



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Cali

DESARROLLO DE UN MODELO PREDICTIVO BASADO EN *MACHINE LEARNING* PARA LA OPTIMIZACIÓN DE CURVAS DE CUANTIFICACIÓN EN TOXICOLOGÍA FORENSE

Integrantes

ANDREA MILENA BERNA REY
DIEGO ALEJANDRO FORERO LÓPEZ

Trabajo de Grado para optar al título de Magister en Ciencia de Datos

Director(a)

DANIEL ENRIQUE GONZÁLEZ GÓMEZ

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA CALI
FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS
MAESTRÍA EN CIENCIA DE DATOS
DICIEMBRE 22 DE 2025

**FICHA RESUMEN
TRABAJO DE GRADO DE MAESTRÍA**

TÍTULO: DESARROLLO DE UN MODELO PREDICTIVO BASADO EN *MACHINE LEARNING* PARA LA OPTIMIZACIÓN DE CURVAS DE CUANTIFICACIÓN EN TOXICOLOGÍA FORENSE

1. ÉNFASIS: N/A
2. TIPO DE PROYECTO: Aplicado
3. ÁREA DE TRABAJO: TOXICOLOGÍA FORENSE
4. ESTUDIANTE(S): ANDREA MILENA BERNA REY, DIEGO ALEJANDRO FORERO LÓPEZ
5. CORREO ELECTRÓNICO: andreabernal@javerianacali.edu.co, diegoforero@javerianacali.edu.co,
6. DIRECCIÓN Y TELEFONO: Calle 7ª # 12ª-51, 6019187020
7. DIRECTOR: DANIEL ENRIQUE GONZÁLEZ GÓMEZ
8. VINCULACIÓN DEL DIRECTOR (en la universidad): Planta
9. CORREO ELECTRÓNICO DEL DIRECTOR: dgonzalez@javerianacali.edu.co
10. CO-DIRECTOR (Si aplica): No aplica
11. GRUPO O EMPRESA QUE LO AVALA (Si aplica): No aplica
12. OTROS GRUPOS O EMPRESAS: No aplica
13. PALABRAS CLAVE (al menos 5): Toxicología Forense, Curvas de Calibración, Ciencia de Datos, Análisis Cuantitativo, Modelos estadísticos
14. ODS QUE APLICA EL PROYECTO (Agenda 2030): Paz, Justicia e Instituciones sólidas
15. FECHA DE INICIO (Desarrollo del proyecto): 1/12/2024
16. RESUMEN: (máximo 400 palabras). La toxicología forense desempeña un papel fundamental en la administración de justicia al proporcionar análisis cualitativos y cuantitativos de sustancias de interés toxicológico en muestras biológicas, como sangre, orina y tejidos. Estos análisis permiten determinar la causa de muerte, establecer niveles de intoxicación y evaluar correlaciones con comportamientos específicos. En el laboratorio del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses (TOXF-INMLCF), la generación de curvas de calibración es una etapa crítica, pero también altamente demandante en términos de tiempo y recursos, ya que se requieren curvas específicas para cada caso analizado. Para mitigar esta carga, el laboratorio ha implementado curvas de calibración multipropósito que permiten correlacionar concentraciones y factores de respuesta instrumental para sustancias frecuentes. No obstante, garantizar la validez y estabilidad de estas curvas exige herramientas avanzadas que optimicen su análisis. En este contexto, el *Machine Learning* emerge como una solución innovadora, permitiendo procesar grandes volúmenes de datos, identificar patrones complejos y generar modelos predictivos confiables que optimicen la cuantificación toxicológica. El presente trabajo tiene como objetivo implementar un modelo de *Machine Learning* que permita optimizar las curvas de cuantificación de analitos toxicológicos en sangre, asegurando precisión, reproducibilidad y consistencia en los análisis forenses. Esta investigación no solo busca mejorar la eficiencia operativa del laboratorio, sino también fortalecer la precisión de la evidencia forense presentada en procesos judiciales. Además, posicionará al laboratorio como un referente en la región, promoviendo enfoques científicos avanzados en toxicología forense. En conjunto, el proyecto responde a la necesidad de herramientas innovadoras para abordar desafíos complejos en el análisis toxicológico, contribuyendo al avance de la ciencia y la administración de justicia.

TABLA DE CONTENIDO

Contenido

TABLA DE CONTENIDO	3
LISTA DE FIGURAS	5
LISTA DE TABLAS.....	5
LISTA DE ANEXOS	6
INTRODUCCIÓN	9
1. CONTEXTUALIZACIÓN DEL PROYECTO	10
1.1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	10
1.1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	10
1.1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	11
1.2. OBJETIVOS DEL PROYECTO.....	11
1.2.1. OBJETIVO GENERAL	11
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
1.3. MARCO DE REFERENCIA.....	12
1.3.1. MARCO TEÓRICO	12
1.3.2. ANTECEDENTES.....	18
2. ANÁLISIS DE PARÁMETROS CUANTITATIVOS Y CONDICIONES EXPERIMENTALES DE ANALÍTOS TOXICOLÓGICOS EN SANGRE	22
2.1. Selección de analitos de interés toxicológico	23
2.2. Parámetros cuantitativos de interés toxicológico.	26
2.3. Consideraciones sobre las muestras y condiciones experimentales.....	31
2.4. Relevancia de los datos históricos para el modelado predictivo	34
3. ESTRATEGIAS DE PREPROCESAMIENTO DE DATOS EN EL ANÁLISIS TOXICOLÓGICO PARA MODELADO PREDICTIVO.	35
3.1. Caso ejemplo: Curva de cuantificación de trazodona.....	35
3.2. Descripción del analito y contexto de la curva	36
3.3. Carga y exploración inicial de los datos	37
3.3.1. Visualización y filtrado inicial de la curva de calibración.....	39
3.3.2. Evaluación del Estándar Interno.....	43
3.3.3. Evaluación de valores atípicos mediante la prueba de Grubbs.....	44
3.3.4. Análisis iterativo del coeficiente de determinación (R^2) para la definición del rango lineal.....	46

4.	OPTIMIZACIÓN DE CURVAS DE CUANTIFICACIÓN MEDIANTE TÉCNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO.	54
4.1.	Carga y preparación inicial de los datos.....	55
4.2.	División del conjunto de datos para entrenamiento y prueba	57
4.3.	Implementación de los Modelos de Aprendizaje Automático.....	58
4.3.1.	Modelo 1: Regresión Lineal (Linear Regression)	59
4.3.2.	Modelo 2: Random Forest Regressor	60
4.3.3.	Modelo 3: XGBoost Regressor	60
4.4.	Optimización de hiperparámetros de los modelos de aprendizaje automático	61
4.4.1.	Optimización de hiperparámetros del modelo Random Forest mediante validación cruzada ..	62
4.4.2.	Optimización de hiperparámetros del modelo XGBoost mediante validación cruzada.....	63
4.5.	Evaluación comparativa de los modelos de Machine Learning.	65
4.5.1.	Evaluación del desempeño de los modelos tras la aplicación del proceso de desescalado a la escala original	67
4.5.2.	Evaluación Predictiva de los Modelos usando controles de concentración conocida	69
4.6.	Evaluación de los Modelos tras la Incorporación de Diez Curvas de Calibración de Trazodona.	72
4.6.1.	Superposición de curvas limpias y comportamiento instrumental	72
4.6.2.	Representación log–log para las diez curvas de Trazodona	72
4.6.3.	Preparación del conjunto logarítmico para entrenamiento y prueba.....	73
4.6.4.	Desempeño de los modelos en escala log–log con diez curvas	74
4.6.5.	Relación entre valores reales y predichos	75
4.6.6.	Comparación gráfica del rendimiento global	77
4.6.7.	Evolución histórica de los modelos al incorporar curvas sucesivas	78
4.6.8.	Evaluación del desempeño de los modelos posterior al proceso de desescalado a la escala original tras la adición de diez curvas de Trazodona.....	79
4.6.9.	Evaluación Predictiva de los Modelos tras la adición de diez curvas de trazodona usando controles de concentración conocida	81
5.	CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS.....	83
	CONCLUSIONES.	83
	TRABAJOS FUTUROS.	85
6.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. Ciclo metodológico del proyecto de Machine Learning para curvas de cuantificación en toxicología forense.	22
Fig. 2. Curva de calibración y representación de la interpolación del valor X a partir de conocer el valor Y	27
Fig. 3. Curva de calibración de trazodona, graficando la concentración en el eje X vs el factor de respuesta Área de Trazodona/Área de Flurazepam (estándar interno) en el eje Y	40
Fig. 4. Visualización de la evaluación del estándar interno (flurazepam)	44
Fig. 5. Visualización del análisis iterativo de R^2 .	47
Fig. 6. Curva de calibración de trazodona graficando la concentración en el eje X vs el factor de respuesta Área de Trazodona/Área de Flurazepam (estándar interno) en el eje Y, con los datos después de ser depurados.	52
Fig. 7. Superposición de puntos de concentración vs respuesta instrumental para la curva 13/04/2025	55
Fig. 8. Transformación logarítmica de la curva de calibración del 13/04/2025 (\log_{10} Ratio_Area vs. \log_{10} Concentración).	56
Fig. 9. Relación entre valores reales y predichos utilizando el modelo de Regresión Lineal	65
Fig. 10. Relación entre valores reales y predichos utilizando el modelo Random Forest Regressor	65
Fig. 11. Relación entre valores reales y predichos utilizando el modelo XGBoost Regressor.	65
Fig. 12. Comparación de métricas de desempeño (R^2 y RMSE) entre modelos de regresión aplicados a la curva de cuantificación de Trazodona	66
Fig. 13. Comparación de las métricas de desempeño (R^2 y RMSE) entre modelos de regresión evaluados en la escala original de concentración (ng/mL) tras la adición de la primera curva de cuantificación de Trazodona.	68
Fig. 14. Superposición de las diez curvas limpias de Trazodona en unidades naturales (área vs. concentración)	72
Fig. 15. Curvas de calibración en escala log-log (\log_{10} (Ratio_Area) vs. \log_{10} (Exp_Conc)).	73
Fig. 16. Regresión Lineal – Valores reales vs. Predichos	75
Fig. 17. Random Forest – Valores reales vs. predichos	75
Fig. 18. XGBoost – Valores reales vs. predichos	76
Fig. 19. Comparación de R^2 y RMSE entre modelos (entrenamiento log-log).	77
Fig. 20. Comparación gráfica de R^2 y RMSE en escala original (ng/mL) tras la incorporación de diez curvas de Trazodona	79

LISTA DE TABLAS

TABLA I. Valores terapéuticos, tóxicos y letales reportados en la literatura para los analitos de interés toxicológico en sangre.	25
TABLA II. Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ) determinados para cada analito parte 1 en el equipo Cromatógrafo Agilent 6530B LC-Q-TOF en orina, sangre y sistema, expresados en concentración ng/mL de matriz.	29
TABLA III. Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ) determinados para cada analito parte 2 en el equipo Cromatógrafo Agilent 6530B LC-Q-TOF en orina, sangre y sistema, expresados en concentración ng/mL de matriz.	30
TABLA IV. Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ) determinados para cada analito parte 3 en el equipo Cromatógrafo Agilent 6530B LC-Q-TOF en orina, sangre y sistema, expresados en concentración ng/mL de matriz.	31
TABLA V. Distribución de Analitos por Grupo.	33
TABLA VI. Niveles de concentración en los que se realizaran las curvas de cuantificación	34
TABLA VII. Niveles de concentración en los que se realizaran las curvas de cuantificación de Trazodona	36
TABLA VIII. Data en formato .csv extraído de Masshunter para la curva de calibración de trazodona.	38
TABLA IX. Dataset final de Trazodona posterior al preprocesamiento y manejo de datos faltantes	42
TABLA X. Resultados obtenidos al evaluar los parámetros del estándar interno Flurazepam (ISTD).	43
TABLA XI. Resultados obtenidos para la prueba de Grubbs.	45

TABLA XII. Análisis iterativo de R^2 según nivel máximo incluido	48
TABLA XIII. Resultados obtenidos con el Filtro 1.....	50
TABLA XIV. Resultados obtenidos con el Filtro 2	51
TABLA XV. Vista previa de calibradores transformados a escala logarítmica para el entrenamiento del modelo	57
TABLA XVI. Distribución de los datos utilizados para entrenamiento y prueba en escala logarítmica	58
Tabla XVII. Espacio de búsqueda de hiperparámetros evaluado durante el proceso de optimización del modelo Random Forest.....	62
TABLA XVIII. Mejor configuración de hiperparámetros del modelo Random Forest determinada	63
TABLA XIX. Espacio de búsqueda de hiperparámetros evaluado para el modelo XGBoost.....	64
TABLA XX. Mejor configuración de hiperparámetros del modelo XGBoost determinada	64
TABLA XXI. Registro métricas de desempeño de los modelos de regresión.....	67
TABLA XXII. Registro de las métricas de desempeño (R^2 y RMSE en ng/mL) de los modelos de regresión desescalados tras la adición de la primera curva de cuantificación de Trazodona	69
Tabla XXIII. Resultados de los modelos para el control QC Bajo (50 ng/mL).....	70
TABLA XXIV. Resultados de los modelos para el control QC Medio (400 ng/mL)	71
TABLA XXV. Resultados de los modelos para el control QC Medio (2500 ng/mL)	71
TABLA XXVI. División de datos en entrenamiento y prueba para las diez curvas (escala log-log).....	73
TABLA XXVII. Métricas de desempeño de los modelos con diez curvas.....	74
TABLA XXVIII. Historial de métricas R^2 y RMSE para los tres modelos tras la adición de diez curvas de Trazodona.....	79
TABLA XXIX. Métricas de desempeño de los modelos en escala original (ng/mL) tras la incorporación de diez curvas de Trazodona.....	80
TABLA XXX. Evolución de las predicciones por modelo del QC Bajo (50 ng/mL) a través de diez curvas	81
TABLA XXXI. Evolución de las predicciones por modelo del QC Bajo (400 ng/mL) a través de diez curvas	82
TABLA XXXII. Evolución de las predicciones por modelo del QC Bajo (2500 ng/mL) a través de diez curvas	82

LISTA DE ANEXOS

APPENDIX A	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 13 DE ABRIL, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001
APPENDIX B	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 28 DE ABRIL, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001
APPENDIX C	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 5 DE MAYO, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001
APPENDIX D	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 28 DE MAYO, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001
APPENDIX E	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 18 DE JUNIO, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001
APPENDIX F	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 8 DE AGOSTO, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001
APPENDIX G	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 27 DE AGOSTO, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001
APPENDIX H	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 9 DE SEPTIEMBRE, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001

APPENDIX I	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 30 DE SEPTIEMBRE, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001
APPENDIX J	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 21 DE OCTUBRE, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001
APPENDIX K	CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250413
APPENDIX L	CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250428
APPENDIX M	CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250505
APPENDIX N	CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250528
APPENDIX O	CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250616
APPENDIX P	CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250806
APPENDIX Q	CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250827
APPENDIX R	CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250909
APPENDIX S	CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250930
APPENDIX T	CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20251021
APPENDIX U	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 13 DE ABRIL, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA
APPENDIX V	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 28 DE ABRIL, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA
APPENDIX W	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 5 MAYO, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA
APPENDIX X	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 28 MAYO, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA
APPENDIX Y	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 16 JUNIO, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA
APPENDIX Z	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 6 AGOSTO, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA
APPENDIX AA	DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 27 AGOSTO, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

- APPENDIX AB DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 9 DE SEPTIEMBRE, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA
- APPENDIX AC DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 30 DE SEPTIEMBRE, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA
- APPENDIX AD DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 21 DE OCTUBRE, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA
- APPENDIX AE CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO UNA CURVA DE CALIBRACIÓN
- APPENDIX AF CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO DOS CURVAS DE CALIBRACIÓN
- APPENDIX AG CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO TRES CURVAS DE CALIBRACIÓN
- APPENDIX AH CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO CUATRO CURVAS DE CALIBRACIÓN
- APPENDIX AI CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO CINCO CURVAS DE CALIBRACIÓN
- APPENDIX AJ CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO SEIS CURVAS DE CALIBRACIÓN
- APPENDIX AK CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO SIETE CURVAS DE CALIBRACIÓN
- APPENDIX AL CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO OCHO CURVAS DE CALIBRACIÓN
- APPENDIX AM CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO NUEVE CURVAS DE CALIBRACIÓN
- APPENDIX AN CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO DIEZ CURVAS DE CALIBRACIÓN
- APPENDIX AO VALORES TERAPÉUTICOS, TÓXICOS Y LETALES REPORTADOS EN LA LITERATURA PARA LOS ANALITOS DE INTERÉS TOXICOLÓGICO EN SANGRE

INTRODUCCIÓN

La toxicología forense, como disciplina fundamental en la administración de justicia, enfrenta retos constantes derivados de la diversidad y complejidad de los casos analizados [1]. La cuantificación precisa de sustancias toxicológicas en muestras biológicas, como sangre, es esencial para evaluar la causa de muerte, determinar niveles de intoxicación y correlacionar los efectos fisiológicos y comportamentales [2]. Estos procesos, realizados en laboratorios especializados como el Laboratorio de Toxicología Forense del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses (TOXF-INMLCF), requieren altos niveles técnicos y científicos para garantizar que los resultados sean confiables y reproducibles.

La generación de curvas de calibración para cuantificar analitos representa una etapa crítica en este contexto. Sin embargo, la necesidad de crear curvas específicas para cada caso supone una alta carga de trabajo y demanda significativa de recursos. Para abordar esta limitación, se han implementado estrategias como las curvas de calibración multipropósito, las cuales, aunque eficientes, deben ser evaluadas continuamente para asegurar su estabilidad y precisión. Aquí surge el potencial de la ciencia de datos, particularmente el *Machine Learning*, como una solución innovadora para optimizar estos procesos.

El *Machine Learning* se ha consolidado como una herramienta clave en las ciencias de la salud, destacándose por su capacidad para analizar grandes volúmenes de datos, identificar patrones complejos y generar modelos predictivos robustos [3]. En toxicología, estas técnicas han permitido avances significativos, como la identificación de biomarcadores, la predicción de efectos tóxicos y la evaluación de riesgos asociados a xenobióticos [4].

Este trabajo de grado tiene como propósito principal implementar un modelo de *Machine Learning* que optimice las curvas de cuantificación de analitos toxicológicos en muestras de sangre, asegurando reproducibilidad y precisión en los análisis realizados en el TOXF-INMLCF. Mediante la integración de técnicas avanzadas de ciencia de datos, se busca no solo fortalecer los procesos analíticos, sino también consolidar al laboratorio como un referente en el ámbito nacional e internacional, promoviendo enfoques innovadores y sostenibles que respondan a las demandas actuales de la justicia. Esta investigación, sustentada en un marco teórico sólido y antecedentes relevantes, se presenta como un aporte significativo al desarrollo científico y forense en nuestro país.

1. CONTEXTUALIZACIÓN DEL PROYECTO

1.1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

1.1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La toxicología forense desempeña un papel crucial en la administración de justicia al proporcionar información medicolegal mediante la determinación cualitativa y cuantitativa de sustancias de interés toxicológico en muestras biológicas como orina, sangre y tejidos [1]. Conocer las concentraciones en las que se encuentra una sustancia en las muestras provenientes de una persona, son esenciales para establecer la manera y causa de muerte, así como para evaluar la presencia de drogas, incluyendo alcohol, sustancias de abuso, venenos, medicamentos y xenobióticos en general [2]. La precisión en la cuantificación de estas sustancias resulta fundamental, ya que los resultados pueden esclarecer causas de fallecimiento, determinar el grado de intoxicación y establecer correlaciones con comportamientos específicos, como la capacidad para conducir o el nivel de conciencia de un individuo bajo el efecto de una sustancia [3]. En particular, determinar la concentración de un xenobiótico en sangre permite identificar el grado de exposición a este y predecir los posibles signos, síntomas o alteraciones fisiológicas y cognitivas que puede generar [4].

El TOXF-INMLCF, a través de la labor de profesionales en el área, realiza actividades periciales de carácter técnico-científicas que generan evidencia objetiva y validada científicamente. Esta evidencia se convierte en una herramienta indispensable para respaldar decisiones legales y contribuir a la impartición de justicia de manera imparcial, fortaleciendo la base científica en procesos judiciales y administrativos. En el TOXF-INMLCF donde se lleva a cabo este trabajo, se enfrentan desafíos significativos debido a la diversidad de analitos presentes en las muestras, lo que obliga a generar curvas de calibración específicas para cada caso. Este proceso, que implica crear una curva de calibración para cada combinación de analitos detectada, es altamente demandante en términos de tiempo y recursos. Para mitigar esta carga, el laboratorio ha implementado un enfoque que consiste en desarrollar curvas de calibración multipropósito que permiten correlacionar la concentración y el factor de respuesta instrumental, para las sustancias encontradas más frecuentes. Estas curvas se utilizan para interpolar los resultados de casos individuales, reduciendo la necesidad de generar nuevas curvas para cada análisis.

Para asegurar la validez y confiabilidad de este enfoque, es fundamental realizar un análisis exhaustivo de las curvas utilizando técnicas avanzadas de ciencia de datos para modelar y evaluar su capacidad para proporcionar resultados consistentes a lo largo del tiempo [5]. Esto implica desarrollar modelos predictivos basados en técnicas de *Machine Learning* que permitan identificar tendencias, detectar posibles desviaciones en los controles de calidad y evaluar la estabilidad de las curvas de calibración bajo diferentes condiciones a través de modelos entrenados que haciendo uso de datos históricos optimicen el análisis de grandes volúmenes de datos generados por el laboratorio, realicen el seguimiento de las tendencias de los controles, la estabilidad de las curvas de calibración y garanticen la generación de resultados consistentes y confiables, fundamentales para la aplicación forense.

La ciencia de datos, mediante el uso de técnicas computacionales avanzadas y algoritmos desarrollados específicamente, facilita la gestión y análisis de manera eficiente los grandes volúmenes de datos generados, mejorando el seguimiento de las curvas, los controles de calidad y la precisión de los resultados interpolados [6].

1.1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Lo anterior implica responder el siguiente interrogante: **¿Qué metodologías de *Machine Learning* pueden ser implementadas para optimizar las curvas de cuantificación de analitos toxicológicos en muestras de sangre, garantizando la reproducibilidad y precisión en los análisis de laboratorios de toxicología forense (TOXF-INMLCF)?**

PREGUNTAS DE SISTEMATIZACIÓN

- ¿Cómo recolectar y organizar la información sobre los analitos de interés toxicológico en sangre, considerando los parámetros cuantitativos, las características de las muestras y las condiciones experimentales previamente definidas?
- ¿Cómo aplicar técnicas de limpieza, normalización y codificación a los datos para garantizar su calidad y adecuación en el desarrollo de modelos de *Machine Learning*?
- ¿Cómo implementar un modelo de *Machine Learning*, garantizando reproducibilidad en el análisis de muestras de sangre?

1.2. OBJETIVOS DEL PROYECTO

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

Implementar un modelo de *Machine Learning* para optimizar las curvas de cuantificación de analitos toxicológicos en muestras de sangre, asegurando reproducibilidad y precisión en los análisis realizados en laboratorios de toxicología forense TOXF-INMLCF.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estructurar la información relevante sobre analitos de interés toxicológico en sangre, incluyendo parámetros cuantitativos, características de las muestras y condiciones experimentales previamente definidas.
- Procesar los datos mediante técnicas de limpieza, normalización y codificación, garantizando su calidad y adecuación para el desarrollo de modelos de *Machine Learning*.
- Implementar un modelo de *Machine Learning* basado en métricas de precisión, error de predicción y robustez, para generar curvas de cuantificación optimizadas y reproducibles en el análisis de muestras de sangre.

1.3. MARCO DE REFERENCIA

1.3.1. MARCO TEÓRICO

Importancia de la Toxicología Forense

La toxicología forense se define como “el estudio de la toxicología con fines legales y comprende no solo la identificación, sino también la cuantificación de un fármaco o sustancia en tejidos humanos, con el objetivo de interpretar los resultados de tales hallazgos” [3]. Asimismo, se ha señalado que “el análisis cuantitativo de una muestra puede ser significativamente más complejo que un análisis cualitativo simple, el cual solo informa al toxicólogo si un compuesto fue detectado o no en la muestra analizada” [4].

La cuantificación de sustancias adquiere relevancia dentro del ámbito medicolegal y la administración de justicia, ya que permite determinar la concentración de un xenobiótico en una muestra biológica y reportarla a la autoridad competente para su correlación e interpretación en el contexto de una investigación criminal en desarrollo.

El análisis cuantitativo implica la consideración de múltiples parámetros, como la selección de un estándar interno, la calibración, los controles de calidad, el límite de detección (LOD), el límite de cuantificación (LOQ), el rango de calibración, la exactitud y la precisión, entre otros. Estos requerimientos hacen que el proceso sea significativamente más complejo en comparación con un análisis cualitativo, lo que puede prolongar el tiempo necesario para obtener resultados. Esta demora puede representar un desafío para la administración de justicia, donde la celeridad en la obtención de resultados confiables es crucial.

Avances y Consolidación de la Toxicología Computacional

Debido a la creciente necesidad de obtener resultados cuantitativos confiables en períodos de tiempo reducidos, disciplinas científicas como la toxicología forense han comenzado a incorporar nuevas tecnologías. Esto ha dado lugar al desarrollo de una nueva rama conocida como toxicología computacional.

“Dado los avances recientes en la capacidad de cómputo, así como en el desarrollo de algoritmos computacionales avanzados, muchos toxicólogos están recurriendo a la informática para predecir efectos o resultados toxicológicos. Por lo tanto, la intersección entre la informática y la toxicología es denominada como Toxicología Computacional. Esta integra tanto los métodos computacionales de larga data como los enfoques más recientes, incluyendo redes neuronales (NNs) e inteligencia artificial (IA)” [7].

Ciencia de Datos y *Machine Learning* en Toxicología

La implementación de modelos predictivos mediante técnicas avanzadas de ciencia de datos en el ámbito de la toxicología ofrece a los científicos una herramienta poderosa para procesar una gran cantidad de datos generados en los laboratorios de investigación. Estas técnicas permiten obtener resultados con altos niveles de certidumbre en tiempos significativamente reducidos, optimizando así los procesos de análisis y toma de decisiones.

“A medida que los datos de toxicidad se acumulan y expanden en grandes dimensiones, las técnicas de minería de datos y Machine Learning provenientes de la informática y la estadística también se han vuelto populares para las predicciones de toxicidad química. En los últimos años, las tecnologías de cribado de alto rendimiento y las tecnologías ómicas han logrado avances importantes en el entendimiento de la toxicidad de los medicamentos” [8].

La ciencia de datos se define como “el conjunto de principios, definiciones de problemas, algoritmos y procesos para extraer patrones no obvios y útiles de grandes conjuntos de datos” [8]. Estas características han llevado a científicos y profesionales de la salud a utilizar las poderosas herramientas de la ciencia de datos en sus respectivos campos. “Los algoritmos de *Machine Learning* crean modelos a partir de datos y cada algoritmo está diseñado para crear modelos utilizando una representación particular (red neuronal, árbol de decisión u otro)” [6].

Definición y Características del Machine Learning

El *Machine Learning* puede entenderse como “una máquina que aprende siempre que modifica su estructura, su funcionamiento interno o los datos que utiliza, basándose en sus entradas o en respuesta a información externa, de tal manera que mejora su desempeño futuro esperado” [9]. En este mismo sentido, se describe como “los cambios en sistemas que realizan tareas asociadas con la inteligencia artificial (IA), tales como reconocimiento, diagnóstico, planificación, control de robots, predicción, entre otras” [9].

Asimismo, se señala que “El *Machine Learning*, un subconjunto de la inteligencia artificial, se diferencia de otros métodos estadísticos en que los algoritmos se desarrollan y mejoran posteriormente a través de los datos” [5].

Por esta razón, el aprendizaje automático o *Machine Learning*, se ha consolidado como una de las herramientas de ciencia de datos más utilizadas en las ciencias de la salud. Su aplicación ha sido exitosa en numerosos campos, como la medicina, el desarrollo de fármacos, la seguridad alimentaria, la química, la genómica, la metabolómica y la microbiología, entre muchos otros.

“La era actual del big data ha impulsado un aumento en el uso del Machine Learning, donde estos algoritmos pueden desplegar todo su potencial. Después de una limpieza rigurosa y robusta de datos, los enfoques de Machine Learning comienzan con la observación inicial de patrones en los datos, los cuales son aprendidos automáticamente por el algoritmo en lugar de ser introducidos manualmente por un humano” [9].

Aplicaciones de Modelos de Machine Learning en Toxicología

Cuando se aborda un problema de *Machine Learning*, es fundamental reconocer que la amplia variedad de algoritmos disponibles hace que la elección del modelo sea una etapa clave en el desarrollo del proceso. Esto también se aplica al ámbito de la toxicología, donde no existe un enfoque único capaz de resolver todos los problemas, lo que resalta la importancia de seleccionar cuidadosamente la metodología adecuada para cada caso específico. “Es esencial definir claramente el problema específico antes de seleccionar la herramienta de *Machine Learning* más adecuada” [7].

Los avances en las tecnologías computacionales y la creciente disponibilidad de datos han consolidado al *Machine Learning* como una herramienta clave en la toxicología computacional. Una vez se determina que esta herramienta es la estrategia más adecuada para abordar el problema de estudio, es posible observar cómo diversas técnicas de *Machine Learning* han permitido resolver y predecir eficientemente desafíos en la ciencia e investigación toxicológica, tales como estimar resultados toxicológicos, explorar relaciones entre la estructura química y la actividad biológica, y analizar grandes volúmenes de datos, entre otros.

En un problema de *Machine Learning*, el objetivo es desarrollar un modelo capaz de procesar datos de entrada, identificar patrones en ellos y a partir de esas características, realizar predicciones basadas en las propiedades detectadas. Por ejemplo, los árboles de decisión, un algoritmo simple de *Machine Learning* ampliamente usado, ha permitido en la toxicología “Dividir de manera recursiva conjunto de muestras en subconjuntos seleccionando las mejores variables independientes” [7].

El método *k-nearest neighbors* (kNN), es otro algoritmo del *Machine Learning* ampliamente usado en la toxicología y en diversas disciplinas de las ciencias de la salud dado que, permite predecir el valor de la variable dependiente de una muestra utilizando los valores de las variables dependientes de las muestras más cercanas, determinadas según la distancia con la muestra de estudio. Al respecto “El proceso de aprendizaje consiste en determinar el parámetro *k* utilizando un conjunto de entrenamiento. Como kNN emplea la distancia como criterio para seleccionar las muestras utilizadas en la predicción, el rendimiento del modelo está influenciado por la métrica de distancia elegida” [7].

Técnicas como el *random forest* se han empleado en toxicología para predecir resultados relacionados con la toxicidad hepática, utilizando datos metabolómicos derivados de Q/TOF-MS, demostrando su eficacia en la identificación de biomarcadores relevantes. *Random Forest* como “un método de aprendizaje de conjunto que utiliza un conjunto de árboles de decisión, cada uno entrenado en un subconjunto aleatorio de las características originales, combina las predicciones de múltiples árboles para mejorar la precisión y reducir el sobreajuste” [7].

Otros algoritmos de *Machine Learning* que presentan razonamientos matemáticos mucho más complejos han sido utilizados con éxito en investigaciones neurobiológicas para predecir el comportamiento de fármacos que actúan sobre el Sistema Nervioso Central y sus posibles efectos toxicológicos, tal es el caso de las redes neuronales artificiales (ANN).

“Las ANN son una arquitectura de Machine Learning que imita el sistema neuronal biológico. Un modelo ANN consta de tres capas: la capa de entrada (variables independientes), la capa oculta (neuronas) y la capa de salida (variable dependiente). Matemáticamente, las ANN aprenden a partir de muestras de entrenamiento para determinar los pesos que combinan los datos de entrada con las neuronas y las neuronas con la salida, utilizando una función de decisión. Este aprendizaje se lleva a cabo mediante estrategias de propagación directa (feed-forward) o retropropagación (backpropagation)” [7].

El *Support Vector Machine* (SVM) es un algoritmo de *Machine Learning* ampliamente utilizado para la construcción de modelos de clasificación y regresión. En este contexto, “en la creación de clasificadores, SVM busca un hiperplano que pueda separar los grupos positivos y negativos en un espacio de mayor dimensión, generado mediante el mapeo de un espacio de menor dimensión utilizando una función núcleo (*kernel*)” [7].

Para optimizar los modelos SVM, generalmente se emplean técnicas de normalización de datos y selección de parámetros y en la toxicología “Los modelos SVM construidos utilizaron datos combinados de descriptores estructurales químicos y datos de ensayos de alto rendimiento *in vitro* logrando una alta precisión en la predicción de hipertrofia hepática mediante validaciones cruzadas de pliegues, así como en modelos de predicción de toxicidad renal” [7].

En conclusión, el *Machine Learning* y sus diferentes algoritmos representan herramientas poderosas para la resolución de problemas en ciencias de la salud como la toxicología, con el potencial de transformar el análisis de datos. Su implementación es aún novedosa en este campo y puede enfrentar desafíos significativos, como la necesidad de grandes volúmenes de datos de alta calidad y grandes recursos computacionales, especialmente si se trata de técnicas complejas como las redes neuronales o las máquinas de soporte vectorial, pero eso no disminuye su importancia como un enfoque prometedor para abordar problemas complejos. A medida que se desarrollen algoritmos más eficientes y adaptados a conjuntos de datos pequeños, y que aumente la disponibilidad de datos toxicológicos de calidad, el *Machine Learning* podrá consolidarse como una herramienta esencial en la toxicología, facilitando análisis más precisos, rápidos y efectivos en beneficio de las ciencias de la salud y la humanidad.

Uso de Modelos de Machine Learning en la Determinación de Relaciones Dosis–Respuesta

Modelo lineal

El análisis dosis–respuesta es un componente esencial en estudios biomédicos, farmacológicos y toxicológicos, ya que permite describir cómo cambia una respuesta biológica en función de distintos niveles de exposición. Según Wong y Lachenbruch, esta relación puede representarse mediante modelos de regresión simples como el modelo lineal, que constituye la forma más básica y ampliamente utilizada para caracterizar el efecto proporcional entre dosis y respuesta. [10]

En su trabajo, los autores muestran que la regresión lineal sirve como punto de partida para evaluar si la relación entre la dosis y el efecto es aproximadamente proporcional, y además permite detectar desviaciones o curvaturas cuando se compara con modelos más complejos. En este sentido, el modelo lineal funciona no solo como herramienta descriptiva, sino como una referencia fundamental dentro del diseño y la evaluación de estudios dosis–respuesta.

Aunque técnicas modernas de *Machine Learning* permiten capturar relaciones no lineales más complejas, la regresión lineal sigue siendo un modelo valioso en este campo porque:

- Proporciona interpretabilidad, permitiendo relacionar directamente la magnitud del cambio en la respuesta con la dosis administrada.
- Es coherente con los modelos tradicionales descritos por Wong y Lachenbruch, quienes establecen la regresión lineal como base para evaluar parámetros clave y diagnosticar la forma de la relación dosis–respuesta.
- Funciona como *baseline* dentro del aprendizaje automático, permitiendo comparar su desempeño con modelos más avanzados y validar la presencia o ausencia de linealidad en los datos.

De esta forma, el uso de regresión lineal en un enfoque de Machine Learning no solo es válido, sino teóricamente sustentado por la literatura clásica en diseño de estudios dosis–respuesta. La obra de Wong y Lachenbruch ofrece el fundamento metodológico para entender por qué este modelo continúa siendo relevante: permite establecer la estructura básica de la relación dosis–respuesta y sirve como referencia frente a métodos más complejos. [10].

Random Forest

El desarrollo de fármacos enfrenta actualmente el reto de evaluar grandes cantidades de compuestos con una diversidad estructural cada vez mayor. Tal como señalan Lambev et al., la química combinatoria y el cribado de alto rendimiento han incrementado la necesidad de herramientas computacionales capaces de predecir características relevantes para el desarrollo farmacológico. [11].

Dentro de estas herramientas destacan los modelos de Machine Learning (ML), que permiten aprender patrones complejos a partir de grandes bases de datos químicas. Entre ellos, el algoritmo *Random Forest* (RF) ha demostrado ser especialmente robusto para tareas de clasificación y regresión relacionadas con propiedades moleculares, debido a su capacidad para manejar datos ruidosos, relaciones no lineales y espacios de alta dimensionalidad. El artículo muestra, por ejemplo, cómo RF puede predecir con alta precisión el número de violaciones de reglas de *drug-likeness* (como *Lipinski*, *Muegge* o *bRo5*) en péptidos, alcanzando métricas cercanas al 1.0 en exactitud, sensibilidad y precisión. [11].

El principio de funcionamiento de *Random Forest* se basa en el uso de múltiples árboles de decisión entrenados sobre subconjuntos aleatorios de datos y características. Este enfoque de ensamble reduce el riesgo de sobreajuste, aumenta la estabilidad del modelo y mejora su capacidad de generalizar frente a moléculas nuevas. Mediante de árboles de decisión, el modelo particiona recursivamente los descriptores moleculares para emitir predicciones confiables incluso en moléculas grandes y complejas. [11].

La aplicación del aprendizaje automático en la evaluación de propiedades fisicoquímicas representa un avance importante frente a los enfoques tradicionales basados en reglas rígidas. Aunque reglas como *Lipinski* o *Muegge* se fundamentan en umbrales deterministas, Lambev et al. destacan que los modelos ML son capaces de capturar interacciones no lineales entre descriptores y detectar patrones que van más allá de los límites fijos de cada regla. Esto les permite predecir el comportamiento molecular incluso en compuestos que desafían los paradigmas clásicos, como los péptidos de gran tamaño. [11].

En conjunto, la literatura revisada evidencia que los modelos de *Machine Learning* y en particular *Random Forest*, constituyen herramientas altamente útiles para el análisis y predicción de propiedades relevantes en química y biomedicina, pudiendo integrarse en flujos de trabajo para la selección temprana de compuestos, evaluación de biodisponibilidad y priorización de candidatos farmacológicos. [11].

XGBoost

El análisis dosis–respuesta es un componente fundamental en la investigación médica, farmacológica y toxicológica. Tal como indican Redelmeier y Zipursky [12], estas relaciones permiten evaluar cómo varía la intensidad de un resultado clínico conforme cambia el nivel de exposición a un tratamiento, intervención o factor de riesgo. Las relaciones dosis–respuesta constituyen uno de los criterios clásicos para inferir causalidad en medicina y epidemiología.

Sin embargo, enfatiza que los estudios observacionales presentan múltiples dificultades técnicas y conceptuales para analizar estas relaciones, incluyendo confusión por severidad de enfermedad, rangos de dosis mal seleccionados, errores de medición y formas funcionales no lineales [12]. Por ejemplo, los autores advierten que muchas relaciones dosis–respuesta no siguen patrones lineales simples, sino curvas sigmoides, U-invertidas o relaciones complejas, lo que hace inadecuado asumir automáticamente modelos lineales clásicos.

Estas limitaciones en los métodos tradicionales abren la puerta al uso de modelos de *Machine Learning* (ML), especialmente para el análisis de exposiciones y respuestas con comportamientos no lineales. Asumir linealidad puede producir interpretaciones erróneas, dado que los sistemas biológicos suelen presentar respuestas con aceleración en rangos medios y saturación a altas dosis. Modelos ML como *Random Forest*, *XGBoost* o regresiones no paramétricas permiten capturar estas dinámicas sin imponer una forma funcional rígida. [12]

Asimismo, los autores destacan que el análisis dosis–respuesta debe enfrentar errores en la medición del predictor, datos faltantes y sesgos observacionales, situaciones donde los algoritmos de ML, mediante técnicas de ensamble, validación cruzada y manejo robusto del ruido, suelen tener mejor desempeño que los modelos estadísticos convencionales.

En conjunto, la evidencia muestra que estudiar relaciones dosis–respuesta requiere métodos capaces de manejar:

- No linealidad
- Complejidad biológica
- Múltiples predictores
- Variabilidad en la exposición
- Sesgos inherentes a datos clínicos reales.

Estas características coinciden directamente con las capacidades de varios algoritmos de *Machine Learning*, que ofrecen modelos flexibles, robustos y menos dependientes de supuestos estrictos de distribución o linealidad. Por ello, el uso de ML no solo es compatible con las recomendaciones ya mencionadas, sino que representa una evolución natural en el análisis moderno de relaciones dosis–respuesta. [12]

El análisis de dosis–respuesta constituye un proceso fundamental en los ensayos biológicos cuantitativos y en la evaluación de efectos farmacológicos. Según Jarantow *et al.* [13], los bioensayos cuantitativos emplean habitualmente regresión lineal o no lineal para modelar la relación entre una variable independiente (dosis) y una variable dependiente (respuesta), permitiendo estimar la potencia relativa de compuestos y comparar perfiles de actividad biológica. En estos ensayos, la regresión proporciona un modelo computacional frente al cual se contrastan los datos experimentales, ofreciendo parámetros estadísticos que permiten evaluar el ajuste del modelo y predecir resultados desconocidos.

El documento enfatiza que, debido a la complejidad de los sistemas biológicos, los datos rara vez siguen relaciones estrictamente lineales. La regresión no lineal se emplea con frecuencia porque “los datos biológicos rara vez se adhieren a una relación lineal” [13], porque permite ajustar funciones que representan mejor comportamiento curvilíneo propios de muchas respuestas biológicas. Sin embargo, la regresión lineal continúa siendo útil para determinar incógnitas y evaluar rangos de linealidad, especialmente cuando se

busca interpretar resultados bajo modelos simples. [13].

