



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE
MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE
METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
QUANTIFICAÇÃO DE COCAÍNA POR
ESPECTROMETRIA NA REGIÃO DO
ULTRAVIOLETA**

Aline Marques de Oliveira

**Belo Horizonte-MG
2013**



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE
MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE
METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
QUANTIFICAÇÃO DE COCAÍNA POR
ESPECTROMETRIA NA REGIÃO DO
ULTRAVIOLETA**

Aline Marques de Oliveira

Monografia apresentada ao Curso de Química Tecnológica do CEFET-MG como parte das exigências da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II (TCC II).

Orientador: Prof. Dr. Cleverson Fernando Garcia

Co-Orientador: Ms. Marcus Vinícius de Oliveira Andrade

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cleverson Fernando Garcia (orientador)

Prof^a. Dra. Adriana Akemi Okuma

Prof. Dr. Claudinei Rezende Calado

**Belo Horizonte-MG
2013**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe pelo amor incondicional antes mesmo que eu abrisse os olhos nesse mundo.

À Vovó Dil e ao Vovô Júlio, pela sabedoria e educação que tanto contribuíram para o meu crescimento pessoal.

Ao Tio Eduardo, por sempre me lembrar de que sou capaz de alcançar os voos mais altos, e aos irmãos Léo e Fabíola, pela admiração.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Cleverson Fernando Garcia, pela dedicação ao meu trabalho, cobrança e paciência nas horas necessárias.

Ao meu co-orientador e amigo, PCF Ms. Marcus Vinícius de Oliveira Andrade, pelo amplo conhecimento transmitido e sem o qual este trabalho não seria possível.

Agradeço ao Departamento de Polícia Federal (DPF), pela disponibilização do espaço físico e de material para desenvolvimento deste trabalho.

Ao PCF Eduardo Mendes Cardoso, pela oportunidade de estágio na Polícia Federal e pela confiança em mim depositada.

Aos peritos e amigos do DPF, em especial ao Kraemer, Maurício, Guilherme e Mata, pelos ensinamentos durante o estágio e por fazerem minhas tardes muito mais interessantes e agradáveis.

Ao CEFET-MG e todos os professores a ele ligados, pela oportunidade de aprendizado e desenvolvimento pessoal.

Ao Professor Antônio Ávila, pela liberação parcial de tempo para execução deste trabalho.

Aos amigos do CEFET-MG, pelas risadas e sofrimentos compartilhados durante a elaboração do TCC e por todos os momentos de divertimento e descontração sem os quais a graduação e todo o resto não teriam sido tão bons.

Ao Rapha, pela paciência, incentivo, amor e companheirismo na hora exata.

A todos que estiveram comigo nesse desafio e que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada.

LISTA DE ABREVIATURAS

λ – comprimento de onda

$\lambda_{\text{máx}}$ – comprimento de onda de máxima absorção

μg – micrograma

μL – microlitro

ANOVA – Análise de Variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CEBRID – Centro Brasileiro de Informação sobre Drogas Psicotrópicas

CG-EM – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas

CG-DIC – Cromatografia Gasosa com Detetor de Ionização de Chama

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CV – Coeficiente de Variação

DPR – Desvio Padrão Relativo

INC – Instituto Nacional de Criminalística

INCTAA – Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*

IV-TF – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

JIFE – Junta Internacional de Fiscalização de Entorpecentes

LD – Limite de Detecção

LDE – Limite de Detecção do Equipamento

LDM – Limite de Detecção do Método

LQ – Limite de Quantificação

mg – miligrama

mL – mililitro

MRC – Material de Referência Certificado

nm – nanômetros

PeQui – Perfil Químico de Drogas

PIB – Produto Interno Bruto

PF – Polícia Federal

PRF – Polícia Rodoviária Federal

s – Desvio-padrão

SENAD – Secretaria Nacional Antidrogas

SENASP – Secretaria Nacional de Segurança Pública

SNC – Sistema Nervoso Central

SETEC – Setor Técnico-Científico

SR – Superintendência Regional de Polícia Federal

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UTEC – Unidade Técnico-Científica

UnB – Universidade de Brasília

UNICAMP – Universidade de Campinas

UNODC - United Nations Office on Drugs and Crime

USP – Universidade de São Paulo

UV-Vis – Ultravioleta-Visível

UV-D – Espectrometria derivada na região do ultravioleta (UV-D)

LISTA DE FIGURAS E FLUXOGRAMAS

Figura 1 – Quantidade de cocaína apreendida em alguns países da América do Sul entre os anos de 2000 a 2010.....	4
Figura 2 – Estrutura química da cocaína.....	5
Figura 3 – Formas de apresentação da cocaína, (a) pasta base, (b) cloridrato de cocaína e (c) <i>crack</i>	9
Figura 4 – Conversão da cocaína em cloridrato de cocaína.....	9
Figura 5 – Estruturas químicas da ecgonina, metilecgonina e benzoilecgonina, principais produtos do metabolismo da cocaína.....	12
Figura 6 – Estruturas químicas dos principais adulterantes de cocaína encontrados no Brasil.....	16
Figura 7 – Desenvolvimento do teste Scott Modificado para (A) 1 mg de cloridrato de cocaína, (B) 3 mg de cloridrato de cocaína e (C) crack. Cada foto corresponde a um passo da reação de Scott, sendo teste esquerda passo 1, centro passo 2 e teste direita passo 3.....	19
Figura 8 – Espectro de radiação eletromagnética.....	21
Figura 9 – Espectros UV-Vis de (a) ordem zero de três corantes de igual concentração e da solução mistura dos três e da (b) primeira derivada.....	25
Figura 10 – Espectros de ordem zero para as soluções 10,0 µg mL ⁻¹ e cocaína (linha azul escuro), benzocaína (linha preta), lidocaína (linha azul claro) e cafeína (linha vermelha) em meio ácido.....	39
Figura 11 – Espectros da primeira derivada da absorvância para as soluções 10 µg mL ⁻¹ de cocaína (linha azul escuro), benzocaína (linha preta), lidocaína (linha azul claro) e cafeína (linha vermelha) em meio ácido.....	40
Figura 12 – Curva analítica das soluções padrão de cocaína.....	42
Figura 13 – Relação entre os valores dos resíduos padronizados e a sequência em que as análises foram realizadas.....	43
Figura 14 – Teste de hipóteses de Anderson-Darling para distribuição	

normal.....	44
Fluxograma 1 – Processamento das folhas de coca para produção da pasta base de cocaína.....	14
Fluxograma 2 – Produção da cocaína base, do cloridrato de cocaína, do <i>crack</i> e da merla.....	15

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 – Características físicas e químicas da cocaína base e do cloridrato de cocaína.....	10
Tabela 2 – Relação entre algumas formas de consumo de cocaína e o tempo de absorção e assimilação pelo cérebro.....	11
Tabela 3 – Principais íons via CG-EM dos adulterantes de cocaína.....	20
Tabela 4 – Principais bandas observadas na cocaína base livre e no cloridrato de cocaína via IV-TF.....	20
Tabela 5 – Dados obtidos para construção da curva analítica.....	41
Tabela 6 – Soluções de cocaína em meio aos adulterantes benzocaína, lidocaína e cafeína.....	45
Tabela 7 – Relação das concentrações das soluções de cocaína em meio aos adulterantes benzocaína, lidocaína e cafeína (combinações 1 a 7) com os valores dos testes t correspondentes.....	46
Tabela 8 – Relação entre as amostras de referência e a concentração prevista de cocaína.....	47
Tabela 9 – Relação entre as concentrações obtidas de cocaína, via ajuste linear e seus respectivos coeficientes de variação.....	48
Tabela 10 – Relação entre as concentrações de cocaína das soluções-padrão e suas médias correspondentes.....	49
Tabela 11 – Relação entre as médias das concentrações das soluções-padrão de cocaína e os números de amostras e replicatas necessários para o cálculo do desvio-padrão de precisão intermediária.....	50
Tabela 12 – Concentrações de cocaína na hexaplicata.....	50
Quadro 1 – Principais matrizes biológicas e os respectivos períodos de detecção da cocaína.....	12
Quadro 2 – Adulterantes e diluentes encontrados com a cocaína.....	16
Quadro 3 – Estratégias para a determinação do LD.....	29
Quadro 4 – Estratégias para determinação do LQ.....	30

RESUMO

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE COCAÍNA POR ESPECTROMETRIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA

OLIVEIRA, A. M.; GARCIA, C.F; ANDRADE, M.V.O

A cocaína é um alcaloide tropânico com propriedades psicoativas extraído das folhas de plantas do gênero *Erythroxylum*, comuns em regiões andinas da América do Sul. Devido ao grande abuso e dependência de drogas psicoativas, em 1921 surgiu a primeira lei brasileira que restringiu o uso de cocaína que, em 1961, foi colocada sob controle internacional na Convenção Única sobre Entorpecentes. Desde então, o controle de drogas é aplicado para evitar a ação de produtores, traficantes e usuários de drogas ilícitas. Somado a isso, o Brasil, além de consumidor, representa uma rota de tráfico de drogas. Logo, dados como a origem geográfica da droga, o método utilizado para o processamento, os reagentes químicos usados no processo de refino, na adulteração e na diluição podem direcionar o combate ao narcotráfico. A análise de cocaína apreendida tornou-se, então, parte da rotina de laboratórios de química forense. Apesar da legislação brasileira não exigir a determinação do teor da substância, a Polícia Federal considera que procedimentos de quantificação e caracterização das amostras apreendidas são estratégicos. O projeto Perfil Químico de Drogas, criado pela Polícia Federal, tenta estabelecer correlações químicas entre amostras apreendidas de cocaína gerando informações importantes para as autoridades de repressão ao tráfico de entorpecentes. Dessa forma, a validação de metodologias que auxiliam no combate ao narcotráfico torna-se essencial para a Polícia Federal. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver e validar um método espectrofotométrico na região do ultravioleta, aplicando a primeira derivada aos espectros, para a determinação de cocaína na presença dos principais adulterantes (benzocaína, lidocaína e cafeína). O método foi avaliado segundo algumas das recomendações do INMETRO, sendo os parâmetros linearidade, seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, repetibilidade, precisão intermediária e exatidão verificados. Pôde-se perceber que o método só pode quantificar cocaína tendo como adulterante benzocaína, em concentração máxima igual a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ e que a exatidão precisa ser reavaliada para verificar a ocorrência de possíveis erros sistemáticos. Por fim, como os demais parâmetros se mostraram satisfatórios e, se em análises futuras a exatidão se mostrar satisfatória, o presente método poderá ser empregado na condição específica do adulterante benzocaína.

Palavras-chave: ultravioleta-visível, espectrometria derivada, validação de método, análises forenses, cocaína.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Tráfico de drogas: Contexto nacional e internacional	3
2.2	Cocaína	5
2.2.1	Histórico de uso e controle	6
2.2.2	Formas de apresentação	7
2.2.3	Propriedades físico-químicas	9
2.2.4	Toxicocinética	10
2.2.5	Processos de obtenção da cocaína	13
2.2.6	Principais adulterantes e diluentes encontrados em amostras ilícitas de cocaína	15
2.3	Aspectos Analíticos	17
2.3.1	Métodos utilizados para identificação e quantificação de cocaína	17
2.3.2	Espectrometria no ultravioleta e visível	21
2.4	Validação de métodos analíticos	25
2.4.1	Parâmetros de validação de método	26
2.4.1.1	<i>Linearidade</i>	26
2.4.1.2	<i>Especificidade/Seletividade</i>	27
2.4.1.3	<i>Limite de Detecção (LD)</i>	28
2.4.1.4	<i>Limite de Quantificação (LQ)</i>	29
2.4.1.5	<i>Precisão</i>	30
2.4.1.6	<i>Exatidão</i>	31
3	METODOLOGIA	35
3.1	Materiais e reagentes	35
3.1.1	Equipamentos	35
3.1.2	Reagentes	35
3.1.3	Padrões	35
3.1.4	Soluções	35
3.2	Instrumentação e condições do ultravioleta/visível	36

3.3 Avaliação de interferentes.....	36
3.4 Parâmetros para validação de método	36
3.4.1 Preparo da curva analítica.....	36
3.4.2 Linearidade.....	37
3.4.3 Seletividade.....	37
3.4.4 Limite de Detecção (LD).....	37
3.4.5 Limite de Quantificação (LQ)	37
3.4.6 Precisão.....	38
3.4.6.1 Repetitividade.....	38
3.4.6.2 Precisão intermediária.....	38
3.4.7 Exatidão.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1 Desenvolvimento do método no UV-Vis	39
4.1.1 Espectrometria na região do ultravioleta.....	39
4.1.2 Espectrometria derivada na região do ultravioleta (UV-D).....	40
4.2 Validação do método proposto.....	41
4.2.1 Construção da curva analítica.....	41
4.2.2 Linearidade.....	42
4.2.3 Seletividade.....	44
4.2.4 Limite de Detecção (LD)	46
4.2.5 Limite de Quantificação (LQ)	47
4.2.6 Precisão.....	47
4.2.6.1 Repetitividade.....	47
4.2.6.2 Precisão intermediária.....	49
4.2.7 Exatidão.....	50
5 CONCLUSÃO.....	52
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

1 INTRODUÇÃO

Substâncias psicoativas vêm sendo consumidas ao longo da história sob diferentes formas. No entanto, o abuso de drogas ilícitas, tornou-se um problema de saúde pública enfrentado pela sociedade (FERREIRA & MARTINI, 2001). Devido ao alto potencial de abuso e dependência, em 1921, surgiu a primeira lei brasileira que restringia o uso de ópio e cocaína para fins médicos e científicos, sendo a cocaína, colocada sob controle internacional no Anexo I da Convenção Única sobre Drogas Entorpecentes, de 1961. Desde então, o controle de drogas é aplicado para aumentar os riscos para os produtores, traficantes e usuários de drogas ilícitas. Estas passam a ter importância para as ciências forenses, uma vez que em seu contexto histórico apresentam relação direta com a violência e a criminalidade. (PASSAGLI, 2011; UNODOC, 2012).

A análise de cocaína apreendida tornou-se parte da rotina de laboratórios de química forense e consiste, basicamente, na realização de testes preliminares de constatação por via úmida e exames definitivos, ambos de cunho qualitativo, uma vez que a legislação brasileira não prevê a necessidade da determinação do teor da substância. Entretanto, a Polícia Federal (PF) considera que procedimentos de quantificação e caracterização das amostras apreendidas são estratégicos (MALDANER et al., 2010).

Desde 2007, a PF criou o projeto Perfil Químico de Drogas (PeQUi), que tenta estabelecer correlações químicas entre amostras apreendidas de cocaína para produzir um banco de dados com informações de locais de produção e consumo de drogas, visando interligar produtores e usuários e, com isso, auxiliar o combate ao tráfico de entorpecentes (BOTELHO, 2011; GOULART JUNIOR, 2012).

Nesse contexto, a validação de metodologias que auxiliam no combate ao narcotráfico torna-se essencial para a PF. A validação envolve um processo de avaliação a fim de estimar a eficiência de um método na rotina do laboratório (BRITO et al., 2003). A confiabilidade dos resultados analíticos é essencial na área forense, sendo um pré-requisito para a correta interpretação dos resultados. Quando estes não são confiáveis, podem ser contestados na justiça ou levar a condenações equivocadas de réus. (GOULART JUNIOR, 2012)

Unidades criminalísticas descentralizadas da PF instaladas fora de uma capital (UTEK) não possuem equipamentos sofisticados como cromatógrafo, por exemplo, para realização de testes definitivos em amostras de cocaína apreendidas. Dessa forma, há um intenso fluxo de expedientes que chegam às unidades de criminalística instaladas em uma capital, como o SETEC (Setor Técnico-Científico), o que demanda tempo na obtenção de resultados definitivos pela perícia. Considerando essa realidade e a validação de métodos analíticos, torna-se necessário o desenvolvimento de metodologias de trabalho complementares baseadas em técnicas mais acessíveis financeiramente, a exemplo da espectrometria de ultravioleta-visível (UV-Vis) e a espectroscopia na região do infravermelho.

Os métodos espectrométricos na região do UV-Vis são indicados para o reconhecimento e a confirmação de compostos orgânicos, mas exigem uma padronização prévia do comportamento das substâncias de interesse (AMÉRICO, 2008). A cocaína apreendida no Brasil pode apresentar-se adulterada, sendo a benzocaína, a cafeína e a lidocaína, seus adulterantes mais comuns. Neste cenário, um dos problemas associados à espectrometria nas regiões do UV-Vis de misturas de componentes se relaciona à sobreposição das bandas. Uma alternativa vantajosa e viável, consiste na utilização da espectrometria derivada na região do ultravioleta (UV-D), que possibilita minimizar problemas com interferentes, sem o uso de padrões ultrapuros ou procedimentos prévios e/ou complexos de separação ou extração (PASCHOAL et al., 2003).

