

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

**OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA
AVALIAÇÃO DA EXTENSÃO DA CONTAMINAÇÃO POR
COCAÍNA EM CÉDULAS DE REAL CIRCULANTES NO
MUNICÍPIO DE SEROPÉDICA-RJ**

DURVAL REIS MARIANO JUNIOR

2018



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Instituto de Ciências Exatas

Programa de Pós-Graduação em Química

**OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA AVALIAÇÃO DA
EXTENSÃO DA CONTAMINAÇÃO POR COCAÍNA EM CÉDULAS DE REAL
CIRCULANTES NO MUNICÍPIO DE SEROPÉDICA-RJ**

Durval Reis Mariano Junior

Sob Orientação da Professora
Dra. Vanessa Gomes Kelly Almeida

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química.

Seropédica, RJ

Abril de 2018

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M333o Mariano Junior, Durval Reis, 1992-
OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA AVALIAÇÃO
DA EXTENSÃO DA CONTAMINAÇÃO POR COCAÍNA EM CÉDULAS DE
REAL CIRCULANTES NO MUNICÍPIO DE SEROPÉDICA-RJ /
Durval Reis Mariano Junior. - 2018.
50 f. : il.

Orientadora: Vanessa Gomes Kelly Almeida.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Química,
2018.

1. Química Analítica. 2. Cocaína. 3. Cédulas. 4.
HPLC. I. Almeida, Vanessa Gomes Kelly, 1983-, orient.
II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós-Graduação em Química III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DURVAL REIS MARIANO JUNIOR

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 04 / 04 / 2018



Professora Dr^a. Vanessa Gomes Kelly Almeida
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ
(Orientadora)



Professora Dr^a. Yara Peluso Cid
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ



Dr^a. Natália Guimarães de Figueiredo
Instituto Nacional de Tecnologia - INT

AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo a Deus pela oportunidade de concluir uma importante etapa que, por diversos momentos, achei que não seria capaz de concluir. Muitas vezes angustiado por diversos motivos, sempre recorri a Ele pedindo forças para que tudo desse certo.

À minha mãe, Irani, que sempre confiou em mim, em todas as decisões que tomei, mesmo sem entendê-las, muitas vezes, me apoiando e me encorajando. E também por ser tão compreensiva em todas as vezes que eu dizia que não poderia estar com ela por causa das minhas mil e uma atividades. E ao meu pai, Durval, também por entender todas as minhas faltas, o distanciamento físico, e permanecer ao meu lado em todos os momentos de dificuldade. Devo a vocês tudo o que sou e o que conquistei.

Tenho muito a agradecer também ao Diego Alves, tão companheiro, tão apoiador, acreditando que eu seria capaz de qualquer coisa que eu quisesse, até quando eu mesmo não me sentia capaz de seguir em frente. Seu apoio foi fundamental na conclusão desse trabalho, em cada detalhe. Me esforço a cada dia para retribuir toda força que eu sempre recebi.

Agradeço aos meus amigos Anderson, Gabriela, Glauco, Melina, Amanda e Alexandra pelos muitos momentos de descontração, inúmeras histórias vividas juntos, e por me alegrar sempre, mesmo que não percebessem. O convívio com vocês deixou tudo mais fácil e mais agradável. Às minhas amigas, companheiras de laboratório, Aline, Fernanda e Grace, pois nossa convivência não se resume a trabalhar juntos. Existe um companheirismo que foi muito importante para que tudo desse certo em todas as minhas atividades. Sempre foram muito compreensivas, me ajudando em tudo que podiam, e por isso foram peças essenciais pra conclusão desse trabalho. A todos vocês, meus amigos, muito obrigado mesmo. Não posso esquecer de agradecer ao nosso mascote, o Roberto, que sempre me conforta e me faz companhia diariamente. Com vocês a família está completa.

Agradeço também aos amigos do PVS, Renata, Ariane, Raphael, Livia, Patrícia Alan, Delcio e Jamille, por dividirem comigo esses momentos não só de trabalho, mas de muito prazer. Dar aulas sempre foi uma de minhas paixões, e ficou ainda mais prazeroso fazendo parte de equipes com essas pessoas incríveis.

Agradeço à professora Rosane Nora por me ajudar em diversos momentos, por entender minhas dificuldades, e por permitir que eu usasse muito de seus espaços, equipamentos. Com sua ajuda e diversas contribuições pude dar andamento ao trabalho. À professora Yara Cid, também por permitir o uso de equipamentos e solventes, e por se colocar à disposição para me ajudar. Suas aulas sempre foram muito esclarecedoras, e abriram caminhos para novas ideias. E à professora Andressa Esteves, que sempre me apoiou, me aconselhou em vários momentos importantes e se manteve sempre por perto.

Finalmente, agradeço a minha querida orientadora, professora Vanessa Gomes, por ter sido a primeira a acreditar que eu era capaz de chegar até aqui, e por tentar de toda forma manter acesa em mim a vontade de desenvolver um bom trabalho. Sempre amiga, disposta a conversar sobre qualquer assunto, tornou muito mais agradável todo esse processo. Muito obrigado por ter se mantido firme comigo, de coração.

RESUMO

MARIANO JUNIOR, Durval Reis. **Otimização de Metodologia Analítica para Avaliação da Extensão da Contaminação por Cocaína em Cédulas de Real Circulantes no Município de Seropédica-RJ.** 2018. 50p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Exatas, Seropédica, RJ, 2018.