Estos fundamentos metodológicos se alinean estrechamente con el uso de modelos contemporáneos de *Machine Learning* (ML). Los algoritmos de ML incluyendo regresión lineal regularizada, modelos basados en árboles, ensambles y métodos no paramétricos extienden las capacidades del análisis tradicional al permitir la captura de relaciones complejas sin imponer supuestos estrictos sobre la forma funcional. La forma de la curva dosis–respuesta puede ser lineal, hiperbólica, sigmoideal o incluir umbrales; por ello, ajustar únicamente un modelo lineal puede resultar inapropiado cuando existen curvaturas evidentes en los datos. [13].

Las técnicas de ML permiten manejar estas variaciones de forma robusta, incorporando múltiples predictores, corrigiendo sesgos por ruido experimental y optimizando el ajuste mediante validación cruzada. Su capacidad para aproximar funciones arbitrarias concuerda con seleccionar el modelo “más simple que describe adecuadamente los datos”, pero sin descartar relaciones no lineales cuando los patrones observados lo exigen. [13]

En conjunto, como indica Jarantow *et al.* [13], el uso de modelos de ML para la determinación de relaciones dosis–respuesta ofrece herramientas flexibles, capaces de modelar comportamientos no lineales, mejorar la precisión de estimaciones y adaptarse a la complejidad inherente de los sistemas biológicos. Estos enfoques representan una extensión natural del análisis de regresión tradicional y facilitan una caracterización más precisa de la relación entre un estímulo (dosis) y un efecto biológico (respuesta).

1.3.2. ANTECEDENTES

Si bien, no se han encontrado investigaciones que utilicen técnicas de ciencias de datos específicamente para curvas de cuantificación en toxicología forense, se observan numerosos estudios que aplican tecnologías avanzadas de ciencia de datos y *Machine Learning* en otras áreas dentro de la toxicología forense y las ciencias forenses en general. Estos avances demuestran el potencial de estas herramientas para mejorar los procesos analíticos, aumentar la precisión en la identificación de sustancias y proporcionar nuevas soluciones para la resolución de casos complejos en este campo.

En el ámbito de las ciencias forenses, una investigación publicada en 2024 en la *Revista Española de Medicina Legal* exploró el impacto de la inteligencia artificial (IA) en esta disciplina. Dicho estudio tuvo como objetivo analizar cómo la IA puede transformar áreas clave como toxicología forense, predicción de riesgo en psiquiatría forense, análisis biomecánico, identificación biométrica y diagnóstico médico legal. Para ello, se utilizaron herramientas avanzadas de aprendizaje profundo y minería de datos, permitiendo identificar patrones, optimizar procesos y mejorar la toma de decisiones en casos complejos. Los resultados evidencian el potencial de la IA para redefinir categorías diagnósticas y abordar problemas complejos de manera más eficiente, resaltando la importancia de principios éticos y de transparencia en su adopción [14].

Siguiendo en esta línea, en 2024, un equipo de investigadores de instituciones polacas, como el Instituto de Ciencias Médicas de la Universidad de Rzeszów y el Instituto de Peritajes Médicos en Łódź, llevó a cabo un estudio innovador sobre la toxicidad del compuesto psicoactivo 4-Methylmethylphenidate (4-Mmph), categorizado como una nueva sustancia psicoactiva (NPS). El objetivo principal del proyecto fue evaluar, mediante métodos *in silico*, los parámetros toxicológicos clave de esta sustancia, tales como toxicidad aguda (LD50), genotoxicidad, cardiotoxicidad, potencial de irritación ocular y dérmica, así como posibles alteraciones en el sistema endocrino. Para ello, se emplearon herramientas avanzadas de ciencia de datos y *Machine Learning*, como ADMETlab 3.0, que aplica redes neuronales gráficas con mecanismos de atención,

y ProTox 3.0, que utiliza algoritmos de *Machine Learning* basados en similitud molecular y fragmentación. También se utilizó STopTox, que emplea algoritmos de *Random Forest* para estimar toxicidad. Los resultados destacaron un riesgo significativo de toxicidad aguda y cardiotoxicidad, moderado potencial genotóxico, y un bajo riesgo de interacción con receptores endocrinos. Estos hallazgos constituyen una contribución clave para la toxicología clínica y forense, además de ofrecer bases para la regulación de sustancias psicoactivas emergentes [15].

Por otro lado, una investigación realizada en 2022 en el Departamento de Medicina Forense y Toxicología del All India Institute of Medical Sciences (AIIMS), Rishikesh, India, exploró la aplicación de tecnologías de inteligencia artificial (IA) y *Machine Learning* (ML) para la estimación del intervalo *postmortem* (PMI). El objetivo del estudio fue evaluar el desempeño de modelos de ML en la predicción del PMI, abordando las limitaciones de los métodos tradicionales basados en cambios físicos, químicos y microbiológicos en los cuerpos. La investigación se basó en técnicas como *Random Forest*, máquinas de soporte vectorial (SVM) y redes neuronales artificiales (ANN), aplicadas tanto a estudios preclínicos como clínicos. Los resultados mostraron que los modelos de ML lograron una alta precisión en la estimación del PMI, destacando un error promedio de ± 3 horas en ciertos casos y una capacidad de predicción superior al 90 % en escenarios específicos, demostrando su potencial como herramienta confiable para reducir sesgos humanos en investigaciones forenses [16].

En línea con esta tendencia, en 2024, investigadores de varias instituciones en China, incluyendo el *Shanghai Key Lab of Forensic Medicine* y la *Nanjing Medical University*, desarrollaron un innovador enfoque para la detección de sustancias de la clase del fentanilo mediante la tecnología de Espectroscopía Raman Mejorada en Superficie (SERS) y *deep learning*. El objetivo del estudio fue diseñar un sensor basado en papel tratado con nanopartículas de plata y oro (*Ag@Au NPs-paper*) para la identificación precisa y en tiempo real de estas sustancias, muchas de las cuales representan un riesgo significativo para la salud pública. En este proyecto, se utilizó *deep learning* para clasificar espectros Raman, alcanzando altos niveles de precisión en la identificación de fentanilo y sus análogos, incluso en muestras complejas como mezclas binarias. Los resultados demostraron la capacidad del sensor para detectar concentraciones tan bajas como 10–15 mol/L, lo que evidencia su utilidad en aplicaciones de toxicología forense y otras áreas relacionadas con la seguridad y la salud [17].

Además, una de las investigaciones relevantes en el ámbito de la detección de sustancias psicoactivas emergentes es el estudio realizado en Taiwán y publicado en 2024 por Yeh et al. en la revista *Forensic Science International*. Este trabajo tuvo como objetivo principal desarrollar una estrategia dual para diferenciar isómeros de catinonas sintéticas, específicamente α -PHP y α -PiHP, en muestras de orina. La metodología combinó experimentos metabólicos *in vitro* utilizando microsomas hepáticos humanos con técnicas de espectrometría de masas de alta resolución y modelos de *Machine Learning*. Se implementaron herramientas de análisis de componentes principales (PCA) y regresión logística para clasificar compuestos y metabolitos, alcanzando una precisión del 100 % en la diferenciación de estas sustancias en muestras reales. Los resultados demostraron la eficacia del enfoque para superar los desafíos en la identificación de isómeros en matrices biológicas complejas, proponiendo un modelo robusto y preciso aplicable a casos prácticos [18].

Asimismo, en 2024, un grupo de investigadores del Núcleo de Toxicología Forense en Brasil desarrolló un modelo de relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR) para predecir concentraciones letales en sangre de nuevas sustancias psicoactivas (NPS). El proyecto, publicado en *Emerging Trends in Drugs, Addictions, and Health*, tuvo como objetivo fortalecer la interpretación forense de casos de intoxicación por NPS mediante

la estimación de concentraciones letales en sangre (LBC). Utilizando herramientas avanzadas de ciencia de datos, como algoritmos de regresión lineal y redes neuronales multicapa, el modelo logró métricas satisfactorias, con coeficientes de correlación superiores a 0.8 y errores absolutos promedio de aproximadamente 0.6. Los resultados incluyen el desarrollo de una aplicación web basada en Python para facilitar la predicción de LBC, lo que representa una innovación significativa en toxicología forense al abordar las limitaciones de datos humanos disponibles [19].

En 2022, un equipo de investigadores de la Universidad Nacional de Seúl, Corea del Sur, publicó un proyecto innovador en la revista *npj Digital Medicine*. El objetivo principal de este trabajo fue desarrollar un modelo predictivo basado en *Machine Learning* para estimar cuantitativamente las interacciones fármaco-fármaco (DDIs) a partir de información contenida en etiquetas de medicamentos aprobadas por la FDA. La investigación empleó técnicas avanzadas de ciencia de datos, incluyendo modelos de árboles de decisión basados en "*bagging*" (agregación por *bootstrap*), para predecir los cambios en los parámetros farmacocinéticos (PK) de los fármacos, particularmente el área bajo la curva de concentración-tiempo (AUC). Los resultados mostraron que el modelo logró una precisión significativa, prediciendo cambios en el AUC con un error cuadrático medio (RMSE) de 0.5959 y demostrando una fiabilidad del 94.76% en el intervalo de predicción de 0.5 a 2 veces el cambio del AUC. Este avance representa una herramienta útil para identificar interacciones potenciales antes de los ensayos clínicos, optimizando así tiempo y costos [20].

En la investigación realizada en 2020, en el Instituto de Medicina Forense de la Universidad de Zúrich, Suiza, se exploró una innovadora aproximación para manejar grandes volúmenes de datos producidos por espectrometría de masas de alta resolución con adquisición independiente de datos (HRMS-DIA). El objetivo principal del proyecto fue desarrollar un sistema basado en redes neuronales artificiales (ANN) para clasificar muestras, distinguiendo entre aquellas que contenían drogas de abuso y las que no. Para ello, se emplearon herramientas avanzadas de ciencia de datos como KNIME, *Keras* con *TensorFlow* y un programa personalizado en Python, evaluando la sensibilidad y especificidad del modelo en diferentes conjuntos de datos. Los resultados mostraron que la aproximación basada en ANN era altamente eficaz, logrando valores adecuados de sensibilidad y especificidad para su implementación potencial en laboratorios de rutina, como en pruebas toxicológicas en el lugar de trabajo [21].

Un estudio reciente realizado en la Universidad Médica de Shanxi, China, y publicado en 2024, desarrolló un modelo basado en *Machine Learning* para estimar los intervalos de tiempo posteriores al consumo de ketamina en ratas [22]. El objetivo principal fue determinar los cambios metabólicos temporales inducidos por la ketamina a través de análisis metabólicos en suero, utilizando cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (UPLC-Q-TOF-MS). Con los datos obtenidos, se empleó un modelo de *Random Forest* para clasificar muestras según el tiempo transcurrido después de la administración de ketamina, alcanzando una precisión del 85.37% en la validación cruzada y del 58.33% en un conjunto de validación independiente. Los resultados ofrecen un enfoque innovador para la inferencia de tiempos de consumo de drogas, con aplicaciones en toxicología forense y rehabilitación.

En 2020, se realizó un estudio en la Universidad de Tübingen, Alemania, con el objetivo de evaluar la viabilidad de cuantificar con precisión y fiabilidad la glucosa en muestras de sangre entera humana utilizando un espectrómetro de resonancia magnética nuclear (NMR) de baja intensidad de campo de 1 tesla (1 T). Este trabajo exploró el potencial de estos espectrómetros portátiles para ofrecer análisis no invasivos en entornos clínicos. Se emplearon herramientas avanzadas de ciencia de datos, como regresión mediante soporte vectorial (SVM) y proyección ortogonal a estructuras latentes (OPLS), para procesar los datos

espectroscópicos y correlacionar los resultados con métodos de laboratorio convencionales. El modelo basado en SVM alcanzó un error cuadrático medio (RMSE) de 7.90 mg/dL, con el 91.5% de las muestras dentro del rango aceptable definido por las guías médicas alemanas, destacando así la viabilidad de la técnica propuesta [23].

En un estudio publicado en 2022 en el *Journal of Controlled Release*, se exploró la aplicación de técnicas de *Machine Learning* para la predicción y análisis de datos farmacocinéticos. El objetivo del proyecto fue superar las limitaciones de los modelos mecanicistas tradicionales, que pierden información debido a la simplificación conceptual, mediante la incorporación de modelos de *deep learning*, redes neuronales convolucionales, redes recurrentes y técnicas avanzadas como redes generativas antagónicas (GANs). Las herramientas utilizadas incluyeron *frameworks* de *deep learning* como TensorFlow y PyTorch, junto con algoritmos de aprendizaje supervisado y no supervisado. Los resultados demostraron que las técnicas de *Machine Learning*, especialmente los modelos de redes neuronales, ofrecieron un rendimiento predictivo superior en comparación con los modelos lineales convencionales, abriendo nuevas posibilidades para abordar problemas complejos en la farmacocinética, como la variabilidad interindividual y los perfiles farmacocinéticos no lineales [24].

En la investigación presentada en la Universidad de Toronto, publicada en 2020, se exploraron los avances en el análisis de datos de adquisición independiente (DIA) en espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida (LC-MS/MS). El objetivo principal del proyecto fue abordar la creciente complejidad de los datos generados en proteómica mediante el desarrollo de métodos basados en *Deep learning* (DL). La investigación destacó cómo las redes neuronales profundas (DNNs) superan a los métodos tradicionales en tareas críticas como la identificación de picos y el análisis estadístico en *pipelines* de DIA. Como resultado, el trabajo reportó mejoras significativas, hasta un 200% en el rendimiento, en comparación con métodos tradicionales, marcando un avance sustancial hacia *pipelines* de análisis de datos completamente automatizados y diferenciables [25].

En conclusión, es evidente que el uso de la ciencia de datos en disciplinas científicas como la toxicología forense y otras ciencias forenses está en constante expansión. Los modelos de *Machine Learning* y otras herramientas de ciencia de datos presentados en las investigaciones anteriores pueden servir como ejemplos valiosos para desarrollar un modelo específico en el ámbito de las curvas de cuantificación en toxicología forense, abriendo nuevas posibilidades para mejorar la precisión y eficiencia de los análisis toxicológicos en este campo.

2. ANÁLISIS DE PARÁMETROS CUANTITATIVOS Y CONDICIONES EXPERIMENTALES DE ANALÍTOS TOXICOLÓGICOS EN SANGRE

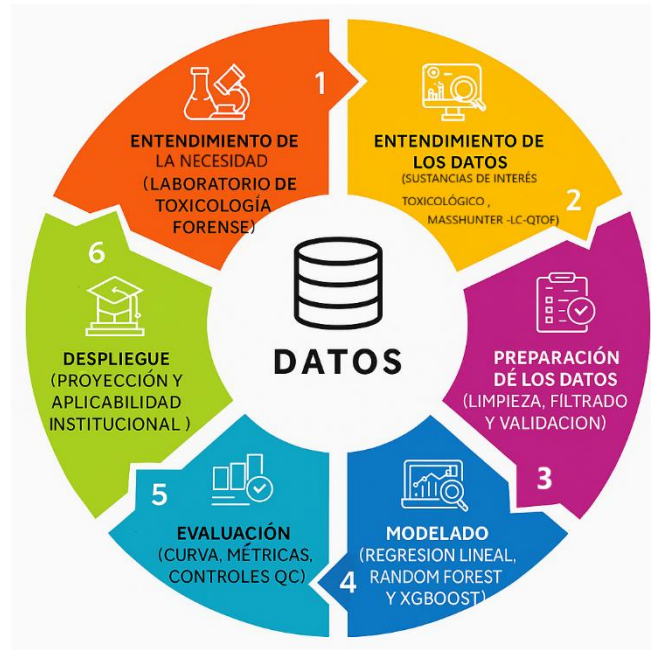


Fig. 1. Ciclo metodológico del proyecto de Machine Learning para curvas de cuantificación en toxicología forense.

El desarrollo metodológico de esta investigación se estructuró siguiendo el ciclo analítico representado en la Fig. 1., el cual adapta los principios del proceso de ciencia de datos al contexto operativo del Laboratorio de Toxicología Forense. Este esquema permite visualizar, de manera integrada, las etapas que guiaron todo el proyecto: desde la identificación de la necesidad institucional y la comprensión de los datos generados por el sistema LC-QTOF/MassHunter, hasta la preparación, depuración y validación de las curvas de calibración empleadas como base del modelado. Posteriormente, se incorporó la fase de construcción de modelos predictivos (Regresión Lineal, *Random Forest* y *XGBoost*), seguida de una evaluación rigurosa basada en métricas estadísticas y controles de calidad (QC). Finalmente, se contempla la etapa de despliegue, orientada a proyectar la aplicabilidad institucional del sistema desarrollado y su potencial integración en los flujos rutinarios del laboratorio.

La Fig. 1. Resume de forma coherente y sistemática la ruta analítica aplicada para modernizar la construcción y evaluación de curvas de cuantificación mediante técnicas de aprendizaje automático.

2.1. Selección de analitos de interés toxicológico

Como punto de partida para el desarrollo del modelo predictivo, se realizó una revisión exhaustiva de todos los analitos que han sido objeto de cuantificación en el TOXF-INMLCF a lo largo de su historia operativa. Esta revisión incluyó tanto sustancias de interés actual como compuestos que, aunque no se encuentran en uso frecuente en la actualidad, han sido relevantes en casos previos y mantienen importancia desde la perspectiva forense.

A partir de este inventario inicial, se construyó una matriz comparativa que incluyó, para cada sustancia, parámetros como: concentraciones terapéuticas, tóxicas y letales reportadas en la literatura científica; naturaleza del compuesto (fármaco, metabolito, droga de abuso o adulterante); y condiciones de preparación de las soluciones estándar empleadas en el laboratorio (matriz utilizada, fecha de elaboración, estabilidad reportada, entre otros). Esta estrategia permitió obtener una visión amplia del espectro de analitos potencialmente relevantes y establecer criterios de inclusión basados en su relevancia toxicológica y factibilidad analítica.

El proceso de selección se fundamentó en la correlación entre la evidencia bibliográfica disponible y la experiencia acumulada en casos reales. Por ello, se priorizaron aquellos analitos con un respaldo sólido en la literatura, especialmente en lo referente a rangos de concentración asociados a efectos terapéuticos, tóxicos y letales. Esta información resultó esencial para el diseño de curvas de cuantificación robustas, que posteriormente alimentan el modelo de validación automatizada propuesto en esta investigación.

Las concentraciones en sangre reportadas en la literatura para cada sustancia de interés toxicológico varían ampliamente y funcionan como valores de referencia indispensables para la interpretación pericial. Cada sustancia posee un rango específico de concentración en el cual ejerce su efecto fisiológico esperado, conocido como rango terapéutico o concentración efectiva. Valores por debajo de este rango suelen generar efectos mínimos o imperceptibles, mientras que concentraciones superiores pueden producir manifestaciones tóxicas y, si continúan en aumento, alcanzar niveles potencialmente letales.

Esta clasificación, comúnmente empleada en toxicología clínica y forense, permite contextualizar los hallazgos analíticos con base en el efecto esperado o reportado de la sustancia en el organismo humano:

- Las concentraciones terapéuticas corresponden a los niveles sanguíneos habituales durante el uso clínico aprobado del fármaco o sustancia, bajo prescripción y con fines terapéuticos.
- Las concentraciones tóxicas indican niveles que pueden producir efectos adversos o reacciones indeseables en el organismo.
- Las concentraciones letales se asocian a eventos de sobredosis con desenlace fatal o potencialmente fatal, documentadas en estudios clínicos, forenses o experimentales.

En toxicología forense, determinar cuantitativamente una sustancia en sangre y comparar dicho resultado con los rangos terapéuticos, tóxicos o letales; permite interpretar de manera objetiva las posibles manifestaciones clínicas al momento de la toma de la muestra en personas vivas, o inferir los efectos que la sustancia pudo haber ocasionado antes del fallecimiento en casos post mórtem. El conocimiento de estos valores de referencia resulta fundamental para sustentar conclusiones técnico-científicas y aportar elementos objetivos a la reconstrucción de los hechos.

La TABLA I. presenta los rangos de concentración terapéuticos, tóxicos y letales de quince sustancias que se identifican con frecuencia en el TOXF-INMLCF. De manera complementaria, en el APPENDIX AO, se proporciona un listado ampliado de sustancias de interés toxicológico con sus respectivos rangos de referencia, los cuales sirven de apoyo para los procesos de cuantificación implementados en el laboratorio. Estos valores fueron construidos a partir de una revisión de lo reportado en la literatura científica y de la consolidación de múltiples referencias especializadas.

TABLA I. Valores terapéuticos, tóxicos y letales reportados en la literatura para los analitos de interés toxicológico en sangre. [26].

Analito	Concentración Terapéutica reportada	Concentración Tóxica reportada	Concentración Letal reportada	Referencia	Concentración inicio terapéutica (ng/mL)	Concentración Fin terapéutica (ng/mL)	Concentración Inicio tóxica (ng/mL)	Concentración letal (ng/mL)
ACETAMINOFÉN	5–26 mg/L	30–300 mg/L	160–1280 mg/L	handbook	5000	26000	30000	1000000
ALPRAZOLAM	0.002–0.07 mg/L	0.04–0.6 mg/L	0.13–2.1 mg/L	handbook	2	70	40	130
CAFEINA	2–15 mg/L	15–50 mg/L	79–1040 mg/L	handbook	2000	15000	15000	79000
CLONAZEPAM	0.004–0.08 mg/L	0.1–0.6 mg/L	0.68–1.4 mg/L	handbook	4	80	100	680
COCAINA	0.1–0.3 mg/L	0.1–5 mg/L	0.1–330 mg/L	handbook	100	300	100	100
CODEINA	0.03–0.4 mg/L	0.5–1 mg/L	1–48 mg/L	handbook	30	400	500	1000
FENTANIL	0.0003–0.01 mg/L	0.003–0.02 mg/L	0.003–0.21 mg/L	handbook	0.3	10	3	3
KETAMINA	1–6.3 mg/L	1–6.3 mg/L	1.5–38 mg/L	handbook	1000	1000	1500	38000
LSD	0.001–0.005 mg/L	0.001–0.03 mg/L	0.005–0.01 mg/L	handbook	1	5	1	5
MORFINA	0.001–0.2 mg/L	0.3–2.5 mg/L	0.2–7.2 mg/L	handbook	1	200	300	200
QUETIAPINA	0.04–0.6 mg/L	1.8–13 mg/L	4–21 mg/L	handbook	40	600	1800	4000
SILDENAFIL	0.05–0.9 mg/L	0.05–0.9 mg/L	6.3 mg/L	handbook	50	50	900	6300
TRAMADOL	0.1–0.8 mg/L	1–24 mg/L	1.3–20 mg/L	handbook	100	800	1000	1300
TRAZODONA	0.5–1.6 mg/L	1.5–26 mg/L	5–25 mg/L	handbook	500	1600	1500	5000
ZOLPIDEM	0.08–0.2 mg/L	0.12–0.7 mg/L	1.6–7.7 mg/L	handbook	80	200	120	1600

2.2. Parámetros cuantitativos de interés toxicológico.

Las concentraciones de referencia recopiladas para cada analito fueron clasificadas en tres categorías principales: terapéutica, tóxica y letal. Como se pudo observar (APPEDIX AO), en algunos casos, particularmente en metabolitos o nuevas sustancias psicoactivas, no fue posible identificar rangos completos para estas tres categorías. Aun así, se incluyeron dichos analitos en la matriz comparativa por su relevancia forense o su alta frecuencia de aparición en casos reales.

En toxicología forense se trabaja con muestras de sangre cuya concentración de una sustancia desconocida debe determinarse. Para lograrlo, primero se construye lo que se llama curva de calibración. Esta curva se obtiene usando sangre similar a la de los casos reales, pero que no contiene la sustancia que se desea medir. Por lo general, se usa sangre donada que se venció en el banco de sangre y no pudo emplearse para transfusión.

A esta sangre limpia se le agregan cantidades conocidas de la sustancia que se quiere medir. Así se preparan varias muestras, cada una con una concentración diferente y esto se hace mínimo por triplicado. Luego, cada una de las muestras preparadas adicionando la sustancia, se analiza en el equipo (En el TOXF-INMLCF, corresponde a un Cromatógrafo Líquido con Cuadrupolo y tiempo de vuelo LC-QTOF) y se registra la respuesta del instrumento, que normalmente es el área de un pico en el cromatograma. Con estos datos se construye la curva:

- X: concentración conocida agregada
- Y: respuesta del instrumento (área)

Como es de esperar, cuando la concentración aumenta, la respuesta del equipo también aumenta, y por eso la relación suele ser directamente proporcional.

En el laboratorio siempre existen fuentes de error: variaciones del equipo, pequeñas diferencias en el manejo de la muestra, cambios en temperatura, etc. Para reducir estos errores se usa un estándar interno (ISTD), que es simplemente otra sustancia que se agrega a todas las muestras (incluyendo calibradores, controles y casos) siempre en la misma cantidad. Esto permite monitorear y corregir variaciones y hace que la medición sea más estable. Por eso, la curva final no se construye con el área instrumental que da como respuesta una sustancia, sino con la relación entre el área de la sustancia de interés (RESP) y el área del estándar interno (ISTD).

Una vez construida la curva de calibración, se analiza la muestra de sangre del caso real bajo las mismas condiciones. Se mide la relación de áreas y, usando la curva, se determina la concentración de esa sustancia en la sangre, interpolando la respuesta de la muestra con la curva construida y deduciendo la concentración. Aunque cada sustancia se mide de forma independiente, es importante recordar que en un caso forense puede haber muchas sustancias presentes al mismo tiempo, por lo tanto, es necesario determinar la concentración individualmente para cada una de las sustancias encontradas.

En la Fig. 2 se representa una curva de calibración, la cual constituye una herramienta fundamental para la cuantificación de sustancias en muestras biológicas. Esta curva se construye a partir de muestras de sangre preparadas de manera controlada, a las que se les adicionan concentraciones conocidas de la sustancia de interés, expresadas en ng/mL.

En el TOXF-INMLCF Cada uno de estos niveles de concentración es analizado instrumentalmente mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (LC-QTOF), obteniéndose como respuesta analítica la relación entre el área de la sustancia y el área del estándar interno (Área sustancia/Área E.I.). Para garantizar la precisión y reproducibilidad del método, cada nivel de concentración se analiza al menos en tres réplicas, lo que permite generar varias curvas cercanas entre sí y evaluar la variabilidad del sistema analítico.

La relación entre la concentración conocida (eje X) y la respuesta instrumental (eje Y) permite construir la curva de calibración. Una vez establecida, esta curva se utiliza para la cuantificación de muestras problema, como las correspondientes a un caso forense. Dichas muestras se procesan bajo las mismas condiciones analíticas y su respuesta instrumental se interpola sobre la curva de calibración, tal como se ilustra en la figura, permitiendo estimar la concentración de la sustancia presente en la muestra.

Adicionalmente, la validez de la curva de calibración se controla de forma continua mediante el análisis de muestras control, que corresponden a muestras de concentración conocida preparadas y analizadas simultáneamente con las muestras del caso. Este procedimiento asegura la confiabilidad de los resultados y el adecuado desempeño del método durante el proceso de cuantificación.

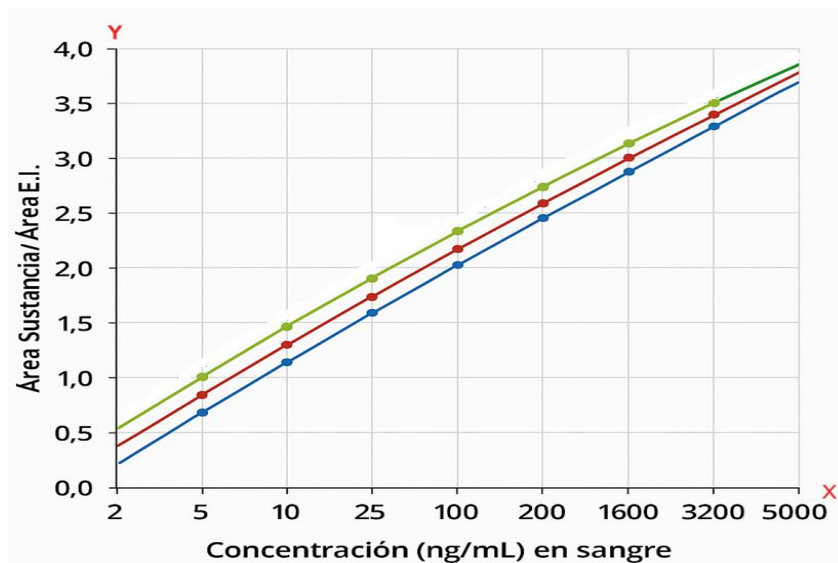


Fig. 2. Curva de calibración y representación de la interpolación del valor X a partir de conocer el valor Y

Además, se consideraron dos parámetros fundamentales en el contexto analítico: el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ). Estos parámetros permiten contextualizar los hallazgos dentro de las capacidades técnicas del laboratorio y garantizan la confiabilidad de los resultados reportados.

El LOD corresponde a la concentración mínima de un analito que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada con exactitud, mientras que el LOQ representa la concentración mínima a partir de la cual una sustancia puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables.

Estos valores son estimados durante los procesos de validación metodológica, y su cálculo se fundamenta en la relación señal/ruido, la variabilidad observada en muestras de baja concentración y la respuesta del sistema analítico. Los valores de LOD y LOQ varían entre analitos, dependiendo de su comportamiento cromatográfico, muestra biológica de análisis, y la configuración instrumental empleada.

Dado el alto número de sustancias considerados en el estudio de validación, la determinación de los límites de detección y cuantificación se llevó a cabo agrupando las sustancias en tres conjuntos. Esta estrategia permitió optimizar el uso de recursos y asegurar que la caracterización analítica de cada grupo cumpliera con los criterios de calidad establecidos, respetando las condiciones específicas requeridas por cada tipo de analito.

La consideración de estos límites es esencial para la interpretación adecuada de resultados especialmente en los casos en los que las concentraciones observadas se encuentran cerca de estos umbrales, así como para garantizar la trazabilidad y reproducibilidad de las curvas de cuantificación.

Conocer los LOD y LOQ es fundamental, porque no tendría sentido definir rangos de concentración relevantes para una sustancia si, en la práctica, los niveles mínimos que el método puede detectar o medir están por encima de las concentraciones que realmente importan desde el punto de vista toxicológico.

A continuación, se presentan los valores estimados de LOD y LOQ determinados por el laboratorio (TABLAS II, III y IV) para las sustancias incluidas en este estudio. Estos valores hacen parte de la caracterización analítica del conjunto seleccionado y permiten documentar la capacidad real del método para detectar y cuantificar cada compuesto. Es importante tenerlos en cuenta al diseñar las concentraciones de la curva de calibración, especialmente los niveles bajos, los cuales siempre deben ubicarse por encima de estos límites.

TABLA II. Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ) determinados para cada analito parte 1 en el equipo Cromatógrafo Agilent 6530B LC-Q-TOF en orina, sangre y sistema, expresados en concentración ng/mL de matriz.

Analitos	Orina LOD (ng/mL)	Orina LOQ (ng/mL)	Sangre LOD (ng/mL)	Sangre LOQ (ng/mL)	Sistema LOD (ng/mL)	Sistema LOQ (ng/mL)
6-acetilmorfina	5.0	15.0	5.0	15.0	0.5	1.5
Atropina	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
bk-MDEA (etilona)	5.0	15.0	5.0	15.0	1.0	3.0
Carbamazepina	5.0	15.0	2.5	7.5	1.0	3.0
Cocaetileno	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
Desipramina	5.0	15.0	5.0	15.0	5.0	15.0
DOC/2,5-Dimetoxi-4-cloroanfetamina	10.0	30.0	5.0	15.0	5.0	15.0
DOI	5.0	15.0	5.0	15.0	1.0	3.0
Ecgonina metil éster	10.0	30.0	5.0	15.0	1.0	3.0
Fentanilo	2.5	7.5	2.5	7.5	2.5	7.5
Haloperidol	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Ketamina	5.0	15.0	5.0	15.0	1.0	3.0
MBDB/ Metilbenzodioxolibutanamina	5.0	15.0	2.5	7.5	1.0	3.0
Midazolam	5.0	15.0	2.5	7.5	1.0	3.0
Norketamina (N-desmetil ketamina)	5.0	15.0	5.0	15.0	1.0	3.0
Nortriptilina	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Risperidona	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Sertralina	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Sildenafil	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Zopicilona	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5

TABLA III. Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ) determinados para cada analito parte 2 en el equipo Cromatógrafo Agilent 6530B LC-Q-TOF en orina, sangre y sistema, expresados en concentración ng/mL de matriz.

Analitos	Orina LOD (ng/mL)	Orina LOQ (ng/mL)	Sangre LOD (ng/mL)	Sangre LOQ (ng/mL)	Sistema LOD (ng/mL)	Sistema LOQ (ng/mL)
25B-NBOMe	10.0	30.0	2.5	7.5	2.5	7.5
25C-NBOMe	10.0	30.0	2.5	7.5	2.5	7.5
25B-(BDMPEA)	10.0	30.0	5.0	15.0	2.5	7.5
7-Aminoflunitrazepam	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Amitriptilina	5.0	15.0	2.5	7.5	1.0	3.0
Benzoilecgonona	10.0	30.0	2.5	7.5	2.5	7.5
Clorpromazina (torazina)	5.0	15.0	2.5	7.5	1.0	3.0
Clozapina	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Codeína	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
DOB/ Dimetoxibromoanfetamina	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Imipramina	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Levomepromazina	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
MDEA (MDE)	5.0	15.0	5.0	15.0	1.0	3.0
Morfina	10.0	30.0	2.5	7.5	2.5	7.5
Olanzapina	10.0	30.0	5.0	15.0	5.0	15.0
PMMA /p- metoximatanfetamina	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Procaína (novocaína)	5.0	15.0	5.0	15.0	2.5	7.5
Tioridazina	5.0	15.0	5.0	15.0	1.0	3.0
Tramadol	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
Trazodona	2.5	7.5	2.5	7.5	2.5	7.5
Zolpidem	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
Alfa-hidroxitriazolam	10.0	30.0	5.0	15.0	2.5	7.5

TABLA IV. Límite de detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ) determinados para cada analito parte 3 en el equipo Cromatógrafo Agilent 6530B LC-Q-TOF en orina, sangre y sistema, expresados en concentración ng/mL de matriz.

Analitos	Orina LOD (ng/mL)	Orina LOQ (ng/mL)	Sangre LOD (ng/mL)	Sangre LOQ (ng/mL)	Sistema LOD (ng/mL)	Sistema LOQ (ng/mL)
AM-2201	2.5	7.5	2.5	7.5	2.5	7.5
Bromo Dragon FLY	2.5	7.5	2.5	7.5	2.5	7.5
Cocaína	2.5	7.5	2.5	7.5	2.5	7.5
Diazepam	2.5	7.5	2.5	7.5	2.5	7.5
Fenacetina	2.5	7.5	2.5	7.5	2.5	7.5
Flinitrazepam	2.5	7.5	2.5	7.5	2.5	7.5
Harmalina	5.0	15.0	2.5	7.5	1.0	3.0
Harmina	2.5	7.5	2.5	7.5	2.5	7.5
JWH-019	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
JWH-122	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
JWH-200 (WIN-55225)	5.0	15.0	2.5	7.5	1.0	3.0
JWH-250	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
Meperidina	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
Metadona	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
N,N-DMT/N,N-dimetiltriptamina	5.0	15.0	2.5	7.5	1.0	3.0
Naloxona	5.0	15.0	2.5	7.5	1.0	3.0
Naltrexona	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
Nordiazepam	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
Oxicodona	5.0	15.0	2.5	7.5	2.5	7.5
Oximorfona	5.0	15.0	2.5	7.5	1.0	3.0
Quetiapina	2.5	7.5	2.5	7.5	1.0	3.0

2.3. Consideraciones sobre las muestras y condiciones experimentales

Las condiciones experimentales asociadas a la preparación de soluciones de referencia fueron otro aspecto esencial en este análisis. Se tuvo en cuenta la disponibilidad de material estándar, la forma de presentación (sólido, ampolla, mezcla), la fecha de preparación y la estabilidad esperada según literatura y experiencia del laboratorio. Esta información fue especialmente útil para identificar analitos cuyo control interno puede estar comprometido por la antigüedad del reactivo, por deterioro de la matriz o por ausencia de estándares comerciales.

Las condiciones experimentales asociadas a la preparación de soluciones de referencia constituyeron un componente crítico en el análisis de viabilidad analítica de los distintos analitos considerados en este estudio. Para cada sustancia se revisaron aspectos clave como:

- La disponibilidad de material de referencia (pureza certificada o soluciones comerciales),
- El tipo de presentación disponible (sólido, ampolla, mezcla o estándar interno),
- La fecha de preparación y su correspondencia con la vigencia de uso en el laboratorio,
- La estabilidad estimada de la solución ya sea documentada en la literatura o respaldada por la experiencia operativa.

Esta caracterización permitió identificar posibles limitaciones en el control de calidad interno, ya sea por la antigüedad del reactivo, su degradación, o la imposibilidad de adquirir estándares comerciales actualizados. Tales limitaciones tienen un impacto directo sobre la capacidad del laboratorio para garantizar resultados confiables y reproducibles, especialmente en la generación de curvas de calibración utilizadas para la cuantificación de los analitos en matriz biológica.

Para la preparación y validación de estas curvas de calibración, el laboratorio emplea tecnología de punta basada en espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida (LC-QTOF). Actualmente se dispone de los siguientes equipos:

- Cromatógrafo líquido acoplado a espectrómetro de masas en tándem, marca Agilent, modelo 1200 INFINITY/G6530B.
- Cromatógrafo líquido acoplado a espectrómetro de masas en tándem, marca Agilent, modelo 1260 INFINITY II/G6550B.

Estas plataformas permiten una alta sensibilidad y especificidad en la detección y cuantificación de sustancias en matrices biológicas complejas como sangre, orina o contenido gástrico. Además, su integración con software especializado para la generación de curvas y análisis de calidad facilita la estandarización de procedimientos y el aseguramiento metrológico de los resultados.

Con base en la revisión sistemática de los parámetros toxicológicos de interés (concentraciones terapéuticas, tóxicas y letales), así como en la evaluación de los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) establecidos por el laboratorio, se procedió a seleccionar los analitos que serán incluidos en el modelo final de cuantificación. Esta selección se fundamentó en criterios técnicos, toxicológicos y operativos, buscando maximizar la relevancia clínica y forense de los resultados obtenidos, al tiempo que se garantiza la viabilidad de su análisis dentro de las capacidades instrumentales del laboratorio.

Los analitos seleccionados fueron organizados en cuatro grupos principales (TABLA V), con base en su comportamiento analítico, frecuencia de aparición en casos reales y compatibilidad con las condiciones cromatográficas utilizadas. Esta agrupación responde tanto a criterios técnicos como logísticos, facilitando la implementación de métodos multicomponente sin comprometer la resolución o sensibilidad analítica.

TABLA V .Distribución de Analitos por Grupo.

Grupo A		Grupo B		Grupo C		Grupo D	
A.1	3,4-MDMA	B.1	Sertralina	C.1	Mirtazapina	D.1	Cotina
	Alprazolam		Clozapina		Paracetamol		Anfetamina
	Bromazepam		Tramadol		Metoclopramida		Metoprolol
	Clonazepam		Risperidona		Zopiclona		Propranolol
	Haloperidol		MDA		Trazodona		Midazolam
	Hidromorfona		Benzoilecgonina		Quetiapina		Fentanilo
			Zolpidem		Lorazepam		Oxicodona
					Imipramina		
		Carbamazepina					
A.2	Cocaine	B.2	Amitriptilina	C.2	Lidocaína	D.2	Hidroxicina
	Levomepromazina		Ketamina		Fenitoína		Oximorfona
	Lorazepam		Hidrocodona		Sildenafil		6-MAM
	Metadona		Fluoxetina		Citalopram		Olanzapina
	Metanfetamina		Haloperidol		Levetiracetam		Codeína
	Morfina		Fenacetina		Verapamilo		Nortriptilina
	Trifluoperazina		Levamisol		Desipramina		Difenhidramina

Una vez definidos los analitos, se estableció la estrategia para la construcción de las curvas de calibración correspondientes. Estas curvas se desarrollaron empleando estándares preparados en matriz biológica enriquecida (sangre humana libre de drogas, fármacos y/o medicamentos), en rangos de concentración que abarcan desde los niveles terapéuticos hasta concentraciones tóxicas y letales, incluyendo puntos intermedios que permitan garantizar la linealidad y precisión del método. Cada curva estará compuesta por un máximo de 14 niveles de calibración dependiendo del grupo (TABLA VI), preparados y analizados por triplicado, siguiendo las directrices del laboratorio y los lineamientos establecidos para la validación de métodos analíticos en toxicología forense.