O presente trabalho propõe o desenvolvimento e a validação de um método analítico que atenda as necessidades de determinação da cocaína pela técnica de espectrometria derivada no ultravioleta, que é rápida, requer instrumentação simples e demanda menores investimentos, fornecendo à perícia um resultado positivo ou negativo em menor tempo e facilitando, portanto, a elaboração de laudos definitivos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tráfico de drogas: Contexto nacional e internacional

Os fluxos de tráfico de drogas têm dimensões globais e muitas vezes trazem consequências dramáticas para os países cujas regiões e continentes estão ligados ao tráfico. Vários locais enfrentam altos índices de violência, corrupção, sequestro e tráfico humano relacionado ao crime organizado transnacional e ao tráfico de drogas (UNODC, 2012). Além desses fatores, é importante considerar que parte significativa do Produto Interno Bruto (PIB) mundial é consumida com gastos relacionados ao uso de drogas e às atividades de crime organizado (CECÍLIO, 2010).

Entre as substâncias mantidas na ilegalidade, a cocaína ganhou destaque na problemática internacional do tráfico. Segundo a Junta Internacional de Fiscalização de Entorpecentes (JIFE), cerca de duzentas a trezentas toneladas de cocaína são consumidas na Europa por ano (CECÍLIO, 2010). Neste cenário, Colômbia, Peru e Bolívia figuram como os principais países produtores de cocaína no mundo.

O Brasil, mesmo não sendo um dos grandes produtores de cocaína, constitui rota de tráfico internacional para drogas cujos destinos principais são Europa e África em virtude da sua posição geográfica estratégica na América do Sul. Autoridades afirmam que cerca de 60% da cocaína que chega no continente africano passam pelo Brasil (JIFE, 2007). A cocaína colombiana entra no país principalmente pelos estados do Amazonas e Roraima; a cocaína peruana, pelos estados do Amazonas e do Acre e a cocaína boliviana pelos estados do Acre, Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Paraná. A droga entra por vias aéreas, terrestres e fluviais, sendo exportada principalmente por via marítima (BOTELHO, 2011).

Nos Estados Unidos e na Europa se observa grande lucratividade com o tráfico, pois são locais atrativos ao comércio de drogas, considerando a cadeia de distribuição e o preço a que são vendidas. A cocaína atinge as mais variadas demandas e graus de pureza, alcançando, nesses locais, os mais altos valores de mercado (CECÍLIO, 2010).

O Brasil, além de rota para o tráfico, constitui grande parte do mercado consumidor da cocaína proveniente da Colômbia, do Peru e da Bolívia, apresentando o maior número de usuários nas Américas do Sul e Central e

no Caribe (BOTELHO, 2011). Por outro lado, segundo o World Drug Report (2012), todas as apreensões policiais de cocaína feitas no Brasil, desde 2004 até 2010, mais do que triplicaram, chegando à aproximadamente 27 toneladas em 2010. A Figura 1 apresenta a quantidade em toneladas de cocaína apreendida em alguns países da América do Sul. De acordo com especialistas, o aumento nas apreensões no Brasil pode refletir o seu papel como país de partida para a cocaína contrabandeada através do Oceano Atlântico (UNODC, 2012).

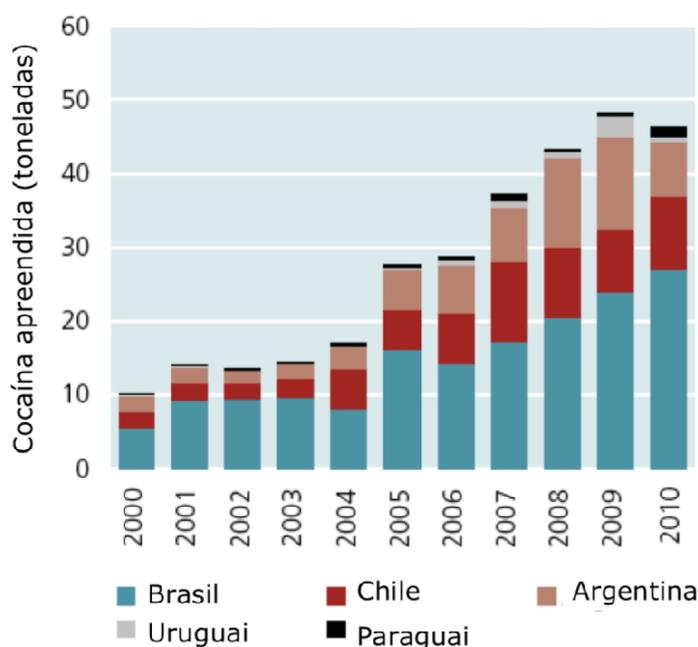


Figura 1 – Quantidade de cocaína apreendida em alguns países da América do Sul entre os anos de 2000 a 2010.
Fonte: UNODC (2012)

Diversos dispositivos legais, nacionais e internacionais, dispõem sobre questões relacionadas ao tráfico, porte, uso, repressão e controle de substâncias e seus precursores capazes de causar dependência física e/ou psíquica.

No Brasil, atualmente, o Ministério da Saúde (MS) regulamenta a prevenção, a fiscalização, o controle e a repressão à produção, ao uso e ao tráfico ilícito de produtos, substâncias ou drogas ilícitas que possam causar dependência física ou psíquica. Além disso, por meio da Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS), aprovou o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial, no qual a cocaína, bem como seus sais e isômeros, se inserem como substâncias

entorpecentes de uso proscrito no país. Outras regulamentações estabelecem o controle e fiscalização sobre produtos químicos como, por exemplo, ácido sulfúrico, acetona, tolueno, cloreto de etila, permanganato de potássio, que direta ou indiretamente possam ser utilizados na elaboração ilícita de tais substâncias entorpecentes. A legislação brasileira sobre o controle de insumos químicos é uma das mais avançadas do mundo e as discussões em torno das leis que tratam do tráfico e dependência de drogas continuam a ser feitas no Congresso Nacional.

Para o controle e repressão do narcotráfico, o país possui órgãos subordinados aos governos estaduais, que são as polícias civis e militares, e órgãos subordinados ao Ministério da Justiça, a saber: a Secretaria Nacional Antidrogas (SENAD), a Secretaria Nacional de Segurança Pública (SENASP), a Polícia Federal e a Polícia Rodoviária Federal (PRF) (BOTELHO, 2011).

No plano internacional, o controle das drogas psicotrópicas é feito por meio de tratados, acordos ou convenções celebrados pelos países membros da ONU (FUKUSHIMA, 2010).

2.2 Cocaína

A cocaína é um alcaloide tropânico (Figura 2) extraído das folhas de plantas do gênero *Erythroxylum*, comuns em regiões andinas da América do Sul, principalmente, Colômbia, Bolívia, Peru e Equador (FUKUSHIMA, 2010).

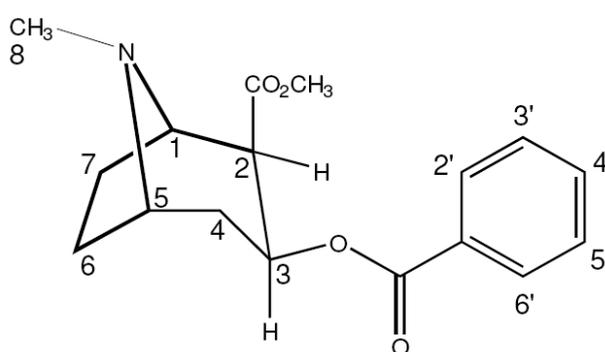


Figura 2 – Estrutura química da cocaína.
Fonte: BOTELHO (2011)

As variedades das plantas que apresentam os maiores teores de cocaína são a *Erythroxylum coca* v. *coca* (*Erythroxylum coca* Lamarck), *Erythroxylum novogranatense* v. *novogranatense*, *Erythroxylum novogranatense* v. *truxillense* e *Erythroxylum coca* var *ipadu*. Há poucas

informações sobre sua função natural nas folhas das plantas, mas sabe-se que a cocaína representa cerca de 80% dos alcaloides presentes e exibe propriedades inseticidas (BOTELHO, 2011).

2.2.1 Histórico de uso e controle

Nas diferentes culturas humanas, o consumo de drogas é universal na medida em que o homem procura alternativas que aumentam a sensação de prazer e diminuem o desconforto e o sofrimento (ALVES, 2012).

Civilizações pré-colombianas dos Andes já utilizavam as folhas extraídas das plantas *Erythroxylon coca* baseadas em lendas que relacionavam seu uso à fertilidade e práticas curativas. No Peru, os incas consideravam tais plantas sagradas e seu uso era controlado e reservado à alta nobreza. As folhas eram mascaradas, liberando o princípio ativo e propiciando os efeitos farmacológicos da cocaína. Durante muitos anos indígenas sul-americanos mantiveram a tradição de utilizar as folhas de coca mascaradas ou fervidas como chá, sendo atualmente cultivadas e comercializadas legalmente *in natura* ou processadas (chás) em países como Bolívia, Peru e na região noroeste da Argentina (FERREIRA & MARTINI, 2001).

Após séculos de utilização, somente em 1859 o químico alemão Albert Niemann isolou e caracterizou a cocaína das folhas de coca. Em 1884, o médico Karl Koller realizou intensa divulgação da cocaína como anestésico local para cirurgias oftálmicas, enquanto Sigmund Freud a recomendava para tratamento de distúrbios como, por exemplo, depressão, tuberculose, problemas cardíacos e cura à dependência de morfina e álcool (FUKUSHIMA, 2010; BOTELHO, 2011).

A cocaína tornou-se de fácil acesso em bares e farmácias em virtude da inexistência de leis ou regulamentos para sua venda e/ou consumo (FERREIRA & MARTINI, 2001). Entre o final do século XIX e o início do século XX, à medida que os efeitos colaterais negativos do uso da cocaína eram evidenciados, especialmente em usuários crônicos, seu uso medicinal foi sendo suspenso (BOTELHO, 2011).

Além disso, convenções voltadas à discussão sobre a proibição de produção, comercialização e uso de narcóticos possibilitaram a elaboração de regulamentações e leis restritivas quanto ao comércio de entorpecentes

como o Tratado de Haia de 1912, o controle do tráfico internacional de drogas, assumido pela Liga das Nações em 1920 e o Decreto-lei Federal nº 4.292 de 1921 (FERREIRA & MARTINI, 2001; BOTELHO, 2011).

Em 1961 a cocaína foi colocada sob controle internacional na Convenção Única sobre Entorpecentes (UNODC, 2012). Mesmo assim, a década de 1970 foi marcada pelo aumento do consumo, principalmente nos Estados Unidos da América (EUA), e no final da década de 1980 constatou-se o mesmo problema no Brasil (ALVES; CARNEIRO, 2012).

A cocaína ganhou espaço no Brasil e o seu tráfico tornou-se atrativo do ponto de vista econômico. Os usuários da droga, inicialmente, a aspiravam ou injetavam, sendo o compartilhamento de seringas e agulhas comum em presídios e periferias de grandes centros urbanos. Com a incidência da síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) e o surgimento de campanhas educativas, o uso de cocaína na forma injetável foi reduzido. No entanto, sua influência ainda se manteve alta, pois gerou uma nova forma de consumo mais barata, de rápida absorção, capaz de gerar comportamentos compulsivos intensos e maior dependência: o *crack* (PASSAGLI, 2011).

2.2.2 Formas de apresentação

A cocaína pode chegar ao consumidor sob diversas formas que levam a perfis toxicocinéticos, toxicológicos e grau de dependência distintos (ALVES & CARNEIRO, 2012). As formas consumidas e apreendidas são descritas à seguir, conforme definições adotadas pelo Departamento de Polícia Federal (DPF):

- **Pasta base:** obtida nas primeiras fases de extração da cocaína, a partir das folhas de coca, que são maceradas na presença de substâncias alcalinas, solventes orgânicos como querosene e gasolina e ácido sulfúrico. Essa pasta contém, portanto, muitas impurezas tóxicas. A cocaína encontra-se na forma de base livre e se apresenta em pó e/ou grumos. Sua coloração varia em tons bege e amarelo escuro e é consumida pura, fumada com tabaco ou com maconha (FUKUSHIMA, 2010).

- **Cocaína na forma de base livre:** proveniente da purificação da pasta base por meio de processos de oxidação ou lavagens com permanganato de potássio ou etanol, capazes de remover os alcaloides *cis* e *trans*-cinamoilcocaína. De modo geral, seu grau de pureza é de aproximadamente 90% m m⁻¹. É obtida na forma de pó e grumos mais claros que a pasta base e seu consumo é realizado na forma pura, com tabaco ou com maconha (FUKUSHIMA, 2010; BOTELHO,2011).
- **Crack:** consiste na cocaína sob a forma de base livre que passa por uma etapa de aquecimento, onde se mistura e funde com bicarbonato de sódio. Em seguida, é resfriada para formar pedras de coloração esbranquiçada, marfim ou amarelada. Dessa forma, o crack não é um subproduto do refino, mas uma forma de apresentação da cocaína que muitas vezes contém resíduos de sais de sódio (sulfato, carbonato e bicarbonato), sendo destinado a um mercado consumidor exclusivo e com baixo valor agregado. As pedras não se esfrelam com facilidade como a pasta base ou a cocaína na forma de base livre. O teor de pureza do crack é de 75 a 90% m m⁻¹ (FUKUSHIMA, 2010). Como é pouco solúvel em água, mas volatiliza-se a aproximadamente 90°C, o crack é consumido puro por meio de cachimbos ou adaptações similares.
- **Merla:** apresenta-se na forma de uma pasta branca molhada com cerca de 70% de teor de água e sais de sódio (sulfato, carbonato e bicarbonato). A cocaína na forma de base livre decompõe-se rapidamente devido à quantidade de água presente. É uma forma de apresentação especificamente encontrada no Distrito Federal e, geralmente, consumida com tabaco ou maconha (FUKUSHIMA, 2010).
- **Cloridrato de cocaína:** apresenta-se como um pó branco e cristalino obtido mediante o processo de transformação das folhas da coca em pasta de cocaína e, em seguida, em cloridrato pela adição de ácido clorídrico. Consiste na cocaína sob a forma de sal solúvel em água, podendo ser aspirada ou dissolvida para uso intravenoso. Não se volatiliza facilmente, além de ser termolábil (decompõe-se facilmente com o calor). Assim, o uso de cachimbos ou quaisquer adaptações que empregam aquecimento não é realizado (ALVES & CARNEIRO, 2012).

As formas mais comuns de apresentação da cocaína no Brasil podem ser visualizadas na Figura 3.



Figura 3 - Formas de apresentação da cocaína, (a) pasta base, (b) cloridrato de cocaína e (c) crack
Fonte: BOTELHO (2011)

Quando se avalia a cocaína apreendida no Brasil, pode-se observar composição variada, com pureza média de aproximadamente 65% m m⁻¹. Em amostras apreendidas na fronteira entre Brasil e países produtores da cocaína, a droga geralmente está menos refinada, ou seja, sob a forma de base livre, com baixo grau de oxidação e sem a presença de adulterantes (GOULART JÚNIOR, 2012).

2.2.3 Propriedades físico-químicas

A cocaína (éster metílico do ácido [1*R*-(*exo,exo*)]-3-(benzoiloxi)-8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]ocatno-2-carboxílico) é uma base de Lewis fraca que pode ser facilmente protonada por ácidos orgânicos ou inorgânicos, formando sais como o sulfato e o cloridrato de cocaína (Figura 4).

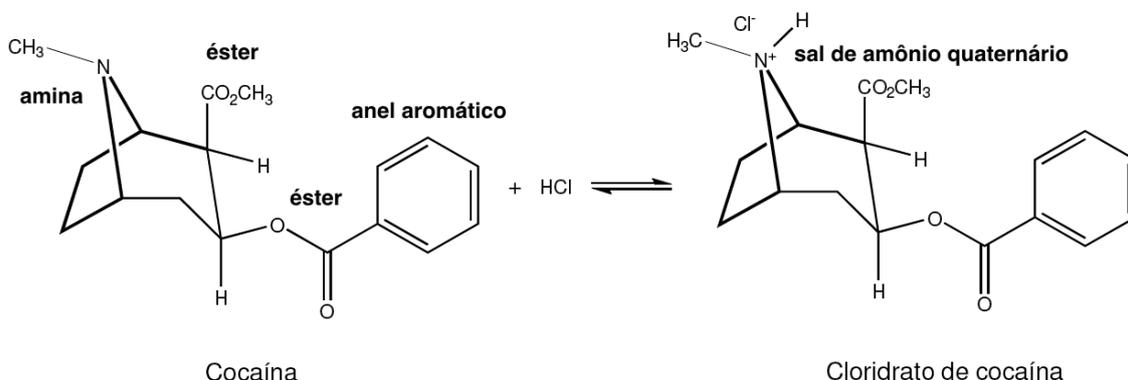


Figura 4 - Conversão da cocaína em cloridrato de cocaína.
Fonte: adaptado de BOTELHO (2011)

A Tabela 1 (p. 10) disponibiliza algumas características físicas e químicas da cocaína e do cloridrato de cocaína.