Cocaína é um alcaloide tropânico extraído da *Erythroxylon coca*, popularmente conhecida como coca. Representa 80% dos alcaloides totais encontrados na coca. Aproximadamente 18,8 milhões de pessoas com idade entre 15 e 64 anos fizeram uso de cocaína pelo menos uma vez, no período de 1998 a 2014. O cloridrato de cocaína, uma das formas de apresentação da cocaína, é o sal da cocaína altamente solúvel em água, o que faz com que sua administração possa ser por via nasal, aspirando-se o pó, ou endovenoso. É um pó branco, inodoro, sendo de alto valor no mercado por ser um produto de refino caro, incentivando a adulteração. O papel moeda está contaminado com cocaína, devido ao seu uso como ferramenta no consumo da droga e ao manuseio dos traficantes. E também pela contaminação em máquinas contadoras e caixas eletrônicos. Muitos usuários utilizam as cédulas para inalar o pó, formando um canudo. Por esse motivo, é importante determinar a presença de traços dessa droga nas notas, como uma evidência forense na tentativa de relacionar o usuário e a droga. Neste trabalho, é apresentada a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector DAD para a análise das cédulas coletadas no município de Seropédica, Rio de Janeiro. Para a extração da cocaína das cédulas, é utilizado banho ultrassom, mostrando taxas de recuperação de até 95% quando ácido acético diluído é utilizado como solvente extrator. O método apresentou linearidade de 0,5 a 50 $\mu\text{g/mL}$, com limites de detecção e quantificação de 0,130 e 0,394 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Trinta e duas notas foram analisadas, sendo que em três delas não foi encontrada cocaína a níveis quantificáveis e vinte e nove notas apresentaram massas de cocaína na faixa de 11,44 $\mu\text{g/nota}$ a 429,487 $\mu\text{g/nota}$.

Palavras-chave: Cocaína. Cédulas. HPLC. Banho ultrassom.

ABSTRACT

MARIANO JUNIOR, Durval Reis. **Optimization of Analytical Methodology to Evaluate the Extension of Cocaine Contamination in Real Circulating Banknotes in the Municipality of Seropédica-RJ.** 2018. 50p. Dissertation (Master Science in Chemistry). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Exatas, Seropédica, RJ, 2018.

Cocaine is a tropical alkaloid extracted from *Erythroxylon coca*, popularly known as coca. It represents 80% of the total alkaloids found in coca. Approximately 18.8 million people aged 15-64 years have used cocaine at least once from 1998 to 2014. Cocaine hydrochloride, one of the forms of cocaine presentation, is the salt of highly soluble cocaine in water, which causes its administration to be nasal, aspirating the powder, or intravenous. It is a white, odorless powder, being of high value in the market because it is an expensive refining product, encouraging adulteration. Paper money is contaminated with cocaine, due to its use as a tool in drug use and the handling of traffickers. And also by the contamination in counting machines and ATMs. Many users use the ballots to inhale the powder, forming a straw. For this reason, it is important to determine the presence of traces of this drug in the notes, such as forensic evidence in attempting to relate the user and the drug. In this work, the High Performance Liquid Chromatography technique with UV-VIS detector is presented for the analysis of banknotes collected in the municipality of Seropédica, Rio de Janeiro. For the extraction of cocaine from the banknotes, ultrasonic bath is used, showing recovery rates of up to 95% when diluted acetic acid is used as solvent extractor. The method presented linearity from 0,5 to 500 $\mu\text{g/mL}$, with limits of detection and quantification of 0.130 and 0.394 $\mu\text{g/L}$, respectively. 32 notes were analyzed, and in 3 of them no cocaine was found at quantifiable levels. 29 notes had masses of cocaine in the range of 11.44 $\mu\text{g/note}$ to 429.487 $\mu\text{g/note}$

Key words: Cocaine. Banknotes. HPLC. Ultrasonic bath.

Lista de Figuras

Figura 1. Erythroxylon coca, obtido em plants.usda.gov acessado em 12 de junho de 2017	16
Figura 2. Formação do cloridrato de cocaína. Fonte: FLORIANI, 2012	18
Figura 3. Três formas de apresentação da cocaína: a) pasta base, b) cloridrato de cocaína, c) crack. Fonte: FLORIANI, 2012	18
Figura 4: Teste 1 fase móvel ácido acético 0,01%:acetonitrila 90:10	31
Figura 5: Teste 2 fase móvel ácido acético 0,01%:acetonitrila 80:20	31
Figura 6. Teste 3 fase móvel ácido acético 0,01%:acetonitrila 75:25	32
Figura 7: Teste 4 fase móvel ácido acético 0,01%:acetonitrila 70:30	32
Figura 8. Teste 7 fase móvel ácido acético 0,01%:metanol 75:25	33
Figura 9. Teste 10 fase móvel ácido acético 1%:acetonitrila 75:25	33
Figura 10. Teste 11 fase móvel ácido acético 1%:acetonitrila:metanol 75:15:10	33
.....	33
Figura 11. Teste 12 fase móvel acetonitrila:triethylamina 55:45	34
Figura 12. Teste de fase móvel com coluna Chromolith RP-18e na proporção ácido acético 0,01%:acetonitrila 70:30	35
Figura 13. Amostra N01R	36
Figura 14. Amostra N02R	36
Figura 15. Primeira análise da amostra N03R sem alteração do método	36
Figura 16. Análise da amostra N03R com fluxo 1,5 mL/min	37
Figura 17. Análise da amostra N03R com fluxo 1 mL/min	37
Figura 18. Amostra N03R com fase móvel na proporção 60:40	37
Figura 19. Amostra N03R com proporção de fase móvel 80:20	37
Figura 20. Padrão Cocaína 100 µg/mL na proporção 60:40 da fase móvel	38
Figura 21. Padrão Cocaína 100 µg/mL na proporção 80:20 da fase móvel	38
Figura 22. Padrão Cocaína 100 µg/mL na proporção 90:10 da fase móvel	38
Figura 23: Espectro de ultravioleta Cocaína	39
Figura 24. Curva Analítica Cocaína usando coluna Zorbax	39
Figura 25: Curva analítica Cocaína usando coluna Chromolith	41
Figura 26. Padrão Cocaína 5 µg/mL	43
Figura 27. Nota 1 após limpeza	43