TABLA VI. Niveles de concentración en los que se realizaron las curvas de cuantificación

Nivel	Concentración en sangre (ng/mL)	CONCENTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN PARA DOPAR CON 100 μ L (ng/mL)	CONCENTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN PARA DOPAR CON 100 μ L (μ g/mL)	Volumen a tomar de la solución anterior (μ L)	Volumen final de la concentración (μ L)
1	2	40	0.04	2000	5000
2	5	100	0.10	2500	5000
3	10	200	0.20	2000	5000
4	25	500	0.50	2500	5000
5	50	1000	1.00	2500	5000
6	100	2000	2.00	2500	5000
7	200	4000	4.00	2500	5000
8	400	8000	8.00	2500	5000
9	800	16000	16.0	3000	4500
10	1200	24000	24.0	3300	4400
11	1600	32000	32.0	2500	5000
12	3200	64000	64.0	3200	5000
13	5000	100000	100	2500	5000
14	10000	200000	200	1000	5000

2.4. Relevancia de los datos históricos para el modelado predictivo

La consolidación de este panorama analítico-histórico permite identificar patrones de uso, rotación y deterioro de materiales, así como documentar la frecuencia y persistencia de determinados analitos en las rutinas analíticas del laboratorio. Estos datos, una vez estructurados, constituyen la base de entrenamiento y validación del modelo predictivo propuesto en esta investigación.

De este modo, el abordaje inicial no solo permite caracterizar los analitos desde una perspectiva técnica y cuantitativa, sino que también contribuye al aseguramiento de calidad en la práctica toxicológica, al facilitar la detección temprana de posibles desviaciones y la optimización del uso de recursos en la preparación de soluciones estándar.

3. ESTRATEGIAS DE PREPROCESAMIENTO DE DATOS EN EL ANÁLISIS TOXICOLÓGICO PARA MODELADO PREDICTIVO.

El preprocesamiento de los datos constituye una etapa crítica en la construcción de modelos de *Machine Learning*, especialmente en contextos de análisis cuantitativo en toxicología forense, donde la calidad, coherencia y adecuación de los datos impacta directamente la capacidad predictiva de los modelos.

Los datos obtenidos en el laboratorio, como las curvas de cuantificación generadas a través de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas, presentan características inherentes que requieren un tratamiento cuidadoso. Es frecuente encontrar niveles de calibración que no cumplen criterios de calidad, respuestas instrumentales afectadas por saturación del detector, o puntos que no se ajustan a la tendencia lineal esperada. Si estos puntos no se identifican y tratan adecuadamente, introducirían sesgos en los modelos de *Machine Learning* desarrollados a partir de dichos datos.

En este capítulo se describen las estrategias de limpieza, normalización y codificación implementadas para garantizar la calidad de las curvas de cuantificación antes de su uso en modelado predictivo. Se presenta un enfoque sistemático basado en un flujo de procesamiento en Python, diseñado para ser reproducible y escalable a múltiples analitos y curvas.

Como ejemplo representativo, se expone detalladamente el proceso aplicado a la curva de cuantificación de trazodona, perteneciente al Grupo C1 (TABLA V). A partir de este caso, se muestra paso a paso cómo se implementaron los distintos bloques de código, cuáles fueron los criterios aplicados en cada etapa, y qué resultados se obtuvieron.

El flujo diseñado permite automatizar la limpieza de las curvas, garantizar la eliminación justificada de niveles no confiables y generar un conjunto de datos final apto para su integración en modelos de aprendizaje automático.

3.1. Caso ejemplo: Curva de cuantificación de trazodona

La trazodona es un antidepresivo ampliamente utilizado, cuya determinación cuantitativa en matrices biológicas como sangre reviste importancia clínica y forense. El comportamiento analítico de la trazodona es particularmente interesante para este estudio dado que, su respuesta instrumental muestra ciertas características típicas de las curvas reales: saturación en niveles altos, posibles desviaciones en los niveles bajos y variabilidad intermedia, lo cual lo convierte en un ejemplo idóneo para demostrar la utilidad del flujo de limpieza y validación de curvas.

En este caso, la curva experimental se procesó con un total de 11 niveles teóricos de calibración, aunque, como se mostrará en las siguientes secciones, no todos los 12 niveles utilizados (TABLA VII) resultaron adecuados para ser conservados en el rango lineal final.

A lo largo de esta sección, se presentará de forma detallada el procesamiento de la curva de trazodona, aplicando cada uno de los bloques de código del flujo desarrollado, con el objetivo de demostrar cómo este enfoque permite garantizar la calidad y adecuación de los datos para su posterior uso en modelado predictivo.

TABLA VII. Niveles de concentración en los que se realizaron las curvas de cuantificación de Trazodona

Nivel	Concentración en sangre (ng/mL)	CONCENTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN PARA DOPAR CON 100 μ L (ng/mL)	CONCENTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN PARA DOPAR CON 100 μ L (μ g/mL)	Volumen a tomar de la solución anterior (μ L)	Volumen final de la concentración (μ L)
1	10	200	0.20	2000	5000
2	25	500	0.50	2500	5000
3	50	1000	1.00	2500	5000
4	100	2000	2.00	2500	5000
5	200	4000	4.00	2500	5000
6	400	8000	8.00	2500	5000
7	800	16000	16.0	3000	4500
8	1200	24000	24.0	3300	4400
9	1600	32000	32.0	2500	5000
10	3200	64000	64.0	3200	5000
11	5000	100000	100	2500	5000

3.2. Descripción del analito y contexto de la curva

La cuantificación precisa de trazodona se realiza mediante técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas, generando curvas de calibración que permiten establecer la relación entre la concentración nominal del analito y la respuesta instrumental obtenida. No obstante, como ocurre con muchos compuestos en la práctica analítica real, la respuesta de trazodona a través del rango de concentraciones puede presentar comportamientos no ideales, tales como saturación del detector en niveles altos o pérdida de linealidad en los niveles extremos.

En este estudio, la curva de cuantificación correspondiente a la trazodona fue diseñada inicialmente con un total de 11 niveles teóricos de calibración, asociados a las siguientes concentraciones nominales: 10, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1200, 1600, 3200 y 5000 ng/mL (TABLA VII). No obstante, como parte del proceso de limpieza y validación de los datos, se identificaron ciertos niveles que no cumplían con los criterios establecidos para su inclusión en el rango final de la curva.

Mediante la aplicación del flujo sistemático de preprocesamiento desarrollado, se evaluó de manera exhaustiva el comportamiento de cada nivel de la curva, con el fin de determinar un rango lineal confiable y estadísticamente robusto. En este caso específico, los niveles 1, 8, 9, 10 y 11 fueron excluidos tras el análisis, resultando en un rango final válido comprendido entre los niveles 2 y 7.

El procesamiento de esta curva se presenta a continuación como un ejemplo detallado del flujo de limpieza implementado, con el propósito de ilustrar cómo las estrategias de preprocesamiento contribuyen a garantizar la calidad y la integridad de los datos que serán empleados posteriormente en el desarrollo de modelos de aprendizaje automático.

3.3. Carga y exploración inicial de los datos

El procesamiento de las curvas de calibración se inició con la construcción de un entorno de trabajo en Python (Google Colab), en el cual se organizaron una serie de bloques destinados a la importación, exploración y validación preliminar de los datos experimentales. Antes de aplicar cualquier método de preprocesamiento, fue necesario asegurar que la información proveniente del software *MassHunter Quantitative Analysis* se cargara correctamente y mantuviera la estructura esperada.

En un primer bloque de código (ver APPENDIX K) se importaron las librerías fundamentales para el manejo de datos, análisis numérico y visualización. Esta preparación proporciona las herramientas necesarias para operar con archivos tabulares, transformar variables y ejecutar posteriormente los algoritmos de regresión.

Posteriormente, en el segundo bloque (ver APPENDIX K), se implementó un mecanismo de carga interactiva que permite seleccionar directamente el archivo .csv correspondiente a la curva de calibración que se desea procesar. Cada archivo es exportado previamente desde MassHunter e incluye la información cruda generada por el instrumento: niveles de calibración, respuestas del analito (RESP) y del estándar interno (ISTD), entre otros parámetros. Este procedimiento garantiza que el análisis comience siempre con los datos originales, sin modificaciones previas y en un formato homogéneo para todos los ensayos.

Una vez cargado el archivo, se realiza una exploración inicial que permite verificar la presencia de las columnas esperadas, el tamaño del conjunto de datos, la existencia de valores faltantes y posibles inconsistencias derivadas de la adquisición instrumental. Esta evaluación preliminar es fundamental para asegurar la integridad del *dataset* (TABLA VIII) antes de aplicar las siguientes etapas de limpieza, transformación y modelado.

La Tabla VIII es un ejemplo representativo del dataset correspondiente a una curva de calibración, en el cual se ilustran los datos generados tras el análisis instrumental y posteriormente exportados en formato .csv. Estos datos constituyen la entrada primaria del flujo de trabajo analítico, previo a las etapas de preprocesamiento, limpieza y modelado mediante técnicas de aprendizaje automático.

En dicha tabla se observa la estructura típica de una curva de calibración bioanalítica, conformada por mediciones obtenidas a diferentes niveles de concentración nominal del analito, junto con sus respectivas réplicas experimentales. Este conjunto de datos refleja la relación entre la respuesta instrumental y la concentración analítica, y corresponde a la información a la que se hace referencia a lo largo del presente trabajo cuando se menciona una curva de calibración.

La inclusión de esta tabla permite contextualizar el origen y la naturaleza de los datos empleados en el desarrollo de los modelos predictivos, evidenciando el carácter experimental de la información y su posterior adecuación para ser utilizada en procesos de modelado, validación y evaluación del desempeño analítico.

TABLA VIII. Data en formato .csv extraído de Masshunter para la curva de calibración de trazodona.

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone Method		Trazodone Results			Flurazepam (ISTD) Results				
					Exp. Conc.	RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy RT	Resp.		
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	4/13/2025 12:25		10	5.882	455636	FALSE	155.5032	155.5032	1555	8.127	3067939
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	4/13/2025 16:57		10	5.901	199071	FALSE	177.1697	177.1697	1771.7	8.127	1176484
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	4/13/2025 21:30		10	5.845	414932	FALSE	165.9222	165.9222	1659.2	8.124	2618430
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	4/13/2025 12:42		25	5.883	820208	FALSE	340.7733	340.7733	1363.1	8.142	2520152
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	4/13/2025 17:14		25	5.894	1275844	FALSE	356.1615	356.1615	1424.6	8.097	3750758
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	4/13/2025 21:47		25	5.912	1135415	FALSE	333.1431	333.1431	1332.6	8.114	3568553
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	4/13/2025 12:59		50	5.919	1881419	FALSE	584.6576	584.6576	1169.3	8.151	3369397
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	4/13/2025 17:32		50	5.878	2314256	FALSE	602.5023	602.5023	1205	8.141	4021805
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	4/13/2025 22:04		50	5.905	1350110	FALSE	584.2478	584.2478	1168.5	8.105	2419582
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	4/13/2025 13:16		100	5.919	2825577	FALSE	993.1467	993.1467	993.1	8.135	2978942
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	4/13/2025 17:49		100	5.859	3030067	FALSE	1115.7503	1115.7503	1115.8	8.108	2843502
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	4/13/2025 22:21		100	5.87	4329591	FALSE	1003.1385	1003.1385	1003.1	8.095	4519124
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	4/13/2025 13:33		200	5.907	5729646	FALSE	1729.4884	1729.4884	864.7	8.103	3468793
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	4/13/2025 18:06		200	5.866	6807102	FALSE	1687.3398	1687.3398	843.7	8.144	4224040
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	4/13/2025 22:39		200	5.922	7631120	FALSE	1524.2244	1524.2244	762.1	8.095	5242129
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	4/13/2025 13:50		400	5.891	10637090	FALSE	2702.5744	2702.5744	675.6	8.116	4121103
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	4/13/2025 18:23		400	5.857	14087450	FALSE	2962.5964	2962.5964	740.6	8.129	4978840
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	4/13/2025 22:56		400	5.877	12876584	FALSE	3057.3263	3057.3263	764.3	8.094	4409884
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	4/13/2025 14:07		800	5.853	19580198	FALSE	4734.5524	4734.5524	591.8	8.093	4330185
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	4/13/2025 18:40		800	5.888	19047506	FALSE	4647.564	4647.564	580.9	8.109	4291223
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	4/13/2025 23:13		800	5.857	23264403	FALSE	4725.9319	4725.9319	590.7	8.119	5154336
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	4/13/2025 14:24		1200	5.873	20375828	FALSE	6716.9429	6716.9429	559.7	8.147	3176230
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	4/13/2025 18:57		1200	5.892	19698173	FALSE	7510.3335	7510.3335	625.9	8.163	2746218
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	4/13/2025 23:30		1200	5.837	32162774	FALSE	6066.9602	6066.9602	505.6	8.092	5550737
N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	4/13/2025 14:41		1600	5.895	40087822	FALSE	7634.3988	7634.3988	477.1	8.13	5498015
N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	4/13/2025 19:14		1600	5.845	37830807	FALSE	7817.1998	7817.1998	488.6	8.083	5067138
N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	4/13/2025 23:47		1600	5.83	42473308	FALSE	7315.1541	7315.1541	457.2	8.12	6079403
N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	4/13/2025 14:58		3200	5.871	49020972	FALSE	12784.8812	12784.8812	399.5	8.089	4014704
N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	4/13/2025 19:31		3200	5.815	61815410	FALSE	11772.0049	11772.0049	367.9	8.09	5498125
N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	4/14/2025 0:04		3200	5.857	56996199	FALSE	11903.8303	11903.8303	372	8.097	5013344
N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	4/13/2025 15:15		5000	5.801	76233879	FALSE	15742.4464	15742.4464	314.8	8.09	5070422
N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	4/13/2025 19:48		5000	5.828	76715244	FALSE	15048.8386	15048.8386	301	8.065	5337612
N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	4/14/2025 0:21		5000	5.795	83796289	FALSE	14508.1588	14508.1588	290.2	8.067	6047568
N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	4/13/2025 15:32		10000	6.116	9725	FALSE	2.3238	2.3238	0	8.108	4381638
N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	4/13/2025 20:05		10000	6.583	54203	FALSE	9.4169	9.4169	0.1	8.092	6026722
N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	4/14/2025 0:38		10000	5.227	10296	FALSE	1.6708	1.6708	0	8.111	6451876

Una vez cargado el archivo seleccionado, su contenido es leído dentro de un *DataFrame* de pandas para permitir su posterior manipulación y análisis. Debido a que los archivos generados por *MassHunter Quantitative Analysis* por defecto presentan la fila de encabezados en la segunda línea del documento, se ajusta este parámetro en el proceso de lectura para garantizar que los nombres de las columnas sean importados correctamente.

Posteriormente, se aplica una rutina de estandarización de nombres de columnas, cuyo propósito es eliminar espacios, caracteres especiales y cualquier variación que pudiera dificultar la manipulación programática del *dataset*. Este paso resulta clave para asegurar consistencia y evitar errores durante las etapas siguientes, en las que se requiere acceder de manera precisa a columnas específicas.

Como medida adicional de verificación, se implementa una visualización preliminar del archivo original para corroborar que la estructura del documento haya sido interpretada adecuadamente. Para ello, el archivo se lee nuevamente sin especificar cabecera (*header=None*) y se muestran las primeras cinco filas en un *DataFrame* auxiliar. Esta comprobación permite evaluar rápidamente si los datos fueron alineados correctamente, si los encabezados coinciden con lo esperado y si las columnas esenciales como: *Name*, *Type*, *Level*, *Exp_Conc*, *Resp*, *Calc_Conc*, *Accuracy*, entre otras, han sido reconocidas sin pérdida de información.

Con estas verificaciones se garantiza que la base de datos importada posee la estructura adecuada para avanzar a las etapas posteriores de limpieza, transformación y modelado.

3.3.1. Visualización y filtrado inicial de la curva de calibración

A continuación, se describen los procedimientos implementados para la evaluación visual, la depuración inicial y la selección del rango lineal de la curva de calibración de trazodona. Estas etapas conforman el primer nivel del flujo de preprocesamiento desarrollado para garantizar la calidad de los datos antes de ser incorporados en los modelos de aprendizaje automático.

El proceso inicia con la generación de una gráfica preliminar de la curva completa, elaborada a partir de todos los puntos contenidos en el archivo .csv exportado desde el software de cuantificación. En este gráfico se representa la respuesta instrumental (*Resp*) en función de la concentración nominal (*Exp_Conc*) y se incorpora una línea de tendencia ajustada mediante regresión lineal. Tanto la ecuación de la recta como el coeficiente de determinación (R^2) se incluyen de manera automática, lo que permite evaluar visualmente la linealidad global del conjunto de datos.

Esta representación inicial es fundamental para identificar posibles anomalías, como puntos atípicos, saturación del detector o desviaciones en los extremos del rango. Asimismo, constituye un punto de partida para delimitar el tramo verdaderamente lineal de la curva, paso indispensable para garantizar que los modelos posteriores trabajen con datos consistentes y comparables.

Tras la ejecución del procedimiento descrito, se obtiene la gráfica correspondiente, que se presenta a continuación:

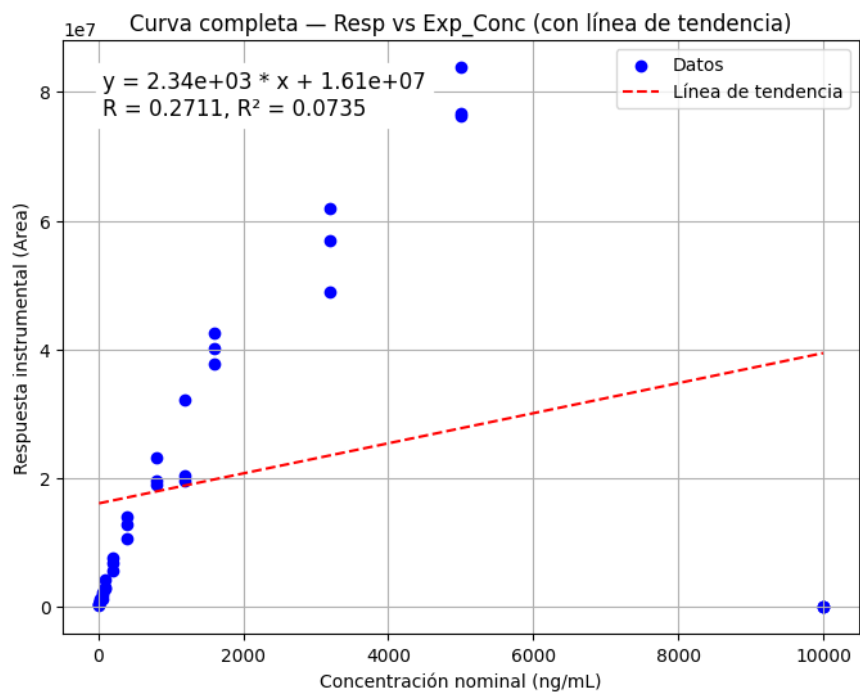


Fig. 3. Curva de calibración de trazodona, graficando la concentración en el eje X vs el factor de respuesta Área de Trazodona/Área de Flurazepam (estándar interno) en el eje Y

En la Fig. 3 se presenta la gráfica preliminar generada a partir de los datos crudos de la curva de calibración de trazodona, antes de aplicar cualquier proceso de limpieza o filtrado. El gráfico muestra la respuesta instrumental (Resp) en función de la concentración nominal (Exp_Conc), acompañada de una línea de tendencia construida mediante regresión lineal simple. La ecuación de la recta y el valor de R^2 se encuentran indicados en el recuadro superior izquierdo del gráfico.

El ajuste lineal obtenido en esta primera aproximación evidencia un coeficiente de determinación bajo (0.0735), lo que refleja un comportamiento marcadamente no lineal cuando se incluyen todos los niveles presentes en el archivo original. Este resultado es coherente con la presencia de niveles que no cumplen con los criterios de linealidad, particularmente en la zona superior donde se observa saturación de señal, así como en algunos registros de baja respuesta correspondientes a niveles no adicionados experimentalmente. Este diagnóstico inicial justifica la necesidad de aplicar un flujo de depuración más riguroso para delimitar el rango lineal real de la curva, proceso que se desarrolla en los bloques de código posteriores (ver APPENDIX K).

A continuación, se construye un conjunto de datos depurado que conserva únicamente las columnas necesarias para el análisis: Level, Exp_Conc, Resp, Calc_Conc, Accuracy y otras variables relevantes para la evaluación de la curva de trazodona (TABLA IX). Este *dataframe* sirve como base para las siguientes etapas de filtrado. El resultado preliminar obtenido para la curva se presenta inmediatamente después.

Posteriormente, se ejecuta un procedimiento automático destinado a eliminar registros que no representan información válida para el análisis. Este filtro depura los llamados “puntos fantasma”, que corresponden a niveles no preparados o a mediciones sin respuesta analítica significativa. El algoritmo establece

dinámicamente dos criterios principales para excluir registros: una respuesta mínima del analito ($\text{Resp} \geq 1000$), que asegura la consideración de señales representativas, y una concentración calculada (Calc_Conc) mayor o igual al primer nivel real de la curva, determinado automáticamente por el código, menos una tolerancia de 0.1 ng/mL. Esto permite descartar niveles inexistentes o no preparados experimentalmente.

El procedimiento identifica correctamente el primer nivel de la curva 10 ng/mL en el caso de la trazodona y ajusta el umbral de aceptación de manera proporcional. Esta estrategia resulta particularmente útil para eliminar niveles que aparecen en el archivo pero que no fueron realmente preparados, como ocurrió con el nivel 12, el cual no presentaba valores válidos de respuesta. Además, el filtro detecta y elimina filas con datos incompletos, evitando que registros sin utilidad afecten el análisis posterior.

Una vez aplicado el filtro, se obtiene un *dataset* depurado compuesto por 33 registros correspondientes a los niveles 1 al 11, con tres réplicas por nivel. Se conservan únicamente variables esenciales para el análisis cuantitativo como el número de nivel, la concentración esperada, la respuesta instrumental, la concentración calculada y la exactitud. Esta selección garantiza que el conjunto de datos final esté conformado exclusivamente por observaciones consistentes, completas y representativas del comportamiento analítico real.

En conjunto, este proceso de depuración constituye un paso fundamental para asegurar que la evaluación del rango lineal y el ajuste del modelo de calibración se realicen sobre datos confiables. La eliminación de registros incompletos, niveles inexistentes y respuestas no representativas incrementa la calidad del ajuste lineal y fortalece la validez estadística de las etapas posteriores del análisis.

TABLA IX. Dataset final de Trazodona posterior al preprocesamiento y manejo de datos faltantes

Level	Exp_Conc	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area
1	10	455636	155.5032	1555	8.127	3067939	0.148515
1	10	199071	177.1697	1771.7	8.127	1176484	0.169208
1	10	414932	165.9222	1659.2	8.124	2618430	0.158466
2	25	820208	340.7733	1363.1	8.142	2520152	0.325460
2	25	1275844	356.1615	1424.6	8.097	3750758	0.340156
2	25	1135415	333.1431	1332.6	8.114	3568553	0.318172
3	50	1881419	584.6576	1169.3	8.151	3369397	0.558384
3	50	2314256	602.5023	1205	8.141	4021805	0.575427
3	50	1350110	584.2478	1168.5	8.105	2419582	0.557993
4	100	2825577	993.1467	993.1	8.135	2978942	0.948517
4	100	3030067	1115.7503	1115.8	8.108	2843502	1.065611
4	100	4329591	1003.1385	1003.1	8.095	4519124	0.95806
5	200	5729646	1729.4884	864.7	8.103	3468793	1.651769
5	200	6807102	1687.3398	843.7	8.144	4224040	1.611515
5	200	7631120	1524.2244	762.1	8.095	5242129	1.455729
6	400	10637090	2702.5744	675.6	8.116	4121103	2.581127
6	400	14087450	2962.5964	740.6	8.129	4978840	2.829464
6	400	12876584	3057.3263	764.3	8.094	4409884	2.919937
7	800	19580198	4734.5524	591.8	8.093	4330185	4.521792
7	800	19047506	4647.564	580.9	8.109	4291223	4.438713
7	800	23264403	4725.9319	590.7	8.119	5154336	4.51356
8	1200	20375828	6716.9429	559.7	8.147	3176230	6.415098
8	1200	19698173	7510.3335	625.9	8.163	2746218	7.172837
8	1200	32162774	6066.9602	505.6	8.092	5550737	5.794325
9	1600	40087822	7634.3988	477.1	8.13	5498015	7.291326
9	1600	37830807	7817.1998	488.6	8.083	5067138	7.465912
9	1600	42473308	7315.1541	457.2	8.12	6079403	6.986427
10	3200	49020972	12784.8812	399.5	8.089	4014704	12.210358
10	3200	61815410	11772.0049	367.9	8.09	5498125	11.242998
10	3200	56996199	11903.8303	372	8.097	5013344	11.368898
11	5000	76233879	15742.4464	314.8	8.09	5070422	15.035017
11	5000	76715244	15048.8386	301	8.065	5337612	14.372578
11	5000	83796289	14508.1588	290.2	8.067	6047568	13.856196

3.3.2. Evaluación del Estándar Interno.

En los métodos cromatográficos acoplados a espectrometría de masas empleados en toxicología forense, el estándar interno (ISTD) constituye un elemento esencial para asegurar la trazabilidad y la estabilidad del proceso de cuantificación. Su función principal es compensar variaciones asociadas al sistema cromatográfico, a la ionización en la fuente, a las fluctuaciones del detector y a los eventuales errores derivados de la preparación manual de soluciones o del manejo de volúmenes. En este estudio se utilizó Flurazepam como estándar interno para acompañar las curvas multinivel de Trazodona y garantizar su validez analítica.

La evaluación automatizada del ISTD se aplicó sobre el *dataframe* filtrado y depurado (*df_filtrado_resp*), analizando tres dimensiones fundamentales de su comportamiento: el tiempo de retención, el área del ISTD y la estabilidad de la razón analito/ISTD (*Ratio_Area*) por nivel. El bloque de cálculo establece umbrales de control que permiten valorar la idoneidad de cada uno de estos parámetros. Para el tiempo de retención se fija un límite máximo de variabilidad de 2 %RSD, con el fin de confirmar la estabilidad del sistema cromatográfico. Para el área del estándar interno se emplea un umbral informativo del 15 %RSD, cuyo fin no es validar la curva sino monitorear la consistencia de la respuesta entre diferentes corridas analíticas y distintos analistas. Finalmente, para el *Ratio_Area* por nivel se establece un límite del 25 %RSD, este sí considerado un criterio crítico para la aceptabilidad del comportamiento del ISTD.

En la (TABLA X) se resume el análisis estadístico global que mostró un tiempo de retención promedio de 8.112 min, con una variabilidad de apenas 0.30 %RSD, muy por debajo del límite permitido, lo cual confirma la estabilidad del sistema cromatográfico. En contraste, el área del ISTD presentó una variabilidad del 28.90 %RSD, superando el umbral informativo definido. Esta situación es habitual en fases de preparación manual, particularmente cuando pequeñas variaciones de pipeteo afectan la señal absoluta del estándar interno. No obstante, este resultado no compromete la validez cuantitativa de la curva, dado que la relación analito/ISTD corrige este tipo de fluctuaciones.

Al examinar el *Ratio_Area* por nivel se observó un comportamiento altamente consistente en toda la curva de calibración. Los once niveles evaluados presentaron valores de %RSD muy por debajo del límite del 25 %, con un rango de variación entre aproximadamente 1 % y 11 %RSD. Esto indica que, pese a la variabilidad en el área del ISTD, la corrección mediante la razón analito/ISTD se mantuvo estable y efectiva, reflejando un proceso de cuantificación confiable.

TABLA X. Resultados obtenidos al evaluar los parámetros del estándar interno Flurazepam (ISTD).

Parámetro	Promedio	%RSD	Criterio	Cumplimiento
RT (min)	8.112	0.30%	≤ 2.0%	Cumple
Área (cps)	4,126,507	28.90%	≤ 15.0% (informativo)	No cumple
Relación de Área por nivel	—	Máx. 10.69%	≤ 25.0%	Todos cumplen

La Fig. 4. integra los resultados mediante tres paneles gráficos: el primero muestra el tiempo de retención del ISTD respecto a los límites de tolerancia establecidos; el segundo exhibe el área del ISTD con sus respectivos márgenes informativos; y el tercero presenta el %RSD del Ratio_Area por nivel, destacando visualmente que todos los niveles cumplen el criterio de aceptación. Esta representación conjunta permite una interpretación inmediata del desempeño global del estándar interno y respalda su idoneidad para la curva de Trazodona procesada.

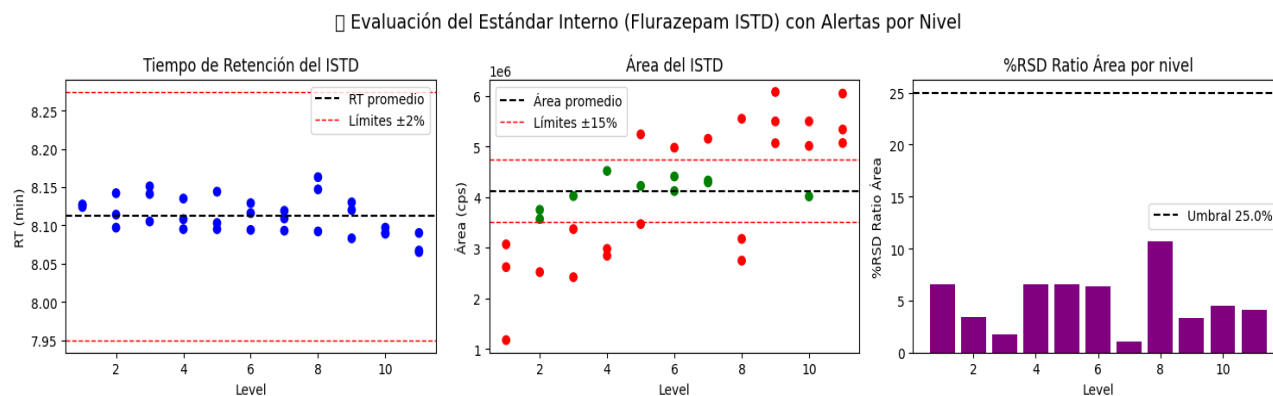


Fig. 4. Visualización de la evaluación del estándar interno (flurazepam)

En conjunto, la evaluación del estándar interno confirma que la primera curva de calibración fue generada bajo condiciones cromatográficas estables y con una precisión adecuada en todos los niveles. Aunque el área absoluta del ISTD presentó una variabilidad superior al umbral informativo establecido, esta fluctuación no comprometió la validez de la cuantificación, ya que el método opera sobre la relación analito/ISTD, la cual corrige las variaciones individuales del área del estándar interno y preserva la consistencia de la respuesta relativa. El comportamiento del Ratio_Area evidenció una estabilidad sólida a lo largo de toda la curva, con valores de %RSD dentro de los límites aceptables, lo que respalda la fiabilidad del procesamiento de datos y la robustez del flujo de procesamiento implementado.

Este procedimiento de evaluación del estándar interno se aplicó de manera individual a cada una de las curvas incorporadas durante el estudio. Para cada corrida analítica se generaron estadísticas específicas y gráficos de control equivalentes a los presentados en este capítulo, con el fin de asegurar que todas las curvas cumplieran con los criterios de estabilidad cromatográfica y consistencia de la respuesta relativa. Los resultados completos correspondientes a cada curva pueden consultarse en los anexos (ver APPENDIX del K al T) donde se incluyen los reportes individuales y las visualizaciones obtenidas para cada curva de calibración.

3.3.3. Evaluación de valores atípicos mediante la prueba de Grubbs

En esta etapa se llevó a cabo un análisis estadístico orientado a identificar posibles valores atípicos dentro de las réplicas que conforman cada nivel de la curva de calibración. La detección temprana de *outliers* es un componente esencial del aseguramiento de la calidad, ya que la presencia de un único dato extremo puede distorsionar la relación concentración-respuesta, ya sea modificando la pendiente, el intercepto o el

coeficiente de determinación de la curva, etc. afectando directamente la exactitud de las concentraciones calculadas. Para tal fin se empleó la prueba de Grubbs, un método ampliamente utilizado para evaluar si una observación difiere significativamente del comportamiento general del grupo.

El procedimiento aplicado evalúa cada nivel de calibración de manera independiente. Para cada grupo de réplicas se calcula la media y la desviación estándar de la respuesta instrumental, y con estos valores se obtiene el estadístico de Grubbs. La expresión utilizada se presenta a continuación [27]:

$$G = \frac{\max |x_i - \bar{x}|}{s} \quad (1)$$

Donde \bar{x} representa la media de las observaciones y s la desviación estándar del grupo.

El valor crítico de Grubbs (G_{crit}) se estima a partir de la distribución t de Student con un nivel de significancia de 0.05 y un tamaño de muestra N . Si el valor calculado G supera a G_{crit} , el punto correspondiente se clasifica como outlier y se elimina del conjunto de datos.

Además del análisis de la respuesta del analito, el procedimiento incluyó una revisión simultánea del estándar interno mediante la estimación del porcentaje de desviación relativa del tiempo de retención, del área del ISTD y del Ratio_Area analito/ISTD. Aunque esta verificación complementaria no forma parte del test de Grubbs, sí permite confirmar que el comportamiento cromatográfico y la cuantificación relativa permanecen dentro de los márgenes esperados.

Los resultados obtenidos se consolidaron en una tabla resumen (TABLA XI) donde se listan, para cada nivel, el valor calculado del estadístico de G , su correspondiente G_{crit} , la decisión final de aceptación o rechazo y las alertas asociadas al estándar interno.

TABLA XI. Resultados obtenidos para la prueba de Grubbs.

Level	G	G_crit	Resultado	RT_ISTD_outlier	Ratio_Area_outlier
1	1.142054	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK
2	1.101182	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK
3	1.032252	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK
4	1.145594	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK
5	1.04135	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK
6	1.083442	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK
7	1.146907	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK
8	1.153351	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK
9	1.009095	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK
10	1.071413	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK
11	1.152833	1.154305	<input checked="" type="checkbox"/> Aceptado	OK	OK

De acuerdo con los valores obtenidos, ninguno de los niveles presentó observaciones que excedieran el valor crítico establecido. En todos los casos, el estadístico G se mantuvo por debajo del límite de decisión, lo que indica que las réplicas dentro de cada nivel son estadísticamente consistentes entre sí. El rango observado para G (aproximadamente entre 1.01 y 1.15) confirma una dispersión aceptable y compatible con el comportamiento habitual del método. En total se evaluaron treinta y tres puntos experimentales, sin necesidad de eliminar ninguno.

El sistema tampoco generó alertas en los parámetros del estándar interno, lo que evidencia que los valores del tiempo de retención, del área del ISTD y del Ratio_Area permanecieron dentro de márgenes aceptables de variación. Este resultado respalda la correcta ejecución de la secuencia analítica y la estabilidad cromatográfica durante la adquisición de datos.

En conjunto, la evaluación mediante el test de Grubbs confirma la integridad estadística del conjunto de datos empleados para el ajuste de la curva de calibración. La ausencia de valores atípicos, sumada al comportamiento estable del estándar interno, garantiza que la regresión resultante se construya a partir de información homogénea, confiable y plenamente representativa del desempeño del sistema analítico. Es importante señalar que este procedimiento no se limita a la curva aquí presentada: la misma secuencia de validación estadística se aplica de manera independiente a cada una de las curvas de trazodona incluidas en el estudio, asegurando criterios uniformes de calidad a lo largo de todo el proceso. Los detalles completos de estas evaluaciones individuales pueden consultarse en los anexos correspondientes (ver APPENDIX del K al T).

3.3.4. Análisis iterativo del coeficiente de determinación (R^2) para la definición del rango lineal.

En el proceso de validación de curvas de calibración dentro de la toxicología forense, resulta esencial determinar de manera objetiva el rango lineal óptimo del método, es decir, el intervalo de concentraciones en el que la respuesta analítica mantiene una relación directamente proporcional con la concentración del analito. La evaluación iterativa del coeficiente de determinación (R^2) constituye una herramienta estadística que permite establecer este rango de forma empírica y reproducible.

El análisis iterativo consiste en realizar regresiones lineales sucesivas, incrementando progresivamente el nivel máximo de concentración incluido en el cálculo, con el fin de observar cómo varía el valor de R^2 . Esta estrategia permite detectar el punto a partir del cual la linealidad comienza a deteriorarse por saturación del detector, comportamiento no lineal del analito o efectos de matriz, evitando así la sobreextensión del rango calibrado. En términos prácticos, este enfoque contribuye a garantizar la trazabilidad, precisión y confiabilidad metrológica del método, asegurando que las concentraciones reportadas se encuentren dentro del dominio de validez estadística del modelo.

El algoritmo aplicado implementa un análisis iterativo de regresión lineal mediante el uso de la función *linregress* del paquete *scipy.stats*. En primer lugar, se obtienen los niveles únicos de la curva a partir del *DataFrame* validado (*df_filtrado_resp*) y se ordenan de forma ascendente. Posteriormente, el algoritmo realiza un ciclo que incrementa gradualmente el nivel máximo incluido en cada iteración, filtrando los datos

hasta dicho punto y calculando la regresión lineal entre la concentración experimental (Exp_Conc) y la respuesta del analito (Resp) (ver APPENDIX K).

En cada paso, se extraen los parámetros de la regresión (pendiente, intercepto, valor de R, p-valor y error estándar), registrando especialmente el coeficiente de determinación (R^2), que cuantifica la proporción de la variabilidad en la respuesta explicada por la concentración. Los valores de R^2 obtenidos se almacenan en listas y posteriormente se grafican en función del nivel máximo considerado, generando un perfil visual de la evolución de la linealidad conforme aumenta el rango (Ver Fig. 5).

Los resultados obtenidos para el análisis iterativo del coeficiente de determinación se presentan a continuación:

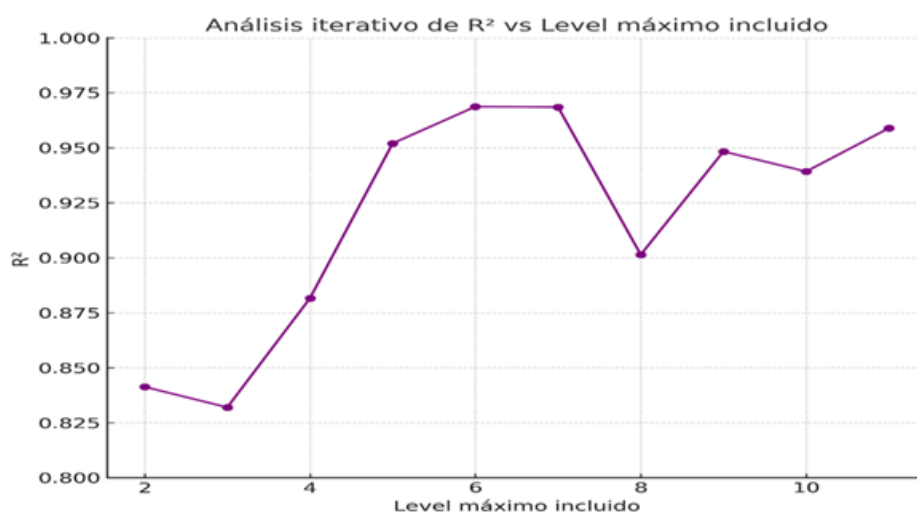


Fig. 5. Visualización del análisis iterativo de R^2 .

Los valores obtenidos muestran una tendencia ascendente inicial del R^2 conforme se amplía el rango de concentración, alcanzando un máximo de 0.9687 en el nivel 6, que se mantiene prácticamente constante hasta el nivel 7 ($R^2 = 0.9685$). A partir de este punto, se observa una disminución en el valor del coeficiente ($R^2 = 0.9014$ en el nivel 8), indicando una pérdida parcial de la linealidad. Posteriormente, los valores vuelven a estabilizarse en torno a 0.94–0.96, lo que sugiere que el nivel 7 representa el límite superior más adecuado para mantener un ajuste lineal robusto sin incurrir en desviaciones significativas, los cuales se exponen en la (TABLA XII).

TABLA XII. Análisis iterativo de R^2 según nivel máximo incluido

Nivel máximo incluido	R^2
2	0.8413
3	0.832
4	0.8816
5	0.952
6	0.9687
7	0.9685
8	0.9014
9	0.9483
10	0.9392
11	0.9589

En este sentido, el análisis iterativo del coeficiente de determinación permitió identificar de forma clara el rango lineal óptimo del método analítico. La estabilidad del R^2 entre los niveles 6 y 7 indica que el modelo mantiene una relación proporcional entre concentración y respuesta en dicho intervalo, cumpliendo con los requisitos de linealidad establecidos en las guías de validación analítica.

La disminución posterior del R^2 sugiere que, a concentraciones más elevadas, comienzan a presentarse efectos de saturación del detector o desviaciones de la respuesta lineal, por lo que extender la curva más allá de ese punto podría introducir errores sistemáticos en la cuantificación. En consecuencia, el nivel 7 se selecciona como el límite superior del rango lineal validado para la primera curva de calibración de Trazodona, garantizando la exactitud y confiabilidad de las determinaciones dentro de ese intervalo. Es importante señalar que este análisis se realiza de forma independiente para cada curva incluida en el estudio, por lo que los resultados pueden variar en función de las condiciones instrumentales y experimentales específicas de cada una (ver APPENDIX del K al T).

Este procedimiento iterativo no solo refuerza la validez estadística del modelo de calibración, sino que también proporciona una base objetiva para la toma de decisiones en la delimitación del rango analítico, aspecto fundamental en contextos forenses donde la calidad de los resultados debe sostenerse con evidencia cuantitativa verificable.

Tras la determinación del rango lineal óptimo mediante el análisis iterativo de R^2 , se implementó un filtro robusto en dos pasos (ver APPENDIX K) con el propósito de depurar los datos experimentales y conservar únicamente aquellos puntos que cumplen simultáneamente con los criterios de linealidad y exactitud analítica. Este procedimiento garantiza que los cálculos de regresión final y los parámetros de desempeño del método (pendiente, intercepto, R^2 y exactitud) se basen exclusivamente en observaciones confiables y representativas del comportamiento real del sistema analítico.