Tabela 1 - Características físicas e químicas da cocaína e do cloridrato de cocaína.

Forma de apresentação	Fórmula molecular	MM (g mol ⁻¹)	P.F. (°C)	Solubilidade (1g mL ⁻¹)				
				água	metanol	etanol	éter etílico	Clorofórmio
Cocaína	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303,4	98	i	s	s	s	s
Cocaína.HCl	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄ .HCl	339,8	195	s	s	s	i	s

Onde: s: solúvel; i: insolúvel; MM: massa molar; P.F.: ponto de fusão.

Fonte: adaptado de BOTELHO *et al.* (2011)

2.2.4 Toxicocinética

A cocaína exerce um potente efeito estimulante no sistema nervoso central (SNC) na medida em que acentua principalmente a ação da dopamina e da noradrenalina. Como esses neurotransmissores são excitatórios, o resultado consiste na intensificação da autoconfiança, sensação de euforia e vigor, ansiedade, sentimento de alerta e supressão do apetite relacionada à ação anestésica local (SOUSA, 2011). Também são comuns sensações de confusão mental, perda de associação de ideias e comportamentos agressivos.

As diferentes vias de administração da cocaína determinam vários parâmetros toxicocinéticos como velocidade de absorção, pico de concentração plasmática entre outros (ALVES & CARNEIRO, 2012).

Quando administrada por via intranasal, há um maior lapso de tempo para a obtenção dos efeitos da cocaína, pois a velocidade de absorção da cocaína pelas membranas mucosas é baixa devido à pequena taxa de difusão pela mucosa nasofaríngea. Aproximadamente 20 a 30% da cocaína administrada pela via intranasal é absorvida, com pico de concentração plasmática em torno de 30 a 60 minutos (YONAMINE, 2004).

Quando a cocaína é usada na forma de *crack* ou merla, os efeitos instalam-se intensa e rapidamente, pois alcançam o pulmão, que é um órgão intensamente vascularizado e com grande superfície, levando a uma absorção praticamente instantânea. Pela via pulmonar, chega à circulação cerebral, atingindo o sistema cardiovascular e o SNC em cerca de 10 a 15 segundos. O tempo de assimilação da cocaína na forma de *crack* é tão curto que o torna uma droga de alto poder sob a visão do usuário. Mas como os

efeitos são menos duradouros, os usuários de *crack* voltam a utilizar a droga com mais frequência, o que leva à dependência mais rapidamente (CARLINI *et al.*, 2001).

A Tabela 2 evidencia a comparação entre os diferentes períodos de absorção e assimilação de diferentes formas de consumo da cocaína.

Tabela 2 - Relação entre algumas formas de consumo de cocaína e o tempo de absorção e assimilação pelo cérebro.

Forma de consumo	Folhas mastigadas e ingeridas	Bebidas ingeridas com cocaína dissolvida	Via intravenosa	Pó por via intranasal	Fumada sob a forma de <i>crack</i>
Tempo de absorção	20 a 30 minutos	15 a 30 minutos	30 segundos	3 a 5 minutos	5 a 8 segundos

Fonte: BOTELHO (2011)

O uso abusivo de cocaína leva a uma necessidade de aumento da dose na tentativa de alcançar efeitos mais intensos ou os mesmos efeitos. Portanto, a cocaína induz à tolerância e isso ocorre em todas as vias de administração. Em doses elevadas ocorre paranoia, irritabilidade, alucinações visuais, auditivas e táteis. Sobre o sistema cardiovascular os efeitos são mais intensos, podendo ocorrer morte por insuficiência cardíaca (BOTELHO, 2011). A morte também pode ocorrer devido à diminuição da atividade de centros cerebrais que controlam a respiração (CARLINI *et al.*, 2001). Quando utilizada durante a gravidez, a cocaína geralmente desencadeia o nascimento de bebês prematuros, com baixo peso, estatura e circunferência craniana menor que o normal, além de altas taxas de má formação congênita e mortalidade perinatal (CEBRID, 2005).

A cocaína é metabolizada de forma rápida por enzimas plasmáticas e hepáticas que hidrolisam as duas funções ésteres, sendo os produtos excretados pelo organismo. Os principais produtos são benzoilecgonina, metilecgonina e ecgonina evidenciados na Figura 5 (p. 12) (ALVES & CARNEIRO, 2012).

Como a cocaína apresenta tempo de meia vida biológica de aproximadamente 60 minutos, geralmente não é encontrada intacta na urina do usuário. Utiliza-se, então, a benzoilecgonina como o principal indicador biológico de exposição para monitorar a utilização da droga, pois é o principal metabólito encontrado na urina dos usuários. Seu teor é de

aproximadamente 40% m m⁻¹, podendo ser detectado até 14 dias após a exposição dependendo da quantidade ingerida e frequência de uso (ALVES & CARNEIRO, 2012).

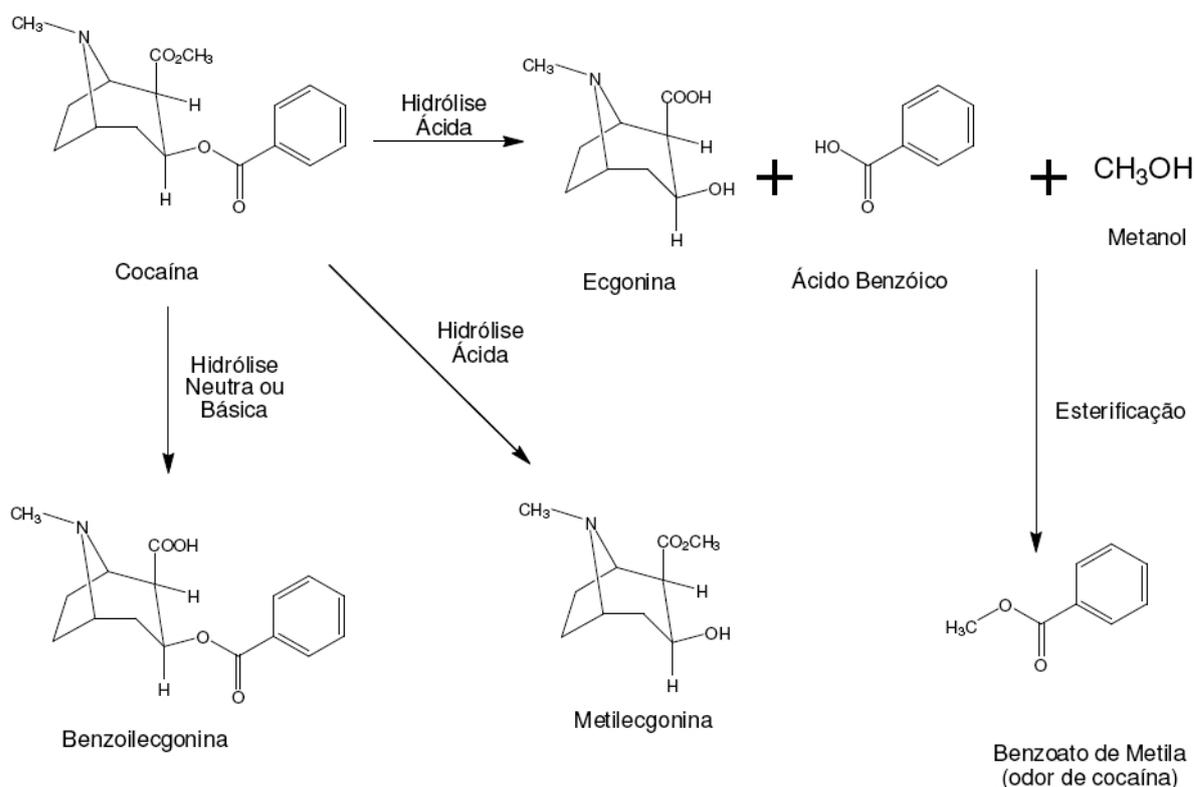


Figura 5 - Estruturas químicas da ecgonina, metilecgonina e benzoilecgonina, principais produtos do metabolismo da cocaína. Fonte: BOTELHO (2011)

Por sua vez, o Quadro 1 disponibiliza o período de detecção da cocaína em algumas matrizes biológicas como sangue, saliva, urina e cabelos.

Quadro 1 - Principais matrizes biológicas e os respectivos períodos de detecção da cocaína.

Cocaína	Urina		Cabelo	Sangue ou saliva
	Uso eventual	Uso frequente		
	±3 dias	±7 dias	1 a 6 meses	Algumas horas após o uso

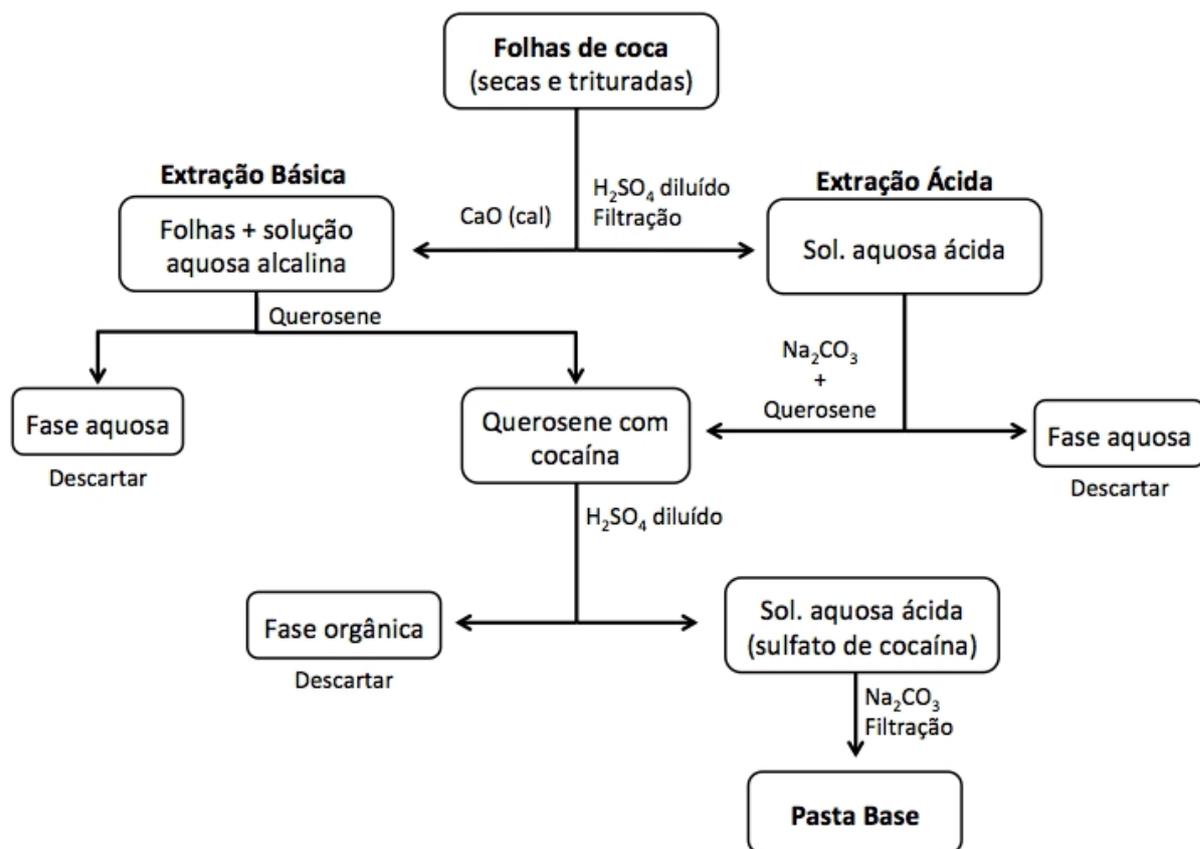
Fonte: SOUSA (2011)

2.2.5 Processos de obtenção da cocaína

A cocaína pode ser obtida via métodos sintéticos, pouco viáveis aos traficantes, uma vez que demandam altos gastos, e através do processo de extração e purificação. O processo de extração ocorre através da imersão das folhas de coca em soluções aquosas ácidas ou alcalinas ou em solventes orgânicos. Já os processos de purificação utilizam etapas de branqueamento, cujo objetivo é aumentar o grau de pureza da cocaína. Os processos descritos nos Fluxogramas 1 (p. 14) e 2 (p. 15) mostram a produção ilegal de cocaína a partir de folhas de coca (BOTELHO, 2011).

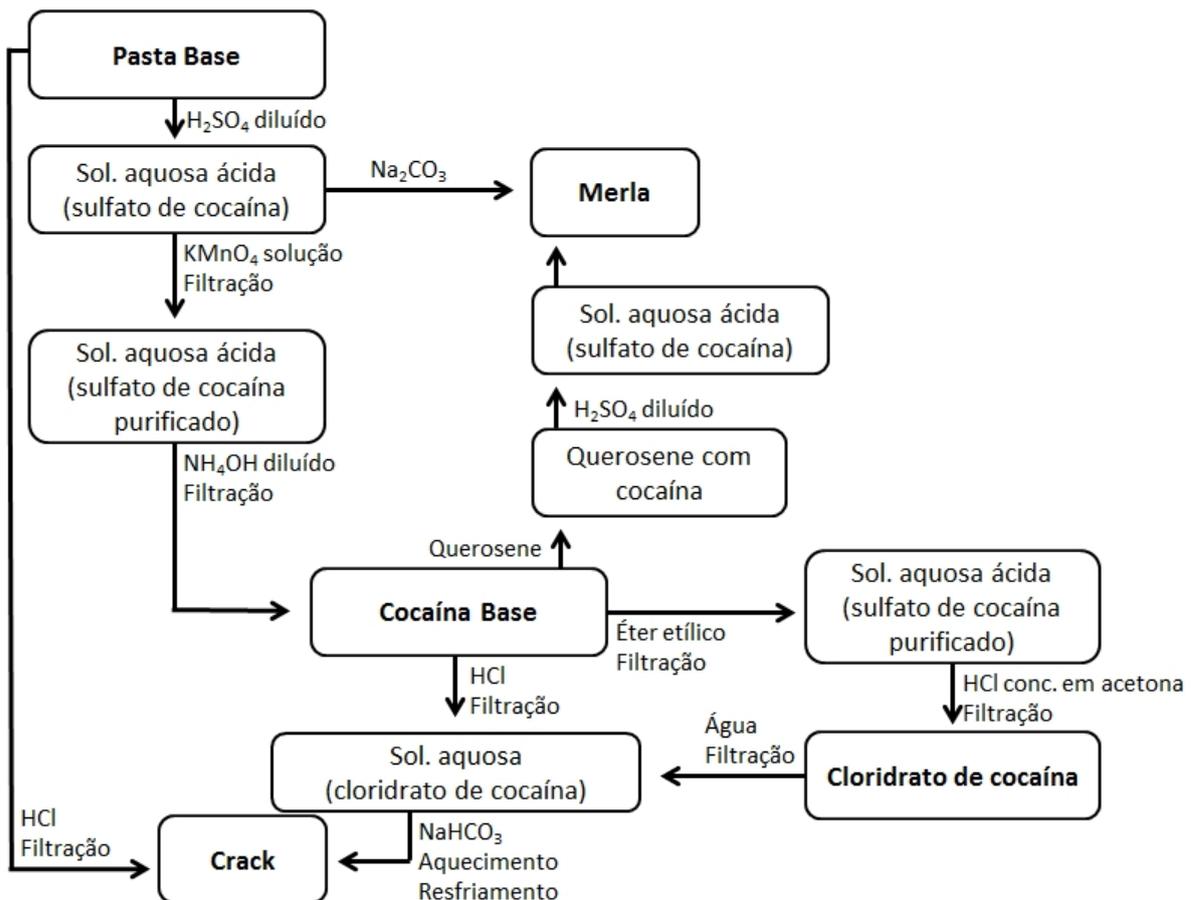
As primeiras extrações ácidas ou básicas realizadas a partir das folhas de coca originam a pasta base. A partir deste produto se iniciam as etapas de purificação da cocaína com outras extrações. Esses procedimentos são conhecidos como refino da cocaína e podem produzir a cocaína nas suas diversas formas de apresentação.