Figura 28. Percentual e perfil de recuperação da cocaína em diferentes solventes	45
Figura 29: Amostra N18	46
Figura 30: Amostra N27	47
Figura 31: Amostra N01	47

Lista de Tabelas

Tabela 1: Propriedades físico-químicas da cocaína.....	16
Tabela 2. Composição da fase móvel em cada teste de fase móvel	25
Tabela 3: Resultado dos testes para melhorar resolução do pico com coluna Zorbax	30
Tabela 4: Teste de composição da fase móvel com coluna Chromolith RP-18e	34
Tabela 5. Variação da temperatura com coluna Chromolith RP-18e.....	35
Tabela 6. Parâmetros de mérito da curva analítica obtida usando coluna Zorbax	40
Tabela 7: Parâmetros de mérito da curva analítica obtida usando coluna Chromolith.....	41
Tabela 8: Precisão intra e inter ensaio obtidos com coluna Cromolith	42
Tabela 9. Estabilidade da cocaína em banho ultrassom	42
Tabela 10. Recuperação de Cocaína com Diferentes Solventes	44
Tabela 11: Concentração de cocaína encontrada nas cédulas analisadas	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CG-MS: cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva

HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência

HPLC-MS: cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas

HPLC-DAD-FLD: cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos e detector de fluorescência

LBCD: Laboratório Brasileiro de Controle de Dopagem

OMS: Organização Mundial da Saúde

PVDF: Fluoreto de polivinilideno

SPE: extração em fase sólida

SENAD: Secretaria Nacional Antidrogas

UNODC: Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1.	A Cocaína	16
2.2.	Propriedades Físico-químicas da Cocaína.....	16
2.3.	Histórico	16
2.4.	Apresentação da cocaína	17
2.5.	Extração das folhas	18
2.6.	Efeitos da Cocaína no Corpo	19
2.7.	Cocaína e Cromatografia.....	19
2.8.	Contaminação das Cédulas.....	22
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1.	Equipamentos	24
3.2.	Reagentes e Soluções	24
3.3.	Teste de Fase Móvel	25
3.3.1.	Coluna Zorbax	25
3.3.2.	Coluna Chromolith RP-18e	26
3.4.	Teste de Linearidade	26
3.5.	Estabilidade da Cocaína em Sonicador	26
3.6.	Limpeza das Notas a Serem Usadas no Estudo da Extração.....	26
3.7.	Teste de Recuperação da Cocaína	27
3.8.	Recolhimento e Separação das Amostras.....	27
3.9.	Extração da Cocaína nas Amostras.....	27
3.10.	Análise Cromatográfica.....	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	29
4.1.	Teste da Fase Móvel	29
4.1.1.	Coluna Zorbax C18.....	29
4.1.2.	Coluna Chromolith RP-18e	34
4.2.	Teste da Linearidade e Obtenção da Curva Analítica.....	39
4.2.1.	Coluna Zorbax	39
4.2.2.	Coluna Chromolith.....	40
4.3.	Estabilidade da Cocaína em Sonicador	42
4.4.	Limpeza das Cédulas	42

4.5.	Recuperação e Extração da Cocaína em Cédulas	43
4.6.	Análise das Amostras	45
5	CONCLUSÕES.....	48
6	REFERÊNCIAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

Pela definição, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), droga é qualquer substância que interfere no funcionamento do organismo quando ingerida. Quando usada para fim terapêutico, passa a denominar-se medicamento. Caso a produção, a comercialização e o consumo de determinada droga sejam proibidos em um país, essa droga é chamada de droga ilícita e geralmente seus efeitos são estimulantes, depressivos, ou perturbadores do sistema nervoso central.

O uso de drogas ilícitas é um problema de saúde pública mundial, principalmente durante a adolescência, devido a essa fase ser crítica para o desenvolvimento das relações pessoais e interpessoais, incluindo outras competências necessárias para a vida adulta. De acordo com um estudo realizado pela OMS, em 2006 o uso de cigarro, álcool e outras drogas ilícitas está entre os 20 maiores problemas de saúde no mundo, onde o tabaco e o álcool são os maiores responsáveis pelos casos de morte principalmente pela sua facilidade no acesso. Influência dos pais usuários, problemas de relacionamentos sociais, contato com grupos também usuários, entre outros, são fatores que favorecem a iniciação ao uso de drogas.

Segundo dados de um estudo feito pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime, UNODC, o mercado de drogas ilícitas move cerca de 500 bilhões de dólares por ano.

Aproximadamente 18,8 milhões de pessoas com idade entre 15 e 64 anos fizeram uso de cocaína pelo menos uma vez, no período de 1998 a 2014. Os países com as maiores apreensões de cocaína são Colômbia e Estados Unidos, embora o mercado de cocaína esteja mudando para áreas que não estavam associadas ao tráfico ou o uso, como Américas do Sul e Central, Ásia. (Unodc, 2016)

O papel moeda está contaminado com cocaína, devido ao seu uso como ferramenta no consumo da droga e ao manuseio dos traficantes. Muitos usuários utilizam as cédulas para inalar o pó, formando um canudo. Por esse motivo, é importante determinar a presença de traços dessa droga nas notas, como uma evidência forense na tentativa de relacionar o usuário e a droga. Entretanto, devido à alta circulação das notas, mesmo uma pessoa não usuária da cocaína e que não tenha contato com o tráfico pode estar portando notas contaminadas com a droga.