La depuración en dos etapas constituye una práctica ampliamente utilizada en validaciones de métodos bioanalíticos y forenses, pues permite realizar una selección jerárquica de los datos. En una primera fase se restringe la curva al intervalo en el que se ha verificado la linealidad, garantizando que el análisis posterior

se concentre únicamente en la zona con respuesta proporcional, posteriormente, se aplican criterios de aceptación basados en la exactitud (*%Accuracy*) para descartar aquellas observaciones que presentan desviaciones incompatibles con los requisitos metrológicos del método.

De esta manera, el conjunto final de datos conserva únicamente los puntos que cumplen simultáneamente con la linealidad requerida y con los criterios de exactitud establecidos, lo que asegura que el modelo de calibración se construya sobre información consistente, trazable y adecuada para sustentar decisiones analíticas confiables.

Dicho esto, el algoritmo se estructura en dos fases secuenciales, en el primer paso, el programa solicita de forma interactiva al usuario que indique el nivel máximo de linealidad que desea incluir en la curva (en este caso el nivel 7, de acuerdo con el análisis iterativo de R^2).

Con base en este valor, se filtra el *DataFrame* original (*df_filtrado_resp*) para conservar únicamente los registros con niveles menores o iguales al nivel indicado. Este paso garantiza que el subconjunto de datos analizados corresponda al intervalo en el cual la relación entre concentración y respuesta mantiene una linealidad demostrada.

En el segundo paso, el código aplica un filtro adicional de exactitud (*%Accuracy*). Para ello, se calcula la columna *Accuracy_pct* dividiendo el valor de exactitud registrado entre 100, con el fin de expresarlo en proporción porcentual. Luego se establece un umbral de aceptación de $\pm 15\%$, valor comúnmente adoptado en guías de validación bioanalítica y en protocolos de toxicología forense [28], [29], [30]. Las observaciones cuyo *% Accuracy* supera este límite se excluyen, conservándose únicamente los datos que cumplen simultáneamente con ambos criterios: nivel dentro del rango lineal y exactitud aceptable.

El resultado final es un conjunto de puntos depurados que sirven de base para la regresión lineal definitiva de la curva de calibración, garantizando la validez estadística y la trazabilidad metrológica del método.

El proceso de filtrado generó los resultados que se resumen a continuación. En la TABLA XIII, se muestran los datos experimentales originales comprendidos hasta el Nivel 7, incluyendo las concentraciones experimentales (*Exp_Conc*), las respuestas instrumentales (*Resp*), las concentraciones calculadas (*Calc_Conc*) y los valores de exactitud observados.

TABLA XIII. Resultados obtenidos con el Filtro 1

Level	Exp_Conc	Resp	Calc_Conc	Accuracy
1	10	455636	155.5032	1555
1	10	199071	177.1697	1771.7
1	10	414932	165.9222	1659.2
2	25	820208	340.7733	1363.1
2	25	1275844	356.1615	1424.6
2	25	1135415	333.1431	1332.6
3	50	1881419	584.6576	1169.3
3	50	2314256	602.5023	1205
3	50	1350110	584.2478	1168.5
4	100	2825577	993.1467	993.1
4	100	3030067	1115.7503	1115.8
4	100	4329591	1003.1385	1003.1
5	200	5729646	1729.4884	864.7
5	200	6807102	1687.3398	843.7
5	200	7631120	1524.2244	762.1
6	400	10637090	2702.5744	675.6
6	400	14087450	2962.5964	740.6
6	400	12876584	3057.3263	764.3
7	800	19580198	4734.5524	591.8
7	800	19047506	4647.564	580.9
7	800	23264403	4725.9319	590.7

Posteriormente, en la *TABLA XIV*, se presentan los resultados de la segunda etapa, tras aplicar el filtro de exactitud $\leq 15\%$. Se observa que el proceso elimina automáticamente los puntos con desviaciones superiores al umbral, conservando solo aquellos que demuestran un desempeño cuantitativo consistente. El conjunto final incluye 18 puntos distribuidos entre los niveles 2 y 7, todos con valores de %Accuracy comprendidos entre 5.8% y 14.2%, lo que respalda la precisión y reproducibilidad del método en este rango.

TABLA XIV. Resultados obtenidos con el Filtro 2

Level	Exp_Conc	Resp	Calc_Conc	Accuracy_pct
2	25	820208	340.7733	13.631
2	25	1275844	356.1615	14.246
2	25	1135415	333.1431	13.326
3	50	1881419	584.6576	11.693
3	50	2314256	602.5023	12.05
3	50	1350110	584.2478	11.685
4	100	2825577	993.1467	9.931
4	100	3030067	1115.7503	11.158
4	100	4329591	1003.1385	10.031
5	200	5729646	1729.4884	8.647
5	200	6807102	1687.3398	8.437
5	200	7631120	1524.2244	7.621
6	400	10637090	2702.5744	6.756
6	400	14087450	2962.5964	7.406
6	400	12876584	3057.3263	7.643
7	800	19580198	4734.5524	5.918
7	800	19047506	4647.564	5.809
7	800	23264403	4725.9319	5.907

El filtro robusto en dos pasos permitió refinar de manera controlada los datos experimentales, garantizando que los puntos utilizados para la regresión final cumplan simultáneamente con los criterios de linealidad, exactitud y precisión.

El primer filtro, basado en el nivel máximo de linealidad, asegura que los datos se limiten al rango donde la relación entre concentración y respuesta es proporcional. El segundo filtro, de exactitud, elimina posibles sesgos derivados de errores de preparación, variaciones de inyección o desviaciones instrumentales.

El resultado final muestra un conjunto de datos coherente, reproducible y estadísticamente sólido, en el cual todos los valores de exactitud se encuentran dentro de los límites recomendados por las guías de validación analítica [28], [29], [30]. Esta depuración constituye un paso clave previo al cálculo de la curva de calibración definitiva, garantizando que el modelo lineal ajustado refleje fielmente el comportamiento real del sistema de cromatografía acoplado a espectrometría de masas y proporcione una base confiable para la cuantificación forense de las muestras.

De este modo y una vez completado el proceso de depuración mediante el filtro robusto en dos pasos, se procede a la generación de la curva de calibración final, construida exclusivamente con los puntos que cumplen simultáneamente los criterios de linealidad y exactitud. Este paso representa la culminación del procesamiento estadístico, pues consolida la relación cuantitativa entre la concentración nominal del analito y la respuesta instrumental dentro del rango lineal validado.

El objetivo entonces del algoritmo es obtener una regresión lineal representativa y estadísticamente sólida, que describa con precisión la proporcionalidad entre la señal analítica y la concentración, verificando además los parámetros de ajuste pendiente, intercepto, coeficiente de correlación (R) y coeficiente de determinación (R²). Estos indicadores constituyen la evidencia numérica que respalda la validez metrológica y forense del método de cuantificación.

El procedimiento implementado utiliza entonces un ajuste de regresión lineal a los datos filtrados en el paso 2 del *df_filtrado_lineal*, que corresponden al rango de concentraciones aceptadas por los criterios de desempeño estadístico. Se definen las variables independientes (X) como las concentraciones experimentales (Exp_Conc) y las variables dependientes (Y) como las respuestas instrumentales (Resp).

Mediante la función *linregress* de la biblioteca *scipy.stats*, se calculan los parámetros de la ecuación lineal [31]:

$$y = m \cdot x + b \quad (2)$$

donde *m* representa la pendiente de la recta (indicativa de la sensibilidad del método) y *b* el intercepto (relacionado con la respuesta del sistema en ausencia de analito). El algoritmo genera una línea de tendencia ajustada a partir de los valores de *m* y *b*, y sobre el gráfico se representan tanto los puntos experimentales filtrados (en color azul) como la línea de tendencia (en color rojo discontinuo).

Adicionalmente, se calcula el coeficiente de correlación (R) y el coeficiente de determinación (R²), los cuales se muestran en el gráfico junto con la ecuación de la línea, permitiendo visualizar la fortaleza del ajuste lineal y la proporción de la variabilidad explicada por el modelo.

El gráfico de la Fig. 6. muestra la curva de calibración final obtenida a partir de los datos depurados. Se observa una clara relación lineal entre la concentración nominal del analito (eje X) y la respuesta instrumental (eje Y), con una distribución homogénea de los puntos experimentales a lo largo del rango de 10 a 800 ng/mL.

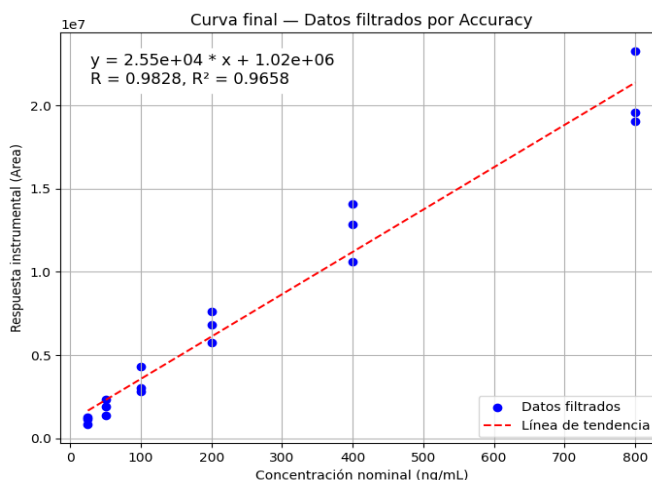


Fig. 6. Curva de calibración de trazodona graficando la concentración en el eje X vs el factor de respuesta Área de Trazodona/Área de Flurazepam (estándar interno) en el eje Y, con los datos después de ser depurados.

El modelo ajustado presenta la siguiente ecuación de regresión:

$$y = 2.55 \times 10^4 x + 1.02 \times 10^6$$

con un coeficiente de correlación $R = 0.9828$ y un coeficiente de determinación $R^2 = 0.9658$. Estos valores reflejan una correlación lineal fuerte y una alta capacidad predictiva del modelo, indicando que aproximadamente el 96.6 % de la variabilidad de la respuesta analítica puede explicarse por la concentración del analito.

Los resultados obtenidos demuestran que el modelo lineal propuesto se ajusta adecuadamente a los datos experimentales dentro del rango definido (hasta el nivel 7), confirmando la validez del rango lineal y la proporcionalidad de la respuesta instrumental.

Un valor elevado de R^2 (0.9658) indica una excelente relación lineal, mientras que la pendiente obtenida (2.55×10^4) refleja la sensibilidad del método, es decir, la magnitud de cambio en la señal por unidad de concentración. El intercepto positivo (1.02×10^6) representa la respuesta instrumental residual, probablemente asociada a la línea base o a la respuesta mínima del sistema de detección.

La ausencia de dispersión anómala en los puntos experimentales confirma que las etapas de filtrado previas fueron eficaces para eliminar valores fuera de especificación, consolidando un conjunto de datos estadísticamente coherente y metrológicamente válido.

En consecuencia, la curva obtenida constituye la representación final del modelo de cuantificación, aplicable a las determinaciones forenses del analito en matrices biológicas, cumpliendo con los requisitos de linealidad, precisión y exactitud exigidos por las guías internacionales de validación analítica [28], [29], [30].

4. OPTIMIZACIÓN DE CURVAS DE CUANTIFICACIÓN MEDIANTE TÉCNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO.

El presente capítulo tiene como objetivo describir de manera detallada la implementación práctica de modelos de aprendizaje automático (*Machine Learning*) orientados a la optimización de curvas de cuantificación empleadas en toxicología forense, utilizando como analito de estudio la trazodona. Este abordaje se fundamenta en los resultados obtenidos en el Capítulo 3, donde se llevó a cabo un proceso riguroso de depuración y validación de datos procedentes de una curva de calibración construida experimentalmente mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas LC-QTOF. El conjunto depurado conserva únicamente los niveles válidos según los criterios establecidos por las guías internacionales y los lineamientos del laboratorio.

Con el propósito de evaluar el potencial del aprendizaje automático para predecir concentraciones reales a partir de respuestas instrumentales y mejorar la reproducibilidad de las curvas analíticas, se diseñó un flujo computacional estructurado en dieciséis bloques de código ejecutados en Google Colab. Este entorno permitió integrar de manera modular todas las etapas necesarias para la construcción, evaluación y uso aplicado de los modelos predictivos. El flujo del código inicia con un sistema incremental para cargar múltiples curvas de calibración desde archivos independientes, los cuales se integran en un archivo maestro que preserva el historial de todas las corridas experimentales. Posteriormente, se generan visualizaciones que permiten evaluar el comportamiento de las curvas agregadas, incluyendo representaciones en escala logarítmica para explorar tendencias no lineales entre la concentración nominal y el cociente de áreas del analito respecto al estándar interno.

Luego se procede a seleccionar exclusivamente los puntos de calibración válidos y transformarlos bajo una relación log-log entre el Ratio Area y la concentración nominal, lo cual favorece la estabilidad del modelo y corrige patrones exponenciales característicos de las señales instrumentales [31]. Con estos datos se realiza la partición en conjuntos de entrenamiento y prueba, y se aplica un proceso de escalado necesario para garantizar comparabilidad entre algoritmos.

Sobre esta base se entrenan tres modelos de regresión: Regresión Lineal como aproximación paramétrica de referencia, Random Forest Regressor como modelo de ensamble capaz de capturar relaciones no lineales, y XGBoost Regressor, reconocido por su capacidad de optimización del error mediante boosting y su buen desempeño en conjuntos de datos pequeños con alta variabilidad experimental. Cada modelo es evaluado mediante métricas estándar como el coeficiente de determinación (R^2) y la raíz del error cuadrático medio (RMSE), ambas calculadas en el dominio logarítmico. La comparación sistemática permite establecer de manera automática cuál modelo presenta el mejor desempeño global.

Adicionalmente, se incorporó un componente fundamental para la aplicación práctica en el laboratorio: la predicción y verificación de controles de calidad. Se implementaron tres bloques exclusivos para evaluar controles de 50, 400 y 2500 ng/mL, replicando el proceso real de validación que se realiza en el análisis bioanalítico. Cada control genera un historial independiente que almacena las predicciones de los modelos conforme se añaden nuevas curvas al archivo maestro, permitiendo observar la evolución del desempeño predictivo en el tiempo.

En conjunto, el flujo completo constituye un sistema automatizado, reproducible y escalable que integra desde la carga de datos brutos hasta la evaluación de controles, con el fin de explorar la viabilidad del uso de *Machine Learning* para mejorar la precisión, estabilidad y trazabilidad en la construcción de curvas de

cuantificación toxicológicas. Este enfoque no solo aporta un valor técnico al análisis cuantitativo, sino que también abre la posibilidad de extender este tipo de herramientas a procesos rutinarios de validación y control de calidad en TOXF-INMLCF.

4.1. Carga y preparación inicial de los datos

La etapa de carga y preparación inicial constituye el punto de partida del flujo computacional implementado para la optimización de curvas de cuantificación mediante aprendizaje automático. En esta fase se incorporan los datos previamente depurados en el Capítulo 3 y correspondientes a una curva de calibración real del analito trazodona procesada mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas LC-QTOF. A diferencia de la versión desarrollada para la limpieza y depuración de los datos obtenidos, el sistema actual fue diseñado para operar de manera incremental, permitiendo añadir de forma continua nuevas curvas experimentales. Cada vez que se incorpora un archivo .csv con un nuevo conjunto de datos de una nueva curva, el sistema verifica si existe un archivo acumulativo previo; si no lo encuentra, crea uno nuevo y si ya existe, fusiona la curva recién cargada con las anteriores. De esta forma, se construye una base de datos histórica que crece automáticamente con cada nuevo conjunto de datos correspondientes a una nueva curva registrada.

Esta estrategia de integración progresiva garantiza que los modelos puedan entrenarse no solo con los datos de una única curva *Fig. 7*, sino con diversas repeticiones experimentales realizadas en diferentes fechas. La acumulación longitudinal de curvas proporciona un mejor entendimiento de la variabilidad instrumental, del comportamiento de los calibradores en diferentes sesiones analíticas y del desempeño global del método en el tiempo, lo cual fortalece el carácter predictivo y la generalización del modelo de aprendizaje automático.

Como parte de la preparación inicial, el sistema identifica de manera automática el origen temporal de cada curva mediante la extracción de la fecha contenida en el campo Acq_DateTime. A partir de esta información se genera un identificador único por curva que permite organizar cronológicamente los datos y aplicar visualizaciones comparativas entre diferentes corridas.

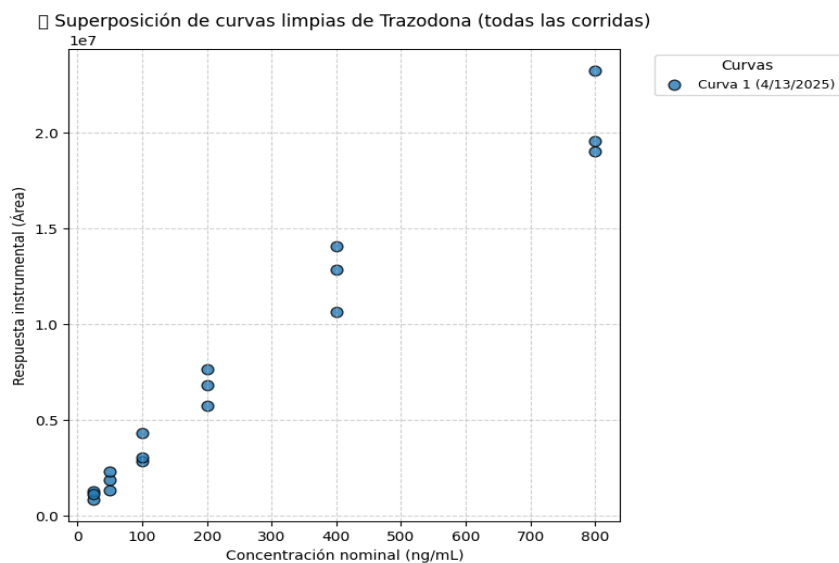


Fig. 7. Superposición de puntos de concentración vs respuesta instrumental para la curva 13/04/2025

Posteriormente, las variables necesarias para el análisis se seleccionan, se estructuran y se preparan para su uso en los modelos predictivos. En esta fase, una de las transformaciones más relevantes consiste en convertir tanto las concentraciones nominales como las relaciones de área (Ratio Area) a una escala logarítmica en base 10. Esta transformación log-log no modifica la linealidad global previamente obtenida tras el proceso de limpieza de datos, sino que la optimiza al estabilizar la relación proporcional entre señal instrumental y concentración, especialmente en rangos donde la variabilidad tiende a incrementarse de forma dependiente de la magnitud de la respuesta.

El beneficio principal de esta conversión radica en la corrección parcial de la heterocedasticidad, fenómeno habitual en métodos bioanalíticos donde los niveles altos presentan mayor dispersión que los niveles bajos debido a la naturaleza proporcional del ruido instrumental. Al trabajar en escala logarítmica, la variabilidad relativa se homogeniza y los puntos experimentales muestran una distribución más uniforme a lo largo de la curva. Como consecuencia, la relación entre $\log(\text{Ratio Area})$ y $\log(\text{Concentración})$ adquiere un comportamiento más estable y predecible *Fig. 8*, lo que facilita que los modelos de aprendizaje automático tanto los lineales como los no paramétricos para que capten patrones reales del sistema con menor interferencia de valores extremos o fluctuaciones proporcionales. Este efecto se refleja visualmente en la *Fig. 8.*, donde la dispersión se reduce y la alineación de los puntos mejora notablemente tras la transformación logarítmica.

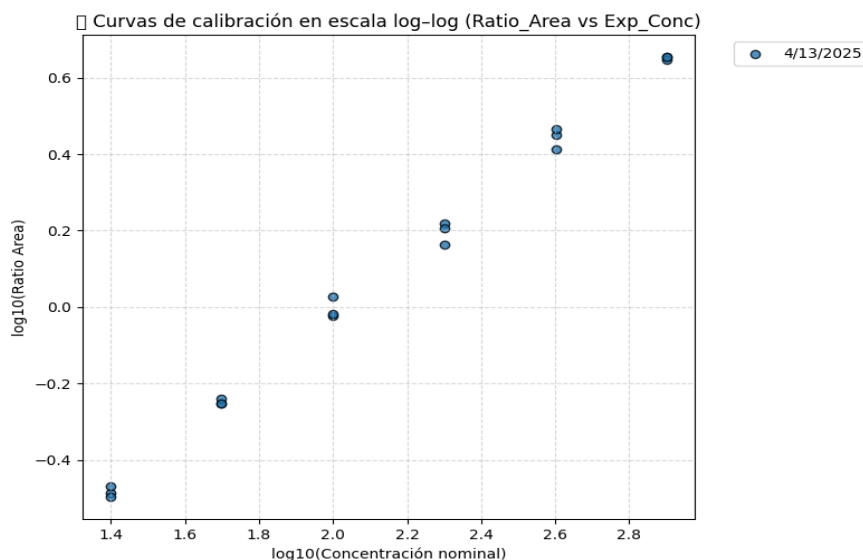


Fig. 8. Transformación logarítmica de la curva de calibración del 13/04/2025 (\log_{10} Ratio_Area vs. \log_{10} Concentración).

Tras la visualización preliminar de los datos y su transformación a escala logarítmica, se procede a una etapa esencial para garantizar la correcta preparación del conjunto de calibración que será utilizado en el entrenamiento de los modelos de aprendizaje automático.

En esta etapa, se realiza la conversión de las dos variables fundamentales, Ratio_Area y Exp_Conc, a su representación logarítmica en base 10. Esta transformación no solo reduce la asimetría inherente a las

distribuciones instrumentales, sino que además contribuye a linealizar la relación matemática entre ambas magnitudes, un aspecto crítico para mejorar la estabilidad numérica y el desempeño de los modelos en las etapas posteriores.

Como resultado de este procedimiento, se obtiene un subconjunto matemáticamente estabilizado que contiene exclusivamente los calibradores útiles para el entrenamiento, junto con sus correspondientes columnas transformadas (*Log_Ratio* y *Log_Exp_Conc*). Este conjunto constituye la base estructural sobre la cual se entrenan todos los algoritmos de regresión evaluados. En la TABLA XV se presenta un extracto representativo de este *dataset*, donde pueden observarse las concentraciones finales seleccionadas, sus relaciones de área y sus equivalentes en escala logarítmica.

TABLA XV. Vista previa de calibradores transformados a escala logarítmica para el entrenamiento del modelo

Name	Identificador_Curva	Level	Exp_Conc	Ratio_Area	Log_Ratio	Log_Exp_Conc
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	4/13/2025	2	25	0.32546	-0.487503	1.39794
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	4/13/2025	2	25	0.340156	-0.468321	1.39794
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	4/13/2025	2	25	0.318172	-0.497338	1.39794
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	4/13/2025	3	50	0.558384	-0.253067	1.69897

4.2. División del conjunto de datos para entrenamiento y prueba

Una vez obtenidos y transformados los datos de la curva de calibración en escala logarítmica, el siguiente paso consistió en preparar el conjunto de datos para su utilización dentro de los modelos de aprendizaje automático. Para ello, se implementó un procedimiento de partición que permite evaluar de manera objetiva la capacidad predictiva de cada algoritmo. Esta división es un componente fundamental dentro del proceso de modelado, ya que garantiza que los modelos sean evaluados con información que no ha sido utilizada durante su entrenamiento, lo que permite estimar su habilidad real de generalización.

El conjunto total de datos transformados se dividió en dos subconjuntos: el 80 % de las observaciones se destinó al entrenamiento del modelo y el 20 % restante se reservó como conjunto de prueba. Esta proporción se seleccionó por ser un estándar ampliamente aceptado en la literatura, ya que permite un equilibrio adecuado entre la cantidad de información disponible para el aprendizaje y la necesaria para evaluar el rendimiento.

De manera complementaria, se aplicó un proceso de escalado mediante *StandardScaler*, el cual transforma las variables predictoras de forma que presenten media cero y desviación estándar igual a uno. Este paso resulta especialmente relevante al trabajar con datos en escala logarítmica, ya que garantiza que el modelo no se vea influenciado de manera desproporcionada por diferencias en la magnitud de las variables, favoreciendo así un aprendizaje más estable y eficiente.

Tras la partición, se generó una tabla resumen (TABLA XVI) que muestra de manera organizada la asignación de cada observación al conjunto de entrenamiento o de prueba, junto con sus valores logarítmicos correspondientes. Esta estructura facilita la interpretación del flujo de datos antes de su ingreso a los modelos y constituye la base sobre la cual se evaluará el desempeño de cada algoritmo en los apartados posteriores.

A continuación, se presentan los resultados de esta división del conjunto de datos:

TABLA XVI. Distribución de los datos utilizados para entrenamiento y prueba en escala logarítmica

Level	Resp	Resp_ISTD	Ratio_Area	Log_Ratio	Log_Exp_Conc	Conjunto
2	820208	2520152	0.32546	-0.487503	1.39794	Prueba
2	1275844	3750758	0.340156	-0.468321	1.39794	Prueba
2	1135415	3568553	0.318172	-0.497338	1.39794	Entrenamiento
3	1881419	3369397	0.558384	-0.253067	1.69897	Entrenamiento
3	2314256	4021805	0.575427	-0.24001	1.69897	Entrenamiento
3	1350110	2419582	0.557993	-0.253371	1.69897	Prueba
4	2825577	2978942	0.948517	-0.022955	2	Entrenamiento
4	3030067	2843502	1.065611	0.027599	2	Entrenamiento
4	4329591	4519124	0.95806	-0.018607	2	Prueba
5	5729646	3468793	1.651769	0.217949	2.30103	Entrenamiento
5	6807102	4224040	1.611515	0.207234	2.30103	Entrenamiento
5	7631120	5242129	1.455729	0.163081	2.30103	Entrenamiento
6	10637090	4121103	2.581127	0.411809	2.60206	Entrenamiento
6	14087450	4978840	2.829464	0.451704	2.60206	Entrenamiento
6	12876584	4409884	2.919937	0.465373	2.60206	Entrenamiento
7	19580198	4330185	4.521792	0.655311	2.90309	Entrenamiento
7	19047506	4291223	4.438713	0.647257	2.90309	Entrenamiento
7	23264403	5154336	4.51356	0.654519	2.90309	Entrenamiento

4.3. Implementación de los Modelos de Aprendizaje Automático.

En esta etapa se procedió a la implementación de los modelos de aprendizaje automático destinados a predecir concentraciones analíticas a partir de las relaciones de área (Ratio_Area) obtenidas experimentalmente. La construcción de los modelos se realizó sobre los datos ya transformados a escala logarítmica y previamente divididos en conjuntos de entrenamiento y prueba, lo que garantiza condiciones controladas para evaluar su capacidad de generalización.

Los algoritmos seleccionados fueron Regresión Lineal, Random Forest Regressor y XGBoost Regressor, tres enfoques ampliamente utilizados en problemas de predicción numérica debido a su robustez, estabilidad y capacidad de modelar diferentes estructuras de relación entre variables. La Regresión Lineal actúa como

modelo base, representando la forma más simple de dependencia entre las variables. Random Forest incorpora un enfoque basado en múltiples árboles de decisión que permite capturar comportamientos no lineales y reducir la variabilidad propia de modelos individuales. Por su parte, XGBoost incorpora un mecanismo secuencial de optimización que refina progresivamente los errores, lo que lo hace especialmente útil en conjuntos de datos reducidos y con patrones complejos.

Cada modelo fue entrenado usando las variables transformadas en \log_{10} , lo cual estabiliza la relación entre señal instrumental y concentración, reduce la heterocedasticidad y mejora el ajuste tanto para concentraciones bajas como altas. Una vez entrenados, los modelos fueron evaluados mediante métricas estándar: el coeficiente de determinación (R^2), que mide la proporción de variabilidad explicada por el modelo, y la raíz del error cuadrático medio (RMSE) sobre escala logarítmica, que refleja la magnitud promedio de la desviación entre valores reales y predichos.

Este enfoque permitió explorar tres maneras distintas la relación analítica entre la respuesta cromatográfica y la concentración real del analito, proporcionando una visión comparativa sobre cuál modelo predice con mayor fidelidad, cuál presenta menor dispersión y cuál mantiene un comportamiento más estable frente a la variabilidad experimental inherente al proceso bioanalítico.

4.3.1. Modelo 1: Regresión Lineal (Linear Regression)

La primera técnica empleada corresponde al modelo de Regresión Lineal, que constituye uno de los enfoques más básicos y ampliamente utilizados dentro del aprendizaje automático supervisado. Su objetivo es establecer una relación proporcional entre la variable predictora y la variable objetivo mediante el ajuste de una función lineal que minimiza las diferencias cuadráticas entre los valores observados y los predichos.

Sin embargo, aunque la relación entre la concentración nominal de un analito y la respuesta del instrumento suele comportarse de manera lineal en la práctica bioanalítica, especialmente después de aplicar un proceso adecuado de depuración y selección del rango de linealidad, el uso de una transformación logarítmica puede mejorar significativamente la estabilidad matemática del ajuste. Esta transformación reduce la influencia relativa de los niveles altos, homogeniza la variabilidad entre puntos y permite que el modelo capture con mayor precisión patrones proporcionales presentes en toda la curva, lo que se traduce en un desempeño predictivo más robusto.

Dicho esto, en este estudio el modelo se entrenó utilizando una transformación logarítmica en ambas variables (\log_{10} del Ratio_Area como predictor y \log_{10} de la concentración nominal como variable objetivo). Esta conversión tiene un efecto altamente beneficioso: comprime la variabilidad en los niveles altos, corrige la dispersión de los valores en los niveles bajos y convierte relaciones originalmente no lineales en patrones prácticamente lineales. Como resultado, el modelo es capaz de capturar con mayor fidelidad la tendencia real de la curva analítica y de producir predicciones más estables.

El desempeño obtenido tras entrenar y evaluar el modelo luego de introducir los datos de la primera curva de trazodona bajo esta estructura \log - \log fue notablemente alto. El coeficiente de determinación alcanzó un

valor de $R^2 = 0.9985$ (ver APPENDIX del AE al AN), lo que indica que el modelo explica prácticamente la totalidad de la variabilidad presente en la concentración transformada.

De manera complementaria, el error cuadrático medio en la escala logarítmica presentó un valor de RMSE = 0.0096 (ver APPENDIX del AE al AN), lo que refleja desviaciones mínimas entre los valores predichos y observados. En términos prácticos, este nivel de error implica que el modelo reproduce con alta precisión la tendencia de calibración y conserva coherencia interna entre los diferentes niveles de concentración.

4.3.2. Modelo 2: Random Forest Regressor

El segundo modelo evaluado corresponde al algoritmo *Random Forest Regressor*, una técnica de aprendizaje supervisado basada en el ensamblaje de múltiples árboles de decisión. Su funcionamiento se fundamenta en la construcción simultánea de numerosos árboles independientes, cuyos resultados se combinan mediante un promedio, lo que permite reducir la varianza, mejorar la estabilidad del modelo y mitigar el riesgo de sobreajuste característico de los árboles individuales. Esta estructura hace que *Random Forest* sea especialmente útil para capturar relaciones no estrictamente lineales y patrones más complejos entre las variables, por lo que representa una alternativa sólida frente a los modelos lineales tradicionales.

Para esta investigación, el modelo fue entrenado utilizando los datos transformados a escala logarítmica, tanto para la concentración como para la relación de áreas log (Ratio) log (Exp_Conc), lo cual favoreció un aprendizaje más estable y redujo la influencia relativa de los niveles altos de concentración. El entrenamiento se realizó con un número elevado de árboles, lo que permitió suavizar la variabilidad y mejorar la capacidad de generalización en un conjunto de datos reducido como el disponible.

Tras el entrenamiento con una curva de trazodona, el rendimiento del modelo se evaluó con el conjunto de prueba reservado durante la división inicial. El Random Forest Regressor alcanzó un coeficiente de determinación (R^2) de 0.8951 (APPENDIX del AE al AN), lo que indica que aproximadamente el 89 % de la variabilidad del logaritmo de la concentración puede ser explicada por el modelo. Este nivel de ajuste es notablemente alto para un método no lineal aplicado sobre un *dataset* limitado en tamaño. El valor del error cuadrático medio en escala logarítmica (RMSE log = 0.0808) (APPENDIX del AE al AN) refleja que las diferencias entre las predicciones del modelo y los valores reales permanecen bajas y bien controladas.

Estos resultados indican que Random Forest es capaz de modelar de manera razonable la relación entre la concentración y la señal instrumental incluso cuando se dispone de un número limitado de observaciones, como ocurre en esta primera fase del análisis. Si bien el desempeño obtenido es inferior al mostrado por la regresión lineal para esta curva específica, el modelo mantiene una capacidad apreciable para identificar patrones y variaciones internas en los datos. Dado que los métodos basados en árboles suelen beneficiarse de conjuntos de entrenamiento más amplios y diversos, es razonable esperar que su comportamiento mejore progresivamente a medida que se incorporen nuevas curvas calibradas al sistema.

4.3.3. Modelo 3: XGBoost Regressor

El tercer modelo evaluado corresponde a XGBoost Regressor, entrenado sobre las variables transformadas a escala logarítmica y previamente normalizadas. Para su implementación se empleó una configuración

orientada a obtener un comportamiento estable en conjuntos de datos pequeños, ajustando parámetros que permiten suavizar la variabilidad del modelo y controlar el riesgo de sobreajuste durante el entrenamiento.

Al igual que en los modelos anteriores, XGBoost fue entrenado utilizando únicamente los valores correspondientes al conjunto de entrenamiento y posteriormente evaluado con el conjunto de prueba reservado en la división inicial. Sus predicciones se compararon con los valores reales mediante las métricas R^2 y RMSE en escala logarítmica. En esta primera ejecución, basada exclusivamente en una única curva de calibración de trazodona, el modelo obtuvo un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.6388$ (ver APPENDIX del AE al AN), indicando que es capaz de explicar alrededor del 64 % de la variabilidad observada en los datos de prueba. Por otro lado, el error cuadrático medio en escala logarítmica (RMSE = 0.1500) (ver APPENDIX del AE al AN) evidencia que las diferencias entre los valores predichos y los reales son moderadas, pero superiores a las observadas con los modelos lineal y de Random Forest en esta fase inicial.

Aunque este desempeño es el más bajo entre los tres algoritmos evaluados hasta el momento, estos resultados deberían interpretarse como un punto inicial dentro de un proceso de fortalecimiento progresivo del sistema. XGBoost suele mostrar mejoras sustanciales cuando se incrementa la cantidad y diversidad del conjunto de entrenamiento, aspecto que será abordado en etapas posteriores del estudio con la incorporación progresiva de nuevas curvas. En este sentido, los valores obtenidos no representan aún el verdadero potencial del modelo, sino un punto de partida dentro de un proceso iterativo en el que su rendimiento podría fortalecerse a medida que se amplíe la base de datos disponible.

4.4. Optimización de hiperparámetros de los modelos de aprendizaje automático

Una vez definido el flujo metodológico general y establecidos los modelos de aprendizaje automático a emplear, se procedió a implementar un proceso formal de optimización de hiperparámetros con el objetivo de mejorar el desempeño predictivo y la estabilidad analítica de los modelos propuestos. Esta etapa fue concebida como un procedimiento previo a la evaluación incremental de las curvas experimentales, con el fin de contar desde el inicio con configuraciones de modelo adecuadamente ajustadas.

La optimización de hiperparámetros constituye una fase clave en el desarrollo de modelos de *machine learning*, ya que permite identificar configuraciones que maximizan el desempeño predictivo sin comprometer la capacidad de generalización. En este trabajo, dicho proceso se llevó a cabo de manera controlada y sistemática, utilizando exclusivamente el conjunto de entrenamiento y aplicando esquemas de validación cruzada, con el propósito de evitar sesgos asociados al sobreajuste y garantizar la reproducibilidad de los resultados.

Los modelos *Random Forest* y *XGBoost* fueron seleccionados para el proceso de optimización de hiperparámetros debido a su naturaleza no paramétrica y a la elevada complejidad estructural que caracteriza a los algoritmos basados en ensambles. A diferencia de la regresión lineal, cuyo comportamiento está definido explícitamente por una ecuación analítica fija asociada a la curva de calibración, estos modelos incorporan múltiples hiperparámetros que controlan la profundidad de los árboles, los esquemas de partición, el muestreo y los mecanismos de regularización. En consecuencia, su desempeño depende de manera directa de la adecuada selección de dichos parámetros. La optimización de hiperparámetros en *Random Forest* y *XGBoost* resulta, por tanto, una etapa necesaria para explotar plenamente su capacidad de modelar relaciones no lineales complejas y reducir el error de predicción en la escala original de

concentración (ng/mL), aspecto crítico en aplicaciones de cuantificación analítica en toxicología forense.

4.4.1. Optimización de hiperparámetros del modelo Random Forest mediante validación cruzada

La optimización de hiperparámetros del modelo Random Forest se llevó a cabo mediante un esquema de búsqueda aleatoria (*Randomized Search*), combinado con validación cruzada tipo *k-fold*, con el objetivo de identificar configuraciones del modelo que mejoraran su desempeño predictivo sin incurrir en sobreajuste. A diferencia de una búsqueda exhaustiva (*Grid Search*), la búsqueda aleatoria permite explorar de manera más eficiente un espacio amplio de combinaciones de hiperparámetros, reduciendo significativamente el costo computacional y aumentando la probabilidad de encontrar configuraciones cercanas al óptimo, especialmente en modelos con múltiples hiperparámetros como Random Forest.

La optimización se realizó exclusivamente sobre el conjunto de entrenamiento, garantizando que el conjunto de prueba permaneciera completamente independiente y reservado para las etapas posteriores de evaluación del desempeño del modelo optimizado. El criterio de evaluación empleado durante el proceso de optimización fue el error cuadrático medio (RMSE) calculado en el espacio logarítmico, consistente con la transformación aplicada durante el entrenamiento del modelo. Esta métrica fue seleccionada debido a su sensibilidad frente a errores relativos y a su estabilidad numérica en problemas de calibración analítica.

Para asegurar la robustez del proceso de selección, se utilizó validación cruzada con cinco particiones (*5-fold cross-validation*), de manera que cada subconjunto de datos fuera utilizado alternativamente como conjunto de entrenamiento y validación (TABLA XVII). Este enfoque permite obtener una estimación más confiable del desempeño promedio del modelo y reduce la dependencia de una única partición de los datos.

Tabla XVII. Espacio de búsqueda de hiperparámetros evaluado durante el proceso de optimización del modelo Random Forest

Modelo	Hiperparámetro	Rango evaluado
Random Forest	n_estimators	100–1200 (paso 100)
	max_depth	None; 2–30 (paso 2)
	min_samples_split	2; 3; 5; 8; 10; 15; 20
	min_samples_leaf	1; 2; 4; 6; 8; 10
	max_features	sqrt; log2; 1.0
	bootstrap	True; False

El espacio de búsqueda de hiperparámetros fue definido de manera sistemática con el objetivo de explorar configuraciones representativas del comportamiento del modelo, manteniendo un balance entre exhaustividad y eficiencia computacional. En particular, el número de árboles del ensamble (*n_estimators*) se evaluó en un rango comprendido entre 100 y 1200, utilizando incrementos de 100 unidades, lo que permitió analizar el efecto del tamaño del ensamble sobre la estabilidad y la varianza del modelo sin incurrir en un costo computacional excesivo.

De forma análoga, la profundidad máxima de los árboles (*max_depth*) se exploró desde valores bajos hasta estructuras más complejas, considerando profundidades entre 2 y 30 con incrementos de dos niveles, además del caso sin restricción de profundidad (*None*). Este enfoque permitió evaluar modelos desde

configuraciones altamente regularizadas hasta estructuras con mayor capacidad de representación, reduciendo el riesgo de sobreajuste.

Adicionalmente, se incluyeron hiperparámetros asociados a los criterios de partición (*min_samples_split* y *min_samples_leaf*), al número de variables consideradas en cada división (*max_features*) y a la estrategia de muestreo (*bootstrap*), con el fin de evaluar su impacto conjunto sobre la capacidad predictiva y la generalización del modelo. Como se puede observar en la TABLA XVIII, el proceso de optimización evaluó 60 combinaciones de hiperparámetros, utilizando validación cruzada de cinco particiones, lo que dio lugar a 300 ajustes independientes del modelo.

TABLA XIX. Mejor configuración de hiperparámetros del modelo Random Forest determinada

Modelo	Hiperparámetro	Valor óptimo
Random Forest	n_estimators	300
	max_depth	None
	min_samples_split	3
	min_samples_leaf	1
	max_features	sqrt
	bootstrap	False

4.4.2. Optimización de hiperparámetros del modelo XGBoost mediante validación cruzada

De manera análoga, se implementó un proceso formal de optimización de hiperparámetros para el modelo XGBoost, con el objetivo de mejorar su desempeño predictivo y su capacidad de generalización. En este caso, la optimización se orientó a minimizar el error de predicción en la escala original de concentración (ng/mL), la cual resulta más representativa desde el punto de vista analítico y forense.

La optimización se llevó a cabo exclusivamente sobre el conjunto de entrenamiento, evitando fugas de información y asegurando que la evaluación posterior reflejara la capacidad real del modelo para generalizar a datos no observados.