É importante ressaltar que a produção ilícita em laboratórios clandestinos emprega solventes e reagentes de custo mais baixo, responsáveis por parte dos resíduos encontrados nos produtos finais (FUKUSHIMA, 2010).



Fluxograma 1 – Processamento das folhas de coca para produção da pasta base de cocaína.

Fonte: adaptado de BOTELHO (2011) e UNODC (2012)



Fluxograma 2 – Produção da cocaína base, do cloridrato de cocaína, do crack e da merla.
Fonte: adaptado de BOTELHO (2011) e UNODC (2012)

2.2.6 Principais adulterantes e diluentes encontrados em amostras ilícitas de cocaína

A adulteração da cocaína é amplamente difundida no mercado ilícito de drogas (FUKUSHIMA, 2010). Fabricantes e traficantes de cocaína adulteram ou diluem a droga, aumentando sua massa com a intenção de proporcionar um maior lucro no comércio, uma vez que aumentam o volume e o peso da droga a ser vendida (ALVES & CARNEIRO, 2012).

Geralmente são utilizadas substâncias cuja aparência química seja semelhante à da cocaína, principalmente quanto à coloração. Os adulterantes são substâncias que apresentam efeito farmacológico, ou seja, podem potencializar ou inibir os efeitos que a cocaína exerce sobre o usuário, por exemplo: benzocaína e lidocaína (anestésicos locais) ou estimulantes como cafeína (Figura 6; p.16). Já os diluentes são substâncias inertes aplicadas somente para diluir a droga comercializada, por exemplo:

talco, farinhas, açúcares e sais como bicarbonato de sódio e sulfato de magnésio (FUKUSHIMA, 2010).



Figura 6 – Estruturas químicas dos principais adulterantes de cocaína encontrados no Brasil.
Fonte: BOTELHO (2011)

O tipo de adulteração varia de acordo com a tendência dos mercados regionais e mundiais e inclui uma série de fatores como sazonalidade, disponibilidade e preço dos adulterantes e diluentes (BOTELHO, 2011). O resultado sempre é um produto diluído e com baixo grau de pureza que dificulta a definição da composição real da droga, além de promover interações imprevisíveis e intensificar os efeitos tóxicos, aumentando o risco associado ao uso (ALVES & CARNEIRO, 2012).

O Quadro 2 a seguir lista variados adulterantes e diluentes que podem ser encontrados com a cocaína.

Quadro 2 - Adulterantes e diluentes encontrados com a cocaína.

Adulterantes	
Anestésicos locais	Benzocaína, lidocaína, procaína, tetracaína, prilocaína
Analgésicos	Fenacetina, paracetamol, dipirona, ácido acetilsalicílico
Estimulantes	Cafeína, efedrina
Anti-hipertensivos	Diltiazem
Anti-helmínticos	Levamisol
Tranquilizantes	Hidroxizina
Diluentes	
Açúcares e derivados	Lactose, sacarose, glicose, manitol, amido e sorbitol
Compostos inorgânicos	Bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, carbonato de cálcio, sulfato de cálcio, sulfato de magnésio, sulfato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de magnésio, borato de sódio e ácido bórico
Produtos diversos	Leite em pó, amido de milho e farinhas em geral

Fonte: adaptado de BOTELHO (2011)

A identificação de produtos utilizados durante o processo de obtenção de cocaína, adulterantes, diluentes e o teor de pureza da droga, ou seja, a

composição química da mesma, pode fornecer informações importantes aos órgãos de segurança pública sobre seu tráfico e até mesmo ajudar no tratamento de saúde de pacientes.

Como o Brasil, além de consumidor, representa uma rota de tráfico de drogas, informações como a origem geográfica da droga, o método utilizado para o processamento, os reagentes químicos usados no processo de refino, na adulteração e na diluição podem direcionar o combate ao narcotráfico (BOTELHO, 2011).

Peritos da Polícia Federal, após sete anos em investigações laboratoriais, identificaram a origem da cocaína e do *crack* que entram no Brasil, o grau de pureza das drogas e o que os traficantes misturam a elas. O projeto, nomeado como Perfil Químico de Drogas (PeQui), começou a ser desenhado em 2005 (APCF, 2012).

As drogas de abuso passam por análise química detalhada para identificação de características de origem e correlação entre amostras. Além de visar estabelecer origens geográficas e rotas do tráfico de drogas de abuso comercializadas no Brasil, a Polícia Federal pretende contribuir com dados e estatísticas que consigam apontar as tendências deste mercado ilícito internacionalmente. O PeQui apresenta resultados de cooperações técnicas com instituições forenses da França, Holanda, Estados Unidos e no Brasil (UnB, UNICAMP, UFRGS, INCTAA) (MALDANER *et al.*, 2011).

2.3 Aspectos Analíticos

2.3.1 Métodos utilizados para identificação e quantificação de cocaína

A identificação da cocaína pode ser feita utilizando-se testes químicos, como os de coloração, ensaios de microcristalização e técnicas instrumentais como métodos cromatográficos e espectroscópicos.

A legislação brasileira não prevê a necessidade da determinação do teor de cocaína nas apreensões feitas, uma vez que este não interfere na pena do infrator. Dessa forma, as análises realizadas pela perícia geralmente apresentam cunho qualitativo (MALDANER *et al.*, 2011).

Os testes químicos mais comumente empregados nos exames preliminares são presuntivos e apenas determinam a natureza química da substância

questionada. São utilizados para a identificação de drogas de forma rápida, prática, com uma grande percentagem de segurança, com o uso de reagentes manejáveis e de fácil transporte (podem ser realizados em campo). Esses testes irão originar o laudo de constatação, com caráter provisório (para efeito da lavratura do auto de prisão em flagrante e oferecimento da denúncia).

O principal teste aplicado em amostras suspeitas cocaína é o *Scott*, que consiste na adição direta de solução de tiocianato de cobalto sobre a amostra produzindo um precipitado na forma de flocos azuis. O teste *Scott* modificado se propõe a identificar com segurança a cocaína na forma de base livre, que é insolúvel em água e não apresenta um resultado positivo no teste de *Scott* tradicional tão característico quanto o cloridrato de cocaína.

No início do teste, a solução apresenta uma coloração azul (sal de cocaína) ou rosada (cocaína base livre). A adição de HCl deve ser feita até obter-se uma solução rosa homogênea. Nestas condições, (meio aquoso fortemente ácido) o complexo azul do alcaloide com cobalto se quebra e promove-se a dissolução da base livre. Adiciona-se, então, clorofórmio, formando-se duas fases, em que a superior (aquosa) deve ser rosa e a inferior (orgânica) será azul. As mudanças de coloração durante o teste são explicadas pelos equilíbrios e solubilidades envolvidos na formação dos complexos de cobalto com o alcaloide.

Em um primeiro momento, a coloração azul deve-se a formação do complexo $[\text{Co}(\text{SCN})_4\text{B}_2]^{2-}$, em que B representa uma molécula de alcaloide. A maior disponibilidade dos hidrocloreto de alcaloides, solúveis nestas condições, levam a colorações mais intensas. A adição de ácido desloca o equilíbrio no sentido dos reagentes, isto é, promove-se a quebra do complexo azul, originando uma solução aquosa rosa como a do reagente de Scott. A adição de clorofórmio fornece o meio apolar necessário para o deslocamento do equilíbrio para a formação e extração do complexo azul $\text{H}_2[\text{Co}(\text{SCN})_4\text{B}_2]$. A equação química que ocorre é representada a seguir.



Caso estejam presentes alcaloides na amostra, como cocaína, a fase orgânica (inferior) deverá apresentar uma coloração azul e a fase aquosa (superior), uma coloração rosa. A Figura 7 elucida bem o teste *Scott* modificado.

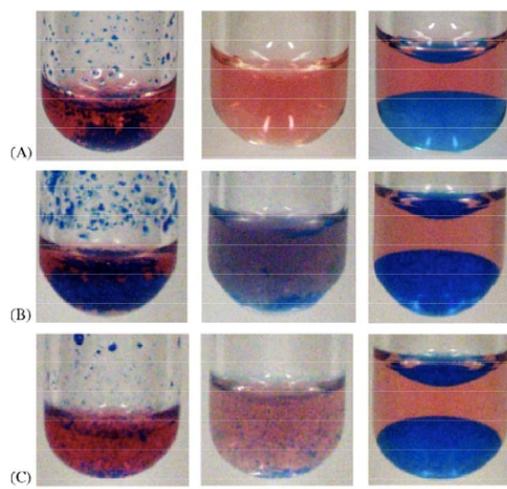


Figura 7 – Desenvolvimento do teste Scott Modificado para (A) 1 mg de cloridrato de cocaína, (B) 3 mg de cloridrato de cocaína e (C) crack. Cada foto corresponde a um passo da reação de Scott, sendo teste esquerda passo 1, centro passo 2 e teste direita passo 3.

Fonte: FUKUSHIMA (2010)

Esse método é frequentemente usado, sendo o principal teste de rotina para a realização do laudo constataório em apreensões de cocaína.

As técnicas instrumentais podem ser utilizadas individualmente ou em conjunto para a caracterização e/ou quantificação de cocaína.

A cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama (CG-DIC) é capaz de identificar a cocaína por comparação do tempo de retenção, sem necessitar realizar processos de derivatização. A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), além do tempo de retenção, garante a caracterização da cocaína e dos adulterantes através da comparação dos espectros de massas com os respectivos padrões de referência, sendo os principais íons associados aos adulterantes evidenciados na Tabela 3 (p.20) (UNODC, 2012).

Tabela 3 – Principais íons via CG-EM dos adulterantes de cocaína.

Composto	Principais íons (<i>m/z</i>)
Benzocaína	120, 165 (M+.), 92, 65
Fenacetina	108, 109, 179 (M+.)
Cafeína	194 (M+.), 109, 55, 67
Lignocaína	86, 58, 30, 234 (M+.)
Levamisol	204 (M+.), 148, 73, 101
Procaína	86, 99, 120, 236 (M+.)
Cocaína	82, 182, 94, 303 (M+.)
Hidroxazina	201, 165, 299, 374 (M+.)
Diltiazem	58, 71, 73, 414 (M+.)

Nota: íons em ordem decrescente de abundância.

Fonte: UNODC (2012)

Considerando a disponibilidade de acessórios para o equipamento, a cromatografia gasosa é a técnica que propicia a maior quantidade de informações simultâneas tendo em vista a caracterização da cocaína, permitindo a identificação e quantificação em uma única análise das impurezas, adulterantes, diluentes e traços de solventes presentes em uma amostra suspeita (FUKUSHIMA, 2010).

Além da cromatografia gasosa, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com fase reversa tem sido muito utilizada, pois permite um preparo simples de amostra, com grande reprodução e detectabilidade (UNODC, 2012).

A simples caracterização da cocaína em amostras pode ser realizada via espectrofotometria no infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF). O espectro no infravermelho da cocaína em pó pode ser obtido preparando-se a amostra em um disco de KBr para comparação das bandas (Tabela 4) dos espectros de bases livres ou cloridrato de cocaína (UNODC, 2012).

Tabela 4 - Principais bandas observadas na cocaína base livre e no cloridrato de cocaína via IV-TF.

Substância	Números de onda (cm⁻¹)*
Cocaína base livre	1275, 1700, 1106, 1728, 710, 1040, 1280
Cloridrato de cocaína	1712, 1730, 1276, 1230, 732, 1106, 1075, 1025

*Sequência comum organizada em ordem decrescente de intensidade

Fonte: UNODC (2012)

Considerando uma estrutura laboratorial ideal, a avaliação considerada completa de amostras de cocaína deve empregar a combinação de técnicas entre os testes químicos como o *Scott*, cromatografia em camada delgada (CCD), IV-TF, CG-EM e CLAE.

Além dessas técnicas, a espectrometria no ultravioleta pode adequar às análises das amostras apreendidas pela PF, uma vez que não são comuns análises em amostras de sangue, cabelo, ou outros materiais biológicos cuja concentração de cocaína e seus metabólitos são extremamente baixas.

2.3.2 Espectrometria no ultravioleta

Os métodos espectroscópicos têm como característica a interação da radiação eletromagnética com a matéria. O método da espectrometria no ultravioleta (UV) é um dos mais utilizados na determinação analítica de diversos compostos inorgânicos, orgânicos em diferentes tipos de materiais (VINADÉ, 2005). Métodos absorciométricos geralmente são mais simples e rápidos do que os métodos gravimétricos e volumétricos e apresentam níveis de sensibilidade muito superiores a estes, sendo bastante convenientes para determinações de amostras contendo concentrações de analito relativamente baixas (LEAL, HENRIQUES e LUNA, 2007).

A espectrometria UV utiliza radiação eletromagnética, cujos comprimentos de onda variam entre 200 a 380 nm. A Figura 8 disponibiliza o espectro de radiação eletromagnética identificando, entre as diferentes radiações, a faixa de radiação UV (VINADÉ, 2005).

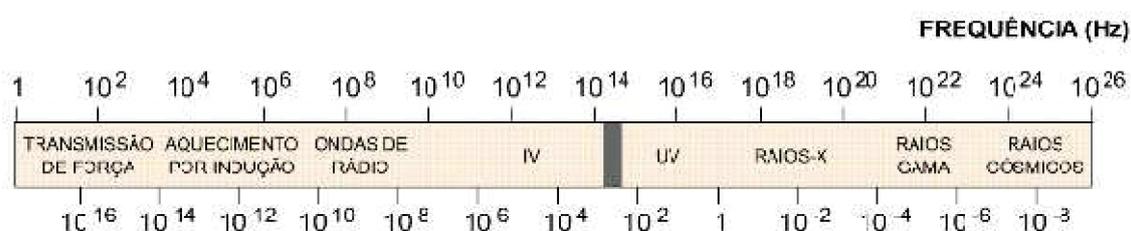


Figura 8 - Espectro de radiação eletromagnética.
Fonte: ASSUNÇÃO (2009)

O processo de absorção no UV ocorre pela transferência de energia dos fótons, provenientes de uma fonte de radiação, para moléculas do meio material. Quando estimuladas com esse tipo de radiação, as moléculas dos compostos podem sofrer transições eletrônicas. Considerando que os níveis energéticos das moléculas são quantizados, somente os comprimentos de onda cujos fótons têm energia idêntica à de uma transição permitida são absorvidos. Dessa forma, a absorção é um processo específico relacionado à estrutura da espécie absorvente, que determina a energia envolvida na

transição, e com a probabilidade de que a transição ocorra (LEAL, HENRIQUES e LUNA, 2007).

No processo de transferência de energia, cada espécie molecular é capaz de absorver suas próprias frequências características da radiação eletromagnética, resultando em um decréscimo da intensidade da radiação eletromagnética incidente. Assim, a intensidade da absorção não é diretamente mensurável, mas determina a atenuação do feixe incidente que pode ser medida e relacionada com a concentração da espécie absorvente (SKOOG, 2009).

A razão entre a potência da radiação transmitida (P) e a potência da radiação incidente na amostra (P₀) é denominada transmitância (T), ou seja, a fração da potência da radiação incidente que é transmitida pela solução, aqui representada pela Equação 1 (LEAL, HENRIQUES e LUNA, 2007).

$$T = \frac{P}{P_0} \quad \text{(Equação 1)}$$

A lei que rege o processo de absorção, conhecida como Lei de Lambert-Beer, expressa quantitativamente como a grandeza da atenuação depende da concentração das moléculas absorventes e da extensão do caminho sobre o qual ocorre a absorção (SKOOG, 2009). Estabelece ainda a relação entre a absorbância (A), que corresponde ao inverso do logaritmo decimal da transmitância, e a concentração da espécie absorvente (Equação 2).

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad \text{(Equação 2)}$$

Em que:

ϵ = absortividade molar do analito

b = comprimento do percurso óptico da cela em cm

c = concentração do analito em mol L⁻¹

Em alguns casos, no entanto, uma faixa de concentração pode não se comportar de forma linear em relação à concentração. Ocorre então um desvio à Lei de Lambert-Beer, que pode ser do tipo real, limitando a aplicação da lei a sistemas passíveis de sofrerem tais distorções, ou do tipo aparente, que se relaciona às limitações do instrumento usado para medida da absorbância e a fenômenos químicos (VINADÉ, 2005).

Uma vez que o espectro de absorção de uma substância é característico da espécie química, o método pode ser aplicado para identificação e/ou determinação qualitativa de um grande número de espécies, podendo ser detectadas contaminações ou processos de decomposição, por exemplo. Os solventes utilizados na diluição de amostras não devem absorver na faixa espectral de análise das mesmas. Geralmente são utilizados água, acetona, etanol, cicloexano e hexano, cujos comprimentos de onda de máxima absorvância não interferem significativamente nos espectros dos analitos (VINADÉ, 2005).