Existem diversos métodos laboratoriais diferentes para analisar a contaminação das cédulas por cocaína e outros contaminantes presentes na cocaína, como cafeína, benzoilecgonina, que são adicionados à cocaína para aumentar o volume, ou ainda amenizar seu odor, sabor. Isso mostra ser possível desenvolver outros métodos fazendo adaptações aos já existentes, para que as condições de trabalho e recursos disponíveis sejam otimizadas para cada caso.

Tendo em vista a existência desses métodos, o presente trabalho objetiva adaptar as condições cromatográficas e o método de extração da cocaína dos trabalhos encontrados a fim de desenvolver um método capaz de avaliar a extensão da contaminação das cédulas circulantes no município de Seropédica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A Cocaína

Cocaína é um alcaloide tropânico extraído da *Erythroxylon coca*, popularmente conhecida como coca. Representa 80% dos alcaloides totais encontrados na coca. A coca é nativa da Bolívia e do Peru, e é a partir de suas folhas que a cocaína é obtida. Os andinos ainda mantêm o hábito de mascar folhas de coca a fim de diminuir a fome e a fadiga, muito comum em áreas de grandes altitudes. (Bahls, 2002)



Figura 1. *Erythroxylon coca*, obtido em plants.usda.gov acessado em 12 de junho de 2017

2.2. Propriedades Físico-químicas da Cocaína

Tabela 1: Propriedades físico-químicas da cocaína

Nome	Cocaína
Ponto de fusão	98 °C
pKa	8,61
Solubilidade em água a 25 °C	1800 mg/L
Massa molar	303,36 g/mol
Fórmula	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄

Fonte: <https://www.drugbank.ca> acessado em março/2018

2.3. Histórico

Em 1855 houve a primeira extração do ingrediente ativo da coca, pelo químico Friedrich Gaedecke. Quatro anos mais tarde, em 1859, outro químico isolou o alcaloide e denominou-o cocaína. A partir daí a cocaína passou a ser utilizada em muitos produtos como vinhos e medicamentos, abrindo caminho para seu uso na forma pura, principalmente nos Estados Unidos, país em que sua venda era livre durante boa parte

do século XIX, sendo inclusive incluída na fórmula do refrigerante Coca-Cola. (Carlini-Cotrim, 1995)

No Brasil além da venda ser permitida, a compra da cocaína em farmácia era incentivada com promoções em farmácia, como mostra Carlini et al. (1996). Uma propaganda anunciada na Gazeta Médica de São Paulo em 1910 dizia que ao comprar um frasco de cocaína, o comprador ganharia uma caixinha para guardar os comprimidos no bolso.

Em 1914, nos Estados Unidos, começaram a haver restrições ao uso da cocaína, pois verificou-se que os usuários desenvolviam alta dependência, além de quadros de delírios, paranoides, vômito, e com isso seu uso começou a declinar, passando a ser considerada uma droga de efeitos muito perigosos. No Brasil essa nova visão sobre a cocaína também surtiu efeito até que, em 06 de julho de 1921, o Congresso Nacional decretou a lei 4.292 que estabelecia penalidades para a venda de cocaína e a criação de um estabelecimento especial para tratamento dos dependentes da cocaína, entre outros pontos. (Carlini, 1996)

Entretanto, mesmo com esses esforços, no início da década de 1970 houve um ressurgimento da disponibilidade e consumo da cocaína nos Estados Unidos, devido principalmente a dois fatores. Primeiro, houve uma diminuição do temor nas restrições legais, pois muitos jovens usavam maconha e outros alucinógenos na década de 1960. Além disso, houve também um conceito social e médico de que o uso moderado da cocaína poderia trazer benefícios à saúde, embora o consumo fosse ilegal. Esse crescimento no ressurgimento da cocaína nos Estados Unidos acabou implicando no mesmo crescimento no Brasil, no início da década de 1990 se estendendo até os dias atuais. (Bahls, 2002)

As Nações Unidas promoveram três convenções para o controle de drogas, em 1961, 1971 e 1988. Os objetivos eram garantir a possibilidade do uso de drogas narcóticas e substâncias psicotrópicas para fim exclusivamente medicinal e prevenção do uso para fins ilícitos, além de agir sobre o tráfico. A Convenção das Nações Unidas contra o Tráfico Ilícito de Entorpecentes e Substâncias Psicotrópicas, de 1988, ainda estabeleceu o controle sobre solventes usados no refino da cocaína. (UNODC)

Entende-se por refino todo o processo químico realizado com o intuito de extrair e purificar um ou mais compostos de um recurso natural, possibilitando assim o seu uso.

2.4. Apresentação da cocaína

A cocaína apresenta-se em diferentes formas para o consumo e o tráfico, podendo haver diluentes e adulterantes presentes. As principais formas encontradas são:

- Pasta base: apresenta-se na forma de pó ou grumos de cor bege, podendo ser confundida com o crack. Seu uso é através do fumo em sua forma pura ou junto de tabaco ou maconha. Seu teor de cocaína varia de 40 a 91%, podendo conter também impurezas do processo de refino.
- Cocaína base: é a pasta base que passou por um processo de lavagem com etanol ou permanganato de potássio para remover impurezas. Assim como a pasta base, também pode ser pó ou grumos, de mesma coloração, e seu uso também é através do fumo.