Se empleó un esquema de búsqueda aleatoria (*Randomized Search*) combinado con validación cruzada tipo *k-fold* ($k = 5$), lo que permitió explorar de manera eficiente un espacio amplio de combinaciones de hiperparámetros, reduciendo significativamente el costo computacional frente a una búsqueda exhaustiva, sin comprometer la calidad de las configuraciones evaluadas (TABLA XIX). El criterio de evaluación utilizado fue el RMSE calculado directamente en la escala original de concentración (ng/mL). Para ello, las predicciones generadas en el espacio logarítmico fueron transformadas inversamente dentro del proceso de validación cruzada, garantizando que la selección de hiperparámetros estuviera alineada con el desempeño práctico del modelo en aplicaciones reales de cuantificación.

TABLA XX. Espacio de búsqueda de hiperparámetros evaluado para el modelo XGBoost

Modelo	Hiperparámetro	Rango evaluado
XGBoost	n_estimators	200 a 1200 (paso 100)
	learning_rate	0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2
	max_depth	2, 3, 4, 5, 6, 8, 10
	subsample	0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0
	colsample_bytree	0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0
	min_child_weight	1, 2, 3, 5, 8, 10
	gamma	0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2
	reg_lambda	0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0
	reg_alpha	0.0, 0.01, 0.05, 0.1

Tras completar el proceso de búsqueda aleatoria con validación cruzada, se identificó una configuración óptima de hiperparámetros. La mejor configuración obtenida fue la siguiente:

TABLA XXI. Mejor configuración de hiperparámetros del modelo XGBoost determinada

Modelo	Hiperparámetro	Valor óptimo
XGBoost	n_estimators	400
	learning_rate	0.05
	max_depth	4
	subsample	0.9
	colsample_bytree	0.7
	min_child_weight	2
	gamma	0
	reg_lambda	1
	reg_alpha	0.05

El proceso de optimización permitió identificar una configuración equilibrada del modelo XGBoost, (TABLA XX) caracterizada por un número moderado de iteraciones de *boosting*, una tasa de aprendizaje relativamente baja y una profundidad de árbol controlada. Esta combinación sugiere que el modelo logra un compromiso adecuado entre capacidad predictiva y regularización, evitando tanto el subajuste como el sobreajuste.

El valor óptimo de *learning rate* (0.05), junto con un número de árboles relativamente alto, indica que el modelo se beneficia de un aprendizaje gradual, lo cual resulta especialmente adecuado en contextos analíticos donde pequeñas variaciones en la señal instrumental pueden traducirse en diferencias significativas en la concentración estimada. Asimismo, los valores seleccionados para los parámetros de muestreo (*subsample* y *colsample_bytree*) contribuyen a reducir la varianza del modelo y mejorar su robustez frente a la variabilidad experimental. Finalmente, la inclusión de términos de regularización L1 y L2 en la configuración óptima refuerza la estabilidad del modelo, limitando la complejidad innecesaria y favoreciendo una mejor capacidad de generalización, aspecto clave en escenarios donde las curvas de calibración se incorporan de manera incremental.

4.5. Evaluación comparativa de los modelos de Machine Learning.

Con el objetivo de valorar la capacidad predictiva de los algoritmos implementados y determinar cuál de ellos reproduce con mayor precisión la relación entre la concentración de trazodona y la respuesta instrumental, se desarrolló un análisis comparativo basado en los resultados obtenidos. Esta etapa constituye un punto clave dentro del flujo metodológico, ya que permite contrastar, tanto visual como estadísticamente, el comportamiento de los tres modelos entrenados bajo el esquema log-log: *Regresión Lineal*, *Random Forest Regressor* y *XGBoost Regressor*.

El propósito central de esta evaluación es examinar la concordancia entre los valores reales y los valores predichos por cada modelo. En un escenario ideal, un modelo competente debería generar predicciones que se alineen estrechamente con la línea de identidad (valor predicho = valor real), reflejando un error mínimo y una correcta representación de la tendencia analítica del sistema. Para ello, se utilizó una función de visualización que gráfica, en unidades reales (ng/mL), los valores observados en el conjunto de prueba y sus respectivas predicciones reconstruidas a partir de los valores calculados en escala logarítmica. Estos gráficos permiten identificar patrones de subestimación o sobreestimación, así como evaluar la dispersión relativa entre las predicciones de cada modelo.

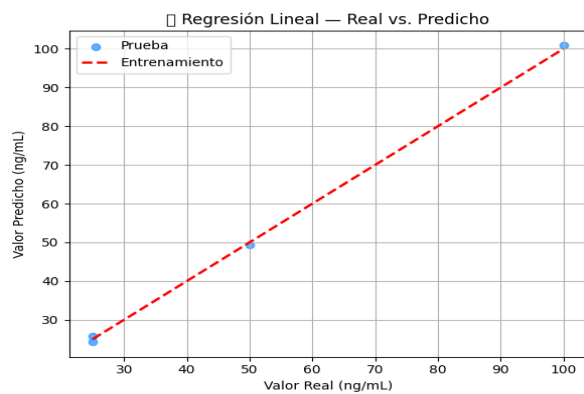


Fig. 9. Relación entre valores reales y predichos utilizando el modelo de Regresión Lineal

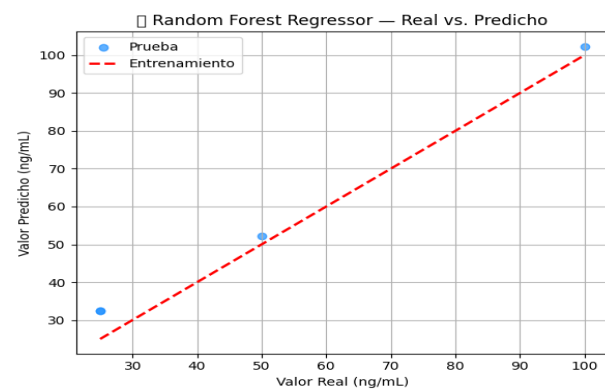


Fig. 10. Relación entre valores reales y predichos utilizando el modelo Random Forest Regressor

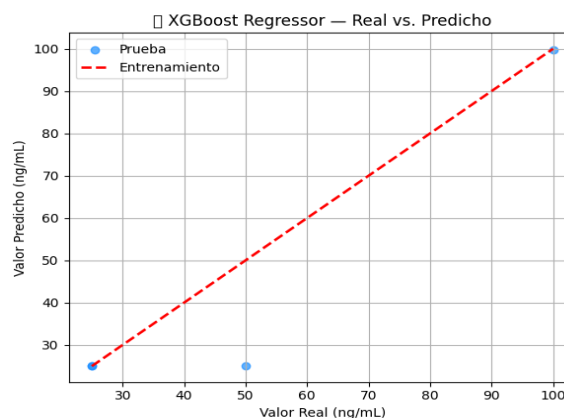


Fig. 11. Relación entre valores reales y predichos utilizando el modelo XGBoost Regressor.

En las Fig 9, 10 y 11 se presentan las comparaciones entre valores reales y predichos para los modelos de Regresión Lineal, *Random Forest* y *XGBoost*, respectivamente. Cada punto azul corresponde a una predicción individual en el rango de concentraciones evaluado, mientras que la línea roja segmentada representa la relación ideal. La proximidad de los puntos a dicha línea permite apreciar visualmente el grado de ajuste alcanzado por cada algoritmo.

Las predicciones obtenidas con el modelo de Regresión Lineal muestran una alineación prácticamente perfecta con la línea ideal, lo cual coincide con las métricas previamente calculadas y evidencia la fortaleza del ajuste lineal cuando los datos han sido estabilizados mediante la transformación logarítmica tras la adición de datos correspondiente a la primera curva de Trazodona. Por su parte, el modelo *Random Forest* presenta una dispersión moderada alrededor de los valores reales, con una ligera desviación en algunos puntos. Finalmente, el modelo *XGBoost* exhibe mayor dispersión y tendencia a subestimar, especialmente en los niveles bajos, lo cual también se ve reflejado en sus métricas cuantitativas.

Posteriormente, se elaboró una comparación gráfica adicional de las métricas de desempeño obtenidas para cada uno de los modelos. Esta representación se organizó en dos paneles: el primero muestra los valores de R^2 , y el segundo ilustra los valores del RMSE calculados en escala logarítmica. En la Fig. 12, se sintetiza esta comparación de manera visual y directa.

□ Comparación entre modelos (entrenamiento log-log)

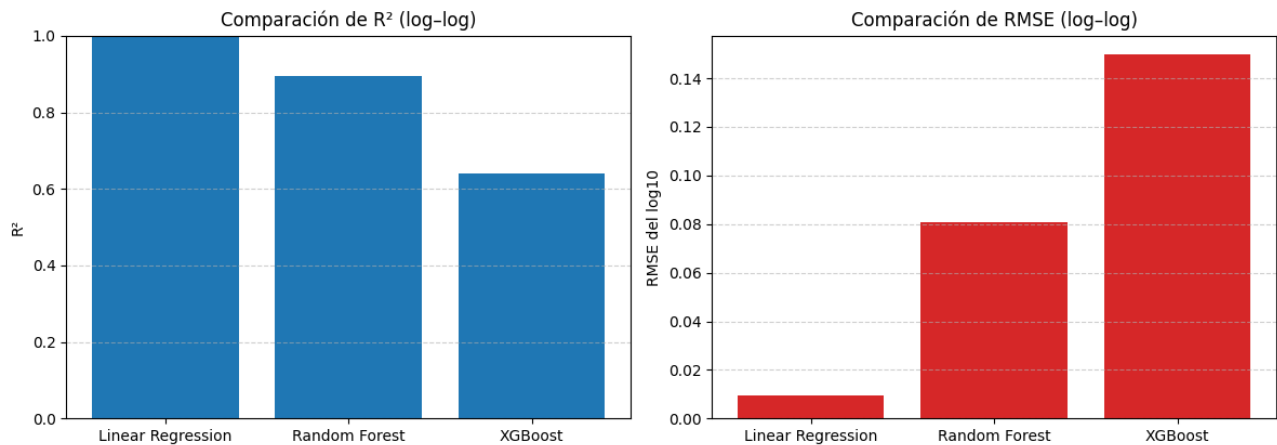


Fig. 12. Comparación de métricas de desempeño (R^2 y RMSE) entre modelos de regresión aplicados a la curva de cuantificación de Trazodona

Los resultados del análisis indican que el modelo de Regresión Lineal obtuvo un coeficiente de determinación notablemente alto ($R^2 \approx 0.9985$) y un error logarítmico mínimo (RMSE ≈ 0.0096), lo que lo posiciona como el mejor modelo en esta primera evaluación realizada únicamente con una curva. El *Random Forest* mostró un rendimiento intermedio ($R^2 \approx 0.8951$; RMSE ≈ 0.0808), capturando adecuadamente la tendencia general, aunque con mayor variabilidad. Por su parte, *XGBoost* obtuvo los valores más modestos ($R^2 \approx 0.6388$; RMSE ≈ 0.1500), lo cual es consistente con la sensibilidad de este algoritmo a la cantidad de datos disponibles en el entrenamiento.

Finalmente, se registraron las métricas de desempeño obtenidas para cada uno de los modelos, con el fin de establecer un historial que permita evaluar su evolución a medida que se incorporen nuevas curvas en etapas posteriores del estudio. La TABLA XXI reúne los valores de R^2 y RMSE correspondientes a los tres algoritmos evaluados tras la adición de datos correspondientes al conjunto de datos que forman una curva de Trazodona, proporcionando una visión comparativa clara del comportamiento inicial de cada uno. Este sistema de almacenamiento progresivo permitirá analizar, de forma ordenada y acumulativa, cómo el aumento en la cantidad de curvas de calibración influye sobre la estabilidad, precisión y capacidad predictiva de cada modelo a lo largo del tiempo.

TABLA XXII. Registro métricas de desempeño de los modelos de regresión

Modelo	R2_Curvas_1	RMSE_Curvas_1
Regresión Lineal	0.998536	0.009551
Random Forest	0.895103	0.08084
XGBoost	0.638827	0.150004

En conjunto, estos resultados proporcionan una visión detallada del comportamiento predictivo de los tres algoritmos bajo condiciones controladas. Si bien, tras la adición de datos correspondientes a una curva, la Regresión Lineal muestra el mejor desempeño inicial, es razonable anticipar que modelos más complejos como *Random Forest* y *XGBoost* puedan mejorar significativamente su rendimiento a medida que se incremente la cantidad de datos experimentales disponibles. La evolución de estas tendencias se analizará más adelante al incorporar progresivamente hasta diez curvas independientes.

4.5.1. Evaluación del desempeño de los modelos tras la aplicación del proceso de desescalado a la escala original

Con el fin de complementar el análisis realizado en el espacio logarítmico y evaluar el comportamiento real de los modelos desde un punto de vista analítico, se procedió a desescalar las predicciones obtenidas mediante la aplicación de la transformación inversa del logaritmo base 10, expresando los resultados nuevamente en unidades originales de concentración (ng/mL) Fig. 13. Esta evaluación permite cuantificar el error absoluto de predicción y facilita una interpretación directa del desempeño de los modelos en un contexto operativo de laboratorio.

Comparación entre modelos — métricas en escala original

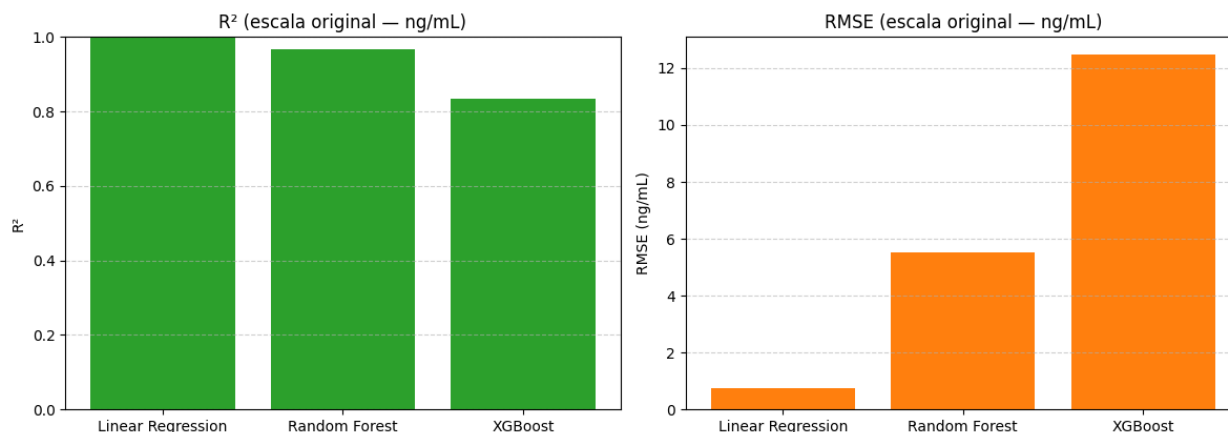


Fig. 13. Comparación de las métricas de desempeño (R^2 y RMSE) entre modelos de regresión evaluados en la escala original de concentración (ng/mL) tras la adición de la primera curva de cuantificación de Trazodona.

Los resultados obtenidos en la escala original (TABLA XXII) evidencian diferencias relevantes respecto a la evaluación realizada en el espacio logarítmico. En particular, el modelo de Regresión Lineal presentó un coeficiente de determinación extremadamente alto ($R^2 \approx 0.9994$) y un error cuadrático medio reducido (RMSE ≈ 0.75 ng/mL), lo que indica una excelente capacidad de ajuste y precisión absoluta cuando se dispone únicamente de una curva de calibración. Este comportamiento es consistente con la naturaleza aproximadamente lineal de la relación señal–concentración en condiciones controladas y con un conjunto de datos limitado.

Por su parte, el modelo Random Forest mostró un desempeño competitivo, alcanzando un $R^2 \approx 0.9677$ y un RMSE ≈ 5.51 ng/mL. Aunque su error absoluto es mayor en comparación con la Regresión Lineal, este resultado sugiere una adecuada capacidad de generalización, particularmente relevante a medida que se incrementa la cantidad de curvas y se introduce mayor variabilidad experimental. En contraste, XGBoost presentó el desempeño más modesto en la escala original ($R^2 \approx 0.8341$; RMSE ≈ 12.47 ng/mL), lo cual es atribuible a la sensibilidad de los métodos de *boosting* cuando el volumen de datos es reducido, así como a la amplificación de errores absolutos tras la transformación inversa desde el espacio logarítmico.

Adicionalmente, se implementó un mecanismo de registro histórico de las métricas de desempeño para cada modelo, permitiendo documentar de forma acumulativa la evolución del R^2 y el RMSE en la escala original conforme se incorporan nuevas curvas de calibración al conjunto de datos. Este enfoque proporciona una trazabilidad clara del comportamiento predictivo de los modelos y facilita el análisis de su estabilidad y robustez a lo largo del proceso incremental de construcción del modelo.

TABLA XXIII. Registro de las métricas de desempeño (R^2 y RMSE en ng/mL) de los modelos de regresión desescalados tras la adición de la primera curva de cuantificación de Trazodona

Modelo	R2_ngmL_Curvas_1	RMSE_ngmL_Curvas_1
Regresión Lineal	0.999406	0.746267
Random Forest	0.967672	5.505205
XGBoost	0.834089	12.471645

En conclusión, en esta primera etapa, el desempeño de los modelos fue evaluado en el espacio logarítmico (log–log), correspondiente a la escala utilizada durante el entrenamiento. En dicha escala, los modelos presentaron métricas de desempeño similares, con valores elevados de R^2 y errores reducidos, lo cual sugiere un buen ajuste en términos relativos. Sin embargo, este tipo de evaluación refleja principalmente el error proporcional y no permite una interpretación directa del impacto analítico en unidades reales de concentración.

Posteriormente, se aplicó el proceso de desescalado mediante la transformación inversa del logaritmo, permitiendo evaluar las predicciones en la escala original de concentración (ng/mL). Bajo este enfoque, se evidenciaron diferencias más marcadas entre los modelos, particularmente en términos de error absoluto (RMSE), lo cual resulta crítico en aplicaciones analíticas y forenses. Estos resultados demuestran que, si bien la evaluación en el espacio logarítmico es útil desde un punto de vista estadístico, la evaluación tras el desescalado proporciona una medida más realista y operativamente relevante del desempeño de los modelos.

En conjunto, este análisis confirma que la evaluación en la escala original es indispensable para una correcta interpretación del desempeño de los modelos predictivos y respalda la selección del modelo más adecuado no solo en función de su ajuste estadístico, sino también de su aplicabilidad práctica en el contexto de la toxicología forense.

4.5.2. Evaluación Predictiva de los Modelos usando controles de concentración conocida

Una vez entrenados y comparados los modelos de regresión, se llevó a cabo una evaluación adicional orientada a determinar su capacidad para predecir concentraciones reales en condiciones prácticas. Para ello, se utilizaron tres controles de calidad (QC) con valores nominales conocidos de 50 ng/mL, 400 ng/mL y 2500 ng/mL, procesados junto con la primera curva de Trazodona correspondiente al 13-04-2025. Esta fase constituye un paso esencial dentro del proceso de validación, ya que permite verificar si el desempeño alcanzado por los modelos en el conjunto de prueba se mantiene cuando se enfrentan a muestras reales y cuantificadas experimentalmente, evaluando así la precisión y coherencia de sus predicciones frente a valores de referencia establecidos.

Para ello se diseñó una serie de bloques de código (ver APPENDIX del AE al AN), que permiten ingresar las señales instrumentales (RESP) obtenidas experimentalmente tanto para el analito como para el estándar interno (ISTD). A partir de estos valores, el sistema calcula la relación de áreas y su correspondiente transformación logarítmica, replicando exactamente el procedimiento aplicado durante el entrenamiento del modelo. Este valor transformado se escala utilizando el mismo ajustador (*StandardScaler*) previamente

calibrado, garantizando la coherencia matemática y evitando sesgos producidos por diferencias en las magnitudes de las variables.

Posteriormente, los tres modelos entrenados Regresión Lineal, *Random Forest* y *XGBoost*, generan una predicción en escala logarítmica, la cual es reconvertida a unidades reales de concentración (ng/mL). Para cada control se calcula el error absoluto entre la concentración predicha y el valor nominal, permitiendo evaluar el comportamiento individual de cada algoritmo en distintos niveles del rango analítico.

Los resultados se procesan de forma independiente para cada control evaluado:

- Control QC Bajo (50 ng/mL)

Los tres modelos presentaron discrepancias moderadas respecto del valor nominal (TABLA XXIII). La Regresión Lineal mostró el desempeño más cercano al objetivo, con un error de -1.90 ng/mL, seguida por *Random Forest*, cuyo error fue ligeramente mayor. *XGBoost*, en contraste, subestimó de manera considerable este nivel, lo que sugiere una menor sensibilidad del modelo en concentraciones bajas cuando solo se entrena con una única curva calibrada.

Tabla XXIV. Resultados de los modelos para el control QC Bajo (50 ng/mL)

Modelo	Valor predicho (ng/mL)	Error (ng/mL)
Regresión Lineal	48.1	-1.9
Random Forest	46.87	-3.13
XGBoost	25.06	-24.94

- Control QC Medio (400 ng/mL)

En este nivel intermedio se observó un comportamiento distinto entre los modelos (TABLA XXIV). La Regresión Lineal y *Random Forest* tendieron a sobrestimar la concentración, mientras que *XGBoost* ofreció una predicción notablemente cercana al valor real (error $+1.25$ ng/mL), lo que evidencia una mejor adaptación de este algoritmo en zonas medias del rango analítico incluso bajo condiciones de entrenamiento limitadas.

TABLA XXV. Resultados de los modelos para el control QC Medio (400 ng/mL)

Modelo	Valor predicho (ng/mL)	Error (ng/mL)
Regresión Lineal	574.67	174.67
Random Forest	492.46	92.46
XGBoost	401.25	1.25

- Control QC Alto (2500 ng/mL)

A altas concentraciones, los resultados mostraron una marcada divergencia entre los modelos (TABLA XXV). La Regresión Lineal sobrestimó de manera relevante el valor nominal, mientras que *Random Forest* y *XGBoost* lo subestimaron significativamente. Este comportamiento refleja que, con una sola curva disponible, los modelos enfrentan mayores dificultades para capturar adecuadamente la dinámica de los niveles superiores del rango analítico, lo que resalta la necesidad de incorporar más curvas en futuras iteraciones para mejorar la estabilidad del ajuste en esta zona.

TABLA XXVI. Resultados de los modelos para el control QC Medio (2500 ng/mL)

Modelo	Valor predicho (ng/mL)	Error (ng/mL)
Regresión Lineal	3985.71	1485.71
Random Forest	783.54	-1716.46
XGBoost	799.37	-1700.63

Finalmente, cada bloque incorpora un sistema automático de registro histórico que almacena las predicciones generadas por los tres algoritmos para cada control evaluado. Este historial se actualiza de manera incremental cada vez que se añaden nuevas curvas de calibración al entrenamiento, permitiendo analizar cómo evoluciona el desempeño de los modelos a lo largo del tiempo. Este seguimiento longitudinal será especialmente útil para identificar tendencias, mejorar la interpretación de los resultados y determinar en qué momento el sistema alcanza un comportamiento estable y confiable en todos los rangos de concentración.

4.6. Evaluación de los Modelos tras la Incorporación de Diez Curvas de Calibración de Trazodona.

Con el propósito de evaluar de manera robusta el comportamiento de los modelos predictivos en condiciones más cercanas al uso real en el laboratorio, se integraron diez curvas completas de calibración de Trazodona, adquiridas entre el 13 de abril y el 21 de octubre de 2025. Estos datos provenientes de las curvas se incorporaron progresivamente al flujo de trabajo, lo que permitió analizar la evolución de los modelos de regresión a medida que aumentaba la cantidad de información disponible para el entrenamiento.

Cada curva fue procesada siguiendo los pasos ya detallados: limpieza inicial, conversión a escala logarítmica, construcción del conjunto de entrenamiento/prueba, entrenamiento de los algoritmos, desescalado de los modelos y evaluación con controles de concentración conocida. En este numeral se presentan los resultados obtenidos después de la incorporación de las diez curvas, junto con el análisis evolutivo observado durante el proceso.

4.6.1. Superposición de curvas limpias y comportamiento instrumental

La primera aproximación consistió en evaluar la consistencia entre las diferentes curvas integradas (Fig. 14). La superposición de las respuestas instrumentales permitió verificar la estabilidad del sistema cromatográfico y la coherencia en el comportamiento del analito a lo largo del tiempo.

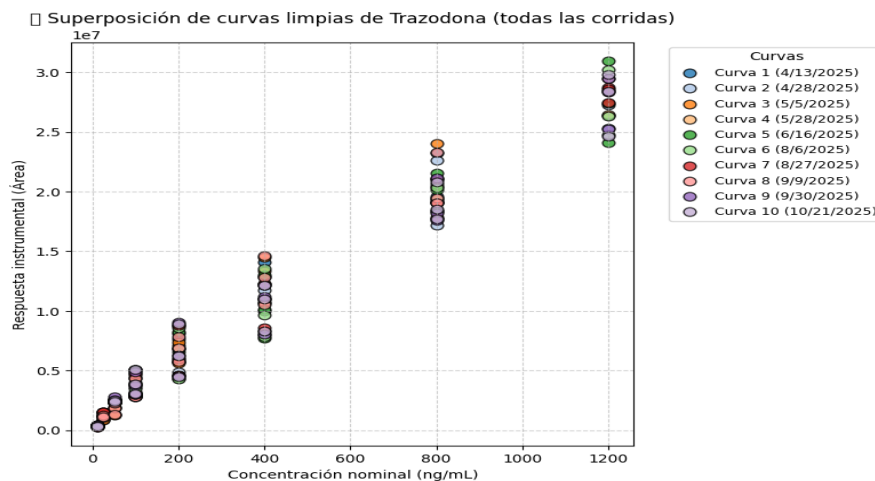


Fig. 14. Superposición de las diez curvas limpias de Trazodona en unidades naturales (área vs. concentración)

Esta representación muestra que, aunque se observan pequeñas variaciones entre las diferentes curvas, la tendencia general se mantiene estable y con patrones coherentes que justifican la agregación de datos para entrenamiento conjunto.

4.6.2. Representación log-log para las diez curvas de Trazodona

Al transformar las variables a escala logarítmica (\log_{10}), la alineación entre curvas mejora notablemente, reduciendo la dispersión relativa entre puntos de diferentes días analíticos

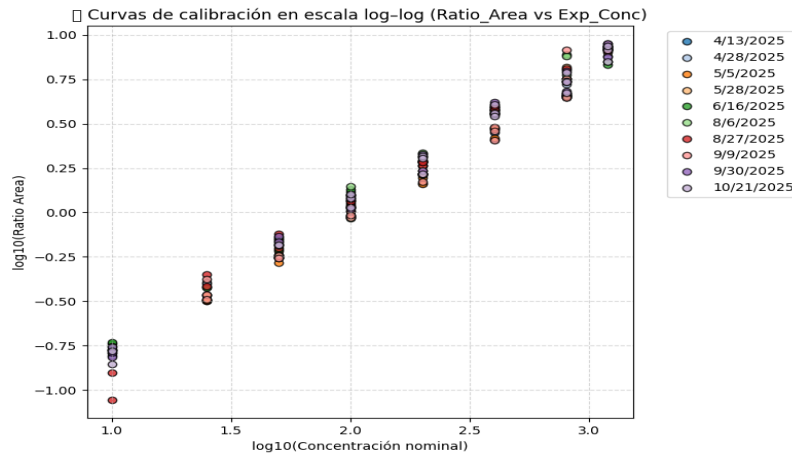


Fig. 15. Curvas de calibración en escala $\log\text{-}\log$ ($\log_{10}(\text{Ratio_Area})$ vs. $\log_{10}(\text{Exp_Conc})$).

En la Fig. 15 la gráfica demuestra que las diez curvas tienden a una estructura proporcional más uniforme, lo que explica el mejor desempeño observado en los modelos complejos cuando se emplea esta transformación.

4.6.3. Preparación del conjunto logarítmico para entrenamiento y prueba

Una vez integradas las diez curvas de calibración, el conjunto total de datos alcanzó 194 observaciones (TABLA XXVI) lo que representa un incremento significativo respecto a las etapas iniciales del estudio. A partir de este volumen ampliado, se realizó nuevamente la partición del *dataset* empleando la misma proporción utilizada en las fases previas. Como resultado, 155 observaciones fueron destinadas al conjunto de entrenamiento, mientras que 39 quedaron reservadas para el conjunto de prueba. Esta distribución mantiene la coherencia metodológica establecida anteriormente, aunque aplicada ahora sobre un conjunto de datos mucho más robusto, lo que favorece una evaluación más estable y representativa del desempeño de los modelos.

TABLA XXVII. División de datos en entrenamiento y prueba para las diez curvas (escala $\log\text{-}\log$)

#	Level	Resp	Resp_ISTD	Ratio_Area	Log_Ratio	Log_Exp_Conc	Conjunto
0	2	820208	2520152	0.32546	-0.487503	1.39794	Entrenamiento
1	2	1275844	3750758	0.340156	-0.468321	1.39794	Entrenamiento
2	2	1135415	3568553	0.318172	-0.497338	1.39794	Entrenamiento
3	3	1881419	3369397	0.558384	-0.253067	1.69897	Entrenamiento
4	3	2314256	4021805	0.575427	-0.24001	1.69897	Entrenamiento
...
190	7	20791218	4386327	4.740006	0.675779	2.90309	Entrenamiento
191	7	17688433	2869822	6.163599	0.789834	2.90309	Entrenamiento
192	8	28404796	3440479	8.256059	0.916773	3.079181	Prueba
193	8	29823467	3457925	8.624671	0.935743	3.079181	Entrenamiento
194	8	24668872	3495894	7.056527	0.848591	3.079181	Entrenamiento

La *TABLA XXVI* refleja la distribución final de los datos utilizados en los modelos, incluyendo las variables logarítmicas y la clasificación del conjunto correspondiente. (ver APPENDIX del AE al AN)

4.6.4. Desempeño de los modelos en escala log–log con diez curvas

Con la integración de las diez curvas de calibración obtenidas en distintas fechas, los modelos fueron reentrenados utilizando el conjunto completo de observaciones disponibles. Este aumento progresivo en la cantidad de datos permitió evaluar cómo evoluciona la capacidad predictiva de cada algoritmo conforme dispone de un volumen mayor de información experimental, lo que resulta especialmente relevante en estudios de cuantificación en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas donde la estabilidad del modelo depende en gran medida de la consistencia entre curvas independientes.

Al finalizar la incorporación progresiva de los datos de las diez curvas de calibración, se procedió a entrenar nuevamente los tres modelos evaluados en este estudio. Esta actualización del conjunto de entrenamiento permitió contrastar directamente cómo evolucionó el rendimiento de los algoritmos a medida que el volumen y la variabilidad de los datos aumentaron.

Los resultados obtenidos en esta etapa final reflejan un comportamiento más estable, preciso y generalizable, especialmente en los modelos no lineales (*TABLA XXVII*). Este desempeño puede observarse tanto en las métricas finales como en los registros históricos acumulados, que documentan la progresión curva a curva hasta completar las diez iteraciones.

Una vez entrenados los modelos, se calcularon nuevamente el coeficiente de determinación (R^2) y el error cuadrático medio en escala logarítmica (RMSE log). Estos indicadores permiten valorar simultáneamente el ajuste global y la magnitud del error de predicción en el espacio logarítmico, manteniendo la coherencia con el esquema log–log empleado en todas las fases del análisis. Los valores finales son los siguientes:

TABLA XXVIII. Métricas de desempeño de los modelos con diez curvas

Modelo	R^2	RMSE (log10)
Regresión Lineal	0.9806	0.0942
Random Forest	0.9929	0.0569
XGBoost	0.9949	0.048

Este comportamiento refleja un fortalecimiento generalizado del rendimiento, particularmente en los modelos basados en árboles (*Random Forest* y *XGBoost*), cuya capacidad para aprender patrones no lineales se ve favorecida conforme aumenta el número de curvas disponibles. La Regresión Lineal mantiene un desempeño sólido y estable, aunque, como es esperable, no captura en igual medida las variaciones presentes en los datos.

En conjunto, las métricas indican que la incorporación progresiva de curvas no solo mejora el ajuste global, sino que también reduce la dispersión de las predicciones, logrando representaciones más consistentes de la relación logarítmica entre la respuesta instrumental y la concentración experimental. Esto se aprecia en la disminución sistemática del RMSE en todos los modelos y en el incremento simultáneo de los valores de R^2 , lo que confirma que los algoritmos continúan aprendiendo eficazmente a medida que se amplía la base de datos.

4.6.5. Relación entre valores reales y predichos

Una vez completado el entrenamiento de los modelos con el conjunto ampliado de diez curvas de calibración, se procedió a evaluar su desempeño mediante una comparación gráfica entre los valores reales de concentración y los valores predichos por cada algoritmo *Figs. 16, 17 y 18*. Para ello, se generaron diagramas de dispersión en unidades de concentración (ng/mL), lo que permite observar de manera directa la capacidad de cada modelo para reproducir cuantitativamente el comportamiento del instrumento analítico.

Estas gráficas constituyen una herramienta esencial para evaluar el ajuste, ya que permiten identificar visualmente alineamiento con la línea de identidad, tendencias de sesgo, puntos discrepantes, y dispersión asociada al modelo. En este punto del análisis, las figuras reflejan el efecto acumulado de contar con diez curvas de calibración, lo cual representa un aumento sustancial en la información disponible para el aprendizaje del sistema respecto a la primera fase (donde solo se contaba con una curva).

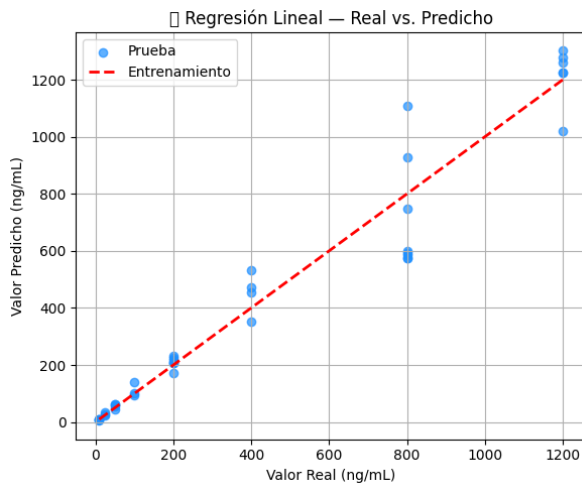


Fig. 16. Regresión Lineal – Valores reales vs. Predichos

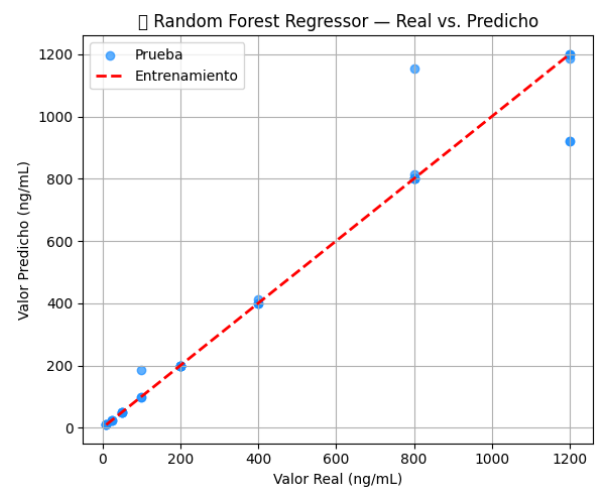


Fig. 17. Random Forest – Valores reales vs. predichos

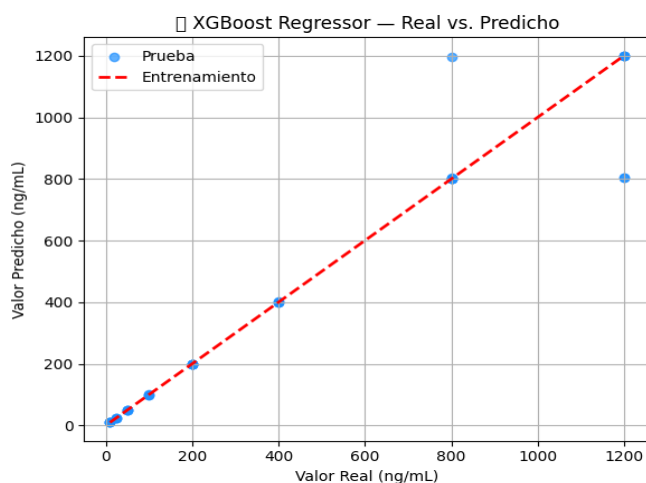


Fig. 18. XGBoost – Valores reales vs. predichos

Al comparar estas figuras (Figs. 16, 17 y 18), con las obtenidas durante el análisis inicial con una única curva, (Figs. 9, 10 y 11), se evidencia una mejora sustancial en la alineación de los puntos respecto a la línea con tendencia ideal. El aumento del tamaño muestral permitió que los modelos capturaran mejor la estructura funcional entre la relación de áreas y la concentración, reduciendo la varianza y la dispersión en los valores predichos.

En la figura correspondiente a la Regresión Lineal (Fig. 16), se observa un ajuste razonablemente bueno en la mayor parte del rango de concentraciones, aunque el modelo aún presenta una ligera tendencia a subestimar los valores altos y sobreestimar algunos valores bajos. Este comportamiento es esperable debido a la naturaleza estrictamente lineal del modelo, que tiende a limitar su flexibilidad frente a patrones sutilmente curvilíneos en los datos transformados en escala logarítmica.

Por su parte, los modelos *Random Forest* (Fig. 17) y *XGBoost* (Fig. 18), exhiben una alineación notablemente más estrecha con la línea de identidad, con menor dispersión residual y un seguimiento más fiel del comportamiento real del analito en todo el rango cuantitativo. Estos modelos muestran una estabilidad superior en las concentraciones extremas tanto bajas como altas lo cual sugiere una mejor capacidad para capturar variaciones que no son estrictamente lineales.

En este punto, los modelos de *Random Forest* y *XGBoost* se posiciona como el de mejor desempeño visual, mostrando un patrón de predicción muy concentrado alrededor de la línea ideal, incluso en los valores más altos, donde los demás modelos tienden a presentar divergencias más notorias.

En conjunto, esta evaluación gráfica confirma de manera visual lo que ya sugerían las métricas cuantitativas: la inclusión progresiva de las diez curvas fortaleció la capacidad predictiva de todos los modelos, y los algoritmos basados en ensamblajes (*Random Forest* y *XGBoost*) fueron capaces de aprovechar con mayor eficacia la información adicional disponible. Con ello, se evidencia el beneficio directo de incrementar la cantidad y diversidad de datos experimentales en sistemas basados en aprendizaje automático para calibración bioanalítica.

4.6.6. Comparación gráfica del rendimiento global

Con el objetivo de sintetizar el desempeño de los tres modelos evaluados tras la incorporación de las diez curvas de calibración, se generó una visualización comparativa basada en las dos métricas fundamentales utilizadas a lo largo del estudio: el coeficiente de determinación (R^2) y el error cuadrático medio en escala logarítmica (RMSE log). (Fig. 19). Ambas métricas permiten evaluar simultáneamente el grado de ajuste estadístico del modelo y la magnitud del error cometido al estimar las concentraciones a partir de la respuesta instrumental.

Las gráficas (Fig. 19) evidencian diferencias claras entre los modelos analizados. En primer lugar, el método de Regresión Lineal mantiene un desempeño estable, alcanzando un R^2 cercano a 0.98, lo cual confirma que conserva la capacidad de modelar adecuadamente la relación logarítmica entre concentración y respuesta instrumental aun cuando se incrementa el tamaño del conjunto de datos. No obstante, su RMSE se mantiene por encima del de los modelos no lineales, lo que sugiere cierta dificultad para adaptarse a variaciones locales en los distintos niveles de concentración.

En contraste, el modelo *Random Forest Regressor* presenta un incremento significativo en su capacidad explicativa conforme se fueron incorporando más curvas. Con diez curvas alcanza un R^2 superior a 0.99 acompañado de una reducción notable del RMSE log, reflejando una mayor estabilidad y una mejor capacidad para capturar patrones complejos dentro de los datos experimentales. Su desempeño en esta etapa muestra que el algoritmo logra beneficiarse directamente del incremento de muestras y diversidad en el conjunto de entrenamiento.

□ Comparación entre modelos (entrenamiento log-log)

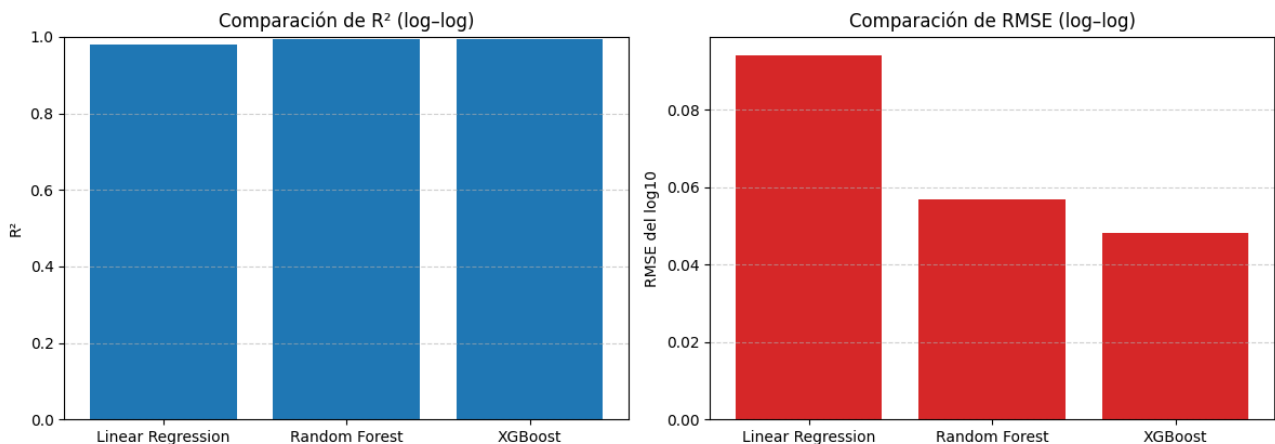


Fig. 19. Comparación de R^2 y RMSE entre modelos (entrenamiento log-log).