Em uma análise quantitativa, é preciso considerar que as absorvidades variam com o tipo de solvente, a composição da solução e a temperatura, não sendo prudente depender de valores tabelados na literatura. Geralmente, emprega-se uma solução padrão do analito no mesmo solvente e à temperatura similar a fim de se obter a absorvidade no momento da análise. Com mais frequência, uma série de soluções padrão do analito são utilizadas para construir uma curva analítica, ou curva de trabalho, de absorvância em função da concentração ou para obter uma equação linear por regressão. A curva analítica é obtida por meio da medição da absorvância de uma série de soluções de analitos com diferentes concentrações conhecidas e a concentração do analito alvo na amostra em estudo é determinada a partir da regressão linear da curva obtida. Pode ser necessário, ainda, que a composição global da solução padrão do analito tenha de ser reproduzida, tornando-a o mais próxima possível da amostra e compensando, assim, os efeitos de matriz (SKOOG, 2009).

Um dos problemas da espectrometria UV quando são analisadas misturas de componentes é a sobreposição das bandas (*overlapping*) de transição eletrônica ou de transferência de carga em um mesmo solvente (PASCHOAL *et al.*, 2003).

A espectrometria de derivada consiste na diferenciação matemática de um espectro normal – que representa a razão da variação da absorvância com o comprimento de onda, em função do comprimento de onda – oferecendo um meio útil para melhorar a resolução de misturas, na medida em que aumenta a detectabilidade de características espectrais. Essa técnica analítica apresenta grande utilidade para extrair informação qualitativa e

quantitativa de espectros de compostos cujas resoluções das bandas no espectro de ordem zero são incertas. Torna-se possível a resolução de multi-componentes de elementos e ao mesmo tempo o efeito de interferências espectrais de fundo é reduzido (OJEDA & ROJAS, 2004).

Ao diferenciar um espectro de ordem zero não são acrescentadas informações ao espectro original, mas ocorre supressão das bandas largas, realce das bandas estreitas entre outros, obedecendo, ainda, a Lei de Lambert-Beer (PASCHOAL *et al.*, 2003). Os espectros são obtidos colocando-se em um gráfico a primeira derivada, ou uma derivada de outra ordem em função do comprimento de onda, e as bandas que no espectro de ordem zero são indistintas podem ser isoladas (VIEIRA & MOITA, 2010).

Ao aplicar a primeira derivada, o ponto referente ao comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) do espectro de ordem zero é anulado e o espectro torna-se positivo onde a absorção aumenta e negativo onde ela diminui. Portanto, uma curva diferencial de ordem n se anula n vezes, apresentando $n + 1$ bandas (PASCHOAL *et al.*, 2003). Com isso, aplica-se o método *zero crossing*, no qual a análise de um componente é realizada no comprimento de onda em que a derivada do outro componente apresenta valor igual a zero e vice-versa (VIEIRA & MOITA, 2010). A Figura 9 (p. 25) mostra a sobreposição dos espectros de ordem zero de uma mistura constituída de três corantes e de cada um deles separados e os espectros obtidos com a primeira derivada.

Em uma mistura, ao sobrepor os espectros de suas derivadas é possível, por exemplo, individualizar melhor os constituintes, eliminar a interferência de um componente sobre o outro, de excipientes e construir curvas de calibração para quantificação de substâncias (PASCHOAL *et al.*, 2003). Os métodos de calibração empregados na análise quantitativa mais conhecidos são: a regressão linear múltipla (MLR, do inglês *multiple linear regression*), a regressão em componentes principais (PCR, do inglês *principal component regression*) e a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês, *partial least squares*). Todos esses são métodos lineares, porque os modelos resultantes descrevem uma relação linear entre as respostas e as concentrações dos componentes das amostras (SALDANHA; ARAÚJO; NETO, 1999).

Esta técnica oferece, então, uma abordagem alternativa para o aumento de sensibilidade e especificidade na análise de misturas de componentes (OJEDA & ROJAS, 2004).

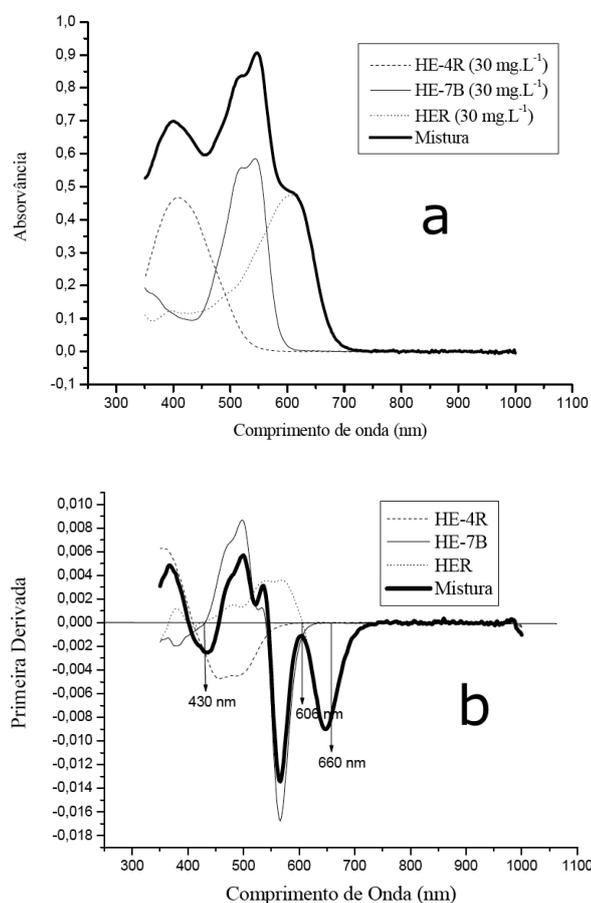


Figura 9 – Espectros UV-Vis de (a) ordem zero de três corantes de igual concentração e da solução mistura dos três e da (b) primeira derivada.

Fonte: ALMEIDA (2006)

2.4 Validação de métodos analíticos

Ao se desenvolver um método analítico, adaptar ou implementar um método já conhecido, é preciso envolver um processo de avaliação a fim de estimar a eficiência desse método na rotina do laboratório. Esse processo é geralmente denominado validação e deve avaliar a relação entre os resultados experimentais e as questões que o método escolhido se propõe a responder. Um determinado método é considerado validado se suas características estiverem de acordo com pré-requisitos estabelecidos em padrões reconhecidos nacional e/ou internacionalmente por agências reguladoras como, por exemplo, o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). A validação deve garantir,

através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (BRITO *et al.*, 2003).

O processo de validação pode ser dividido em dois tipos. O primeiro deles, a validação no laboratório, consiste em etapas dentro de um único laboratório para validar um método novo que tenha sido desenvolvido ou para verificar se a adoção de um método a partir de outras fontes está bem aplicado. O segundo tipo é a validação completa, que envolve um estudo interlaboratorial para verificar se a metodologia se comporta adequadamente em vários laboratórios, estabelecendo a reprodutibilidade e a incerteza expandida associada à metodologia. A legislação brasileira tem sido melhor definida nos últimos anos através de resoluções e recomendações do INMETRO e ANVISA, que verificam a competência de laboratórios de ensaios e disponibilizam guias para o procedimento de validação de métodos analíticos. Os estudos de validação realizados devem apresentar variação da faixa de concentração e tipos de amostras adequados ao método proposto, uma vez que métodos utilizados para análise qualitativa, por exemplo, requerem abordagens e critérios de aceitação diferentes de métodos quantitativos. Dessa forma, os parâmetros analíticos devem ser baseados na intenção do uso do método (RIBANI *et al.*, 2004).

2.4.1 Parâmetros de validação de método

2.4.1.1 Linearidade

A linearidade corresponde à capacidade da metodologia analítica demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003). A quantificação requer o conhecimento da dependência entre a resposta medida e a concentração do analito. A linearidade é obtida por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática na forma de regressão linear da curva analítica e é utilizada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra real (INMETRO, 2011; RIBANI *et al.*, 2004). A Equação 3 (p.27) representa a equação da reta que relaciona a resposta medida e a concentração do analito.

$$y = ax + b$$

(Equação 3)

Em que:

y = resposta analítica;

x = concentração;

a = inclinação da curva analítica (coeficiente angular);

b = intercepto (coeficiente linear).

Em geral, são necessários no mínimo cinco níveis de concentração para construir a curva analítica. O número de replicatas em cada nível de concentração deve ser o mais próximo possível daquele empregado na rotina do laboratório (INMETRO, 2003).

A linearidade de um método pode ser observada pelo gráfico dos resultados dos ensaios em função da concentração do analito e verificada a partir da equação da regressão linear. Além dos coeficientes de regressão **a** e **b**, calcula-se, a partir dos pontos experimentais, o coeficiente de correlação (**r**), que permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Um coeficiente de correlação maior que 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação igual a 0,99 e o INMETRO um valor acima de 0,90 (RIBANI *et al.*, 2004).

Como o valor de **r** é apenas um indicativo da linearidade e avalia o quanto a reta se adequa como modelo matemático, uma alternativa é a realização da análise de variância (ANOVA) na regressão (INMETRO, 2003).

2.4.1.2 Especificidade/Seletividade

Na detecção de um analito, a capacidade que o método apresenta em medir exatamente o composto de interesse na presença de outros componentes como, por exemplo, impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz, é denominada especificidade ou seletividade (ANVISA, 2003). Porém, quando um método produz resposta para apenas um analito ele é chamado de específico, enquanto que um método que produz respostas para vários analitos, mas permite a distinção da resposta de um analito frente outros, é chamado de seletivo (INMETRO, 2007). Como o mesmo significado tem sido frequentemente utilizado para os dois termos, a IUPAC

sugere somente a utilização do termo seletividade (RIBANI *et al.*, 2004). A seletividade pode ser obtida comparando a matriz isenta da substância de interesse com a matriz adicionada com esta substância (padrão), sendo que, nesse caso, nenhum interferente deve se sobrepor à substância de interesse. Outra forma consiste na comparação do espectro do pico obtido na separação com o de um padrão, que é uma indicação da presença do composto puro. O método de adição de padrão também pode ser aplicado quando não é possível obter a matriz isenta da substância de interesse. Uma curva analítica é construída com adição da substância de interesse na amostra e comparada com uma curva analítica sem a presença da matriz. Caso as duas curvas analíticas tenham a mesma inclinação, pode-se dizer que não há interferência da matriz na determinação da substância de interesse e, portanto, o método é seletivo (RIBANI *et al.*, 2004).

Nos casos em que a matriz da amostra sem analito ou um grupo satisfatório de amostras de referência estão disponíveis, testes estatísticos podem ser aplicados, como os testes F (Snedecor) de homogeneidade de variâncias e o teste t (Student) de comparação de médias. Também é possível realizar a análise dos desvios em relação aos valores de referência (INMETRO, 2003).

2.4.1.3 Limite de Detecção (LD)

Ao realizar medidas em amostras com baixos níveis de concentração do analito ou em análise de traços, é importante saber qual o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método (INMETRO, 2003). Considera-se como limite de detecção (LD) a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003). O limite de detecção pode ser do equipamento (LDE), que é a concentração do analito que produz um sinal de três a cinco vezes a razão ruído/sinal do equipamento, ou do método (LDM), que é definido como a concentração mínima de uma substância medida e declarada com 95% ou 99% de confiança de que a concentração do analito é maior que zero. Para validar um método analítico, geralmente, é suficiente fornecer uma indicação do nível em que a detecção do analito pode ser distinguida do sinal do branco/ruído (INMETRO, 2003).

O Quadro 3 apresenta a metodologia para determinação quantitativa do limite de detecção.

Quadro 3 – Estratégias para a determinação do LD.

Nº de replicatas	Matriz	Cálculos	Observações
≥ 7	Branco analítico	$LD = \frac{\bar{C}_a}{K} + \frac{t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot s}{K}$ sendo: \bar{C}_a = média dos valores dos brancos analíticos; t = distribuição de Student, dependente do tamanho da amostra e do grau de confiança; s = desvio-padrão amostral dos brancos analíticos.	A média e o desvio padrão dos brancos analíticos são dependentes da matriz. Válido somente quando os valores dos brancos analíticos apresentarem um desvio-padrão diferente de zero.
OU			
≥ 7	Branco analítico com adição da menor concentração aceitável do analito	$LD = 0 + \frac{t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot s}{K}$ sendo: t = distribuição de Student, dependente do tamanho da amostra e do grau de confiança e, s = desvio-padrão amostral dos brancos analíticos, com adição.	A "menor concentração aceitável" é aquela tida como a concentração mais baixa para a qual um grau aceitável de incerteza pode ser alcançado.

Fonte: INMETRO (2011)

2.4.1.4 Limite de Quantificação (LQ)

O limite de quantificação pode ser definido como a menor concentração do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. (ANVISA, 2003) Quanto menor for o valor de concentração do LQ, menos precisa torna-se medição. Assim, conforme for a necessidade de maior precisão, uma concentração maior deve ser registrada para o LQ (RIBANI *et al.*, 2004).

Em técnicas analíticas em geral o método mais utilizado para determinar LQ é o da relação sinal-ruído, porém, tanto para o cálculo de LD e LQ é estatisticamente mais confiável utilizar o método baseado nos parâmetros da curva analítica e esta deve conter a concentração correspondente ao LQ (RIBANI *et al.*, 2004).

A descrição presente no Quadro 4 (p.30) resume o método de determinação do Limite de quantificação. A concentração do analito corresponde ao valor

da média do branco mais 5, 6 ou 10 vezes o desvio-padrão. No entanto, a forma mais realista é determinar o LQ experimentalmente, com base em critérios de aceitação pré-definidos.

Quadro 4 – Estratégias para a determinação do LQ.

Matriz	Determinação
Branco analítico	$LD = \frac{\text{Estratégias para a determinação do LQ.}}{\text{Determinação}}$ $\bar{x} + 5s \text{ ou } LD = \bar{x} + 6s \text{ ou } LD = \bar{x} + 10s$ <p>sendo: \bar{x} = média dos valores dos brancos; s = desvio-padrão amostral dos brancos da amostra.</p>
Branco analítico com adição de concentrações variadas do analito, próximas ao LD	<ul style="list-style-type: none"> - Medir, uma vez cada replicata independente, a cada nível de concentração. - Calcular o desvio-padrão amostral "s" do valor do analito, para cada concentração. - Fazer o gráfico "concentração" versus "s", e atribuir um valor para o LQ, por inspeção.

Fonte: INMETRO (2011)

2.4.1.5 Precisão

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. A precisão em validação de métodos é considerada em três níveis diferentes: repetitividade; precisão intermediária; reprodutibilidade, sendo usualmente expressa pelo desvio-padrão (s) ou desvio-padrão relativo (DPR), também conhecido como coeficiente de variação (CV) (INMETRO, 2003; RIBANI *et al.*, 2004).

O DPR pode ser mais útil, pois foi normalizado com base na concentração e, portanto, é praticamente constante ao longo da faixa de interesse, desde que esta não seja muito grande (INMETRO, 2003).

- *Repetitividade*

Expressa a precisão nas mesmas condições de operação (equipamento, analista, procedimentos, reagentes, local e condições ambientais) com repetições em um curto espaço de tempo (BRITO *et al.*, 2003; INMETRO, 2003). A repetitividade, também conhecida como precisão intra-ensaios, pode ser avaliada com no mínimo nove determinações dentro do intervalo de três diferentes concentrações e três replicatas cada, ou com no mínimo seis determinações para uma única concentração-teste (BRITO *et al.*, 2003).

- *Precisão Intermediária*

A precisão intermediária indica o efeito das variações dentro do laboratório devido a eventos como diferentes dias, analistas, equipamentos ou uma combinação destes fatores. Esse parâmetro representa a variabilidade dos resultados em um único laboratório e verifica se no mesmo laboratório o método fornecerá os mesmos resultados. A precisão intermediária pode ser expressa através do DPR (INMETRO, 2011; RIBANI *et al.*, 2004).

2.4.1.6 Exatidão

A exatidão do método pode ser definida como o grau de concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. Quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica em uma combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos (tendência). A tendência pode ser expressa como recuperação analítica (valor observado/valor esperado) e deve ser corrigida ou ser demonstrada como desprezível (INMETRO, 2003).

A exatidão do método deve ser determinada após serem estabelecidas a linearidade, o intervalo linear e a especificidade do mesmo, sendo verificada a partir de, pelo menos, 9 (nove) determinações que contemplem o intervalo linear do procedimento, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada (ANVISA, 2003).