- Cloridrato de cocaína: é o sal da cocaína altamente solúvel em água, o que faz com que sua administração possa ser por via nasal, aspirando-se o pó, ou endovenoso. É um pó branco, inodoro, sendo de alto valor no mercado por ser um produto de refino caro, incentivando a adulteração.

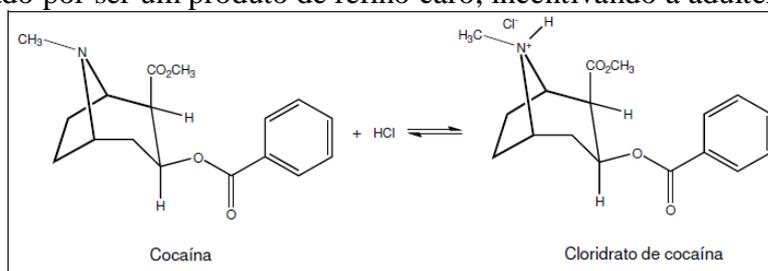


Figura 2. Formação do cloridrato de cocaína. Fonte: FLORIANI, 2012

- Crack: A partir do tratamento da base livre de cocaína com bicarbonato de sódio ou outros carbonatos obtém-se o crack, apresentando-se em forma de pedras de coloração marfim. Podem ser encontrados sais de sódio residual da etapa de preparo. O crack é uma forma mais barata de comercializar a cocaína, voltada principalmente para os usuários de menor poder aquisitivo.



Figura 3. Três formas de apresentação da cocaína: a) pasta base, b) cloridrato de cocaína, c) crack. Fonte: FLORIANI, 2012

A Figura 3 mostra as principais formas de apresentação da cocaína, podendo ser encontradas outras como merla e free base. (Floriani, 2012)

2.5. Extração das folhas

A extração da cocaína das folhas da coca não é um método bem definido, principalmente pelo fato de ser um ato ilícito, e muitas variações de reagentes, técnicas e quantidades podem ser observadas. Entretanto, segundo a UNITED NATIONS DIVISION OF NARCOTIC DRUGS (1986), de uma forma geral, o procedimento obedece a uma metodologia resumidamente apresentada a seguir:

- As folhas são misturadas a água e cal, formando uma solução alcalina com a polpa da folha, e após essa etapa, é adicionada querosene ou outro solvente orgânico sob agitação.
- As folhas são descartadas e ácido sulfúrico é adicionado, havendo a separação da fase orgânica, também descartada, e fase aquosa contendo os alcaloides.
- À fase aquosa acidificada é adicionada mais solução alcalina de carbonato de sódio, a fim de precipitar alcaloides básicos, incluindo a cocaína. O

precipitado, que muitas vezes contém sais inorgânicos, é removido e seco, resultando na pasta de coca.

- iv) Para a obtenção do cloridrato de cocaína, a pasta de coca é dissolvida em ácido sulfúrico, e permanganato de potássio é adicionado para destruir os isômeros cinamoilcocaína presentes. Após, é adicionado hidróxido de amônio para que haja a precipitação. A solução é filtrada, e o filtrado é basificado para precipitar novamente a base de cocaína, lavado com água e seco.
- v) A base de cocaína é dissolvida em éter etílico, e a solução é filtrada. Ácido clorídrico e acetona são adicionados à solução, precipitando o cloridrato de cocaína, que é filtrado e seco.

Frequentemente, é adicionado ao cloridrato alguns produtos para disfarçar o sabor, odor ou a ação farmacológica da cocaína. São usados cafeína, talco, lidocaína, manitol, sacarose, pó de mármore, entre outros. (Weiss, Mirim e Bartel, 1994)

Os insumos químicos utilizados no processo de refino da cocaína e outros entorpecentes estão sujeitos a controle do Ministério da Justiça e Polícia Federal, segunda resolução RDC Nº192 de 2017, ANVISA/MS.

A Lei nº 11343 de 2006 estabelece medidas de prevenção ao uso de drogas e define punições ao uso, produção e tráfico de drogas ilícitas. Fica proibido o plantio, a colheita, a cultura e a exploração de vegetais que sirvam de matéria prima para obtenção de drogas, salvo em casos em que as plantas sejam cultivadas para fins medicinais ou científicos, sob autorização da União.

2.6. Efeitos da Cocaína no Corpo

A cocaína aumenta a liberação e prolonga o tempo de atuação de neurotransmissores, a serotonina, dopamina e noradrenalina, além de possuir ação anestésica local, que foi um dos principais motivos de seu uso largamente difundido no passado. Segundo Nicastri (2006), o efeito da cocaína é rápido, mas pode ser aumentado se for utilizada por via intravenosa, ou com a utilização de crack.

O crack também é responsável por causar dependência severa mais rapidamente, podendo ser até em poucas semanas ou meses.

Os principais efeitos da cocaína no organismo são euforia, hiperatividade, insônia, falta de apetite, perda da sensação de cansaço, sendo essas duas últimas as responsáveis pelo uso da folha de coca nas regiões mais altas do Peru e Bolívia. Outros efeitos mais graves são irritabilidade, delírios, alucinações, convulsões, podendo chegar até a morte. Em casos mais raros, pode-se desenvolver também infartos e acidentes vasculares cerebrais em indivíduos mais jovens.

2.7. Cocaína e Cromatografia

Os métodos analíticos usados para a determinação de cocaína em cédulas, disponíveis hoje na literatura, podem ser classificados em dois diferentes grupos: os que utilizam técnicas de separação, tais como cromatografia e eletroforese capilar e aqueles utilizados para analisar as notas diretamente utilizando imunoenaios (ARMENTA e GUARDIA, 2008).

