Toda enmienda o adenda** se deberá presentar al CIEI-UPNW y no podrá implementarse sin la debida aprobación.
4. Si aplica, **la Renovación** de aprobación del proyecto de investigación deberá iniciarse treinta (30) días antes de la fecha de vencimiento, con su respectivo informe de avance.

Es cuanto informo a usted para su conocimiento y fines pertinentes.

Atentamente,

Yenny Marisol Bellido Fuente  
**Presidenta del CIEI- UPNW**



Av. Arequipa 440 - Santa Beatriz  
 Universidad Privada Norbert Wiener  
 Teléfono: 706-5555 anexo 3290 Cel. 981-000-698  
 Correo: [comite.etica@uwieneredu.pe](mailto:comite.etica@uwieneredu.pe)

## Anexo 7. Dossier fotográfico

Método Espectrofotometría Ultravioleta Visible



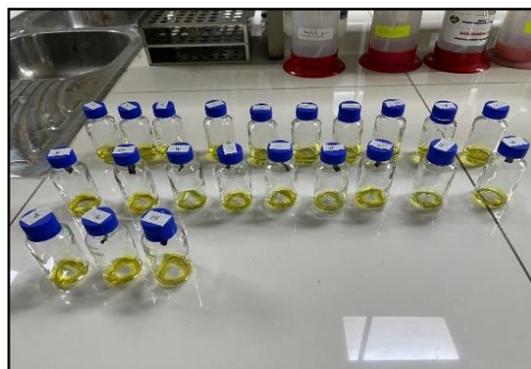
**Imagen 1: Muestras de sangre para analizar**



**Imagen 2: Añadiendo la solución Sulfoocrómica**



**Imagen 3: Incorporando muestras de sangre**



**Imagen 4: Muestras listas para su lectura**



**Imagen 5: Lectura de muestras**



**Imagen 6: Finalización del análisis de muestras**

### Método Cromatografía de Gases



**Imagen 1: Muestras de sangre para analizar**



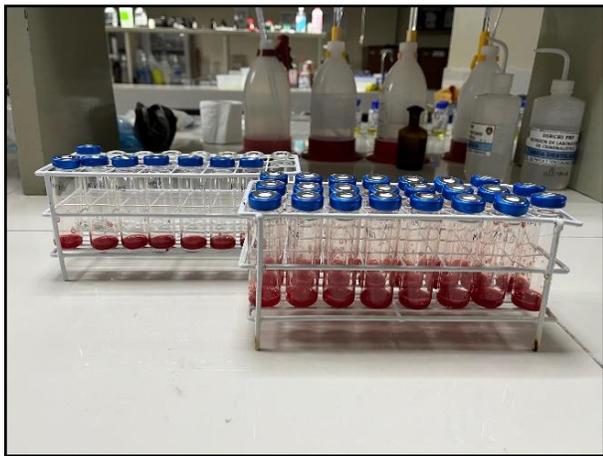
**Imagen 2: Añadiendo estándar Interno**



**Imagen 3: Incorporando muestras de sangre**



**Imagen 4: Sellando las muestras**



**Imagen 5: Muestras listas para su lectura**



**Imagen 6: Lectura de muestras**

## Anexo 8. Reporte de turnitin

### ● 13% de similitud general

Principales fuentes encontradas en las siguientes bases de datos:

- 13% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 3% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

---

#### FUENTES PRINCIPALES

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	<b>repositorio.uwiener.edu.pe</b> Internet	3%
2	<b>hdl.handle.net</b> Internet	2%
3	<b>repositorio.unica.edu.pe</b> Internet	1%
4	<b>cybertesis.unmsm.edu.pe</b> Internet	<1%
5	<b>repositorio.upads.edu.pe</b> Internet	<1%
6	<b>pantheon.ufrj.br</b> Internet	<1%
7	<b>doku.pub</b> Internet	<1%
8	<b>repositorio.uigv.edu.pe</b> Internet	<1%