Finalmente, el modelo *XGBoost Regressor* exhibe el mejor equilibrio global entre ambas métricas. Con un R^2 de 0.9949 y el RMSE log más bajo de los tres, este algoritmo demuestra una capacidad sobresaliente para ajustarse a la estructura interna de los datos sin perder generalización. Además, su rendimiento mejora progresivamente con cada curva añadida, tal como se aprecia en el historial acumulado, lo cual confirma su idoneidad en escenarios donde el número de observaciones aumenta de manera incremental.

En conjunto, la comparación gráfica permite concluir que, si bien los tres modelos muestran mejoras sostenidas a medida que se amplía la base de datos, *Random Forest* y *XGBoost* se posicionan como los modelos más robustos mientras que la Regresión Lineal, aunque funcional y consistente, presenta un desempeño menor cuando se incorporan múltiples curvas y aumenta la variabilidad experimental.

4.6.7. Evolución histórica de los modelos al incorporar curvas sucesivas

Una comprensión del comportamiento de los modelos se obtiene al examinar la evolución de sus métricas conforme aumenta el número de datos provenientes de las curvas incorporadas al sistema. Cada nueva curva añade variabilidad instrumental y experimental, además de reforzar la representación del rango de trabajo, lo que incrementa de manera gradual la riqueza informativa del conjunto de entrenamiento. El historial acumulado permite visualizar cómo cada algoritmo ajusta progresivamente su estructura interna y mejora su capacidad de generalización a medida que dispone de mayor evidencia empírica.

Los registros almacenados automáticamente después de cada iteración muestran que, con los datos de una o dos curvas, las métricas presentan mayor inestabilidad. Esto era esperable, ya que en esta etapa temprana los modelos disponen de muy pocos puntos distribuidos en cada nivel de concentración, lo que limita su capacidad para inferir patrones consistentes y expone a los algoritmos basados en árboles (*Random Forest* y *XGBoost*) a una mayor sensibilidad frente a microvariaciones en la relación de áreas.

Cuando el sistema alcanza aproximadamente cuatro o cinco curvas, comienza a observarse un comportamiento más regular en los tres modelos: los cambios en las métricas entre una iteración y la siguiente disminuyen y los valores de R^2 tienden a concentrarse en rangos más estrechos. Este patrón indica que el conjunto de datos adquiere suficiente representatividad para permitir un entrenamiento más estable, en el que los algoritmos logran ajustar con mayor precisión las relaciones logarítmicas entre la señal instrumental y la concentración.

Al completarse la integración de las diez curvas, el rendimiento adquiere un carácter claramente asintótico. Los tres algoritmos muestran valores altos de R^2 y errores cada vez más reducidos, con especial énfasis en *XGBoost* y *Random Forest*, que demuestran una capacidad muy superior para beneficiarse del incremento de datos. Este comportamiento progresivo confirma que la adición sucesiva de nuevos conjuntos de datos correspondientes a las curvas no solo incrementa la robustez estadística del conjunto total, sino que también fortalece la capacidad de generalización de los modelos.

La evidencia experimental indica que los algoritmos basados en árboles aprovechan de manera más eficiente el aumento del volumen de datos, reduciendo la variabilidad entre iteraciones y alcanzando métricas notablemente estables a partir de ocho curvas. De esta manera, el sistema evoluciona hacia un estado maduro, en el que los modelos logran capturar de manera consistente la estructura subyacente de las curvas bioanalíticas (TABLA XXVIII).

A continuación, se presenta el historial completo de métricas R^2 y RMSE obtenido durante las diez iteraciones para cada uno de los modelos.

TABLA XXIX. Historial de métricas R^2 y RMSE para los tres modelos tras la adición de diez curvas de Trazodona

Cantidad de Curvas	Regresión Lineal		Random Forest		XGBoost	
	R^2	RMSE	R^2	RMSE	R^2	RMSE
1	0.998536	0.009551	0.895103	0.08084	0.638827	0.150004
2	0.988053	0.061926	0.998499	0.021947	0.999994	0.001423
3	0.987523	0.056807	0.999938	0.004014	0.884732	0.172665
4	0.97978	0.078291	0.999503	0.012271	0.908146	0.166869
5	0.983826	0.082751	0.995395	0.035902	0.951853	0.112078
6	0.976131	0.086419	0.990367	0.054901	0.919909	0.158302
7	0.98412	0.068804	0.999909	0.005216	0.970683	0.093485
8	0.980808	0.09091	1	1.4805E-11	0.988297	0.070991
9	0.98088	0.090597	0.993127	0.054318	0.985562	0.078727
10	0.980594	0.094185	0.992917	0.056903	0.994923	0.048172

4.6.8. Evaluación del desempeño de los modelos posterior al proceso de desescalado a la escala original tras la adición de diez curvas de Trazodona

Con el fin de complementar el análisis realizado en el espacio logarítmico y evaluar el desempeño de los modelos en términos directamente interpretables desde el punto de vista analítico, se procedió a realizar la evaluación de los modelos tras aplicar la transformación inversa del logaritmo, llevando las predicciones nuevamente a la escala original de concentración (ng/mL). Este proceso de desescalado permite cuantificar el error absoluto cometido por cada algoritmo al estimar concentraciones reales, lo cual resulta particularmente relevante en aplicaciones de toxicología forense, donde las decisiones analíticas se basan en valores absolutos de concentración.

Comparación entre modelos — métricas en escala original

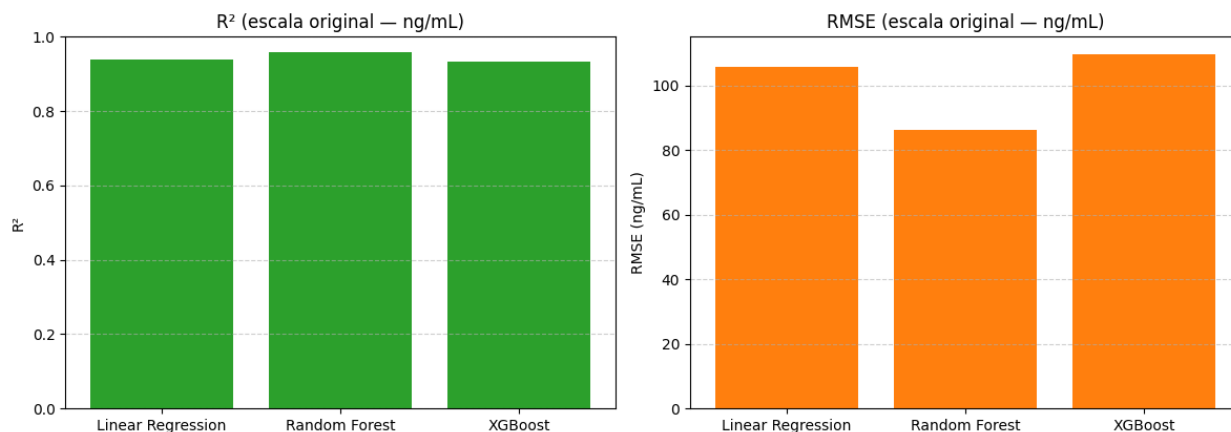


Fig. 20. Comparación gráfica de R^2 y RMSE en escala original (ng/mL) tras la incorporación de diez curvas de Trazodona

La Fig. 20 presenta la comparación del coeficiente de determinación (R^2) y del error cuadrático medio (RMSE) calculados en la escala original para los tres modelos evaluados. A diferencia de los resultados obtenidos en el espacio logarítmico, donde las métricas reflejan principalmente el ajuste relativo entre señal y concentración, la evaluación en (ng/mL) pone en evidencia diferencias sustanciales en la magnitud real del error cometido por cada modelo.

Los resultados indican que, tras la incorporación de las diez curvas de calibración, el modelo *Random Forest Regressor* alcanza el mejor compromiso entre ambas métricas, con un valor de $R^2 \approx 0.96$ y un RMSE ≈ 86 ng/mL, posicionándose como el modelo con menor error absoluto global. Este comportamiento sugiere una mayor capacidad del algoritmo para generalizar adecuadamente en la escala original, beneficiándose del aumento progresivo del volumen de datos y capturando de manera robusta la variabilidad experimental presente en las curvas de calibración.

Por su parte, el modelo de Regresión Lineal presenta un desempeño inferior en esta escala, con un RMSE superior a 100 ng/mL, lo que indica una mayor sensibilidad a errores absolutos, especialmente en concentraciones elevadas. Aunque mantiene una estructura estable en el espacio logarítmico, su capacidad para adaptarse a variaciones locales se ve limitada cuando las predicciones se expresan en unidades reales.

El modelo XGBoost, a pesar de haber mostrado un excelente desempeño relativo en el espacio logarítmico durante etapas intermedias del estudio, exhibe un incremento notable del RMSE tras el desescalado. Este comportamiento evidencia que pequeños errores relativos en el dominio logarítmico pueden traducirse en desviaciones absolutas significativas en ng/mL, particularmente en rangos altos de concentración.

TABLA XXX. Métricas de desempeño de los modelos en escala original (ng/mL) tras la incorporación de diez curvas de Trazodona

Cantidad de Curvas	Regresión Lineal		<i>Random Forest</i>		<i>XGBoost</i>	
	R^2	RMSE	R^2	RMSE	R^2	RMSE
1	0.999406	0.746267	0.967672	5.505205	0.834089	12.471645
2	0.957015	74.085928	0.995593	23.72239	0.999998	0.494672
3	0.956684	56.458666	0.999806	3.781368	0.862494	100.593101
4	0.901442	97.849445	0.99987	3.55456	0.865589	114.269352
5	0.894214	102.521739	0.939895	27.053918	0.931433	88.947362
6	0.911902	96.252001	0.988498	34.779151	0.975948	50.292403
7	0.933057	79.050055	0.998418	12.150895	0.984838	37.620343
8	0.949573	78.08539	1.000000	0.000000	0.99994	2.689556
9	0.931253	83.844865	0.951405	70.493329	0.912549	94.565785
10	0.938955	105.593567	0.959189	86.338095	0.934292	109.552231

La TABLA XXIX consolida los valores finales de R^2 y RMSE obtenidos por cada modelo en la escala original, confirmando cuantitativamente las tendencias observadas en la representación gráfica. La consistencia del desempeño de *Random Forest* en esta etapa respalda su selección como el modelo más adecuado desde un punto de vista analítico, al minimizar el error absoluto y ofrecer una mayor estabilidad en escenarios con múltiples curvas de calibración.

En conjunto, estos resultados demuestran que, si bien la evaluación en escala logarítmica resulta útil para analizar el ajuste estadístico y la estabilidad relativa de los modelos, la evaluación posterior al desescalado constituye el criterio más apropiado para la toma de decisiones prácticas. En consecuencia, la consideración de métricas en la escala original se establece como un paso indispensable para validar la aplicabilidad real de los modelos predictivos en el contexto de la cuantificación bioanalítica y la toxicología forense.

4.6.9. Evaluación Predictiva de los Modelos tras la adición de diez curvas de trazodona usando controles de concentración conocida

La etapa final del análisis consistió en desafiar los modelos entrenados con las diez curvas utilizando tres muestras de concentración conocida (controles) (QC Bajo, QC Medio y QC Alto). Este procedimiento permite verificar si la mejora observada en las métricas internas (R^2 y RMSE log) se traduce en un desempeño más preciso en condiciones reales, especialmente considerando que estas muestras (controles) no participan en el entrenamiento y constituyen el escenario práctico donde el modelo debe determinar su concentración correctamente.

Una primera revisión global muestra que la incorporación sucesiva de curvas generó un proceso de aprendizaje progresivo en los tres algoritmos, aunque cada uno lo hizo a ritmos y con patrones distintos. En el caso del QC Bajo (50 ng/mL), (TABLA XXX), por ejemplo, *Random Forest* logró estabilizarse muy rápidamente, alcanzando la concentración real con precisión exacta desde la incorporación de los datos de tres curvas al modelo y manteniéndose con la adición de los datos de todas las curvas restantes. *XGBoost* mostró un comportamiento más irregular, alternando entre predicciones bajas (≈ 25 ng/mL) con los datos de algunas curvas y valores prácticamente exactos con los datos de otras curvas, hasta estabilizarse a partir de la incorporación de los datos de siete curvas de trazodona. El modelo de regresión lineal, si bien nunca llegó a igualar exactamente el valor nominal, terminó aproximándose razonablemente con los datos después de incorporar diez curvas, reduciendo gradualmente sus desviaciones.

TABLA XXXI. Evolución de las predicciones por modelo del QC Bajo (50 ng/mL) a través de diez curvas

Modelo	Curvas_1	Curvas_2	Curvas_3	Curvas_4	Curvas_5	Curvas_6	Curvas_7	Curvas_8	Curvas_9	Curvas_10
LR	48.100188	44.706099	44.968549	43.889262	43.501266	42.80428	44.327069	44.206613	43.607084	44.088955
RF	46.867725	48.408535	50.000000	50.000000	50.000000	50.000000	50.000000	50.000000	50.000000	50.000000
XGB	25.059294	25.111307	49.977024	25.141434	25.106146	25.13641	49.98748	50.00259	49.980991	49.979946

En el QC Medio (400 ng/mL) (TABLA XXXI), el aprendizaje también muestra patrones característicos. *Random Forest* alcanzó la concentración real exactamente desde la inclusión de los datos de cuatro curvas, manteniendo un comportamiento impecable en el resto del historial. *XGBoost* se aproximó desde muy temprano (con los datos de pocas curvas), con fluctuaciones mínimas alrededor del valor real, mientras que la regresión lineal, aunque mejoró considerablemente respecto al escenario de los datos de una sola curva, continuó exhibiendo una tendencia sistemática a la sobreestimación, aun cuando la magnitud del sesgo disminuyó de forma consistente a medida que ingresaban al modelo más curvas.

TABLA XXXII. Evolución de las predicciones por modelo del QC Bajo (400 ng/mL) a través de diez curvas

Modelo	Curvas_1	Curvas_2	Curvas_3	Curvas_4	Curvas_5	Curvas_6	Curvas_7	Curvas_8	Curvas_9	Curvas_10
LR	574.66689	475.894286	485.058597	468.284584	463.641718	446.587037	436.544618	440.99211	440.373854	439.691738
RF	492.457765	400.925265	400.925265	400.0000	400.0000	400.0000	400.0000	400.0000	400.0000	400.0000
XGB	401.253052	399.821381	398.442932	399.760132	399.909607	399.895142	399.826874	399.83432	399.963196	399.912689

El comportamiento frente al QC Alto (2500 ng/mL) (TABLA XXXII). revela una situación distinta y particularmente relevante. Los modelos basados en árboles (*Random Forest* y *XGBoost*) como era de esperarse, nunca lograron acercarse de forma significativa a la concentración real debido a que el conjunto de datos de entrenamiento no contiene valores superiores a 1200 ng/mL. Este límite estructural impide que los algoritmos extrapolen adecuadamente hacia regiones no representadas en los datos originales. Por este motivo, ambos modelos convergieron hacia valores cercanos a 1200 ng/mL, lo cual coincide con el límite superior del rango aprendido. En el caso del modelo de regresión lineal, pese a ser el modelo más simple fue el que mejor se comportó para predecir concentraciones por fuera del rango de entrenamiento, disminuyendo progresivamente sus errores desde valores muy elevados en las primeras curvas, hasta aproximarse a 2648 ng/mL con la incorporación de los datos de diez curvas, lo cual representa el valor más cercano al real dentro del contexto de modelos entrenados en rangos inferiores.

TABLA XXXIII. Evolución de las predicciones por modelo del QC Bajo (2500 ng/mL) a través de diez curvas

Modelo	Curvas_1	Curvas_2	Curvas_3	Curvas_4	Curvas_5	Curvas_6	Curvas_7	Curvas_8	Curvas_9	Curvas_10
LR	3985.70714	3016.22372	3106.20487	2973.37598	2941.40455	2786.42399	2603.78082	2656.8457	2678.62176	2648.41576
RF	783.536238	1129.19139	1182.2915	1200.0000	1200.0000	1200.0000	1200.0000	1200.0000	1200.0000	1200.0000
XGB	799.366089	1199.099	1198.81799	1199.38538	1199.3136	1199.86218	1199.93335	1199.73706	1199.84839	1199.70215

En conjunto, el análisis revela fortalezas distintas según el escenario: *Random Forest* demostró una estabilidad sobresaliente dentro del rango cubierto por el entrenamiento, alcanzando rápidamente los valores reales tanto para QC Bajo como para QC Medio. *XGBoost*, aunque inicialmente inestable en el extremo bajo del rango, terminó mostrando un desempeño notablemente preciso a medida que más curvas fueron incorporadas, destacándose especialmente en el control de 400 ng/mL. La regresión lineal, aunque menos precisa dentro del rango, terminó siendo el único modelo capaz de extrapolar parcialmente en el QC Alto, precisamente porque no está limitado por la estructura discreta de los árboles de decisión.

Esta evaluación final confirma que el sistema aprende de manera acumulativa: cada curva adicional aporta variabilidad instrumental, replicación del rango y nuevas condiciones que fortalecen la capacidad predictiva de los modelos. El historial registrado permite visualizar este progreso de manera continua y demostrar que la robustez observada en los modelos no es producto de una curva aislada, sino del proceso secuencial de aprendizaje que se completa con las diez curvas.

5. CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

CONCLUSIONES.

El desarrollo metodológico presentado en este trabajo permitió consolidar un flujo de análisis reproducible, transparente y basado en principios metrológicos sólidos para la evaluación y predicción de concentraciones de Trazodona empleando modelos de aprendizaje automático. La construcción de un *dataset* confiable fue un aspecto determinante para el desempeño final de los algoritmos, razón por la cual se implementó un proceso exhaustivo de depuración, estandarización y validación de datos que garantizó que los modelos fueran entrenados únicamente con información representativa del comportamiento real del sistema analítico. La aplicación de procedimientos sistemáticos, tales como la verificación del estándar interno, la evaluación de linealidad por niveles, la identificación de valores atípicos mediante la prueba de Grubbs y la selección del rango óptimo de trabajo, permitió fortalecer la calidad y la coherencia interna del conjunto de datos empleado para el modelado.

La integración progresiva de diez curvas de calibración procedentes de diferentes fechas aportó diversidad instrumental y experimental al *dataset*, permitiendo evaluar empíricamente la capacidad de aprendizaje acumulativo de los modelos. Esto demostró que la variabilidad natural de las corridas analíticas no afecta negativamente la calibración cuando los datos son adecuadamente preprocesados; por el contrario, la inclusión de múltiples curvas incrementó la robustez del sistema y favoreció la estabilización de los parámetros estadísticos. A medida que se incorporaron nuevas curvas, los modelos fueron reduciendo sus errores y ampliando su capacidad de generalización, lo que confirma que el aprendizaje supervisado en entornos analíticos se beneficia significativamente del aumento gradual de datos provenientes de condiciones reales de laboratorio.

El análisis comparativo entre los tres algoritmos Regresión Lineal, *Random Forest Regressor* y *XGBoost Regressor* reveló diferencias sustanciales en cuanto a velocidad de aprendizaje, comportamiento frente a distintos rangos de concentración y capacidad predictiva bajo el enfoque log-log. Si bien *XGBoost* alcanzó los mejores indicadores globales con las diez curvas ($R^2 = 0.9949$ y $RMSE \log = 0.0482$), *eRandom Forest* mostró un desempeño especialmente notable en términos de estabilidad y rapidez para converger a valores reales en los controles de calidad incluidos dentro del rango de entrenamiento. En el QC Bajo (50 ng/mL) y QC Medio (400 ng/mL), el modelo *Random Forest* alcanzó predicciones casi exactas desde las primeras curvas, lo que evidencia su capacidad para aprender relaciones estructurales en presencia de variabilidad experimental. El modelo de regresión lineal, aunque conceptualmente más simple, mantuvo un comportamiento consistente dentro del rango validado y demostró ser el modelo más apto para extrapolar hacia valores por encima de los niveles disponibles en el entrenamiento, como se observó en el QC Alto (2500 ng/mL), donde fue el único algoritmo capaz de aproximarse progresivamente al valor real.

Este comportamiento diferencial entre los modelos pone de manifiesto un aspecto clave del aprendizaje automático aplicado a métodos analíticos: no existe un algoritmo universalmente óptimo para todos los escenarios. Sin embargo, a partir de la evaluación comparativa realizada, *Random Forest* se consolidó como el mejor modelo entre los tres analizados, al demostrar la mayor estabilidad y robustez dentro del rango operativo real del método, que es el de mayor relevancia práctica. Si bien *XGBoost* presentó el mejor desempeño global en términos estrictamente métricos y la regresión lineal mostró mayor confiabilidad en situaciones que requerían extrapolación más allá del rango de entrenamiento, *Random Forest* ofreció el

equilibrio más adecuado entre precisión, estabilidad y aplicabilidad analítica, lo que justifica su selección como el modelo óptimo en este estudio.

Los resultados obtenidos demuestran que la incorporación de metodologías de *Machine Learning* en el tratamiento de datos obtenidos por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas LC-QTOF representa una alternativa viable y de alto valor para laboratorios de análisis toxicológico. La automatización del flujo de limpieza de datos, el análisis estadístico previo y el modelado predictivo permiten reducir la intervención manual, minimizar errores derivados de manipulación de datos y mejorar la capacidad diagnóstica del laboratorio mediante la detección anticipada de desviaciones instrumentales. Asimismo, el enfoque log-log implementado permitió estabilizar la varianza en los extremos del rango y facilitó el aprendizaje de patrones complejos que no podrían ser totalmente descritos mediante la regresión lineal en su forma original.

La metodología propuesta es completamente escalable y puede adaptarse sin dificultad a otros analitos o matrices, siempre que se disponga de un esquema similar de adquisición de datos y validación. Esto representa un avance significativo hacia la modernización de los procesos de cuantificación, especialmente en contextos donde se manejan grandes volúmenes de información y se requiere uniformidad en el procesamiento. El trabajo presentado constituye, además, una base técnica para la futura integración de sistemas automatizados de análisis y control de calidad, así como para la implementación de modelos predictivos en entornos operativos de toxicología forense.

En conjunto, los resultados obtenidos confirman que la precisión y fiabilidad del proceso de predicción dependen tanto del modelo seleccionado como de la calidad del conjunto de entrenamiento, la estandarización del preprocesamiento y la amplitud del rango calibrado. La evidencia generada respalda firmemente la utilidad del *Machine Learning* como complemento de las técnicas analíticas convencionales, al ofrecer herramientas que fortalecen la trazabilidad, incrementan la reproducibilidad y permiten aprovechar al máximo la información contenida en las curvas de calibración. Este estudio demuestra que la integración estratégica de modelos matemáticos y datos experimentales puede transformar los procesos de cuantificación, consolidando sistemas más robustos, inteligentes y alineados con las exigencias actuales.

Este trabajo representa un aporte innovador para el TOXF-INMLCF, al proponer una alternativa moderna frente a la manera tradicional en que se construyen, validan y evalúan las curvas de calibración. Mientras el procedimiento actual exige la preparación periódica de nuevas curvas para cada conjunto de analitos, una vez la curva pierde validez, lo cual constituye un proceso dispendioso que requiere tiempo especializado del perito, consumo significativo de materiales de referencia y uso continuo de reactivos, el enfoque basado en aprendizaje automático permite integrar grandes volúmenes de datos históricos, detectar patrones, automatizar la evaluación estadística y anticipar el comportamiento de las curvas antes de su aplicación rutinaria. Esto se traduce en una herramienta potencial para mejorar la trazabilidad, reducir la variabilidad operativa entre analistas, acelerar procesos de aseguramiento de la calidad, y fortalecer la capacidad del laboratorio para trabajar bajo criterios metrológicos más robustos y reproducibles. En conjunto, la metodología propuesta abre la puerta a la construcción futura de curvas predictivas inteligentes, con capacidad de autoajuste y verificación continua, lo que constituye una transformación significativa respecto al esquema convencional empleado actualmente en la institución.

TRABAJOS FUTUROS.

El presente trabajo abre diversas líneas de desarrollo que pueden fortalecer y ampliar la utilidad de los modelos construidos. La primera de ellas consiste en continuar incrementando el conjunto de datos mediante la incorporación sistemática de nuevas curvas de calibración de trazodona obtenidas bajo condiciones controladas. La ampliación progresiva del *dataset* permitirá mejorar la capacidad de generalización de los modelos y reducir la varianza asociada a variaciones instrumentales propias de cada corrida analítica. La inclusión de más curvas también facilitará el análisis comparativo entre diferentes días de trabajo, analistas y condiciones operativas, lo que aportará evidencia sólida sobre la estabilidad temporal del sistema y la robustez de los algoritmos empleados.

Otra proyección relevante consiste en explorar la integración de variables instrumentales adicionales dentro de los modelos predictivos. Parámetros como tiempos de retención, áreas normalizadas, indicadores de simetría cromatográfica o métricas de resolución podrían aportar información complementaria que ayude a caracterizar con mayor precisión el comportamiento del sistema analítico. Su incorporación permitiría profundizar en la identificación de patrones vinculados a fenómenos de saturación, deriva instrumental o efectos de matriz, aumentando la sensibilidad del modelo ante cambios sutiles del método.

Desde una perspectiva computacional, se considera pertinente evaluar técnicas más avanzadas de aprendizaje automático, especialmente modelos de aprendizaje profundo. Arquitecturas como redes neuronales artificiales o modelos convolucionales aplicados a señales cromatográficas completas podrían capturar relaciones no lineales más complejas y superar las limitaciones naturales de los métodos tradicionales cuando se trabaja con matrices altamente variables o con rangos de concentración especialmente amplios. Estas estrategias abrirían la posibilidad de generar modelos capaces de interpretar directamente perfiles cromatográficos, reduciendo la dependencia de variables procesadas y favoreciendo la automatización integral del flujo analítico.

Asimismo, resulta de interés el desarrollo de un sistema de visualización implementado a través de una plataforma que permita integrar los modelos entrenados dentro del entorno operativo del laboratorio. Una herramienta de este tipo posibilitaría la predicción automática de concentraciones a partir de nuevas adquisiciones instrumentales, así como la generación automatizada de reportes analíticos e informes, todo dentro de un mismo entorno visual. Esto facilitaría la transferencia del modelo al uso rutinario y proporcionaría un sistema de apoyo que complemente los procedimientos de cuantificación, disminuyendo la carga operativa y reduciendo el riesgo de errores humanos.

Finalmente, la metodología diseñada no se limita a la trazodona y puede extenderse a la totalidad de los compuestos incluidos en el objetivo específico 1 de la investigación. Su aplicación transversal permitiría consolidar una arquitectura predictiva generalizada para múltiples analitos, generando un sistema integral de apoyo a la cuantificación instrumental basado en aprendizaje automático. Este enfoque contribuiría significativamente al fortalecimiento de la analítica forense moderna y al mejoramiento continuo de los procesos de aseguramiento de calidad en los laboratorios que implementen tecnologías cromatográficas acopladas a espectrometría de masas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] H. J. Castro Cruz, A. Pinzón Peralta, G. A. Fontanilla Duque, S. H. Jaramillo Sandoval, M. A. Rizo Hurtado, y N. M. Pérez Pérez, *Toxicología Forense, embriaguez y alcoholemia*, 1ª ed. Bogotá, Colombia: Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, 2010, p. 17.
- [2] J. M. Muñoz and S. G. Alberola, *Manual de medicina y toxicología forense*, 2nd ed. Sant Vicent del Raspeig, Spain: Publications de la Universitat D'Alacant, 2016, p. 246.
- [3] D. Córdoba, *Toxicología*, 5ª ed. Bogotá, Colombia: Manual Moderno, 2006, p. 19.
- [4] B. S. Levine and S. Kerrigan, *Principles of Forensic Toxicology*, 5th ed. Cham, Switzerland: Springer, 2020, p. 246.
- [5] J. D. Kelleher and B. Tierney, *Ciencia de Datos*, 1st ed. Massachusetts, MA, USA: MIT Press, 2018, p. 78.
- [6] H. Hong, *Advances in Computational Toxicology*, 1st ed. Cham, Switzerland: Springer, 2019, pp. 2–4.
- [7] H. Hong, *Machine Learning and Deep Learning in Computational Toxicology*, 1st ed. Cham, Switzerland: Springer, 2023, pp. 5–9.
- [8] B. Reisfield and A. N. Mayeno, *Computational Toxicology*, vol. I. New York, NY, USA: Humana Press, 2012, p. 244.
- [9] N. J. Nilsson, *Introduction to Machine Learning*, 1st ed. Stanford, United States: Stanford University, 1996, pp. 2–3.
- [10] W. K. Wong and P. A. Lachenbruch, "Designing studies for dose response," *Statistics in Medicine*, vol. 15, pp. 343–359, 1996.
- [11] I. Lambev et al., "Machine Learning-Based Prediction of Rule Violations for Drug-Likeness Assessment in Peptide Molecules Using Random Forest Models," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 26, no. 8407, pp. 1–22, 2025, doi: 10.3390/ijms26178407.
- [12] D. A. Redelmeier and J. Zipursky, "A Dose of Reality About Dose–Response Relationships," *Journal of General Internal Medicine*, vol. 38, pp. 3348–3350, 2023.
- [13] S. W. Jarantow, E. D. Pisors, and M. L. Chiu, "Introduction to the use of linear and nonlinear regression analysis in quantitative biological assays," *Current Protocols*, vol. 3, no. 6, p. e801, 2023.
- [14] C. Martin-Fumadó, E. Barbería-Marcalain, y J. Arimany-Manso, "Artificial Intelligence in Forensic Sciences: The Future is Now," *Revista Española de Medicina Legal*, vol. 50, pp. 89–91, 2024. doi: 10.1016/j.reml.2024.09.001.
- [15] L. Niżnik, K. Jabłońska, M. Orczyk, M. Orzechowska, J. Toporowska-Kaźmierak, M. Sowińska, J. Jasińska,

- and K. Jurowski, "Toxicity of New Psychoactive Substance (NPS): Threo-4-methylmethylphenidate (4-Mmph) – Prediction of toxicity using in silico methods," *Toxicology in Vitro*, vol. 99, p. 105891, 2024. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2024.105891>.
- [16] R. Sharma, Diksha, A. R. Bhute, and B. K. Bastia, "Application of artificial intelligence and Machine Learning technology for the prediction of postmortem interval: A systematic review of preclinical and clinical studies," *Forensic Science International*, vol. 340, p. 111473, 2022. Available: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2022.111473>.
- [17] Q.-Y. Jiang, Y. Zhang, Y. Sun, L.-X. Wang, Z. Mao, C. Pian, P. Huang, F. Chen, and Y. Cao, "On-site SERS analysis and intelligent multi-identification of fentanyl class substances by deep Machine Learning," *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 325, p. 125090, Sep. 2024. DOI: 10.1016/j.saa.2024.125090.
- [18] Y.-L. Yeh, C.-Y. Wen, C.-L. Hsieh, Y.-H. Chang, and S.-M. Wang, "In vitro metabolic studies and Machine Learning analysis of mass spectrometry data: A dual strategy for differentiating alpha-pyrrolidinohexiophenone (α -PHP) and alpha-pyrrolidinoisohexanophenone (α -PiHP) in urine analysis," *Forensic Science International*, vol. 361, no. 112134, pp. 1–10, 2024.
- [19] T. Correa, J. S. Barbosa, T. V. B. da Silva, T. S. J. da Silva Parente, D. de P. Magalhães, and W. P. Holanda Júnior, "A QSAR-based application for the prediction of lethal blood concentration of new psychoactive substances," *Emerging Trends in Drugs, Addictions, and Health*, vol. 4, p. 100156, Jul. 2024.
- [20] H. Y. Jang, J. Song, J. H. Kim, H. Lee, I. W. Kim, B. Moon, and J. M. Oh, "Machine Learning-based quantitative prediction of drug exposure in drug-drug interactions using drug label information," *npj Digital Medicine*, vol. 5, no. 88, 2022. Available: <https://doi.org/10.1038/s41746-022-00639-0>.
- [21] G. L. Streun, M. P. Elmiger, Á. Dobay, L. Ebert, and T. Kraemer, "A Machine Learning approach for handling big data produced by high resolution mass spectrometry after data independent acquisition of small molecules – Proof of concept study using an artificial neural network for sample classification," *Drug Testing and Analysis*, vol. 12, no. 6, pp. 836–845, 2020. DOI: 10.1002/dta.2775.
- [22] T. Wang, Q. Zheng, Q. Yang, F. Guo, H. Cui, M. Hu, C. Zhang, Z. Chen, S. Fu, Z. Guo, Z. Wei, and K. Yun, "The metabolic clock of ketamine abuse in rats by a Machine Learning model," *Scientific Reports*, vol. 14, no. 18867, 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-69805-6.
- [23] M. Stolz et al., "Feasibility of precise and reliable glucose quantification in human whole blood samples by 1 tesla benchtop NMR," *NMR in Biomedicine*, vol. 33, no. 9, p. e4358, 2020. DOI: 10.1002/nbm.4358.
- [24] R. Ota and F. Yamashita, "Application of Machine Learning techniques to the analysis and prediction of drug pharmacokinetics," *Journal of Controlled Release*, vol. 352, pp. 961–969, Nov. 2022. DOI: 10.1016/j.jconrel.2022.11.014.
- [25] L. L. Xu, A. Young, A. Zhou, and H. L. Röst, "Machine Learning in Mass Spectrometric Analysis of DIA Data," *Proteomics*, vol. 20, no. 3, pp. 1900352, 2020. Available: <https://doi.org/10.1002/pmic.201900352>.

- [26] D. K. Molina and V. M. Hargrove, *Handbook of Forensic Toxicology for Medical Examiners*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2019.
- [27] F. E. Grubbs, "Procedures for Detecting Outlying Observations in Samples," *Technometrics*, vol. 11, no. 1, pp. 1–21, Feb. 1969.
- [28] Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX), "Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology," *Journal of Analytical Toxicology*, vol. 37, no. 7, pp. 452–474, 2013, doi:10.1093/jat/bkt054.
- [29] AAFS Standards Board, *ANSI/ASB Standard 036: Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology*, 1st ed., Colorado Springs, CO, USA, 2019.
- [30] P. Heredia Marroquín, *Guía para la validación de métodos bioanalíticos: aplicación a la toxicología forense*, Monografía para optar al título de Especialista en Farmacología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, 2001.
- [31] D. C. Montgomery, E. A. Peck and G. G. Vining, *Introduction to Linear Regression Analysis*, 5th ed. Hoboken, NJ, USA: Wiley, 2012.

APPENDIX A- DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 13 DE ABRIL, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL:

DEACN23423/SG13372001

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone Exp. Conc.	Trazodone RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	Flurazepam RT	Resp.
Ca-2500-C1-S	Ca-2500-C1-S.d	Sample		4/13/2025 10:59		5.853783333	65602903.95	FALSO	16647.08	16647.0768		8.123366667	4236063.24
Cb-50-C1-S	Cb-50-C1-S.d	Sample		4/13/2025 10:25		5.895966667	4446635.278	FALSO	587.8021	587.802121		8.13915	8131631.94
Cm-400-C1-S	Cm-400-C1-S.d	Sample		4/13/2025 10:42		5.91115	30915080.48	FALSO	3843.025	3843.02481		8.111316667	8647180.92
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 1- 10 ng mL	Cal	1	4/13/2025 12:25	10	5.882266667	456009.4772	FALSO	155.7374	155.737425	1557.3742	8.127466667	3147445.59
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 2- 10 ng mL	Cal	1	4/13/2025 16:57	10	5.900683333	198659.6231	FALSO	175.3533	175.353277	1753.5328	8.126866667	1217791.88
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 3- 10 ng mL	Cal	1	4/13/2025 21:30	10	5.84515	414932.1803	FALSO	169.5592	169.55916	1695.5916	8.123866667	2630469.15
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 1- 25 ng mL	Cal	2	4/13/2025 12:42	25	5.883016667	819890.1532	FALSO	338.2095	338.209459	1352.8378	8.142033333	2605837.17
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 2- 25 ng mL	Cal	2	4/13/2025 17:14	25	5.8935	1275844.441	FALSO	361.7152	361.715227	1446.8609	8.096683333	3791475.79
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 3- 25 ng mL	Cal	2	4/13/2025 21:47	25	5.91155	1135415.024	FALSO	339.76	339.759966	1359.0399	8.11415	3592194.01
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 1- 50 ng mL	Cal	3	4/13/2025 12:59	50	5.919266667	1887190.902	FALSO	595.3831	595.383052	1190.7661	8.151416667	3407192.88
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 2- 50 ng mL	Cal	3	4/13/2025 17:32	50	5.878333333	2314256.119	FALSO	608.4853	608.485282	1216.9706	8.14055	4088261.77
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 3- 50 ng mL	Cal	3	4/13/2025 22:04	50	5.9052	1350109.788	FALSO	593.9777	593.977743	1187.9555	8.104516667	2443297.03
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 1- 100 ng mL	Cal	4	4/13/2025 13:16	100	5.918833333	2825576.62	FALSO	1003.558	1003.55766	1003.5577	8.1346	3026509.98
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 2- 100 ng mL	Cal	4	4/13/2025 17:49	100	5.858683333	3025449.378	FALSO	1130.108	1130.10803	1130.108	8.107816667	3277711.69
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 3- 100 ng mL	Cal	4	4/13/2025 22:21	100	5.869683333	4332850.168	FALSO	994.1828	994.182774	994.18277	8.095283333	4684732.41
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 1- 200 ng mL	Cal	5	4/13/2025 13:33	200	5.90685	5729646.016	FALSO	1718.797	1718.79676	859.39838	8.102883333	3583278.95
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 2- 200 ng mL	Cal	5	4/13/2025 18:06	200	5.865583333	6817212.781	FALSO	1677.533	1677.53257	838.76628	8.1438	4368307.89
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 3- 200 ng mL	Cal	5	4/13/2025 22:39	200	5.921683333	7632789.805	FALSO	1545.773	1545.77254	772.88627	8.0946	5307806.33
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 1- 400 ng mL	Cal	6	4/13/2025 13:50	400	5.890966667	10633542.33	FALSO	2709.245	2709.24519	677.3113	8.116116667	4218975.53
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 2- 400 ng mL	Cal	6	4/13/2025 18:23	400	5.856633333	14046616.23	FALSO	2949.233	2949.23306	737.30827	8.129433333	5119646.51
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 3- 400 ng mL	Cal	6	4/13/2025 22:56	400	5.876933333	12877372.54	FALSO	3005.326	3005.32559	751.3314	8.094433333	4605884.93
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 1- 800 ng mL	Cal	7	4/13/2025 14:07	800	5.8532	19580198.35	FALSO	4671.302	4671.30213	583.91277	8.093483333	4505639.93
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 2- 800 ng mL	Cal	7	4/13/2025 18:40	800	5.887933333	18895880.37	FALSO	4735.682	4735.68153	591.96019	8.109083333	4289058.74
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 3- 800 ng mL	Cal	7	4/13/2025 23:13	800	5.856616667	23333987.09	FALSO	4774.923	4774.92264	596.86533	8.119483333	5252910.07
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 1- 1200 ng mL	Cal	8	4/13/2025 14:24	1200	5.873433333	20375827.67	FALSO	6688.231	6688.2305	557.35254	8.147466667	3274774.34
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 2- 1200 ng mL	Cal	8	4/13/2025 18:57	1200	5.89245	19881740.76	FALSO	7697.38	7697.37951	641.44829	8.16345	2776443.62
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 3- 1200 ng mL	Cal	8	4/13/2025 23:30	1200	5.837	31903109.82	FALSO	6082.415	6082.41474	506.86789	8.0918	5638120.34
N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 1- 1600 ng mL	Cal	9	4/13/2025 14:41	1600	5.894966667	40087822.39	FALSO	7557.512	7557.51249	472.34453	8.12955	5701786.41
N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 2- 1600 ng mL	Cal	9	4/13/2025 19:14	1600	5.845016667	37830806.82	FALSO	7794.73	7794.72968	487.17061	8.083466667	5217012.74
N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 3- 1600 ng mL	Cal	9	4/13/2025 23:47	1600	5.830233333	42473308.13	FALSO	7300.84	7300.83991	456.30249	8.120216667	6253463.44
N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 1- 3200 ng mL	Cal	10	4/13/2025 14:58	3200	5.870883333	48982116.46	FALSO	12877.07	12877.0722	402.40851	8.0892	4088817.88
N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 2- 3200 ng mL	Cal	10	4/13/2025 19:31	3200	5.815216667	61815410.09	FALSO	11634.05	11634.0515	363.56411	8.090183333	5711407.22
N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 3- 3200 ng mL	Cal	10	4/14/2025 0:04	3200	5.857483333	56996199.32	FALSO	11850.41	11850.4111	370.32535	8.096716667	5169991.54
N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 1- 5000 ng mL	Cal	11	4/13/2025 15:15	5000	5.801183333	76325704.97	FALSO	15854.52	15854.5151	317.0903	8.089633333	5174819.58
N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 2- 5000 ng mL	Cal	11	4/13/2025 19:48	5000	5.8275	76767618.3	FALSO	15010.24	15010.2414	300.20483	8.065133333	5497531.72
N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 3- 5000 ng mL	Cal	11	4/14/2025 0:21	5000	5.795416667	83888415.29	FALSO	14485.32	14485.3232	289.70646	8.06695	6225169.12
N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 1- 10000 ng mL	Cal	12	4/13/2025 15:32	10000	6.11555	9724.566092	FALSO	2.354281	2.354281	0.0235428	8.108383333	4440064.58
N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 2- 10000 ng mL	Cal	12	4/13/2025 20:05	10000	6.5834	49101.60788	FALSO	8.663409	8.66340946	0.0866341	8.09175	6092341.3
N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 3- 10000 ng mL	Cal	12	4/14/2025 0:38	10000	5.2271	13692.66848	FALSO	2.248493	2.248493	0.0224849	8.111083333	6545968.43