A cromatografia é uma técnica de separação que, quando acoplada a detectores, permite a identificação e quantificação de analitos em uma amostra. Seu uso é muito versátil, pois existem diferentes mecanismos de separação, para diferentes tipos de amostras.

Análises cromatográficas são muito utilizadas para a verificação da presença de contaminantes nos produtos à base de cocaína, e para detectar a cocaína em diversos outros materiais.

Floriani et. al. (2014) desenvolveu um método para analisar simultaneamente cocaína, dois produtos de degradação e os principais adulterantes dos produtos a base de cocaína em HPLC-DAD, usando uma coluna XBridge C18 4,6mm x 250mm, 5µm de tamanho de partícula em 60°C. A fase móvel é constituída de acetonitrila e solução aquosa de formiato de amônio 0,05 mol/L pH 3,1 em modo gradiente com fluxo 1 mL/min. O volume de injeção é 10 µL e a detecção é em 274 nm. Todos os parâmetros de validação foram satisfeitos, com limite de detecção de 1,2 µg/mL e limite de quantificação de 5 µg/mL para a cocaína.

A HPLC-DAD também foi usada por Fernández et al. (2006) para a determinação simultânea de opióides, cocaína e seus metabólitos em plasma. Neste trabalho, usou-se coluna XTerra RP8 250 mm x 4,6 mm com partículas de 5 µm, e fase móvel constituída por um gradiente de acetonitrila e tampão fosfato pH 6,53. Com volume de injeção 20 µL e detecção da cocaína em 233 nm, o método apresentou linearidade na faixa de concentração entre 0,1 e 10 µg/mL e limite de detecção de 0,01 µg/mL.

Mercolini (2008) analisou amostras de cabelo humano usando HPLC com detector de fluorescência, coluna Hydro-RP C18, fase móvel contendo tampão fosfato pH 3,0, acetonitrila e metanol na proporção 75:15:10 com eluição em modo isocrático, e temperatura ambiente. A excitação ocorreu em 230 nm e a emissão em 315 nm. Para a extração da cocaína, várias etapas foram necessárias, incluindo uma lavagem prévia do cabelo com metanol por 5 minutos e, após filtração e secagem dos fios, sua incubação por 18h a 45 °C em HCl 1 mol/L. Nesta fase houve a adição do padrão interno, a mirtazapina. Após a incubação adicionou-se tampão fosfato 0,1 mol/L pH 6,0 e KOH 2 mol/L. A mistura foi agitada em Vortex, centrifugada e o sobrenadante foi submetido a SPE (extração em fase sólida). A solução extraída contendo a cocaína foi seca sob vácuo, redissolvida na fase móvel e, finalmente, injetada no cromatógrafo. O percentual de extração foi de aproximadamente 90%. O método desenvolvido apresentou linearidade entre 3 e 1000 ng/mL, com limites de detecção e quantificação de 1 ng/mL e 3 ng/mL, respectivamente, e todos os parâmetros de validação foram satisfatórios.

Para determinar a quantidade de cocaína e seus metabólitos presentes em efluentes hospitalares, Martins *et al.* (2017) usaram HPLC-DAD-FLD, e extração em fase sólida (SPE) e microextração líquido líquido dispersiva (DLLME). Martins testou como fase móvel água purificada com pH variando de 2 a 9 e acetonitrila com proporção 75:25, sendo que em pH 3 obteve melhores resultados, acidificada com ácido fórmico, e o tempo de corrida foi 8 minutos, com fluxo 0,5 mL/min, e volume de injeção 20 µL. A separação ocorreu em coluna Phenomenex C18 Luna 150 x 4,6 mm e 5 µm. A detecção de fluorescência ocorreu em comprimentos de onda de 230 nm para excitação e 315 nm para emissão. O método mostrou linearidade na faixa de

concentração entre 15 e 195 µg/L, com limite de detecção a 5 µg/L e limite de quantificação a 15 µg/L. Como a SPE e a DLLME são métodos de purificação capazes de concentrar os analitos, o limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) ficam ainda menores quando essas técnicas são utilizadas. Com SPE, o LD foi 0,05 µg/L e o LQ foi 0,15 µg/L, e com DLLME obteve LD 0,10 µg/L e LQ 0,30 µg/L. Em suas análises, o efluente da ala psiquiátrica do Hospital Universitário de Santa Maria – RS apresentou níveis de cocaína na faixa de 0,2 a 2,5 µg/L.

Broncaccio et al. (2013) desenvolveram um método de HPLC-DAD capaz de analisar amostras de cocaína apreendidas nas ruas da Itália para caracterizar adulterantes. Para isso, usou coluna Zorbax Eclipse XDB-RP-C18 150 mm x 4,6 mm e partículas de 5 µm, com fase móvel constituída de tampão fosfato pH 6,5 e acetonitrila na proporção 65:35 em modo isocrático, com fluxo 1 mL/min e temperatura controlada em 30 °C. O tempo de corrida foi 13 minutos e a detecção foi em 232 nm. O método apresentou faixa linear nas concentrações de 0,01 a 0,5 mg/mL, com limite de detecção de 0,004 mg/mL, que corresponde a 0,4% m/m, e limite de quantificação de 0,01 mg/mL. Os compostos ativos encontrados nas amostras apreendidas foram cafeína (em 50% das amostras), lidocaína (30% das amostras), procaína (15% das amostras), fenacetina (30% das amostras) e levamisol (50% das amostras).