Os processos geralmente utilizados para avaliar a exatidão de um método são: materiais de referência, comparação de métodos e ensaios de recuperação (INMETRO, 2003).

- *Materiais de referência certificados (MRC)*

Os MRC são materiais de referência acompanhados de um certificado que possui o valor de concentração de uma dada substância, ou outra grandeza para cada parâmetro e uma incerteza associada. Eles são fornecidos por órgãos reconhecidos e confiáveis, como o *National Institute of Standards and Technology* (NIST-EUA), *Laboratory of the Government Chemist* (LGC-UK), Farmacopeia dos Estados Unidos da América (USP), INMETRO, entre outros. Os valores obtidos pelo laboratório que incluem a média e a estimativa do desvio padrão de uma série de replicatas da mesma amostra padrão devem ser comparados com os valores certificados do material de

referência, para verificar a exatidão do método (RIBANI *et al.*, 2004). Essa comparação é feita utilizando parâmetros como o erro relativo, o índice z (z score) e o erro normalizado (INMETRO, 2011).

a) Erro relativo (ER)

Forma de avaliar a exatidão do método expressa em percentagem por meio da Equação 4 (INMETRO, 2011):

$$ER = \frac{X_{lab} - X_v}{X_v} \cdot 100 \quad \text{(Equação 4)}$$

Em que:

X_{lab} = média aritmética de valores obtidos;

X_v = valor certificado.

b) Índice z (z score)

Avalia o desempenho do laboratório em comparações interlaboratoriais.

$$z = \frac{X_{lab} - X_v}{s} \quad \text{(Equação 5)}$$

Em que:

X_{lab} = média aritmética de valores obtidos;

X_v = valor certificado;

s = desvio-padrão do ensaio de proficiência.

A avaliação é feita com o critério de decisão: $|z| \leq 2$ = resultado satisfatório; $2 < |z| < 3$ = resultado questionável; $|z| \geq 3$ = resultado insatisfatório (INMETRO, 2011).

c) Erro normalizado

Após calcular a incerteza expandida do resultado obtido no laboratório, (U_{lab}), o valor verdadeiro (X_v) deve estar dentro do intervalo ($X_{lab} \pm U_{lab}$). Quando isso não acontece, esse intervalo pode estar subestimado. Nesses casos é empregado o conceito de erro normalizado (E_n), conforme a Equação 6 (INMETRO, 2011):

$$E_n = \frac{X_{lab} - X_v}{\sqrt{U_{lab}^2 + U_{ref}^2}} \quad \text{(Equação 6)}$$

Em que:

U_{ref} = incerteza associada ao MRC.

Se $|E_n| \leq 1$, considera-se que o resultado do laboratório é adequado.

b) Comparação de métodos

Os resultados alcançados com o método em desenvolvimento são comparados com resultados obtidos por meio de um método de referência, avaliando, assim, o grau de proximidade entre os resultados obtidos pelos dois métodos, ou seja, o grau de exatidão do método testado em relação ao de referência. A incerteza do método de referência deve ser conhecida e as análises efetuadas em replicata, utilizando separadamente o método em desenvolvimento e o método de referência sobre as mesmas amostras na faixa de concentrações em que se pretende validar o método (RIBANI *et al.*, 2004).

c) Ensaio de recuperação

A recuperação ou fator de recuperação (R) define a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra. A exatidão é expressa como erro sistemático percentual, inerente ao processo, que ocorre, por exemplo, pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração, medidas volumétricas imprecisas ou substâncias interferentes na amostra (BRITO *et al.*, 2003; RIBANI *et al.*, 2004).

O estudo da recuperação consiste na adição de soluções com diferentes concentrações do analito de interesse seguida pela determinação da concentração do analito adicionado. A quantidade percentual recuperada pelo processo é calcula segundo a Equação 7 (BRITO *et al.*, 2003).

$$R\% = \frac{|\text{Valor obtido} - \text{Valor real}|}{\text{Valor real}} \cdot 100 \quad \text{(Equação 7)}$$

No estudo da recuperação realizam-se testes de significância, utilizando o teste t de Student de acordo com a Equação 8.

$$t = \frac{(\bar{x}_{Rec} - 100)}{\frac{s_{Rec}}{\sqrt{n-1}}} \quad \text{(Equação 8)}$$

Em que:

\bar{X}_{Rec} = média das recuperações obtidas para n repetições;
n = número de determinações (mínimo 5 repetições);
 s_{Rec} = desvio-padrão das recuperações.

Se o valor obtido para t estiver dentro do intervalo estabelecido pelo valor tabelado, para n-1 graus de liberdade em dado nível de significância, então o método será considerado exato (BRITO *et al.*, 2003).

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais e reagentes

A parte experimental deste trabalho foi realizada no Laboratório de Química Forense localizado na Superintendência Regional da Polícia Federal em Belo Horizonte, no Estado de Minas Gerais.

3.1.1 Equipamentos

- Espectrofotômetro UV-Vis da marca Agilent Technologies®, modelo 8453 DAD;
- Balança analítica da marca Mettler Toledo®, modelo XP 205, capacidade máxima 220 g, 0,01 mg.

3.1.2 Reagentes

- Ácido clorídrico P.A. 36,5%, Isofar.

3.1.3 Padrões

- Benzocaína 99,9%, Sigma-Aldrich;
- Cafeína anidra 99,9%, Impex;
- Cloridrato de lidocaína mono-hidratado 99%, Sigma-Aldrich;
- Padrão de cocaína base livre com teor em base livre 89,49%, SETEC-MG.

3.1.4 Soluções

- Branco analítico: Solução de ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹.
Preparo – Pipetou-se 4,2 mL do ácido clorídrico P.A. 36,5% da marca Isofar com densidade de 1,19 g cm⁻³ com o auxílio de um pipetador automático, transferiu-se para um balão volumétrico de 500,0 mL e completou-se o volume com água destilada.
- Solução de cocaína 1 mg mL⁻¹.
Preparo – Utilizando-se a balança analítica mediu-se a massa de, aproximadamente, 55,87 ± 0,01 mg de cocaína na forma de base livre 89,49% diretamente em um balão volumétrico de 50,0 mL. Completou-se o volume do balão volumétrico com solução de ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹.

- Soluções 1 mg mL^{-1} dos padrões de adulterantes benzocaína, cafeína e lidocaína.

Preparo – Mediram-se as massas de, aproximadamente, $50,00 \text{ mg} \pm 0,01 \text{ mg}$ de benzocaína, cafeína e lidocaína diretamente em três balões volumétricos de $50,0 \text{ mL}$. O volume dos balões volumétricos foram completados com a solução de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, obtendo-se soluções dos adulterantes na concentração de 1 mg mL^{-1} .

3.2 Instrumentação e condições do ultravioleta/visível

Utilizou-se um espectrofotômetro UV-Vis Agilent Technologies® modelo 8453 DAD, acoplado a uma estação de trabalho operada por meio do software ChemStation. Realizou-se uma varredura de 200 a 600 nm e determinou-se que as leituras seriam realizadas no comprimento de onda de 227 nm , utilizando solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como branco analítico, cubeta de quartzo com 1 cm de percurso óptico e temperatura constante de 24°C .

3.3 Avaliação de interferentes

As soluções de cocaína, benzocaína, cafeína e lidocaína preparadas em meio ácido (HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) na concentração de 1 mg mL^{-1} foram diluídas para $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$. Destas soluções diluídas, alíquotas de $2,5 \text{ mL}$ de cada uma foram transferidas, com o auxílio de um pipetador automático, para 3 balões volumétricos de $25,0 \text{ mL}$, completando-se os volumes com a solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e obtendo-se concentrações finais de $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. Realizaram-se as leituras no espectrofotômetro das absorvâncias e da primeira derivada destas para cada solução preparada.

3.4 Parâmetros para validação de método

3.4.1 Preparo da curva analítica

Utilizando-se dois balões volumétricos de 50 mL , duas soluções de cocaína (A e B) foram preparadas em meio ácido (HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) na concentração de 1 mg mL^{-1} e diluídas para $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$. Destas soluções diluídas, alíquotas de $1,0$; $1,5$; $2,0$; $2,5$, $3,0$ e $3,5 \text{ mL}$ de cada uma foram transferidas, com o auxílio de uma pipeta, para 12 balões volumétricos de $25,0 \text{ mL}$, completando-se os volumes com a solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e

obtendo-se concentrações finais de 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0; e 14,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Foram realizadas três leituras no espectrofotômetro da primeira derivada da absorvância para cada solução preparada e os seis níveis de concentração foram avaliados.

3.4.2 Linearidade

A linearidade foi determinada com a construção da curva analítica (em triplicata), obtida através das leituras da primeira derivada da absorvância em 227 nm de diferentes concentrações da amostra (4 a 14 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em meio ácido), seguindo a lei de Lambert-Beer que preconiza que a reta obtida deve passar por todos os pontos do intervalo (INMETRO, 2003).

3.4.3 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada quanto à influência dos potenciais adulterantes benzocaína, lidocaína e cafeína. Diferentes combinações de misturas de cocaína, na menor concentração da curva analítica com os referidos adulterantes foram realizadas. Realizou-se o teste t com $\alpha = 0,05$ para avaliar as variadas amostras contendo os potenciais adulterantes (INMETRO, 2003).

3.4.4 Limite de Detecção (LD)

Sete amostras de referência da solução do branco analítico foram usadas para obtenção do limite de detecção do método (INMETRO, 2003). Realizou-se a leitura da primeira derivada da absorvância em 227 nm e os valores adquiridos foram aplicados na curva analítica para obter as respectivas concentrações previstas de cocaína, considerando a influência do ruído de análise.

3.4.5 Limite de Quantificação (LQ)

O limite de quantificação foi calculado a partir do valor obtido para o limite de detecção considerando-se $LQ = \text{média amostral} + 10 \cdot (\text{desvio-padrão amostral})$, sendo a média amostral determinada para LD (INMETRO, 2003).

3.4.6 Precisão

3.4.6.1 Repetitividade

Avaliou-se a repetitividade considerando-se os valores dos coeficientes de variação das replicatas vinculadas ao nível de rotina do laboratório (INMETRO, 2003).

3.4.6.2 Precisão intermediária

A precisão intermediária foi expressa por meio de variações dentro do mesmo laboratório, em dias diferentes. O ensaio foi realizado com quatro replicatas das curvas de calibração em dias diferentes (INMETRO, 2003).

3.4.7 Exatidão

Realizou-se uma hexaplicata de um padrão secundário fornecido pelo Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal em Brasília com concentração $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Analisou-se a variabilidade entre as replicatas e aplicou-se o teste t com nível de confiança igual a 95% para comparar a média amostral com a média verdadeira (INMETRO, 2003).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desenvolvimento do método no UV-Vis

4.1.1 Espectrometria na região do ultravioleta

A identificação da cocaína por meio da espectrometria na região do UV-Vis foi realizada com o preparo de soluções do analito e dos seus principais adulterantes em meio ácido (HCl 0,1 mol L⁻¹) na concentração de 10,0 µg mL⁻¹ fazendo-se uma varredura nos espectros UV-Vis entre 200 e 600 nm a fim de selecionar a faixa de comprimentos de onda de interesse para leitura das amostras.

A Figura 10 ilustra os espectros de ordem zero obtidos com as soluções de cocaína, benzocaína, lidocaína e cafeína (10,0 µg mL⁻¹) em meio ácido na região do UV-Vis e mostra, claramente, a interferência na absorção devido aos adulterantes entre 200 e 300 nm.

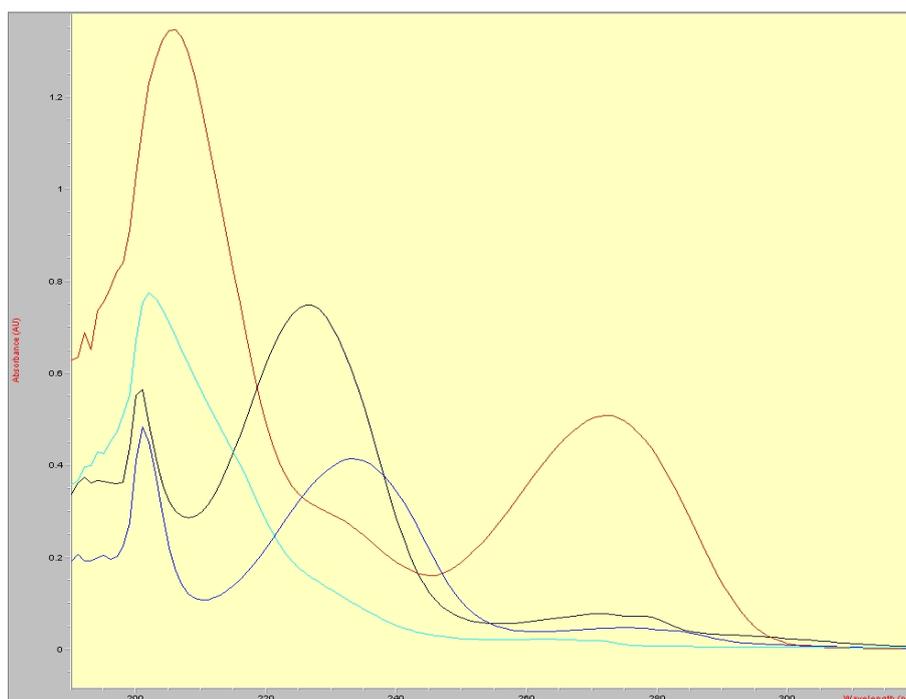


Figura 10 – Espectros de ordem zero de absorvância em função do comprimento de onda em nm para as soluções 10,0 µg mL⁻¹ e cocaína (linha azul escuro), benzocaína (linha preta), lidocaína (linha azul claro) e cafeína (linha vermelha) em meio ácido.

4.1.2 Espectrometria derivada na região do ultravioleta (UV-D)

Após observação da interferência dos principais adulterantes no espectro UV de ordem zero para determinação da cocaína, as condições espectrométricas para a validação do método de UV-D foram selecionadas a partir de ensaios preliminares com soluções de cocaína e dos principais adulterantes isolados. Determinou-se a ordem da derivada e o comprimento de onda (λ) utilizado na validação do método. As soluções de cocaína e dos seus principais adulterantes preparadas para obtenção dos espectros UV foram submetidas à análise e as leituras dos espectros de UV-D foram realizadas no comprimento de onda de 227 nm.

A Figura 11 apresenta os espectros na região do UV-D para as soluções $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cocaína, benzocaína, lidocaína e cafeína em meio ácido. Os espectros foram obtidos colocando-se a primeira derivada da absorvância em função do comprimento de onda.

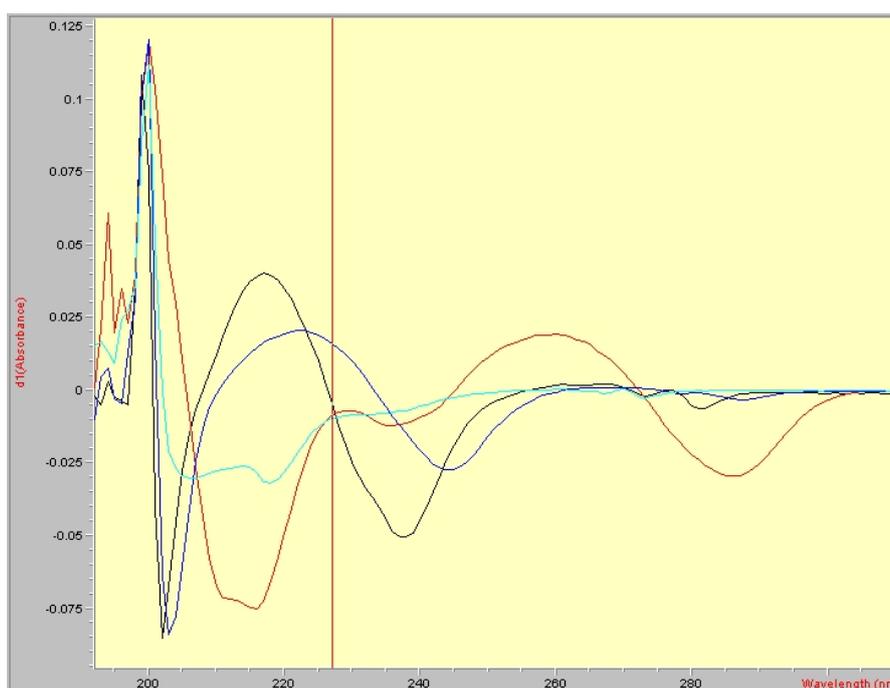


Figura 11 – Espectros da primeira derivada da absorvância em função do comprimento de onda em nm para as soluções $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cocaína (linha azul escuro), benzocaína (linha preta), lidocaína (linha azul claro) e cafeína (linha vermelha) em meio ácido.