APPENDIX B- DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 28 DE ABRIL, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone M Trazodone Results					Flurazepam (ISTD) Results				
					Exp. Conc.	RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	RT	Resp.	
N1-REP 1- 10	N1-REP 1- 10	Cal	1	4/28/2025 6:00	10	5.956	416988	False	172.698	172.698	1727	8.044	2528160	
N1-REP 2- 10	N1-REP 2- 10	Cal	1	4/28/2025 9:36	10	5.809	388181	False	188.5065	188.5065	1885.1	8.144	2156136	
N1-REP 3- 10	N1-REP 3- 10	Cal	1	4/28/2025 13:12	10	5.897	437367	False	180.0717	180.0717	1800.7	7.956	2543131	
N2-REP 1- 25	N2-REP 1- 25	Cal	2	4/28/2025 6:18	25	5.764	962310	False	457.432	457.432	1829.7	8.142	2202707	
N2-REP 2- 25	N2-REP 2- 25	Cal	2	4/28/2025 9:54	25	5.832	1603443	False	438.6047	438.6047	1754.4	8.148	3827794	
N2-REP 3- 25	N2-REP 3- 25	Cal	2	4/28/2025 13:30	25	5.942	1478149	False	430.8627	430.8627	1723.5	8.075	3592093	
N3-REP 1- 50	N3-REP 1- 50	Cal	3	4/28/2025 6:36	50	5.916	2615223	False	722.5238	722.5238	1445	8.116	3789875	
N3-REP 2- 50	N3-REP 2- 50	Cal	3	4/28/2025 10:12	50	5.981	2505456	False	745.0812	745.0812	1490.2	8.071	3520882	
N3-REP 3- 50	N3-REP 3- 50	Cal	3	4/28/2025 13:48	50	6.007	2654009	False	804.45	804.45	1608.9	8.014	3454392	
N4-REP 1- 10	N4-REP 1- 10	Cal	4	4/28/2025 6:54	100	5.968	2780696	False	1165.1298	1165.1298	1165.1	8.072	2498892	
N4-REP 2- 10	N4-REP 2- 10	Cal	4	4/28/2025 10:30	100	5.953	3841169	False	1298.4397	1298.4397	1298.4	8.046	3535046	
N4-REP 3- 10	N4-REP 3- 10	Cal	4	4/28/2025 14:06	100	5.821	4718030	False	1277.7546	1277.7546	1277.8	8.086	4033038	
N5-REP 1- 20	N5-REP 1- 20	Cal	5	4/28/2025 7:12	200	5.964	4599824	False	2063.7778	2063.7778	1031.9	8.023	2523813	
N5-REP 2- 20	N5-REP 2- 20	Cal	5	4/28/2025 10:48	200	5.845	6010958	False	2167.827	2167.827	1083.9	8.147	2923346	
N5-REP 3- 20	N5-REP 3- 20	Cal	5	4/28/2025 14:24	200	5.904	8790315	False	2022.0349	2022.0349	1011	8.085	4531393	
N6-REP 1- 40	N6-REP 1- 40	Cal	6	4/28/2025 7:30	400	5.888	8340467	False	3915.5726	3915.5726	978.9	8.166	2273058	
N6-REP 2- 40	N6-REP 2- 40	Cal	6	4/28/2025 11:06	400	5.891	12310796	False	3972.9319	3972.9319	993.2	8.128	3245703	
N6-REP 3- 40	N6-REP 3- 40	Cal	6	4/28/2025 14:42	400	5.945	10736373	False	3732.9856	3732.9856	933.2	8.141	2735453	
N7-REP 1- 80	N7-REP 1- 80	Cal	7	4/28/2025 7:48	800	5.878	19143573	False	5898.4511	5898.4511	737.3	8.14	3396208	
N7-REP 2- 80	N7-REP 2- 80	Cal	7	4/28/2025 11:24	800	5.943	21079462	False	4907.2515	4907.2515	613.4	7.976	4496136	
N7-REP 3- 80	N7-REP 3- 80	Cal	7	4/28/2025 15:00	800	5.902	18400912	False	6120.0391	6120.0391	765	8.097	2798312	
N8-REP 1- 12	N8-REP 1- 12	Cal	8	4/28/2025 8:06	1200	5.775	29474855	False	8217.6144	8217.6144	684.8	8.046	3295570	
N8-REP 2- 12	N8-REP 2- 12	Cal	8	4/28/2025 11:42	1200	5.935	28469713	False	7880.8741	7880.8741	656.7	8.084	3282125	
N8-REP 3- 12	N8-REP 3- 12	Cal	8	4/28/2025 15:18	1200	5.877	26469420	False	8314.6042	8314.6042	692.9	8.093	3329723	
N9-REP 1- 16	N9-REP 1- 16	Cal	9	4/28/2025 8:24	1600	5.838	34811848	False	10736.4944	10736.4944	671	8.13	3389649	
N9-REP 2- 16	N9-REP 2- 16	Cal	9	4/28/2025 12:00	1600	5.928	24520175	False	9987.3988	9987.3988	624.2	8.034	2443490	
N9-REP 3- 16	N9-REP 3- 16	Cal	9	4/28/2025 15:36	1600	5.809	30119621	False	9676.2761	9676.2761	604.8	7.955	3246304	
N10-REP 1- 3	N10-REP 1- 3	Cal	10	4/28/2025 8:42	3200	5.948	46507935	False	17133.8263	17133.8263	535.4	8.102	2834845	
N10-REP 2- 3	N10-REP 2- 3	Cal	10	4/28/2025 12:18	3200	5.947	54514749	False	20740.3566	20740.3566	648.1	8.084	3028698	
N10-REP 3- 3	N10-REP 3- 3	Cal	10	4/28/2025 15:54	3200	5.964	47479237	False	20537.0007	20537.0007	641.2	8.101	2866058	
N11-REP 1- 5	N11-REP 1- 5	Cal	11	4/28/2025 9:00	5000	5.855	64687163	False	20689.9307	20689.9307	413.8	8.057	3560703	
N11-REP 2- 5	N11-REP 2- 5	Cal	11	4/28/2025 12:36	5000	5.886	56169516	False	18825.6566	18825.6566	376.5	8.133	2737334	
N11-REP 3- 5	N11-REP 3- 5	Cal	11	4/28/2025 16:12	5000	5.907	74973947	False	21485.2889	21485.2889	429.7	8.064	3481371	
N12-REP 1- 1	N12-REP 1- 1	Cal	12	4/28/2025 9:18	10000	5.613	3263	False	0.8906	0.8906	0	8.101	3836198	
N12-REP 2- 1	N12-REP 2- 1	Cal	12	4/28/2025 12:54	10000	5.983	9700	False	2.4572	2.4572	0	8.063	4133306	
N12-REP 3- 1	N12-REP 3- 1	Cal	12	4/28/2025 16:30	10000	6.524	3882	False	1.507	1.507	0	8.141	2697205	

APPENDIX C- DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 5 DE MAYO, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone Method				Trazodone Results				Flurazepam (ISTD) Results			
					Exp. Conc.	RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	RT	Resp.			
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	5/5/2025 8:00	10	5.914	472618	False	155.5032	157.0465	1570.5	8.148	3151013			
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	5/5/2025 11:36	10	5.894	205128	False	177.1697	178.7819	1787.8	8.131	1201350			
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	5/5/2025 15:12	10	5.852	429357	False	165.9222	175.3062	1753.1	8.128	2564422			
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	5/5/2025 8:18	25	5.863	834037	False	340.7733	332.7868	1331.1	8.135	2624143			
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	5/5/2025 11:54	25	5.926	1221645	False	356.1615	335.5804	1342.3	8.094	3811682			
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	5/5/2025 15:30	25	5.934	1187521	False	333.1431	361.4601	1445.8	8.123	3439927			
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	5/5/2025 8:36	50	5.963	1942822	False	584.6576	582.9113	1165.8	8.142	3489786			
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	5/5/2025 12:12	50	5.886	2394210	False	602.5023	635.4067	1270.8	8.153	3945288			
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	5/5/2025 15:48	50	5.945	1284516	False	584.2478	545.3254	1090.7	8.109	2466335			
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	5/5/2025 8:54	100	5.935	2896427	False	993.1467	979.4917	979.5	8.127	3096208			
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	5/5/2025 12:30	100	5.824	3152126	False	1115.7503	1133.7389	1133.7	8.101	2952259			
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	5/5/2025 16:06	100	5.857	4461758	False	1003.1385	1052.6602	1052.7	8.084	4385360			
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	5/5/2025 9:12	200	5.929	5619809	False	1729.4884	1647.5554	823.8	8.118	3581724			
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	5/5/2025 12:48	200	5.844	7082637	False	1687.3398	1719.8044	859.9	8.162	4315408			
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	5/5/2025 16:24	200	5.97	7357961	False	1524.2244	1501.5213	750.8	8.109	5103886			
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	5/5/2025 9:30	400	5.869	11013750	False	2702.5744	2756.1093	689	8.128	4205777			
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	5/5/2025 13:06	400	5.898	14511823	False	2962.5964	3148.0024	787	8.143	4852689			
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	5/5/2025 16:42	400	5.895	13375642	False	3057.3263	3112.091	778	8.091	4506628			
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	5/5/2025 9:48	800	5.875	20411920	False	4734.5524	4851.2887	606.4	8.106	4402425			
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	5/5/2025 13:24	800	5.904	19296488	False	4647.564	4627.1852	578.4	8.101	4358004			
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	5/5/2025 17:00	800	5.872	24035485	False	4725.9319	4748.7285	593.6	8.121	5310528			
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	5/5/2025 10:06	1200	5.918	21096750	False	6716.9429	6937.932	578.2	8.155	3232841			
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	5/5/2025 13:42	1200	5.907	20382607	False	7510.3335	7457.8947	621.5	8.162	2673348			
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	5/5/2025 17:18	1200	5.821	33059823	False	6066.9602	6113.2044	509.4	8.107	5433738			
N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	5/5/2025 10:24	1600	5.942	42023996	False	7634.3988	7647.7535	478	8.126	5576921			
N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	5/5/2025 14:00	1600	5.883	39271294	False	7817.1998	7814.0477	488.4	8.085	5140023			
N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	5/5/2025 17:36	1600	5.806	43854782	False	7315.1541	7265.5721	454.1	8.134	5934235			
N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	5/5/2025 10:42	3200	5.903	47867524	False	12784.8812	12801.9382	400.1	8.103	3922579			
N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	5/5/2025 14:18	3200	5.862	63890147	False	11772.0049	11759.0588	367.5	8.088	5343780			
N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	5/5/2025 17:54	3200	5.852	55283540	False	11903.8303	12023.1892	375.7	8.104	5170668			
N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	5/5/2025 11:00	5000	5.835	77476265	False	15742.4464	15650.2461	313	8.099	4893606			
N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	5/5/2025 14:36	5000	5.853	78654735	False	15048.8386	15029.5626	300.6	8.068	5482095			
N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	5/5/2025 18:12	5000	5.827	86001419	False	14508.1588	15022.6525	300.5	8.071	5887581			
N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	5/5/2025 11:18	10000	6.147	10189	False	2.3238	2.3562	0	8.106	4527769			
N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	5/5/2025 14:54	10000	6.619	56219	False	9.4169	9.4175	0.1	8.084	6250471			
N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	5/5/2025 18:30	10000	5.247	10624	False	1.6708	1.7554	0	8.116	6336789			

APPENDIX D- DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 28 DE MAYO, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone Method		Trazodone Results				Flurazepam (ISTD) Results			
					Exp. Conc.	RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	RT	Resp.	
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	5/28/2025 6:00	10	5.956	416988	False	172.698	172.698	1727	8.044	2528160	
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	5/28/2025 9:36	10	5.809	388181	False	188.5065	188.5065	1885.1	8.144	2156136	
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	5/28/2025 13:12	10	5.897	437367	False	180.0717	180.0717	1800.7	7.956	2543131	
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	5/28/2025 6:18	25	5.764	962310	False	457.432	457.432	1829.7	8.142	2202707	
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	5/28/2025 9:54	25	5.832	1603443	False	438.6047	438.6047	1754.4	8.148	3827794	
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	5/28/2025 13:30	25	5.942	1478149	False	430.8627	430.8627	1723.5	8.075	3592093	
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	5/28/2025 6:36	50	5.916	2615223	False	722.5238	722.5238	1445	8.116	3789875	
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	5/28/2025 10:12	50	5.981	2505456	False	745.0812	745.0812	1490.2	8.071	3520882	
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	5/28/2025 13:48	50	6.007	2654009	False	804.45	804.45	1608.9	8.014	3454392	
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	5/28/2025 6:54	100	5.968	2780696	False	1165.1298	1165.1298	1165.1	8.072	2498892	
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	5/28/2025 10:30	100	5.953	3841169	False	1298.4397	1298.4397	1298.4	8.046	3535046	
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	5/28/2025 14:06	100	5.821	4718030	False	1277.7546	1277.7546	1277.8	8.086	4033038	
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	5/28/2025 7:12	200	5.964	4599824	False	2063.7778	2063.7778	1031.9	8.023	2523813	
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	5/28/2025 10:48	200	5.845	6010958	False	2167.827	2167.827	1083.9	8.147	2923346	
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	5/28/2025 14:24	200	5.904	8790315	False	2022.0349	2022.0349	1011	8.085	4531393	
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	5/28/2025 7:30	400	5.888	8340467	False	3915.5726	3915.5726	978.9	8.166	2273058	
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	5/28/2025 11:06	400	5.891	12310796	False	3972.9319	3972.9319	993.2	8.128	3245703	
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	5/28/2025 14:42	400	5.945	10736373	False	3732.9856	3732.9856	933.2	8.141	2735453	
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	5/28/2025 7:48	800	5.878	19143573	False	5898.4511	5898.4511	737.3	8.14	3396208	
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	5/28/2025 11:24	800	5.943	21079462	False	4907.2515	4907.2515	613.4	7.976	4496136	
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	5/28/2025 15:00	800	5.902	18400912	False	6120.0391	6120.0391	765	8.097	2798312	
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	5/28/2025 8:06	1200	5.775	29474855	False	8217.6144	8217.6144	684.8	8.046	3295570	
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	5/28/2025 11:42	1200	5.935	28469713	False	7880.8741	7880.8741	656.7	8.084	3282125	
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	5/28/2025 15:18	1200	5.877	26469420	False	8314.6042	8314.6042	692.9	8.093	3329723	
N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	5/28/2025 8:24	1600	5.838	34811848	False	10736.4944	10736.4944	671	8.13	3389649	
N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	5/28/2025 12:00	1600	5.928	24520175	False	9987.3988	9987.3988	624.2	8.034	2443490	
N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	5/28/2025 15:36	1600	5.809	30119621	False	9676.2761	9676.2761	604.8	7.955	3246304	
N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	5/28/2025 8:42	3200	5.948	46507935	False	17133.8263	17133.8263	535.4	8.102	2834845	
N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	5/28/2025 12:18	3200	5.947	54514749	False	20740.3566	20740.3566	648.1	8.084	3028698	
N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	5/28/2025 15:54	3200	5.964	47479237	False	20537.0007	20537.0007	641.2	8.101	2866058	
N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	5/28/2025 9:00	5000	5.855	64687163	False	20689.9307	20689.9307	413.8	8.057	3560703	
N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	5/28/2025 12:36	5000	5.886	56169516	False	18825.6566	18825.6566	376.5	8.133	2737334	
N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	5/28/2025 16:12	5000	5.907	74973947	False	21485.2889	21485.2889	429.7	8.064	3481371	
N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	5/28/2025 9:18	10000	5.613	3263	False	0.8906	0.8906	0	8.101	3836198	
N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	5/28/2025 12:54	10000	5.983	9700	False	2.4572	2.4572	0	8.063	4133306	
N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	5/28/2025 16:30	10000	6.524	3882	False	1.507	1.507	0	8.141	2697205	

APPENDIX E- DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 16 DE JUNIO, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone Method		Trazodone Results				Flurazepam (ISTD) Results			
					Exp. Conc.	RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	RT	Resp.	
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	6/16/2025 8:00	10	5.974	405518	False	120.3518	120.3518	1203.5	8.062	2408290	
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	6/16/2025 11:36	10	5.827	415845	False	134.5198	134.5198	1345.2	8.16	2287022	
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	6/16/2025 15:12	10	5.915	460302	False	138.0177	138.0177	1380.2	7.978	2486139	
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	6/16/2025 8:18	25	5.786	1024130	False	448.0514	448.0514	1792.2	8.161	2136550	
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	6/16/2025 11:54	25	5.855	1539271	False	340.9036	340.9036	1363.6	8.17	4075750	
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	6/16/2025 15:30	25	5.968	1594381	False	442.551	442.551	1770.2	8.091	3362830	
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	6/16/2025 8:36	50	5.937	2488524	False	595.4556	595.4556	1190.9	8.131	4018870	
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	6/16/2025 12:12	50	6.004	2362841	False	706.4276	706.4276	1412.9	8.083	3261290	
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	6/16/2025 15:48	50	6.032	2800918	False	761.6556	761.6556	1523.3	8.034	3605170	
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	6/16/2025 8:54	100	5.991	3032195	False	1323.1916	1323.1916	1323.2	8.091	2315080	
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	6/16/2025 12:30	100	5.975	3579812	False	954.6553	954.6553	954.7	8.07	3728760	
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	6/16/2025 16:06	100	5.842	5074258	False	1360.2721	1360.2721	1360.3	8.105	3772840	
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	6/16/2025 9:12	200	5.987	4376832	False	1683.3608	1683.3608	841.7	8.046	2650180	
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	6/16/2025 12:48	200	5.868	6558120	False	2193.2622	2193.2622	1096.6	8.163	3071190	
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	6/16/2025 16:24	200	5.929	8243214	False	1994.3883	1994.3883	997.2	8.102	4234550	
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	6/16/2025 9:30	400	5.91	7725621	False	3812.4753	3812.4753	953.1	8.186	2104020	
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	6/16/2025 13:06	400	5.918	12991808	False	3960.5874	3960.5874	990.1	8.147	3439950	
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	6/16/2025 16:42	400	5.967	10094845	False	3718.2749	3718.2749	929.6	8.165	2558060	
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	6/16/2025 9:48	800	5.905	18299787	False	6207.8478	6207.8478	775.9	8.164	3249020	
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	6/16/2025 13:24	800	5.967	21528251	False	6361.2689	6361.2689	795.2	7.996	4681840	
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	6/16/2025 17:00	800	5.927	20114236	False	6212.2265	6212.2265	776.5	8.118	2591470	
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	6/16/2025 10:06	1200	5.798	30978140	False	9434.4075	9434.4075	786.2	8.067	3580030	
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	6/16/2025 13:42	1200	5.961	27419820	False	8330.7023	8330.7023	694.2	8.108	3206150	
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	6/16/2025 17:18	1200	5.897	24075103	False	9113.7819	9113.7819	759.5	8.119	3532680	
N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	6/16/2025 10:24	1600	5.861	33096747	False	12183.8939	12183.8939	761.5	8.148	3190060	
N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	6/16/2025 14:00	1600	5.953	22924658	False	10531.8933	10531.8933	658.2	8.056	2342960	
N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	6/16/2025 17:36	1600	5.829	31612449	False	11924.1577	11924.1577	745.3	7.979	3097250	
N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	6/16/2025 10:42	3200	5.972	50362248	False	18165.0556	18165.0556	567.7	8.126	2922560	
N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	6/16/2025 14:18	3200	5.971	54680803	False	20574.862	20574.862	643	8.108	2725820	
N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	6/16/2025 17:54	3200	5.986	46673511	False	20543.1323	20543.1323	641.3	8.125	3002040	
N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	6/16/2025 11:00	5000	5.874	68247461	False	21749.4466	21749.4466	434.9	8.079	3734850	
N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	6/16/2025 14:36	5000	5.912	52942188	False	19716.6175	19716.6175	394.3	8.155	2968700	
N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	6/16/2025 18:12	5000	5.933	77268341	False	21931.325	21931.325	438.6	8.081	3270430	
N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	6/16/2025 11:18	10000	5.637	3550	False	0.7982	0.7982	0.008	8.123	4145290	
N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	6/16/2025 14:54	10000	6.003	8900	False	1.0235	1.0235	0.0102	8.087	4519200	
N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	6/16/2025 18:30	10000	6.548	4210	False	0.4874	0.4874	0.0049	8.157	2876680	

APPENDIX F- DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 6 DE AGOSTO, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone Method Trazodone Results				Flurazepam (ISTD) Results					
					Exp. Conc.	RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	RT	Resp.	
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	8/6/2025 8:00		10	5.944	406306	False	120.7724	120.7724	1207.7	8.022	2407264
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	8/6/2025 11:36		10	5.809	423562	False	128.1049	128.1049	1281	8.125	2410148
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	8/6/2025 15:12		10	5.916	489917	False	159.0349	159.0349	1590.3	7.935	2388784
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	8/6/2025 8:18		25	5.752	1036035	False	493.2919	493.2919	1973.2	8.149	2141996
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	8/6/2025 11:54		25	5.873	1586174	False	401.6899	401.6899	1606.8	8.155	4243206
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	8/6/2025 15:30		25	5.995	1559511	False	461.7999	461.7999	1847.2	8.104	3165539
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	8/6/2025 8:36		50	5.99	2360877	False	649.5044	649.5044	1299	8.117	4114030
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	8/6/2025 12:12		50	5.994	2190191	False	779.9306	779.9306	1559.9	8.09	3290130
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	8/6/2025 15:48		50	6.033	2818370	False	818.4261	818.4261	1636.9	8.053	3622456
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	8/6/2025 8:54		100	6.033	3176978	False	1312.2531	1312.2531	1312.3	8.091	2263048
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	8/6/2025 12:30		100	6.016	3465077	False	952.2922	952.2922	952.3	8.059	3479301
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	8/6/2025 16:06		100	5.845	4942877	False	1333.3784	1333.3784	1333.4	8.144	3929229
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	8/6/2025 9:12		200	6.002	4249023	False	1846.6734	1846.6734	923.3	8.066	2602760
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	8/6/2025 12:48		200	5.849	6814134	False	2256.9343	2256.9343	1128.5	8.184	3147938
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	8/6/2025 16:24		200	5.933	8579048	False	2214.3051	2214.3051	1107.2	8.076	4455352
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	8/6/2025 9:30		400	5.885	7837795	False	4148.8425	4148.8425	1037.2	8.177	2053406
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	8/6/2025 13:06		400	5.952	13534592	False	3913.3493	3913.3493	978.3	8.141	3470335
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	8/6/2025 16:42		400	5.994	9631068	False	3666.4919	3666.4919	916.6	8.154	2572924
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	8/6/2025 9:48		800	5.938	19394344	False	6159.4646	6159.4646	769.9	8.137	3250130
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	8/6/2025 13:24		800	5.957	20588223	False	5194.6102	5194.6102	649.3	8.027	4521749
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	8/6/2025 17:00		800	5.898	20360061	False	6344.3269	6344.3269	793	8.149	2675900
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	8/6/2025 10:06		1200	5.827	30202455	False	8628.5459	8628.5459	719	8.046	3662791
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	8/6/2025 13:42		1200	5.966	26352490	False	7939.8143	7939.8143	661.6	8.111	3153357
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	8/6/2025 17:18		1200	5.877	24749741	False	8720.5528	8720.5528	727	8.14	3485441
N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	8/6/2025 10:24		1600	5.849	32004604	False	10983.892	10983.892	686.5	8.116	3124572
N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	8/6/2025 14:00		1600	5.944	22616822	False	9826.5595	9826.5595	614.2	8.09	2297349
N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	8/6/2025 17:36		1600	5.824	33839384	False	10933.789	10933.789	683.3	7.96	3058062
N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	8/6/2025 10:42		3200	5.965	53230583	False	18025.79	18025.79	563.3	8.109	3013709
N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	8/6/2025 14:18		3200	6.004	58588755	False	21171.887	21171.887	661	8.079	2832427
N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	8/6/2025 17:54		3200	6.032	48267554	False	16953.853	16953.853	529.8	8.132	2929649
N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	8/6/2025 11:00		5000	5.866	69394781	False	20091.907	20091.907	401.8	8.107	3672038
N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	8/6/2025 14:36		5000	5.927	52178870	False	18296.713	18296.713	365.9	8.176	2902917
N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	8/6/2025 18:12		5000	5.943	79665717	False	21701.963	21701.963	434	8.063	3311781
N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	8/6/2025 11:18		10000	5.652	3615	False	2.4028	2.4028	0	8.148	4100877
N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	8/6/2025 14:54		10000	5.999	9022	False	1.8852	1.8852	0	8.113	4573165
N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	8/6/2025 18:30		10000	6.52	4332	False	1.274	1.274	0	8.146	2954239

APPENDIX G- DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 27 DE AGOSTO, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone Method				Trazodone Results				Flurazepam (ISTD) Results			
					Exp. Conc.	RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	RT	Resp.			
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	8/27/2025 8:00		10	5.947	315196	False	6.536	6.536	865.4	8.028	2312577		
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	8/27/2025 11:36		10	5.792	247489	False	74.5034	74.5034	745	8.116	1981836		
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	8/27/2025 15:12		10	5.925	226075	False	35.2184	35.2184	352.2	7.989	2580730		
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	8/27/2025 8:18		25	5.767	907747	False	383.1746	383.1746	1532.7	8.167	2172805		
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	8/27/2025 11:54		25	5.826	1545409	False	350.1952	350.1952	1400.8	8.167	3998652		
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	8/27/2025 15:30		25	5.974	1546473	False	338.9072	338.9072	1355.6	8.093	3470561		
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	8/27/2025 8:36		50	5.92	2509191	False	663.6067	663.6067	1327.2	8.151	3964653		
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	8/27/2025 12:12		50	5.979	2542419	False	735.7966	735.7966	1471.6	8.094	3346404		
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	8/27/2025 15:48		50	5.996	2786499	False	808.2478	808.2478	1616.5	8.01	3456901		
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	8/27/2025 8:54		100	5.981	2826303	False	1169.0784	1169.0784	1169.1	8.076	2480464		
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	8/27/2025 12:30		100	5.944	3855099	False	1311.0809	1311.0809	1311.1	8.045	3569660		
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	8/27/2025 16:06		100	5.811	4675241	False	1276.1163	1276.1163	1276.1	8.091	4026101		
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	8/27/2025 9:12		200	5.95	4602626	False	2056.6417	2056.6417	1028.3	8.019	2491327		
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	8/27/2025 12:48		200	5.846	5953871	False	2202.4264	2202.4264	1101.2	8.167	3055128		
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	8/27/2025 16:24		200	5.919	8790303	False	2000.6588	2000.6588	1000.3	8.088	4565752		
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	8/27/2025 9:30		400	5.9	8608012	False	3944.0645	3944.0645	986	8.181	2123245		
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	8/27/2025 13:06		400	5.882	12265334	False	3945.5416	3945.5416	986.4	8.094	3192071		
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	8/27/2025 16:42		400	5.921	10997949	False	3713.2152	3713.2152	928.3	8.135	2757824		
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	8/27/2025 9:48		800	5.886	19077438	False	5881.3292	5881.3292	735.2	8.126	3501415		
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	8/27/2025 13:24		800	5.943	21035646	False	5097.087	5097.087	637.1	7.977	4526550		
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	8/27/2025 17:00		800	5.906	17863225	False	5954.5921	5954.5921	744.3	8.104	2761545		
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	8/27/2025 10:06		1200	5.748	28728014	False	8287.6151	8287.6151	690.6	8.046	3450295		
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	8/27/2025 13:42		1200	5.932	28608608	False	8060.6651	8060.6651	671.7	8.074	3433622		
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	8/27/2025 17:18		1200	5.89	27450036	False	8369.9489	8369.9489	698.9	8.077	3377415		
N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	8/27/2025 10:24		1600	5.85	34947032	False	10745.0326	10745.0326	671.6	8.114	3305623		
N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	8/27/2025 14:00		1600	5.938	24084394	False	9639.905	9639.905	602.5	8.052	2439777		
N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	8/27/2025 17:36		1600	5.818	30705344	False	9990.07	9990.07	624.4	7.941	3148229		
N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	8/27/2025 10:42		3200	5.973	47023769	False	16736.1269	16736.1269	523	8.097	2939873		
N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	8/27/2025 14:18		3200	5.937	54562415	False	21180.929	21180.929	661.9	8.097	2772726		
N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	8/27/2025 17:54		3200	5.985	48383902	False	21041.438	21041.438	657.5	8.138	3079727		
N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	8/27/2025 11:00		5000	5.867	65020572	False	20423.4893	20423.4893	408.5	8.041	3376051		
N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	8/27/2025 14:36		5000	5.877	56470438	False	19213.4428	19213.4428	384.3	8.12	2778780		
N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	8/27/2025 18:12		5000	5.901	76060207	False	21480.4514	21480.4514	429.6	8.06	3501277		
N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	8/27/2025 11:18		10000	5.627	3405	False	1.7124	1.7124	0	8.102	3898791		
N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	8/27/2025 14:54		10000	6.012	9234	False	2.4307	2.4307	0	8.061	4309340		
N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	8/27/2025 18:30		10000	6.494	5356	False	0.7738	0.7738	0	8.152	2788534		

APPENDIX H- DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 9 DE SEPTIEMBRE, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone Method				Trazodone Results				Flurazepam (ISTD) Results			
					Exp. Conc.	RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	RT	Resp.			
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	9/9/2025 6:37	10	5.877	545356	False	184.3664	184.3664	1843.7	8.134	3097180			
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	9/9/2025 10:13	10	5.919	190611	False	169.0048	169.0048	1690	8.129	1180911			
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	9/9/2025 13:49	10	5.821	421054	False	169.547	169.547	1695.5	8.138	2600255			
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	9/9/2025 6:55	25	5.902	1057681	False	24.6466	24.6466	98.6	8.142	2516370			
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	9/9/2025 10:31	25	5.915	1272831	False	21.7558	21.7558	87	8.107	3690498			
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	9/9/2025 14:07	25	5.934	1150309	False	24.8661	24.8661	99.5	8.119	3544766			
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	9/9/2025 7:13	50	5.929	1874426	False	52.8874	52.8874	211.5	8.138	3378293			
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	9/9/2025 10:49	50	5.89	2279581	False	50.9339	50.9339	203.7	8.153	3976515			
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	9/9/2025 14:25	50	5.917	1349515	False	50.7766	50.7766	203.1	8.076	2442501			
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	9/9/2025 7:31	100	5.91	2789633	False	100.9968	100.9968	101	8.098	2984784			
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	9/9/2025 11:07	100	5.876	2996676	False	101.5809	101.5809	101.6	8.119	2939089			
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	9/9/2025 14:43	100	5.879	4377411	False	97.9513	97.9513	98	8.097	4526550			
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	9/9/2025 7:49	200	5.899	5755608	False	204.5765	204.5765	102.3	8.016	3337090			
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	9/9/2025 11:25	200	5.859	6896705	False	195.5196	195.5196	97.8	8.178	4175660			
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	9/9/2025 15:01	200	5.931	7855597	False	205.0425	205.0425	102.5	8.1	5289073			
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	9/9/2025 8:07	400	5.915	10562948	False	399.8996	399.8996	100	8.147	4146559			
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	9/9/2025 11:43	400	5.882	14599424	False	398.702	398.702	99.7	8.126	4848035			
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	9/9/2025 15:19	400	5.909	12794657	False	395.2965	395.2965	98.8	8.141	4429938			
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	9/9/2025 8:25	800	5.884	19452009	False	801.0715	801.0715	100.1	8.142	3452877			
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	9/9/2025 12:01	800	5.911	19070924	False	784.0197	784.0197	98	7.986	4294729			
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	9/9/2025 15:37	800	5.877	23324660	False	797.9318	797.9318	99.7	8.104	2836352			
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	9/9/2025 8:43	1200	5.873	19771758	False	1218.6767	1218.6767	101.6	8.059	3295020			
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	9/9/2025 12:19	1200	5.897	19582287	False	1201.2195	1201.2195	100.1	8.069	3216686			
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	9/9/2025 15:55	1200	5.868	32393955	False	1222.3824	1222.3824	101.9	8.086	3363383			
N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	9/9/2025 9:01	1600	5.896	40784229	False	1646.1394	1646.1394	102.9	8.138	3432742			
N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	9/9/2025 12:37	1600	5.843	37337159	False	1578.6323	1578.6323	98.7	8.034	2436364			
N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	9/9/2025 16:13	1600	5.848	42403445	False	1617.82	1617.82	101.1	7.961	3283444			
N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	9/9/2025 9:19	3200	5.888	49366147	False	3227.2135	3227.2135	100.9	8.099	2786104			
N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	9/9/2025 12:55	3200	5.833	63233030	False	3315.3935	3315.3935	103.6	8.086	3160248			
N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	9/9/2025 16:31	3200	5.877	57159935	False	3175.6849	3175.6849	99.2	8.109	2900420			
N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	9/9/2025 9:37	5000	5.81	75815755	False	5122.8301	5122.8301	102.5	8.062	3644031			
N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	9/9/2025 13:13	5000	5.833	77431996	False	4930.2178	4930.2178	98.6	8.142	2776051			
N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	9/9/2025 16:49	5000	5.811	81597201	False	4944.4695	4944.4695	98.9	8.087	3403082			
N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	9/9/2025 9:55	10000	6.115	9743	False	1.4927	1.4927	0	8.1	3802990			
N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	9/9/2025 13:31	10000	6.587	54965	False	2.073	2.073	0	8.095	4118125			
N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	9/9/2025 17:07	10000	5.238	10334	False	1.2234	1.2234	0	8.132	2686515			

APPENDIX I- DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 30 DE SEPTIEMBRE, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone Method				Trazodone Results				Flurazepam (ISTD) Results			
					Exp. Conc.	RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	RT	Resp.			
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	9/30/2025 7:12	10	5.95	374579	False	104.3261	104.3261	1043.3	8.056	2445393			
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	9/30/2025 10:48	10	5.797	384336	False	126.2037	126.2037	1262	8.168	2209627			
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	9/30/2025 14:24	10	5.915	431637	False	114.1151	114.1151	1141.2	7.973	2656780			
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	9/30/2025 7:30	25	5.769	950569	False	420.6761	420.6761	1682.7	8.166	2102462			
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	9/30/2025 11:06	25	5.857	1663179	False	439.6798	439.6798	1758.7	8.168	4005795			
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	9/30/2025 14:42	25	5.943	1544533	False	410.7726	410.7726	1643.1	8.077	3715107			
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	9/30/2025 7:48	50	5.924	2782061	False	719.2312	719.2312	1438.5	8.132	3802822			
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	9/30/2025 11:24	50	5.976	2498134	False	748.8437	748.8437	1497.7	8.071	3634079			
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	9/30/2025 15:00	50	6.027	2847388	False	813.2697	813.2697	1626.5	8.026	3405367			
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	9/30/2025 8:06	100	5.969	3036329	False	1156.6205	1156.6205	1156.6	8.074	2546898			
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	9/30/2025 11:42	100	5.945	3750681	False	1333.3744	1333.3744	1333.4	8.049	3567503			
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	9/30/2025 15:18	100	5.825	4919214	False	1253.8134	1253.8134	1253.8	8.083	3977867			
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	9/30/2025 8:24	200	5.967	4542079	False	2011.9391	2011.9391	1006	8.021	2654471			
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	9/30/2025 12:00	200	5.847	6278489	False	2104.9848	2104.9848	1052.5	8.15	2953017			
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	9/30/2025 15:36	200	5.91	9081159	False	2045.8895	2045.8895	1022.9	8.102	4390668			
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	9/30/2025 8:42	400	5.889	8049925	False	3884.4108	3884.4108	971.1	8.175	2257270			
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	9/30/2025 12:18	400	5.899	12115556	False	3886.9319	3886.9319	971.7	8.133	3372347			
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	9/30/2025 15:54	400	5.944	11220366	False	3754.7894	3754.7894	938.7	8.149	2679023			
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	9/30/2025 9:00	800	5.879	18179086	False	5627.998	5627.998	703.5	8.145	3298223			
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	9/30/2025 12:36	800	5.948	21156330	False	5048.9863	5048.9863	631.1	7.985	4415936			
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	9/30/2025 16:12	800	5.904	17587126	False	5684.3027	5684.3027	710.5	8.105	2823263			
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	9/30/2025 9:18	1200	5.777	28306635	False	8087.7193	8087.7193	674	8.05	3353927			
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	9/30/2025 12:54	1200	5.936	29501322	False	7910.1847	7910.1847	659.2	8.086	3319790			
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	9/30/2025 16:30	1200	5.877	25256987	False	8201.6521	8201.6521	683.5	8.096	3378068			
N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	9/30/2025 9:36	1600	5.842	34459306	False	10489.2702	10489.2702	655.6	8.127	3343821			
N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	9/30/2025 13:12	1600	5.93	25768812	False	9975.9022	9975.9022	623.5	8.046	2471570			
N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	9/30/2025 16:48	1600	5.807	29276777	False	9613.1178	9613.1178	600.8	7.965	3208779			
N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	9/30/2025 9:54	3200	5.953	47699359	False	16778.2818	16778.2818	524.3	8.104	2809094			
N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	9/30/2025 13:30	3200	5.952	56798773	False	20769.6244	20769.6244	649.1	8.083	2987231			
N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	9/30/2025 17:06	3200	5.961	48956207	False	20194.9197	20194.9197	639.8	8.103	2908471			
N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	9/30/2025 10:12	5000	5.853	66329166	False	20925.5972	20925.5972	418.5	8.071	3505844			
N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	9/30/2025 13:48	5000	5.89	57387747	False	19158.6313	19158.6313	383.2	8.131	2797204			
N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	9/30/2025 17:24	5000	5.907	79120347	False	21552.4158	21552.4158	431	8.067	3502329			
N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	9/30/2025 10:30	10000	5.615	3185	False	1.2437	1.2437	0	8.099	3805569			
N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	9/30/2025 14:06	10000	5.979	10777	False	1.7743	1.7743	0	8.061	4178915			
N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	9/30/2025 17:42	10000	6.531	4044	False	1.5401	1.5401	0	8.14	2741084			

APPENDIX J- DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 21 DE OCTUBRE, OBTENIDOS MEDIANTE EL EQUIPO LC-QTOF AGILENT INFINITY 1200/G6530B SERIAL: DEACN23423/SG13372001