Vinkovic et al. (2018) também analisou amostras de cocaína, apreendidas pela polícia austríaca entre 2012 e 2017, para avaliar a presença de contaminantes, como cafeína, procaína, fenacetina, lidocaína e benzocaína. Para isso, usou cromatógrafo Dionex Ultimate 3000 equipado com coluna Nucleosil 100 C18 1mm x 100mm, tamanho de partícula 3 µm, em fluxo de 70 µL/min a 30°C. A fase móvel foi constituída de acetonitrila e fosfato diamônio 12 mmol/L pH 5,5 em modo gradiente. O tempo de corrida foi de 18 min, volume de injeção 0,1 µL e detecção nos comprimentos de onda 210, 232, 248 e 290 nm, em detector DAD. As amostras foram injetadas na forma de solução com concentração 5 mg/mL. 110 amostras foram analisadas, sendo que em todas foi encontrado o sal cloridrato de cocaína, com pureza variando significativamente. Os contaminantes mais comuns foram a fenacetina e o levamisol.

Com um trabalho pioneiro usando cromatografia líquida de interação hidrofílica (HILIC) acoplada a detector UV e de aerossol carregado (CAD), Pereira et al. (2016) validou um método simultâneo de análise de cocaína e seus metabólitos. Com cromatógrafo Shimadzu, coluna Phenomenex Kinetex HILIC 150 mm x 4,6 mm, partículas de 2,6 µm, as condições de análise foram fase móvel constituída de acetonitrila e acetato de amônio pH 6,3 na proporção 75:25 em modo isocrático, temperatura de forno 30°C, fluxo 0,8 µL/min, injeção de 20 µL e detecção em 200 nm. O método desenvolvido foi validado nos parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de quantificação e detecção e estabilidade. Além disso, o uso simultâneo dos dois detectores permite a detecção de cloridrato de ecgonina e éster metílico anidroecgonina na mesma análise.

O uso da cromatografia, em especial a HPLC, na análise de diferentes tipos de amostras é muito versátil. Para cada caso, deve-se adaptar as condições de acordo com o tipo de matriz e dos recursos disponíveis, sempre tentando desenvolver métodos que sejam cada vez mais simples e eficientes.

2.8. Contaminação das Cédulas

As cédulas de dinheiro são muito utilizadas pelos usuários da cocaína como ferramenta para inalar o pó. Devido a esse tipo de uso, e à grande circulação das notas em contato umas com as outras, grande parte das notas circulantes apresentam algum grau de contaminação por cocaína.

Porém, estes não são os únicos motivos pelos quais as notas podem estar contaminadas. O contato entre as cédulas em caixas eletrônicas, máquinas que contam dinheiro, caixas de lojas, e outras situações em que as notas fiquem em contato direto umas com as outras já é suficiente para que a cocaína se espalhe entre elas, contaminando muitas outras notas.

Por esse motivo, o simples fato de ser encontrada a cocaína na nota não é uma evidência suficiente para que haja a certeza de que o portador daquela nota seja usuário ou traficante de cocaína. A análise das notas é uma ferramenta muito útil, pois dependendo da quantidade encontrada nas notas e do percentual de notas contaminadas, pode ficar mais evidente que essa pessoa tenha tido contato com a droga, mas não deve ser usada como única forma de investigação.

Somente a detecção da presença da cocaína na nota não é informação suficiente para determinar se o indivíduo é ou não um usuário ou traficante, já que muitas notas estão contaminadas. Entretanto, a análise de notas contaminadas pode fornecer indícios sobre o fornecedor da droga, de acordo com a presença de contaminantes específicos e sua detecção repetida em diferentes notas apreendidas. Informações como essa são muito úteis do ponto de vista forense, ajudando no rastreamento do fornecimento das drogas.

A aderência da cocaína à nota pode ser explicada por dois motivos, segundo Sleeman et al. (2008). O primeiro deles seria referente à umidade contida nas cédulas, favorecendo a aderência não só da cocaína, mas de inúmeras outras substâncias. Outra explicação seria de que, com o uso, a superfície da nota se torna mais passível de aderência, pois as fibras que compõem a nota ficam mais expostas e mais sujeitas a reter a cocaína, além do fato de se ligar quimicamente a elas.

Diversos trabalhos desenvolveram metodologias para avaliar a presença de cocaína nas notas circulantes em suas regiões.

Troiano et al. (2017) realizou um trabalho de revisão de literatura acerca de estudos sobre cédulas de dinheiro contaminadas com cocaína.

Neste trabalho, a pesquisa pelos termos “banknotes AND drugs” e “banknotes AND cocaine” nas bases de dados MEDLINE e Scopus resultou em estudos realizados desde 1974, num total de 88 artigos. Desses 88, 9 artigos dos países Eslováquia, República Tcheca, Áustria, Luxemburgo, Estados Unidos, Brasil, Alemanha, Espanha e Irlanda foram comparados e apresentados por Troiano et al. em seu artigo de revisão.

Nos trabalhos revisados por Troiano, diferentes técnicas analíticas foram utilizadas, como LC-MS/MS, CG-MS/MS, HPLC-UV, e a faixa de concentração de cocaína encontrada nas notas variou de 0,09 ng/nota a 889 µg/nota.

Esteve-Turrillas et al. (2005), analisou a contaminação por cocaína em notas de euro circulantes na Espanha usando CG-MS/MS. A extração da cocaína das notas se

deu por agitação em Vortex por 5 minutos com metanol, seguido de evaporação em rotavapor a fim de concentrar a amostra. Notas de diferentes valores foram analisados, chegando a encontrar valores de massa de cocaína de até 889 µg/nota.