Observou-se que a cocaína foi a única substância analisada que apresentou valores positivos de leitura em 227 nm, considerando a primeira derivada da absorvância. Dessa forma, o espectro da primeira derivada em 227 nm,

revelou detalhes espectrais não observados no espectro normal, viabilizando uma possível identificação do analito na presença dos interferentes.

4.2 Validação do método proposto

O método proposto foi desenvolvido considerando as orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos do INMETRO, presentes na resolução DOQ-CGCRE-008 de 2003.

4.2.1 Construção da curva analítica

A curva analítica foi desenvolvida a partir dos valores da primeira derivada das absorvâncias em função das concentrações de cocaína ($\mu\text{g mL}^{-1}$): 4, 6, 8, 10, 12 e 14. Essa faixa de valores para as concentrações foi escolhida por estar inserida na rotina de trabalho do laboratório do SETEC-MG. Os valores obtidos para cada replicada das soluções padrão podem ser visualizados na Tabela 5.

Tabela 5 – Dados obtidos para construção da curva analítica.

Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1ª derivada da absorvância (227 nm)	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1ª derivada da absorvância (227 nm)
4	0,0071217	10	0,0184040
4	0,0071673	10	0,0184500
4	0,0072078	10	0,0184550
4	0,0068718	10	0,0186010
4	0,0068802	10	0,0187490
4	0,0069376	10	0,0188020
6	0,0106550	12	0,0224670
6	0,0107120	12	0,0224490
6	0,0106060	12	0,0227430
6	0,0103590	12	0,0222000
6	0,0104380	12	0,0223650
6	0,0104170	12	0,0224210
8	0,0149490	14	0,0262210
8	0,0148470	14	0,0262150
8	0,0150050	14	0,0262800
8	0,0148690	14	0,0261130
8	0,0150070	14	0,0260370
8	0,0149250	14	0,0260230

Com base nos dados da Tabela 5 (p.41), realizou-se a construção da curva analítica (Figura 12).

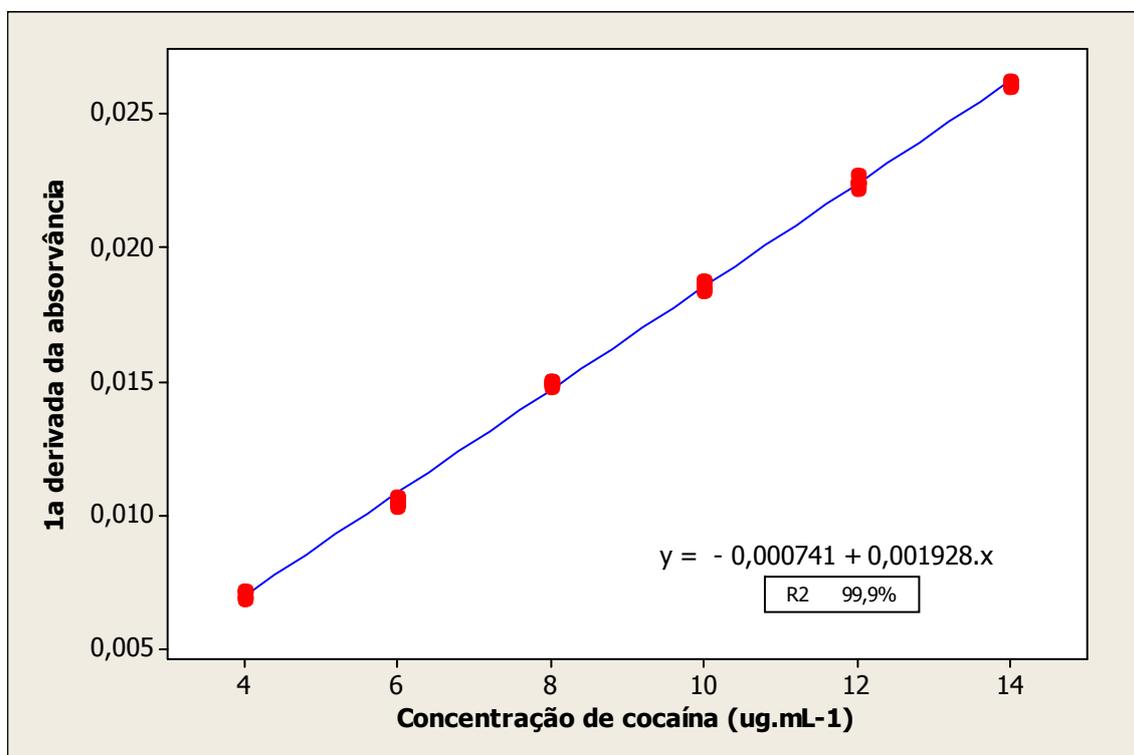


Figura 12 – Curva analítica das soluções padrão de cocaína.

A avaliação prévia da curva analítica mostra que o aumento da concentração de cocaína nas soluções padrão aumenta o valor da primeira derivada da absorvância de modo linear.

4.2.2 Linearidade

O parâmetro linearidade foi avaliado quanto à adequação do ajuste linear ($y = ax + b$), a distribuição aleatória dos resíduos e sua qualidade (R^2) (INMETRO, 2003).

A distribuição dos resíduos foi avaliada de duas formas: aleatoriedade visual e tendência à distribuição normal ($Y \sim N(0, \sigma^2)$). O julgamento do perfil visual teve como base a distribuição aleatória dos valores em volta da média zero, associada à ordem em que as análises foram realizadas (Figura 13; p.43).

Ao avaliar os valores dos resíduos padronizados na Figura 13 (p.43), pode-se perceber que sua distribuição não apresenta um padrão claro, indicando que a pequena variação entre os valores ajustados e os valores

experimentais se deve a erros aleatórios. Somado a isso, nenhum resíduo foi considerado um *out-lier* (valor a ser descartado), devido à sua proximidade ao valor médio.

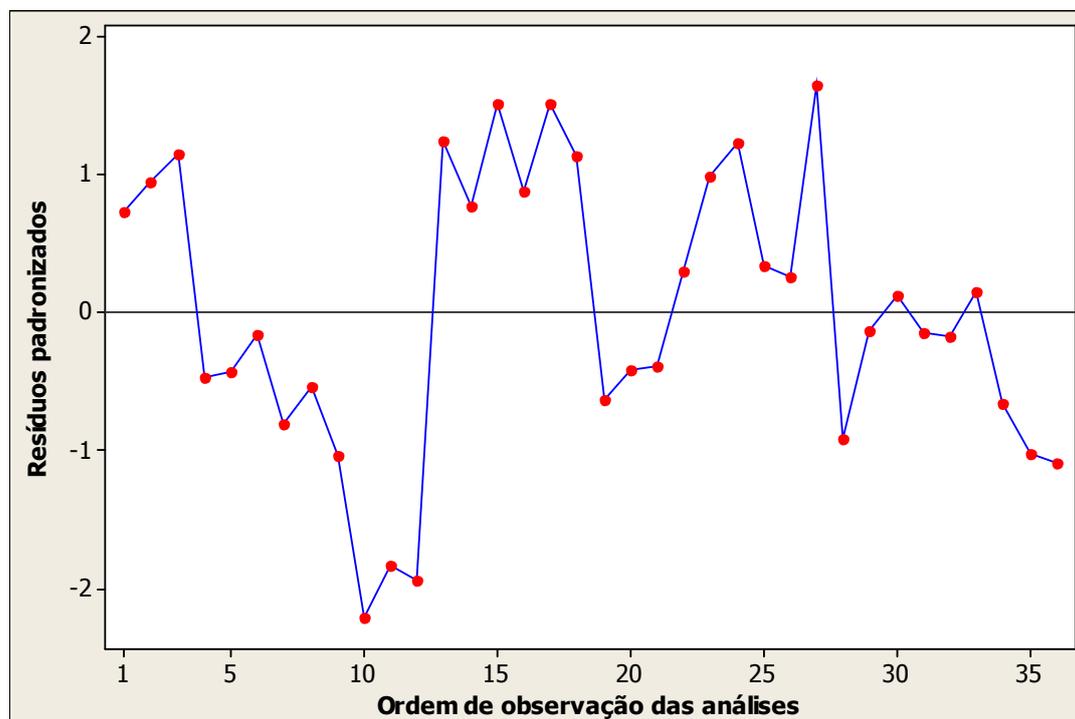


Figura 13 – Relação entre os valores dos resíduos padronizados e a sequência em que as análises foram realizadas.

Por sua vez, a avaliação da distribuição normal foi realizada através do teste de Anderson-Darling (H_0 : conjunto de dados apresenta distribuição normal; H_a : conjunto de dados não apresenta distribuição normal; $\alpha = 0,05$) (Figura 14; p.44). Como se pode observar na Figura 14 (p.44), o p-valor (0,470) foi maior que o nível de significância do teste ($\alpha = 0,05$), indicando que a hipótese nula (H_0) foi satisfeita. Logo, os dados obtidos experimentalmente apresentam resíduos com distribuição normal.

Assim, a avaliação do ajuste quanto ao comportamento dos resíduos mostra que o ajuste linear é satisfatório (alta significância).

A qualidade do ajuste foi avaliada quanto ao valor de R^2 , o qual identifica o quanto os dados experimentais estão próximos dos valores ajustados. Obteve-se R^2 igual a 0,999, valor que atribui alta qualidade ao modelo linear.

O ajuste linear foi avaliado quanto à credibilidade do estimador do coeficiente angular por meio de um teste F (H_0 : o coeficiente angular é estatisticamente igual a zero; H_a : o coeficiente angular é estatisticamente

diferente de zero) com $\alpha = 0,05$. Como o p-valor obtido foi considerado zero, afirma-se que a hipótese alternativa (H_a) foi satisfeita, garantindo a presença do coeficiente angular junto ao coeficiente linear no ajuste correspondente.

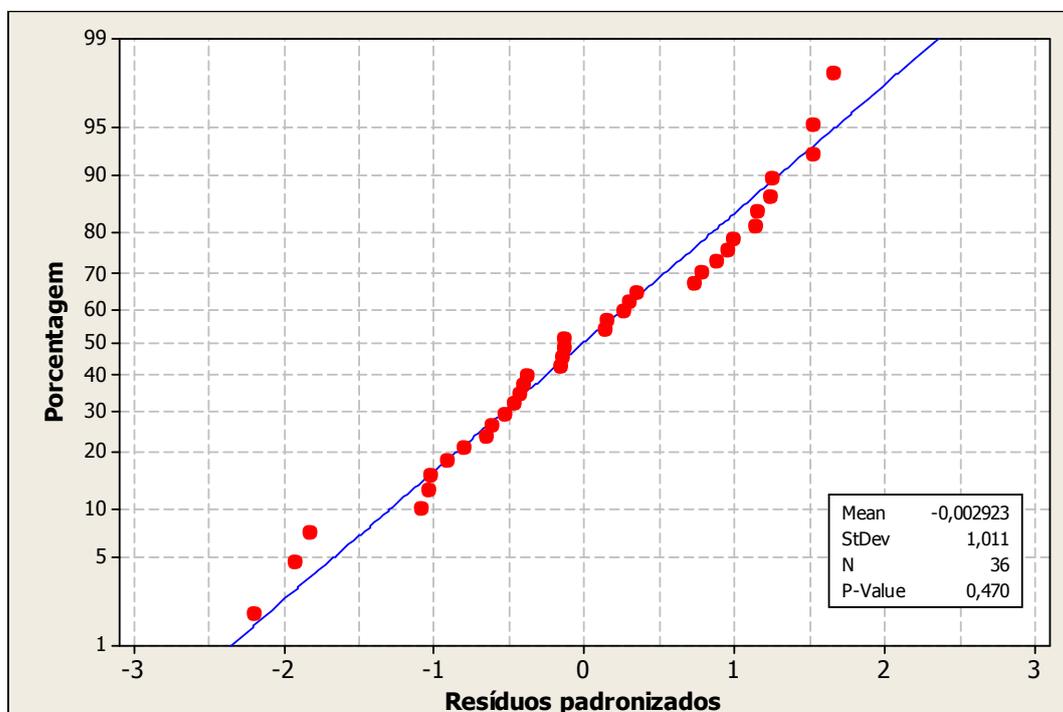


Figura 14 – Teste de hipóteses de Anderson-Darling para distribuição normal.

Por fim, após as avaliações do ajuste linear, pode-se afirmar que o mesmo apresenta alta qualidade e alta significância, podendo ser empregado na quantificação da cocaína.

4.2.3 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada quanto à influência dos potenciais adulterantes benzocaína, lidocaína e cafeína. Para tanto, misturas de cocaína, na menor concentração da curva analítica com os referidos adulterantes foram realizadas (Tabela 6; p.45). As concentrações dos adulterantes foram determinadas considerando seus valores de absorvidade específica, de modo que as leituras de absorvância se encontrassem dentro da faixa linear (Lei de Lambert-Beer) e com grandezas relativamente altas, em torno de 0,8.

Para avaliar variadas amostras contendo os potenciais adulterantes (INMETRO, 2003), realizou-se o teste t com $\alpha = 0,05$. Para tanto,

comparou-se a média das concentrações de cocaína (triplicata), obtida através da curva analítica (Figura 12; p.42), com o valor de referência: 4,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Esta concentração foi selecionada, pois equivale ao menor valor da curva analítica, mais sensível à influência dos adulterantes.

Ao avaliar os resultados dos testes t (Tabela 7; p.46), observa-se que apenas a combinação 1 (cocaína misturada com benzocaína) apresenta concentração estatisticamente igual, com 95% de confiança, à concentração de cocaína pura (4,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Logo, conclui-se que o método é seletivo apenas para a benzocaína, em concentração máxima de 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Esse resultado pode ser considerado satisfatório, pois é bastante comum que amostras de cocaína apreendidas estejam misturadas a apenas um tipo de adulterante e uma técnica complementar, pode ser aplicada para identificação do adulterante presente.

Tabela 6 – Soluções de cocaína em meio aos adulterantes benzocaína, lidocaína e cafeína.

Combinações	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			
	Cocaína	Benzocaína	Lidocaína	Cafeína
1	4,0	10,0	0,0	0,0
2	4,0	0,0	50,0	0,0
3	4,0	0,0	0,0	24,0
4	4,0	10,0	50,0	0,0
5	4,0	10,0	0,0	24,0
6	4,0	0,0	50,0	24,0
7	4,0	10,0	50,0	24,0

Tabela 7 – Relação das concentrações das soluções de cocaína em meio aos adulterantes benzocaína, lidocaína e cafeína (combinações 1 a 7) com os valores dos testes t correspondentes.

Combinações	1ª derivada da absorvância	Concentração de cocaína ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	P-valor (teste t) ($\alpha = 0,05$)
1	0,0068447	3,93	0,05 ($H_0: \mu_x \geq \mu_0$; $H_a: \mu_x < \mu_0$)
	0,0064418	3,72	
	0,0063918	3,70	
2	0,0061921	3,60	0,00 ($H_0: \mu_x \geq \mu_0$; $H_a: \mu_x < \mu_0$)
	0,0062519	3,63	
	0,0063034	3,65	
3	0,0108840	6,03	0,00 ($H_0: \mu_x \leq \mu_0$; $H_a: \mu_x > \mu_0$)
	0,0109420	6,06	
	0,0108540	6,01	
4	0,0107820	5,98	0,00 ($H_0: \mu_x \leq \mu_0$; $H_a: \mu_x > \mu_0$)
	0,0107750	5,98	
	0,0106940	5,93	
5	0,0145760	7,94	0,00 ($H_0: \mu_x \leq \mu_0$; $H_a: \mu_x > \mu_0$)
	0,0145880	7,95	
	0,0146020	7,96	
6	0,0144040	7,85	0,00 ($H_0: \mu_x \leq \mu_0$; $H_a: \mu_x > \mu_0$)
	0,0143510	7,83	
	0,0143530	7,83	
7	0,0183130	9,89	0,00 ($H_0: \mu_x \leq \mu_0$; $H_a: \mu_x > \mu_0$)
	0,0182760	9,86	
	0,0181300	9,79	

4.2.4 Limite de Detecção (LD)

Para obter o limite de detecção do método (INMETRO, 2003) foram preparadas sete amostras de referência (brancos analíticos). Em seguida, todas as amostras foram analisadas e os valores da primeira derivada da absorvância (227 nm) adquiridos. Tais valores foram aplicados na curva analítica para obter as respectivas concentrações previstas de cocaína considerando a influência do ruído de análise (Tabela 8; p.47).

Tabela 8 – Relação entre as amostras de referência e a concentração prevista de cocaína.