Name	Data File	Type	Level	Acq. Date-Time	Trazodone Method				Trazodone Results				Flurazepam (ISTD) Results			
					Exp. Conc.	RT	Resp.	MI	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	RT	Resp.			
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	10/21/2025 7:05	10	5.95	376377	False	121.5362	121.5362	1215.4	8.057	2694195			
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	10/21/2025 10:41	10	5.768	333203	False	147.8649	147.8649	1478.6	8.197	2014781			
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S.d	Cal	1	10/21/2025 14:17	10	5.88	517964	False	179.9233	179.9233	1799.2	7.931	2633968			
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	10/21/2025 7:23	25	5.762	934473	False	436.3169	436.3169	1745.3	8.17	2094739			
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	10/21/2025 10:59	25	5.846	1577912	False	453.9078	453.9078	1815.6	8.183	4227568			
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S.d	Cal	2	10/21/2025 14:35	25	5.919	1450422	False	428.0424	428.0424	1712.2	8.079	3900937			
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	10/21/2025 7:41	50	5.899	2551266	False	708.2922	708.2922	1416.6	8.149	3935948			
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	10/21/2025 11:17	50	5.963	2409934	False	740.273	740.273	1480.5	8.068	3675060			
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S.d	Cal	3	10/21/2025 14:53	50	6.017	2878520	False	829.9282	829.9282	1659.9	8.03	3556251			
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	10/21/2025 7:59	100	5.958	3063339	False	1203.7945	1203.7945	1203.8	8.07	2550840			
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	10/21/2025 11:35	100	5.93	3899012	False	1323.3011	1323.3011	1323.3	8.054	3659391			
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S.d	Cal	4	10/21/2025 15:11	100	5.809	5054548	False	1266.9182	1266.9182	1266.9	8.08	4004743			
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	10/21/2025 8:17	200	5.961	4482478	False	1983.2295	1983.2295	991.6	8.028	2706670			
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	10/21/2025 11:53	200	5.842	6199999	False	2107.483	2107.483	1053.7	8.158	2982188			
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S.d	Cal	5	10/21/2025 15:29	200	5.902	8943887	False	2018.4432	2018.4432	1009.2	8.092	4440403			
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	10/21/2025 8:35	400	5.883	8285061	False	3842.6701	3842.6701	960.7	8.18	2283569			
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	10/21/2025 12:11	400	5.892	12173289	False	3888.271	3888.271	972.1	8.138	3478897			
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S.d	Cal	6	10/21/2025 15:47	400	5.932	10983896	False	3762.1542	3762.1542	940.5	8.153	2709302			
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	10/21/2025 8:53	800	5.872	18549115	False	5571.8939	5571.8939	696.5	8.138	3428475			
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	10/21/2025 12:29	800	5.942	20791218	False	5109.8476	5109.8476	639	7.998	4386327			
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S.d	Cal	7	10/21/2025 16:05	800	5.897	17688433	False	5653.3282	5653.3282	706.7	8.108	2869822			
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	10/21/2025 9:11	1200	5.774	28404796	False	8174.9839	8174.9839	681.2	8.053	3440479			
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	10/21/2025 12:47	1200	5.93	29823467	False	7992.5736	7992.5736	666	8.091	3457925			
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S.d	Cal	8	10/21/2025 16:23	1200	5.873	24668872	False	8289.7403	8289.7403	690.8	8.099	3495894			
N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 1- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	10/21/2025 9:29	1600	5.84	35185538	False	10542.9627	10542.9627	659	8.131	3294851			
N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 2- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	10/21/2025 13:05	1600	5.926	26099820	False	10054.847	10054.847	628.4	8.048	2412591			
N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S	N9-REP 3- 1600 ng mL-C1-S.d	Cal	9	10/21/2025 16:41	1600	5.805	28799763	False	9574.3932	9574.3932	598.4	7.958	3206676			
N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 1- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	10/21/2025 9:47	3200	5.951	47956214	False	16932.7189	16932.7189	529.2	8.103	2818069			
N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 2- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	10/21/2025 13:23	3200	5.947	56341623	False	20553.0162	20553.0162	642.3	8.084	3111145			
N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S	N10-REP 3- 3200 ng mL-C1-S.d	Cal	10	10/21/2025 16:59	3200	5.958	49681587	False	20349.4309	20349.4309	637.6	8.104	2941911			
N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 1- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	10/21/2025 10:05	5000	5.851	64926884	False	21065.983	21065.983	421.3	8.077	3473510			
N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 2- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	10/21/2025 13:41	5000	5.888	56182018	False	19301.2741	19301.2741	386	8.137	2864354			
N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S	N11-REP 3- 5000 ng mL-C1-S.d	Cal	11	10/21/2025 17:17	5000	5.908	77614275	False	21482.7165	21482.7165	429.7	8.071	3689750			
N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 1- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	10/21/2025 10:23	10000	5.614	3050	False	1.3826	1.3826	0	8.101	3839473			
N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 2- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	10/21/2025 13:59	10000	5.979	11395	False	1.9408	1.9408	0	8.067	4348279			
N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S	N12-REP 3- 10000 ng mL-C1-S.d	Cal	12	10/21/2025 17:35	10000	6.533	4451	False	1.6619	1.6619	0	8.143	2772192			

APPENDIX K - CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250413

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/CODIGOS_LIMPIEZA_DE_DATOS/PRIMERA_CURVA_TRAZODONA_20250413.ipynb

APPENDIX L - CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250428

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/CODIGOS_LIMPIEZA_DE_DATOS/SEGUNDA_CURVA_TRAZODONA_20250428.ipynb

APPENDIX M - CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250505

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/CODIGOS_LIMPIEZA_DE_DATOS/TERCERA_CURVA_TRAZODONA_20250505.ipynb

APPENDIX N - CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250528

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/CODIGOS_LIMPIEZA_DE_DATOS/CUARTA_CURVA_TRAZODONA_20250528.ipynb

APPENDIX O - CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250616

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/CODIGOS_LIMPIEZA_DE_DATOS/QUINTA_CURVA_TRAZODONA_20250616.ipynb

APPENDIX P - CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250806

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/CODIGOS_LIMPIEZA_DE_DATOS/SEXTA_CURVA_TRAZODONA_20250806.ipynb

APPENDIX Q - CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250827

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/CODIGOS_LIMPIEZA_DE_DATOS/SEPTIMA_CURVA_TRAZODONA_20250827.ipynb

APPENDIX R - CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250909

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/CODIGOS_LIMPIEZA_DE_DATOS/OCTAVA_CURVA_TRAZODONA_20250909.ipynb

APPENDIX S - CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20250930

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/CODIGOS_LIMPIEZA_DE_DATOS/NOVENA_CURVA_TRAZODONA_20250930.ipynb

APPENDIX T - CÓDIGO DE LIMPIEZA DE DATOS DE LA CURVA_20251021

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/CODIGOS_LIMPIEZA_DE_DATOS/DECIMA_CURVA_TRAZODONA_20251021.ipynb

APPENDIX U — DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 13 DE ABRIL, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

Name	Type	Level	Acq_DateTime	Exp_Conc	RT	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area	Accuracy_pct
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	4/13/2025 12:42	25	5.883	820208	340.7733	1363.1	8.142	2520152	0.325459734	13.631
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	4/13/2025 17:14	25	5.894	1275844	356.1615	1424.6	8.097	3750758	0.34015631	14.246
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	4/13/2025 21:47	25	5.912	1135415	333.1431	1332.6	8.114	3568553	0.31817238	13.326
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	4/13/2025 12:59	50	5.919	1881419	584.6576	1169.3	8.151	3369397	0.558384482	11.693
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	4/13/2025 17:32	50	5.878	2314256	602.5023	1205	8.141	4021805	0.575427202	12.05
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	4/13/2025 22:04	50	5.905	1350110	584.2478	1168.5	8.105	2419582	0.557993075	11.685
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	4/13/2025 13:16	100	5.919	2825577	993.1467	993.1	8.135	2978942	0.948516957	9.931
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	4/13/2025 17:49	100	5.859	3030067	1115.7503	1115.8	8.108	2843502	1.065610997	11.158
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	4/13/2025 22:21	100	5.87	4329591	1003.1385	1003.1	8.095	4519124	0.958059792	10.031
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	4/13/2025 13:33	200	5.907	5729646	1729.4884	864.7	8.103	3468793	1.651769362	8.647
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	4/13/2025 18:06	200	5.866	6807102	1687.3398	843.7	8.144	4224040	1.611514569	8.437
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	4/13/2025 22:39	200	5.922	7631120	1524.2244	762.1	8.095	5242129	1.455729151	7.621
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	4/13/2025 13:50	400	5.891	10637090	2702.5744	675.6	8.116	4121103	2.581126946	6.756
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	4/13/2025 18:23	400	5.857	14087450	2962.5964	740.6	8.129	4978840	2.829464293	7.406
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	4/13/2025 22:56	400	5.877	12876584	3057.3263	764.3	8.094	4409884	2.919937123	7.643
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	4/13/2025 14:07	800	5.853	19580198	4734.5524	591.8	8.093	4330185	4.521792487	5.918
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	4/13/2025 18:40	800	5.888	19047506	4647.564	580.9	8.109	4291223	4.438712693	5.809
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	4/13/2025 23:13	800	5.857	23264403	4725.9319	590.7	8.119	5154336	4.513559652	5.907

APPENDIX V — DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 28 DE ABRIL, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

Name	Type	Level	Acq_DateTime	Exp_Conc	RT	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area	Accuracy_pct
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	4/28/2025 6:03	10	5.889	384250	118.9668	1189.7	8.095	2449203	0.156887771	11.897
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	4/28/2025 10:36	10	5.847	370910	127.534	1275.3	8.11	2205361	0.168185617	12.753
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	4/28/2025 15:09	10	5.926	406824	122.361	1223.6	7.963	2521159	0.161363881	12.236
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	4/28/2025 6:20	25	5.85	917598	307.3984	1229.6	8.115	2263538	0.405382194	12.296
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	4/28/2025 10:53	25	5.843	1527499	300.8879	1203.6	8.091	3849578	0.39679648	12.036
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	4/28/2025 15:26	25	5.877	1396379	289.5756	1158.3	8.07	3656605	0.381878546	11.583
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	4/28/2025 6:37	50	5.914	2506085	510.8977	1021.8	8.116	3719619	0.673747768	10.218
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	4/28/2025 11:10	50	5.897	2357811	499.9015	999.8	8.122	3576525	0.659246335	9.998
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	4/28/2025 15:43	50	5.939	2457747	536.8649	1073.7	8.042	3471433	0.70799206	10.737
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	4/28/2025 6:54	100	5.912	2975957	926.8263	926.8	8.072	2434810	1.222254303	9.268
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	4/28/2025 11:27	100	5.88	4018675	887.5176	887.5	8.073	3433544	1.170416048	8.875
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	4/28/2025 16:00	100	5.814	5079573	949.9884	950	8.083	4054578	1.252799428	9.5
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	4/28/2025 7:11	200	5.9	4877281	1481.8134	740.9	8.066	2495864	1.954145338	7.409
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	4/28/2025 11:44	200	5.879	5759497	1461.0937	730.5	8.197	2989119	1.926820913	7.305
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	4/28/2025 16:17	200	5.906	8119314	1401.0956	700.5	8.085	4394286	1.847698124	7.005
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	4/28/2025 7:28	400	5.844	8052821	2734.7015	683.7	8.126	2232929	3.606393665	6.837
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	4/28/2025 12:01	400	5.869	11726508	2710.5832	677.6	8.084	3280520	3.574588175	6.776
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	4/28/2025 16:34	400	5.864	10016547	2856.9829	714.2	8.139	2658564	3.767653139	7.142
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	4/28/2025 7:45	800	5.894	17738716	4147.8578	518.5	8.163	3242911	5.469997789	5.185
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	4/28/2025 12:18	800	5.883	22627652	3979.6266	497.5	7.988	4311555	5.248141796	4.975
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	4/28/2025 16:51	800	5.919	17172144	4836.6988	604.6	8.142	2692230	6.378408977	6.046
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	4/28/2025 8:02	1200	5.78	27269681	6435.8482	536.3	8.084	3213002	8.487290391	5.363
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	4/28/2025 12:35	1200	5.872	26368071	6226.7298	518.9	8.065	3211109	8.211515399	5.189
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	4/28/2025 17:08	1200	5.91	25326255	5728.3151	477.4	8.093	3352593	7.554228921	4.774

APPENDIX W — DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 5 MAYO, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

Name	Type	Level	Acq_DateTime	Exp_Conc	RT	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area	Accuracy_pct
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	5/5/2025 9:24	25	5.863	834037	340.7733	1331.1	8.135	2624143	0.317832146	13.311
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	5/5/2025 9:52	25	5.926	1221645	356.1615	1342.3	8.094	3811682	0.320500241	13.423
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	5/5/2025 10:20	25	5.934	1187521	333.1431	1445.8	8.123	3439927	0.345216919	14.458
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	5/5/2025 10:48	50	5.963	1942822	584.6576	1165.8	8.142	3489786	0.556716658	11.658
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	5/5/2025 11:16	50	5.886	2394210	602.5023	1270.8	8.153	3945288	0.606853036	12.708
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	5/5/2025 11:44	50	5.945	1284516	584.2478	1090.7	8.109	2466335	0.520819759	10.907
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	5/5/2025 12:12	100	5.935	2896427	993.1467	979.5	8.127	3096208	0.935475588	9.795
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	5/5/2025 12:40	100	5.824	3152126	1115.7503	1133.7	8.101	2952259	1.067699684	11.337
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	5/5/2025 13:08	100	5.857	4461758	1003.1385	1052.7	8.084	4385360	1.017421147	10.527
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	5/5/2025 13:36	200	5.929	5619809	1729.4884	823.8	8.118	3581724	1.569023465	8.238
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	5/5/2025 14:04	200	5.844	7082637	1687.3398	859.9	8.162	4315408	1.641243887	8.599
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	5/5/2025 14:32	200	5.97	7357961	1524.2244	750.8	8.109	5103886	1.441638979	7.508
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	5/5/2025 15:00	400	5.869	11013750	2702.5744	689	8.128	4205777	2.618719442	6.89
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	5/5/2025 15:28	400	5.898	14511823	2962.5964	787	8.143	4852689	2.990470438	7.87
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	5/5/2025 15:56	400	5.895	13375642	3057.3263	778	8.091	4506628	2.967993364	7.78
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	5/5/2025 16:24	800	5.875	20411920	4734.5524	606.4	8.106	4402425	4.636517374	6.064
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	5/5/2025 16:52	800	5.904	19296488	4647.564	578.4	8.101	4358004	4.427827051	5.784
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	5/5/2025 17:20	800	5.872	24035485	4725.9319	593.6	8.121	5310528	4.526006642	5.936

APPENDIX X — DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 28 MAYO, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

Name	Type	Level	Acq_DateTime	Exp_Conc	RT	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area	Accuracy_pct
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	5/28/2025 6:36	50	5.916	2615223	722.5238	1445	8.116	3789875	0.690055213	14.45
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	5/28/2025 10:12	50	5.981	2505456	745.0812	1490.2	8.071	3520882	0.711598969	14.902
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	5/28/2025 6:54	100	5.968	2780696	1165.1298	1165.1	8.072	2498892	1.11277158	11.651
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	5/28/2025 10:30	100	5.953	3841169	1298.4397	1298.4	8.046	3535046	1.08659661	12.984
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	5/28/2025 14:06	100	5.821	4718030	1277.7546	1277.8	8.086	4033038	1.169845164	12.778
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	5/28/2025 7:12	200	5.964	4599824	2063.7778	1031.9	8.023	2523813	1.822569263	10.319
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	5/28/2025 10:48	200	5.845	6010958	2167.827	1083.9	8.147	2923346	2.056191091	10.839
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	5/28/2025 14:24	200	5.904	8790315	2022.0349	1011	8.085	4531393	1.939870367	10.11
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	5/28/2025 7:30	400	5.888	8340467	3915.5726	978.9	8.166	2273058	3.669271528	9.789
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	5/28/2025 11:06	400	5.891	12310796	3972.9319	993.2	8.128	3245703	3.792952097	9.932
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	5/28/2025 14:42	400	5.945	10736373	3732.9856	933.2	8.141	2735453	3.924897631	9.332
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	5/28/2025 7:48	800	5.878	19143573	5898.4511	737.3	8.14	3396208	5.63674928	7.373
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	5/28/2025 11:24	800	5.943	21079462	4907.2515	613.4	7.976	4496136	4.688350619	6.134
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	5/28/2025 15:00	800	5.902	18400912	6120.0391	765	8.097	2798312	6.575718505	7.65
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	5/28/2025 8:06	1200	5.775	29474855	8217.6144	684.8	8.046	3295570	8.94378059	6.848
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	5/28/2025 11:42	1200	5.935	28469713	7880.8741	656.7	8.084	3282125	8.67417085	6.567
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	5/28/2025 15:18	1200	5.877	26469420	8314.6042	692.9	8.093	3329723	7.949436034	6.929

APPENDIX Y — DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 16 JUNIO, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

Name	Type	Level	Acq_DateTime	Exp_Conc	RT	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area	Accuracy_pct
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	6/16/2025 8:00	10	5.974	405518	120.3518	1203.5	8.062	2408290	0.168384206	12.035
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	6/16/2025 11:36	10	5.827	415845	134.5198	1345.2	8.16	2287022	0.181828159	13.452
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	6/16/2025 15:12	10	5.915	460302	138.0177	1380.2	7.978	2486139	0.185147331	13.802
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	6/16/2025 11:54	25	5.855	1539271	340.9036	1363.6	8.17	4075750	0.377665706	13.636
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	6/16/2025 8:36	50	5.937	2488524	595.4556	1190.9	8.131	4018870	0.619209877	11.909
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	6/16/2025 12:12	50	6.004	2362841	706.4276	1412.9	8.083	3261290	0.724511116	14.129
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	6/16/2025 8:54	100	5.991	3032195	1323.1916	1323.2	8.091	2315080	1.309758194	13.232
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	6/16/2025 12:30	100	5.975	3579812	954.6553	954.7	8.07	3728760	0.960054281	9.547
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	6/16/2025 16:06	100	5.842	5074258	1360.2721	1360.3	8.105	3772840	1.344943862	13.603
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	6/16/2025 9:12	200	5.987	4376832	1683.3608	841.7	8.046	2650180	1.651522538	8.417
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	6/16/2025 12:48	200	5.868	6558120	2193.2622	1096.6	8.163	3071190	2.135367724	10.966
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	6/16/2025 16:24	200	5.929	8243214	1994.3883	997.2	8.102	4234550	1.946656433	9.972
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	6/16/2025 9:30	400	5.91	7725621	3812.4753	953.1	8.186	2104020	3.671838195	9.531
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	6/16/2025 13:06	400	5.918	12991808	3960.5874	990.1	8.147	3439950	3.776743267	9.901
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	6/16/2025 16:42	400	5.967	10094845	3718.2749	929.6	8.165	2558060	3.946289376	9.296
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	6/16/2025 9:48	800	5.905	18299787	6207.8478	775.9	8.164	3249020	5.632402078	7.759
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	6/16/2025 13:24	800	5.967	21528251	6361.2689	795.2	7.996	4681840	4.598245775	7.952
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	6/16/2025 17:00	800	5.927	20114236	6212.2265	776.5	8.118	2591470	7.761708991	7.765
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	6/16/2025 10:06	1200	5.798	30978140	9434.4075	786.2	8.067	3580030	8.65303922	7.862
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	6/16/2025 13:42	1200	5.961	27419820	8330.7023	694.2	8.108	3206150	8.55225738	6.942
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	6/16/2025 17:18	1200	5.897	24075103	9113.7819	759.5	8.119	3532680	6.814968522	7.595

APPENDIX Z — DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 6 AGOSTO, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

Name	Type	Level	Acq_DateTime	Exp_Conc	RT	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area	Accuracy_pct
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	8/6/2025 8:00	10	5.944	406306	120.7724	1207.7	8.022	2407264	0.168783316	12.077
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	8/6/2025 11:36	10	5.809	423562	128.1049	1281	8.125	2410148	0.175741075	12.81
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	8/6/2025 8:36	50	5.99	2360877	649.5044	1299	8.117	4114030	0.573859938	12.99
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	8/6/2025 8:54	100	6.033	3176978	1312.2531	1312.3	8.091	2263048	1.403849145	13.123
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	8/6/2025 12:30	100	6.016	3465077	952.2922	952.3	8.059	3749301	0.924192803	9.523
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	8/6/2025 16:06	100	5.845	4942877	1333.3784	1333.4	8.144	3929229	1.25797631	13.334
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	8/6/2025 9:12	200	6.002	4249023	1846.6734	923.3	8.066	2602760	1.632506647	9.233
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	8/6/2025 12:48	200	5.849	6814134	2256.9343	1128.5	8.184	3147938	2.164634119	11.285
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	8/6/2025 16:24	200	5.933	8579048	2214.3051	1107.2	8.076	4455352	1.92556009	11.072
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	8/6/2025 9:30	400	5.885	7837795	4148.8425	1037.2	8.177	2053406	3.816972873	10.372
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	8/6/2025 13:06	400	5.952	13534592	3913.3493	978.3	8.141	3470335	3.900082269	9.783
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	8/6/2025 16:42	400	5.994	9631068	3666.4919	916.6	8.154	2572924	3.743238432	9.166
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	8/6/2025 9:48	800	5.938	19394344	6159.4646	769.9	8.137	3250130	5.967251771	7.699
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	8/6/2025 13:24	800	5.957	20588223	5194.6102	649.3	8.027	4521749	4.553154764	6.493
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	8/6/2025 17:00	800	5.898	20360061	6344.3269	793	8.149	2675900	7.608677828	7.93
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	8/6/2025 10:06	1200	5.827	30202455	8628.5459	719	8.046	3662791	8.245748938	7.19
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	8/6/2025 13:42	1200	5.966	26352490	7939.8143	661.6	8.111	3153357	8.356963706	6.616
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	8/6/2025 17:18	1200	5.877	24749741	8720.5528	727	8.14	3485441	7.100892254	7.27

APPENDIX AA — DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 27 AGOSTO, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

Name	Type	Level	Acq_DateTime	Exp_Conc	RT	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area	Accuracy_pct
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	8/27/2025 11:36	10	5.792	247489	74.5034	745	8.116	1981836	0.124878648	7.45
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	8/27/2025 15:12	10	5.925	226075	35.2184	352.2	7.989	2580730	0.087601183	3.522
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	8/27/2025 11:54	25	5.826	1545409	350.1952	1400.8	8.167	3998652	0.386482495	14.008
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	8/27/2025 15:30	25	5.974	1546473	338.9072	1355.6	8.093	3470561	0.445597412	13.556
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	8/27/2025 8:36	50	5.92	2509191	663.6067	1327.2	8.151	3964653	0.632890445	13.272
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	8/27/2025 12:12	50	5.979	2542419	735.7966	1471.6	8.094	3346404	0.759746582	14.716
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	8/27/2025 8:54	100	5.981	2826303	1169.0784	1169.1	8.076	2480464	1.139425124	11.691
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	8/27/2025 12:30	100	5.944	3855099	1311.0809	1311.1	8.045	3569660	1.079962517	13.111
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	8/27/2025 16:06	100	5.811	4675241	1276.1163	1276.1	8.091	4026101	1.161232915	12.761
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	8/27/2025 9:12	200	5.95	4602626	2056.6417	1028.3	8.019	2491327	1.847459607	10.283
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	8/27/2025 12:48	200	5.846	5953871	2202.4264	1101.2	8.167	3055128	1.948812292	11.012
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	8/27/2025 16:24	200	5.919	8790303	2000.6588	1000.3	8.088	4565752	1.925269485	10.003
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	8/27/2025 9:30	400	5.9	8608012	3944.0645	986	8.181	2123245	4.05417745	9.86
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	8/27/2025 13:06	400	5.882	12265334	3945.5416	986.4	8.094	3192071	3.842437715	9.864
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	8/27/2025 16:42	400	5.921	10997949	3713.2152	928.3	8.135	2757824	3.98790822	9.283
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	8/27/2025 9:48	800	5.886	19077438	5881.3292	735.2	8.126	3501415	5.448493823	7.352
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	8/27/2025 13:24	800	5.943	21035646	5097.087	637.1	7.977	4526550	4.647169699	6.371
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	8/27/2025 17:00	800	5.906	17863225	5954.5921	744.3	8.104	2761545	6.468561983	7.443
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	8/27/2025 10:06	1200	5.748	28728014	8287.6151	690.6	8.046	3450295	8.326248625	6.906
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	8/27/2025 13:42	1200	5.932	28608608	8060.6651	671.7	8.074	3433622	8.331903745	6.717
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	8/27/2025 17:18	1200	5.89	27450036	8369.9489	698.9	8.077	3377415	8.127528302	6.989

APPENDIX AB — DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 9 DE SEPTIEMBRE, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

Name	Type	Level	Acq_DateTime	Exp_Conc	RT	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area	Accuracy_pct
N2-REP 1- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	9/9/2025 6:55	25	5.902	1057681	24.6466	98.6	8.142	2516370	0.420320144	0.986
N2-REP 2- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	9/9/2025 10:31	25	5.915	1272831	21.7558	87	8.107	3690498	0.344894104	0.87
N2-REP 3- 25 ng mL-C1-S	Cal	2	9/9/2025 14:07	25	5.934	1150309	24.8661	99.5	8.119	3544766	0.32450915	0.995
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	9/9/2025 7:13	50	5.929	1874426	52.8874	211.5	8.138	3378293	0.554844118	2.115
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	9/9/2025 10:49	50	5.89	2279581	50.9339	203.7	8.153	3976515	0.573261009	2.037
N3-REP 3- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	9/9/2025 14:25	50	5.917	1349515	50.7766	203.1	8.076	2442501	0.552513592	2.031
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	9/9/2025 7:31	100	5.91	2789633	100.9968	101	8.098	2984784	0.934618049	1.01
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	9/9/2025 11:07	100	5.876	2996676	101.5809	101.6	8.119	2939089	1.019593486	1.016
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	9/9/2025 14:43	100	5.879	4377411	97.9513	98	8.097	4526550	0.967052391	0.98
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	9/9/2025 7:49	200	5.899	5755608	204.5765	102.3	8.016	3337090	1.72473862	1.023
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	9/9/2025 11:25	200	5.859	6896705	195.5196	97.8	8.178	4175660	1.651644291	0.978
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	9/9/2025 15:01	200	5.931	7855597	205.0425	102.5	8.1	5289073	1.485250251	1.025
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	9/9/2025 8:07	400	5.915	10562948	399.8996	100	8.147	4146559	2.547400869	1
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	9/9/2025 11:43	400	5.882	14599424	398.702	99.7	8.126	4848035	3.011410602	0.997
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	9/9/2025 15:19	400	5.909	12794657	395.2965	98.8	8.141	4429938	2.888224846	0.988
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	9/9/2025 8:25	800	5.884	19452009	801.0715	100.1	8.142	3452877	5.633565574	1.001
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	9/9/2025 12:01	800	5.911	19070924	784.0197	98	7.986	4294729	4.440541883	0.98
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	9/9/2025 15:37	800	5.877	23324660	797.9318	99.7	8.104	2836352	8.223471558	0.997

APPENDIX AC — DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 30 DE SEPTIEMBRE, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

Name	Type	Level	Acq_DateTime	Exp_Conc	RT	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area	Accuracy_pct
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	9/30/2025 7:12	10	5.95	374579	104.3261	1043.3	8.056	2445393	0.153177424	10.433
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	9/30/2025 10:48	10	5.797	384336	126.2037	1262	8.168	2209627	0.173937049	12.62
N1-REP 3- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	9/30/2025 14:24	10	5.915	431637	114.1151	1141.2	7.973	2656780	0.162466219	11.412
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	9/30/2025 7:48	50	5.924	2782061	719.2312	1438.5	8.132	3802822	0.731578023	14.385
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	9/30/2025 11:24	50	5.976	2498134	748.8437	1497.7	8.071	3634079	0.687418738	14.977
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	9/30/2025 8:06	100	5.969	3036329	1156.6205	1156.6	8.074	2546898	1.192167492	11.566
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	9/30/2025 11:42	100	5.945	3750681	1333.3744	1333.4	8.049	3567503	1.051346278	13.334
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	9/30/2025 15:18	100	5.825	4919214	1253.8134	1253.8	8.083	3977867	1.236646172	12.538
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	9/30/2025 8:24	200	5.967	4542079	2011.9391	1006	8.021	2654471	1.711105151	10.06
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	9/30/2025 12:00	200	5.847	6278489	2104.9848	1052.5	8.15	2953017	2.126126941	10.525
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	9/30/2025 15:36	200	5.91	9081159	2045.8895	1022.9	8.102	4390668	2.06828642	10.229
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	9/30/2025 8:42	400	5.889	8049925	3884.4108	971.1	8.175	2257270	3.566221586	9.711
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	9/30/2025 12:18	400	5.899	12115556	3886.9319	971.7	8.133	3372347	3.592618435	9.717
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	9/30/2025 15:54	400	5.944	11220366	3754.7894	938.7	8.149	2679023	4.18823056	9.387
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	9/30/2025 9:00	800	5.879	18179086	5627.998	703.5	8.145	3298223	5.51178195	7.035
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	9/30/2025 12:36	800	5.948	21156330	5048.9863	631.1	7.985	4415936	4.790905031	6.311
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	9/30/2025 16:12	800	5.904	17587126	5684.3027	710.5	8.105	2823263	6.229361558	7.105
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	9/30/2025 9:18	1200	5.777	28306635	8087.7193	674	8.05	3353927	8.439848273	6.74
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	9/30/2025 12:54	1200	5.936	29501322	7910.1847	659.2	8.086	3319790	8.886502459	6.592
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	9/30/2025 16:30	1200	5.877	25256987	8201.6521	683.5	8.096	3378068	7.476755056	6.835

APPENDIX AD — DATOS DE LA CURVA DE TRAZODONA DEL 21 DE OCTUBRE, DEPUÉS DEL CÓDIGO DE LIMPIEZA

Name	Type	Level	Acq_DateTime	Exp_Conc	RT	Resp	Calc_Conc	Accuracy	RT_ISTD	Resp_ISTD	Ratio_Area	Accuracy_pct
N1-REP 1- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	10/21/2025 7:05	10	5.95	376377	121.5362	1215.4	8.057	2694195	0.139699242	12.154
N1-REP 2- 10 ng mL-C1-S	Cal	1	10/21/2025 10:41	10	5.768	333203	147.8649	1478.6	8.197	2014781	0.165379265	14.786
N3-REP 1- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	10/21/2025 7:41	50	5.899	2551266	708.2922	1416.6	8.149	3935948	0.648196064	14.166
N3-REP 2- 50 ng mL-C1-S	Cal	3	10/21/2025 11:17	50	5.963	2409934	740.273	1480.5	8.068	3675060	0.655753648	14.805
N4-REP 1- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	10/21/2025 7:59	100	5.958	3063339	1203.7945	1203.8	8.07	2550840	1.200913817	12.038
N4-REP 2- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	10/21/2025 11:35	100	5.93	3899012	1323.3011	1323.3	8.054	3659391	1.065481114	13.233
N4-REP 3- 100 ng mL-C1-S	Cal	4	10/21/2025 15:11	100	5.809	5054548	1266.9182	1266.9	8.08	4004743	1.262140417	12.669
N5-REP 1- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	10/21/2025 8:17	200	5.961	4482478	1983.2295	991.6	8.028	2706670	1.656085892	9.916
N5-REP 2- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	10/21/2025 11:53	200	5.842	6199999	2107.483	1053.7	8.158	2982188	2.079010109	10.537
N5-REP 3- 200 ng mL-C1-S	Cal	5	10/21/2025 15:29	200	5.902	8943887	2018.4432	1009.2	8.092	4440403	2.014206143	10.092
N6-REP 1- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	10/21/2025 8:35	400	5.883	8285061	3842.6701	960.7	8.18	2283569	3.628119404	9.607
N6-REP 2- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	10/21/2025 12:11	400	5.892	12173289	3888.271	972.1	8.138	3478897	3.499180631	9.721
N6-REP 3- 400 ng mL-C1-S	Cal	6	10/21/2025 15:47	400	5.932	10983896	3762.1542	940.5	8.153	2709302	4.054142358	9.405
N7-REP 1- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	10/21/2025 8:53	800	5.872	18549115	5571.8939	696.5	8.138	3428475	5.410310707	6.965
N7-REP 2- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	10/21/2025 12:29	800	5.942	20791218	5109.8476	639	7.998	4386327	4.740006388	6.39
N7-REP 3- 800 ng mL-C1-S	Cal	7	10/21/2025 16:05	800	5.897	17688433	5653.3282	706.7	8.108	2869822	6.163599345	7.067
N8-REP 1- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	10/21/2025 9:11	1200	5.774	28404796	8174.9839	681.2	8.053	3440479	8.256058531	6.812
N8-REP 2- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	10/21/2025 12:47	1200	5.93	29823467	7992.5736	666	8.091	3457925	8.624671443	6.66
N8-REP 3- 1200 ng mL-C1-S	Cal	8	10/21/2025 16:23	1200	5.873	24668872	8289.7403	690.8	8.099	3495894	7.056527458	6.908

APPENDIX AE - CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO UNA CURVA DE CALIBRACIÓN

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/C%C3%93DIGOS_MACHINE_LEARNING/DAT_OS_UNA_CURVA_TRAZODONA.ipynb

APPENDIX AF - CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO DOS CURVAS DE CALIBRACIÓN

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/C%C3%93DIGOS_MACHINE_LEARNING/DAT_OS_DOS_CURVAS_TRAZODONA.ipynb

APPENDIX AG - CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO TRES CURVAS DE CALIBRACIÓN

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/C%C3%93DIGOS_MACHINE_LEARNING/DAT_OS_TRES_CURVAS_TRAZODONA.ipynb

APPENDIX AH - CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO CUATRO CURVAS DE CALIBRACIÓN

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/C%C3%93DIGOS_MACHINE_LEARNING/DAT_OS_CUATRO_CURVAS_TRAZODONA.ipynb

APPENDIX AI - CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO CINCO CURVAS DE CALIBRACIÓN

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/C%C3%93DIGOS_MACHINE_LEARNING/DAT_OS_CINCO_CURVAS_TRAZODONA.ipynb

APPENDIX AJ - CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO SEIS CURVAS DE CALIBRACIÓN

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/C%C3%93DIGOS_MACHINE_LEARNING/DAT_OS_SEIS_CURVAS_TRAZODONA.ipynb

APPENDIX AK - CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO SIETE CURVAS DE CALIBRACIÓN

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/C%C3%93DIGOS_MACHINE_LEARNING/DAT_OS_SIETE_CURVAS_TRAZODONA.ipynb

APPENDIX AL - CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO OCHO CURVAS DE CALIBRACIÓN

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/C%C3%93DIGOS_MACHINE_LEARNING/DAT_OS_OCHO_CURVAS_TRAZODONA.ipynb

APPENDIX AM - CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO NUEVE CURVAS DE CALIBRACIÓN

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/C%C3%93DIGOS_MACHINE_LEARNING/DAT_OS_NUEVE_CURVAS_TRAZODONA.ipynb

APPENDIX AN - CÓDIGO DE MACHINE LEARNING USANDO DIEZ CURVAS DE CALIBRACIÓN

https://github.com/daforerol/Curvas_Calibracion_Tox_Forense/blob/main/C%C3%93DIGOS_MACHINE_LEARNING/DAT_OS_DIEZ_CURVAS_TRAZODONA.ipynb

APPENDIX AO VALORES TERAPÉUTICOS, TÓXICOS Y LETALES REPORTADOS EN LA LITERATURA PARA LOS ANALITOS DE INTERÉS TOXICOLÓGICO EN SANGRE

Analito	Concentración Terapéutica reportada	Concentración Tóxica reportada	Concentración Letal reportada	Referencia	Concentración inicio terapéutica (ng/mL)	Concentración Fin terapéutica (ng/mL)	Concentración Inicio tóxica (ng/mL)	Concentración letal (ng/mL)
2C-B	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM
2C-B-FLY	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM
2C-C	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM
6 MAM	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE
7-AMINOCLONAZEPAM	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE
7-AMINOFLUNITRAZEPAM	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE
7-AMINOFLUNITRAZEPAM	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE
ACETAMINOFÉN	5–26 mg/L	30–300 mg/L	160–1280 mg/L	handbook	5000	26000	30000	1000000
ACIDO VALPROICO	50–100 mg/L	120–150 mg/L	150–300 mg/L	handbook	50000	100000	120000	300000
ALFA-HIDROXIALPRAZOLAM	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE
ALFA-HIDROXIMIDAZOLAM	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE
ALFA-HYDROXYTRIAZOLAM	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE
ALPRAZOLAM	0.002–0.07 mg/L	0.04–0.6 mg/L	0.13–2.1 mg/L	handbook	2	70	40	130
AMITRIPTILINA	NDL	NDL	NDL	NDL	20	NDL	NDL	NDL
ANFETAMINA	NDL	NDL	NDL	NDL	20	NDL	NDL	NDL
ANFETAMINA	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL
APROBARBITAL	NDL	NDL	NDL	handbook	NDL	NDL	NDL	NDL
ATROPINA	0.006–0.3 mg/L	0.02–0.24 mg/L	0.2–3.1 mg/L	handbook	6	300	20	200
BENZOCAINA	0.05–0.48 mg/L	1.0 mg/L	3.5 mg/L	handbook	50	480	1000	3500
BENZOILECGONINA	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE
BRODIFACOUMA	Rodenticida SSUM	Rodenticida SSUM	Rodenticida SSUM	handbook	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM

BROMADIOLONA	Rodenticida SSUM	Rodenticida SSUM	Rodenticida SSUM	handbook	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM
BROMAZEPAM	0.08–0.26 mg/L	0.3–0.4 mg/L	0.82–7.7 mg/L	handbook	80	260	300	820
CAFEINA	2–15 mg/L	15–50 mg/L	79–1040 mg/L	handbook	2000	15000	15000	79000
CARBAMAZEPINA	1.9–13 mg/L	10–15 mg/L	20–73 mg/L	handbook	1900	13000	10000	20000
CITALOPRAM	0.01–0.4 mg/L	1–4 mg/L	4–49 mg/L	handbook	10	400	1000	4000
CLOBAZAM	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL
CLOBAZAM	0.14–0.41 mg/L	1.0–3.5 mg/L	3.9 mg/L	handbook	140	410	1000	3900
CLONAZEPAM	0.004–0.08 mg/L	0.1–0.6 mg/L	0.68–1.4 mg/L	handbook	4	80	100	680
CLORPROMAZINA	NDL	NDL	NDL	NDL	10	NDL	NDL	NDL
CLORPROMAZINA	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL
CLOZAPINA	0.04–0.8 mg/L	0.9–7.0 mg/L	1.3–13 mg/L	handbook	40	800	900	1300
COCAETILENO	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	NDL	MSRCE	MSRCE	MSRCE
COCAINA	0.1–0.3 mg/L	0.1–5 mg/L	0.1–330 mg/L	handbook	100	300	100	100
CODEINA	0.03–0.4 mg/L	0.5–1 mg/L	1–48 mg/L	handbook	30	400	500	1000
COUMATETRALILO	Rodenticida SSUM	Rodenticida SSUM	Rodenticida SSUM	handbook	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM
DESIPRAMINA	0.04–0.25 mg/L	0.4–1.7 mg/L	3–36 mg/L	handbook	40	250	400	3000
DIAZEPAM	0.02–4 mg/L	3–20 mg/L	5–30 mg/L	handbook	20	4000	3000	5000
DICLOFENACO	1–4 mg/L	8–50 mg/L	20–100 mg/L	handbook	1000	4000	8000	8000
DIGOXINA	0.0008– 0.002mg/L	0.002–0.03 mg/L	0.01–1.3 mg/L	handbook	0.8	2	2	10
DIHIDROCODEINA	0.03–0.6 mg/L	0.8–3.5 mg/L	2–20 mg/L	handbook	30	600	1170	2000
DILTIAZEM	0.05–0.4 mg/L	0.56–6.1 mg/L	0.92–31 mg/L	handbook	50	400	560	920
DIMETILTRIPTAMINA	0.012–0.017 mg/L	nan	0.01–0.02 mg/L	handbook	12	12	NDL	10
DIPIRONA	4–11 mg/L	3.3–20 mg/L	NDL	handbook	4000	4000	3300	NDL
DOB/ BROLANFETAMINA	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM	SSUM
ECGONINA METIL ESTER	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE
ECGONINA	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE	MSRCE
EPINEFRINA	0.005–0.6 ng/mL	1.6 ng/mL	>1.6 ng/mL	handbook	0.005	0.005	1.6	>1.6

ESCOPOLAMINA	0.0002–0.019 mg/L	0.0009 mg/L	0.0009 mg/L	handbook	0.2	0.2	0.9	0.9
ESTAZOLAM	0.055–0.19 mg/L	1.25 mg/L	>1.25 mg/L	handbook	55	55	1250	>1.25
ETILMORFINA	0.3–0.6 mg/L	NDL	1.3–3.0 mg/L	handbook	300	300	NDL	1300
FELBAMATO	35–157 mg/L	111–200 mg/L	NDL	handbook	35000	35000	111000	NDL
FENACETINA	NDL	NDL	NDL	handbook	NDL	NDL	NDL	NDL
FENCICLIDINA	0.3–1.1 mg/L	0.09–0.5 mg/L	0.3–25 mg/L	handbook	300	1100	90	300
FENITOINA	2–20 mg/L	20–101 mg/L	45–94 mg/L	handbook	2000	20000	20000	45000
FENITOINA	10–20 mg/L	20–50 mg/L	45–94 mg/L	handbook	10000	20000	20000	45000
FENOBARBITAL	10–40 mg/L	60–100 mg/L	100–150 mg/L	handbook	10000	40000	60000	100000
FENTANIL	0.0003–0.01 mg/L	0.003–0.02 mg/L	0.003–0.21 mg/L	handbook	0.3	10	3	3
FLUNITRAZEPAM	0.001–0.015 mg/L	0.05 mg/L	0.07 mg/L	handbook	1	15	50	70
FLUOXETINA	0.02–0.45 mg/L	0.9–2 mg/L	1.3–7.0 mg/L	handbook	20	450	900	1300
FLURAZEPAM	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL	NDL
FLUVOXAMINA	0.02–0.5 mg/L	0.65–1.9 mg/L	2.2–11 mg/L	handbook	20	500	650	2200
HALOPERIDOL	0.005–0.05 mg/L	0.05–0.5 mg/L	0.18–1.9 mg/L	handbook	5	50	50	180
HARMALINA	0.002–0.004 mg/L	NDL	0.04–0.07 mg/L	handbook	2	4	NDL	40
HIDROCODONA	0.018–0.05 mg/L	0.1 mg/L	0.2–1.6 mg/L	handbook	18	50	100	200
HIDROMORFONA	0.001–0.05 mg/L	0.1 mg/L	0.08–2.7 mg/L	handbook	1	50	100	80
IBUPROFENO	10–50 mg/L	100–720 mg/L	81–1050 mg/L	handbook	10000	50000	100000	81000
IMIPRAMINA	NDL	NDL	NDL	NDL	100	NDL	NDL	NDL
KETAMINA	1–6.3 mg/L	1–6.3 mg/L	1.5–38 mg/L	handbook	1000	1000	1500	38000
LAMOTRIGINA	0.9–14 mg/L	16–47 mg/L	32–54 mg/L	handbook	900	14000	16000	32000
LEVAMISOL	NDL	NDL	NDL	handbook	NDL	NDL	NDL	NDL
LEVETIRACETAM	10–40 mg/L	50–100 mg/L	100–200 mg/L	handbook	10000	40000	50000	100000
LEVOMEPRMAZINA (Methotrimeprazine)	0.02–0.14 mg/L	0.02–0.14 mg/L	0.8–4.1 mg/L	handbook	20	20	140	800
LIDOCAINA	0.9–5 mg/L	8–12 mg/L	11–92 mg/L	handbook	900	5000	8000	11000