Amostras	1ª derivada da absorvância (227 nm)	Concentração prevista ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
1	0,0000486	0,41
2	0,0000482	0,41
3	0,0001028	0,44
4	0,0000489	0,41
5	0,0000928	0,43
6	0,0001118	0,44
7	0,0001487	0,46

A média das concentrações previstas foi igual a $0,43 \mu\text{g mL}^{-1} \pm 0,20 \mu\text{g mL}^{-1}$ e este valor foi aplicado na seguinte equação: $LD = \text{média amostral} + t \cdot (\text{desvio-padrão amostral})$, onde t corresponde ao valor tabelado com $\alpha = 0,05$ e seis graus de liberdade.

Dessa forma, tem-se: $LD = 0,43 + 1,943 \cdot (0,20) = 0,47 \mu\text{g mL}^{-1}$, valor que indica a menor concentração, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, capaz de ser detectada pelo presente método.

4.2.5 Limite de Quantificação (LQ)

Segundo INMETRO (2003), o limite de quantificação pode ser obtido de diferentes formas, entre elas: $LQ = \text{média amostral} + 10 \cdot (\text{desvio-padrão amostral})$. Ao multiplicar o valor do desvio-padrão amostral por 10, tem-se: $LQ = 0,47 + 10 \cdot (0,20) = 0,67 \mu\text{g mL}^{-1}$, valor que equivale à mínima concentração capaz de ser quantificada se o intervalo inferior da curva analítica for ampliado.

Entretanto, como o limite mínimo assegurado pela curva analítica foi igual a $4 \mu\text{g mL}^{-1}$, este será considerado o limite de quantificação prático.

4.2.6 Precisão

4.2.6.1 Repetitividade

A repetitividade foi avaliada com base nos valores dos coeficientes de variação das replicatas vinculadas ao nível de rotina do laboratório (INMETRO, 2003), sendo os resultados evidenciados na Tabela 9 (p.48).

Tabela 9 – Relação entre as concentrações obtidas de cocaína, via ajuste linear e seus respectivos coeficientes de variação.

Amostras	1ª derivada da absorvância (227 nm)	Concentração de cocaína ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Concentrações obtidas ($\bar{x} \pm s$) ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CV (%)
1a	0,0071217	4,08	4,03 \pm 0,08	1,98
1b	0,0071673	4,10		
1c	0,0072078	4,12		
1d	0,0068718	3,95		
1e	0,0068802	3,95		
1f	0,0069376	3,98		
2a	0,0106550	5,91	5,85 \pm 0,08	1,37
2b	0,0107120	5,94		
2c	0,0106060	5,88		
2d	0,0103590	5,75		
2e	0,0104380	5,80		
2f	0,0104170	5,79		
3a	0,0149490	8,14	8,13 \pm 0,04	0,49
3b	0,0148470	8,08		
3c	0,0150050	8,17		
3d	0,0148690	8,10		
3e	0,0150070	8,17		
3f	0,0149250	8,12		
4a	0,0184040	9,93	10,02 \pm 0,09	0,90
4b	0,0184500	9,95		
4c	0,0184550	9,96		
4d	0,0186010	10,03		
4e	0,0187490	10,11		
4f	0,0188020	10,14		
5a	0,0224670	12,04	12,02 \pm 0,09	0,74
5b	0,0224490	12,03		
5c	0,0227430	12,18		
5d	0,0222000	11,90		
5e	0,0223650	11,98		
5f	0,0224210	12,01		
6a	0,0262210	13,98	13,94 \pm 0,05	0,36
6b	0,0262150	13,98		
6c	0,0262800	14,01		
6d	0,0261130	13,93		
6e	0,0260370	13,89		
6f	0,0260230	13,88		

Como a resolução do IMETRO (DOQ-CGCRE-008, 2003) não estabelece um limite de aceitabilidade para o coeficiente de variação, empregou-se os limites de precisão estimados como função da concentração do analito do Manual AOAC Peer Verified Methods Program (AOAC, 1993). A presente

referência exige que no máximo o coeficiente de variação seja igual a 2,8%, considerando a faixa de concentrações empregada. Dessa forma, os resultados obtidos na Tabela 9 (p.48) revelam que o presente método apresenta repetibilidade satisfatória.

Em conclusão, pode-se verificar que, de modo geral, o coeficiente de variação tende a aumentar conforme a concentração do analito reduz, o que reflete a influência mais intensa de fatores como o ruído da linha de base a 227 nm e a presença de possíveis erros sistemáticos.

4.2.6.2 Precisão Intermediária

A precisão intermediária foi avaliada por meio das soluções-padrão de cocaína em dias diferentes. Para tanto, empregou-se como critério de avaliação o cálculo do desvio-padrão da precisão intermediária (Spi) (INMETRO, 2003), sendo os dados correspondentes apresentados nas Tabelas 10 e 11 (p.50).

Tabela 10 – Relação entre as concentrações de cocaína das soluções-padrão e suas médias correspondentes.

Amostras	1ª derivada da absorvância (227 nm)	Conc. de cocaína ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Média das concentrações de cocaína ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
1a	0,0071217	4,08	4,06
1b	0,0071673	4,10	
1c	0,0072078	4,12	
1d	0,0068718	3,95	
2a	0,0106550	5,91	5,87
2b	0,0107120	5,94	
2c	0,0106060	5,89	
2d	0,0103590	5,76	
3a	0,0149490	8,14	8,12
3b	0,0148470	8,09	
3c	0,0150050	8,17	
3d	0,0148690	8,10	
4a	0,0184040	9,93	9,97
4b	0,0184500	9,95	
4c	0,0184550	9,96	
4d	0,0186010	10,03	
5a	0,0224670	12,04	12,04
5b	0,0224490	12,03	
5c	0,0227430	12,18	
5d	0,0222000	11,90	
6a	0,0262210	13,98	13,98
6b	0,0262150	13,98	
6c	0,0262800	14,02	
6d	0,0261130	13,93	

Tabela 11 – Relação entre as médias das concentrações das soluções-padrão de cocaína e os números de amostras e replicatas necessários para o cálculo do desvio-padrão de precisão intermediária.

Amostras	Média das concentrações de cocaína ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Número de amostras ensaiadas	Número de replicatas por amostra	Spi ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
1a/1b/1c/1d	4,06	6	4	0,04
2a/2b/2c/2d	5,87			
3a/3b/3c/3d	8,12			
4a/4b/4c/4d	9,97			
5a/5b/5c/5d	12,04			
6a/6b/6c/6d	13,98			

Ao observar o valor de Spi para as análises realizadas em dias diferentes (Tabela 11), pode-se afirmar que o método apresenta precisão intermediária satisfatória, pois, mesmo para o valor de concentração mais baixo da curva analítica, o desvio-padrão equivale a 1% de variação em torno da média: $CV = (Spi/4)*100\% = 1\%$.

4.2.7 Exatidão

Realizou-se uma hexaplicata do padrão secundário fornecido pelo Instituto Nacional de Criminalística de concentração $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, obtendo-se os valores a seguir:

Tabela 12 – Concentrações de cocaína na hexaplicata.

Replicata	Concentração prevista pela curva ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
1	10,54
2	10,57
3	10,55
4	10,54
5	10,64
6	10,61

Pôde-se perceber que a variabilidade entre as replicatas foi satisfatória, com coeficiente de variação igual a 0,39%, porém a exatidão não mostrou o mesmo comportamento, pois os valores variaram pouco sobre a média amostral $10,57 \mu\text{g mL}^{-1}$, distante da concentração $10 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Para comprovar o exposto, foi aplicado o teste t com nível de confiança igual a 95%. Assim, ao comparar a média amostral com a média

verdadeira, observou-se um p-valor igual a zero, indicando que a hipótese nula não deveria ser descartada ($\mu_0 \neq \bar{x}$).

Como consequência, o método foi classificado como de baixa exatidão, exigindo ajustes para finalizar sua validação. Duas possibilidades de baixa exatidão são: a) medidas erradas de massas na balança analítica e b) padrão secundário com problemas.

5 CONCLUSÃO

Considerando os parâmetros analisados, a curva analítica se mostrou satisfatória, apresentando alta qualidade e significância estatística. Como limitação, este método foi seletivo apenas para a benzocaína, em concentração máxima igual a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. A precisão foi avaliada mediante de estudos de repetibilidade e precisão intermediária, sendo os resultados encontrados satisfatórios. No entanto, o método foi classificado como de baixa exatidão (95% de confiança), o que talvez possa estar relacionado a erros com o padrão secundário de comparação.

Não foi obtida a seletividade desejada na presença dos adulterantes lidocaína e cafeína, mas os limites de detecção alcançados foram muito baixos, o que indica que o aprimoramento do método tem potencial para a determinação de cocaína na presença destes adulterantes.

Considerando que a avaliação completa de amostras de cocaína deve empregar a combinação de outras análises como IV-TF, CG-EM e CLAE, a análise via espectrometria UV-D pode ser complementar à espectroscopia vibracional na região do infravermelho, sendo esta uma excelente técnica para identificação de amostras de cocaína contendo os demais adulterantes e que se adequa bem ao objetivo deste trabalho, pois se apresenta mais acessível financeiramente que CG-EM ou CLAE, por exemplo.

Dessa forma, trabalhos futuros podem complementar a aplicação da metodologia de espectrometria UV-D aqui proposta e alcançar a sua completa validação, possibilitando utilizá-la como um método de rotina nas análises realizadas pela Polícia Federal.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 jun. 2003.

ALMEIDA, V.C. Desenvolvimento de método analítico para determinação e extração de corantes têxteis em efluentes industriais. 2006. 109 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da UEM, Maringá. Disponível em: <<http://www.pqu.uem.br/arquivos/documentos/do010c.pdf>>. Acesso em: 18 fev. 2013.

ALVES, B.E.P.; CARNEIRO, E.O. Drogas psicoestimulantes: uma abordagem toxicológica sobre cocaína e metanfetamina. In: 7. Mostra de produção Científica da Pós-Graduação *Lato Sensu* da PUC Goiás, 2012, Goiânia. Goiânia: PUC/PROPE, 2012. Disponível em: <<http://www.cpgls.ucg.br/7mostra/Artigos1c.html>>. Acesso em: 5 fev. 2013.

AMÉRICO, M.A.; MOSSIN, S.A.G; NISHIYAMA, P. Perfil de fármacos por espectrofotometria no ultravioleta. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v. 40, n. 4, p. 257-259, 2008.

AOAC Peer Verified Methods Program, Manual on policies and procedures. Arlington, VA, nov. 1993. In: FAQ, Method Validation.

ASSUNÇÃO, M.S. Quimiluminescência e Bioluminescência. 2009. 44 p. Monografia (Especialização em química) – UI, Itaúna.

BOTELHO, E.D. Desenvolvimento de uma nova metodologia analítica para identificação e quantificação de truxilinas em amostras de cocaína baseada em cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM). 2011. 174 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Faculdade de Química da UNB, Brasília.

BRASIL. Medida provisória no 1.569-9, de 11 de dezembro de 1997. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 dez. 1997. Seção 1, p. 29514.

BRITO, N.M.; JUNIOR, O.P.A.; POLESE, L.; RIBERO, M.L. Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão. **Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. v. 13, n. 1, p. 129-146, 2003.

CARLINI, E.A.; NAPPO, S.A.; GALDURÓZ, J.C.F.; NOTO, A. R. Drogas psicotrópicas - o que são e como agem. **Revista IMESC**. n. 3, p. 9-35, 2001.

CECÍLIO, L.R. O Brasil no cenário do tráfico internacional de drogas: Um estudo multidimensional da realidade. **Revista SJRJ**. v. 17, n 29, p. 269-288, 2010.

DIAS, C.L. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação do inibidor de protease ritonavir matéria-prima e cápsulas.

2006. 165 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia da UFRGS, Porto Alegre.

FERREIRA, P.E.M.; MARTINI, R.K. Cocaína: lendas, histórias e abuso. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 2, n. 23, p. 96-99, 2001.

FUKUSHIMA, A.R. Perfil da cocaína comercializada como *crack* na Região Metropolitana de São Paulo em período de vinte meses (2008-2009). 2010. 91 p. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) - Faculdade de Ciências Farmaceuticas da USP, São Paulo.

GALINDO, C.T. Química forense: A aplicação da química no contexto da perícia criminal. 2010. 48 p. Monografia - Faculdade Câmara Cascuda, Natal.

GOBREIRO, T.S. Desenvolvimento de uma metodologia para comparação de amostras de sal de cocaína pela determinação de solventes residuais e análise quimiométrica. 2012. 110 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química da UNB, Brasília.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. DOQ-CGRE-08: Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos; documento de caráter orientativo. 2003. _____ . Revisão 04, 2011.

JIFE. Informe de la Junta Internacional de Fiscalización de Estupefacientes correspondiente a 2007. Viena, 2007. Disponível em: < <http://www.unodc.org/pdf/brazil/JIFE/SPANISH.pdf> >. Acesso em: 17 fev. 2013.

Joint Committee for Guides in Metrology. **Evaluation of measurement data -Guide to the expression of uncertainty in measurement**. 120 p., 2008. Disponível em: <www.bipm.org>. Acesso em: 22 fev. 2013.

GOULART JR, S.S. Otimização e validação de método cromatográfico para quantificação de componentes majoritários em amostras de cocaína. 2012. 95 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química da UNB, Brasília.

LEAL, A.A.X.; HENRIQUES, C.A.; LUNA, A.S. Validação e estimativa da incerteza do método de determinação de fósforo por espectrofotometria UV-VIS. **Revista Analytica**. n. 38, p. 28-24, 2007.

MALDANER, A.O.; BOTELHO, E.D.; ZACCA, J.J.; VIEIRA, M.L.; Gerenciamento de ações voltadas para obtenção de Perfis Químicos de Drogas - Projeto PeQui da Polícia Federal. In: 34. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2011, Florianópolis. Brasília: SEPLAB/INC/DPF, 2011. Disponível em: < <http://sec.s bq.org.br/cdrom/34ra/resumos/T1464-1.pdf> >. Acesso em: 15 fev. 2013.

OJEDAS, C.B.; ROJAS, F.S. Recent developments in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**.

v. 518, p. 1-24, 2004.

PASCHOAL, L.R.; FERREIRA, W.A.; PRADO, M.R.D.; VILELA, A.P.O. Aplicação do método da espectrofotometria de derivadas na identificação e doseamento simultâneo de sistemas multicomponentes. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 39, n. 1, p. 105-113, 2003.

PASSAGLI, M. **Toxicologia forense - Teoria e prática**. 3ª Ed. Campinas: Ed. Millennium, 2011.

RIBANI, M. BOTTOLI, C.B.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**. v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

SALDANHA, T.C.B.; ARAÚJO, M.C.U.; NETO, B.B. Análise multicomponente simultânea por espectrofotometria de absorção molecular UV-VIS. **Revista Química Nova**. v.22, n. 6, p. 847-853 , 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v22n6/2589.pdf>>. Acesso em: 18 fev. 2013.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6ª Ed. São Paulo: Ed. Bookman, 2009.

SIQUEIRA-MOURA, M.P; LIRA, M.C.B.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. Validação de método analítico espectrofotométrico UV para determinação de ácido úsnico em lipossomas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 4, p.621-628 , 2008.

SOUSA, L.R.P. A química forense na detecção de drogas de abuso. 2011. 16p. Pontifícia Universidade Católica de Goiás/IFAR. Disponível em: <<http://www.cpgls.ucg.br/6mostra/artigos/SAUDE/LUANA%20RAQUEL%20PINHEIRO%20DE%20SOUSA.pdf>>. Acesso em: 29 nov. 2012.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME - UNODC, Vienna. Recommended methods for the Identification and Analysis of Cocaine in Seized Materials, 2012.

_____. World Drug Report 2012.

VIEIRA, E.G.; MOITA, G.C. Quantificação de acetona e benzofenona-3 em removedor de esmalte por espectrofotometria derivativa. In: XIX Seminário de Iniciação Científica - II Seminário em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação, 2010, PiauÍ. PiauÍ: UFPI, 2010. Disponível em: <<http://www.ufpi.br/19sic/Documentos/RESUMOS/Exatas/Ewerton%20Gomes%20Oliveira.pdf>>. Acesso em: 18 fev. 2013

VINADÉ, M.E.C.; VINADÉ, E.R.C. **Métodos espectroscópicos de análise quantitativa**. 1ª Ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2005.

YONAMINE, M. A saliva como espécime biológico para monitorar o uso de álcool, anfetamina, metanfetamina, cocaína e maconha por motoristas profissionais. 2004. 139 p. Tese (Doutorado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) - Faculdade de Ciências Farmaceuticas da USP, São Paulo.