No trabalho de Bones et al. (2006), que também fez parte da revisão de Troiano, a extração da cocaína das notas de euro também foi feita por agitação em Vortex usando metanol como solvente extrator. Após análise de extrato em LC-MS/MS, constatou-se que todas as notas analisadas continham cocaína, ainda que fosse em nível de traço.

No Brasil, Di Donato (2007) analisou 46 notas de 1 real circulantes nas cidades de São Paulo, Santos, Ribeirão Preto, Guará, Rio de Janeiro, Brasília, Goiânia, Juiz de Fora e Londrina. Das 46 notas, 93% delas apresentaram cocaína, nas concentrações de 2,38 µg/nota a 275,10 µg/nota. A extração da cocaína foi feita em tubo de ensaio, com 8 mL de água deionizada, em um agitador mecânico por 30 min. Após esse tempo, 2 mL de acetato de etila foram adicionados para extrair a cocaína da fase aquosa. A fase orgânica foi removida e evaporada, e o resíduo foi reconstituído em 1 mL de metanol. A análise do extrato foi realizada por CG-MS.

Almeida et al. (2015) avaliou a extensão da contaminação das notas circulantes no estado do Rio de Janeiro pelo método fluorimétrico e por HPLC-UV. A extração foi realizada em tubo de polietileno de 50 mL, com 15 mL de tampão acetato 0,01% pH 4, em mesa agitadora por 30 min. Das 138 notas analisadas, 75% delas apresentaram contaminação por cocaína.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Equipamentos

As análises são realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) da marca Agilent modelo 1260 Infinity equipado com detector DAD. Duas colunas foram utilizadas: Zorbax C18 fabricado pela Agilent, modelo 300SB de dimensões com 2,1mm de diâmetro interno, 150mm de comprimento, e partículas de 5 μ m e Chromolith Performance RP-18e com 100mm de comprimento, 4,6mm de diâmetro interno.

As condições de análise inicialmente seguiram o proposto por Almeida et al. com detecção no comprimento de onda 230 nm, volume de injeção 20 μ L, e temperatura do forno mantida em 25 \pm 1 $^{\circ}$ C, com fluxo em modo isocrático com vazão de 1 mL/min sendo a fase móvel composta por ácido acético 0,01% v/v (A) e acetonitrila (B), e o tempo de corrida foi 12 minutos nos primeiros testes com a coluna Zorbax C18, porém essas condições sofreram adaptações durante o trabalho. Ao final das adaptações, para a análise das amostras foi utilizado comprimento de onda 230 nm, 10 μ L de injeção, temperatura de 60 $^{\circ}$ C, fase móvel composta por ácido acético 0,01% v/v e acetonitrila na proporção 80:20 em modo isocrático, e tempo de corrida de 8 minutos com coluna Chromolith Performance RP-18e.

A balança usada na pesagem do padrão foi Balança Analítica Shimadzu AUW 220D, com precisão de 0,001 g.

Um sistema de ultrapurificação Purellab modelo Classic com resistividade de 18m Ω foi usado para purificar a água utilizada em todos os processos de preparo das soluções. As soluções preparadas foram ainda filtradas por uma membrana de nylon Unifil de 47 mm de diâmetro e poro de 0,45 μ m.

O pH da solução de ácido acético 0,01% v/v foi aferido com o uso de potenciômetro digital marca Sensoglass modelo SP1800 equipado com eletrodo de Ag/AgCl.

Para a extração da cocaína das cédulas, utilizou-se um ultrassom Unique, modelo UltraCleaner 1600 com frequência de 40 KHz.

3.2. Reagentes e Soluções

Padrão Cocaína obtido através de doação pelo Laboratório Brasileiro de Controle de Dopagem – LBCCD.

Água purificada.

Acetonitrila, metanol, etanol e trietilamina Tedia grau HPLC.

Ácido acético glacial Vetec 99,7% pureza.

No preparo da solução de cocaína 1000 μ g/mL, 5,000 mg do padrão de cocaína foram pesados em balança analítica e solubilizados em 5 mL de acetonitrila. Essa solução permanece estocada em frasco âmbar e geladeira.

As soluções usadas para construção da curva analítica e como padrão nas análises cromatográficas foram preparadas a partir da diluição da solução estoque de

1000 µg/mL usando pipetas automáticas e balões volumétricos adequados a cada concentração desejada. A diluição foi feita com a solução de ácido acético 0,01% v/v.

A solução de ácido acético 0,01% v/v usada nas diluições e como fase móvel nas análises cromatográficas foi preparada adicionando-se o volume necessário de ácido acético glacial a água ultrapurificada. Essa solução foi filtrada sempre que usada como fase móvel.

3.3. Teste de Fase Móvel

Na escolha da melhor constituição da fase móvel, variou-se a composição dos solventes e suas proporções, alterando assim a força do solvente e o pH do meio para obter a melhor resolução.

Entretanto, devido à troca da coluna utilizada durante o trabalho, esses testes foram feitos duas vezes, uma para cada coluna, sempre com o objetivo de obter melhores resultados. Com isso, nos dois itens a seguir estão descritas as metodologias utilizadas para determinar quais solventes seriam usados e em quais proporções.

3.3.1. Coluna Zorbax

Os solventes testados foram metanol, acetonitrila, solução aquosa de trietilamina 0,01% v/v e solução aquosa de ácido acético nas concentrações de 1% v/v e 0,01% v/v.

A composição da fase móvel em cada teste está mostrada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição da fase móvel em cada teste de fase móvel

Teste	Ácido Acético 0,01% v/v (%)	Ácido Acético 1% v/v (%)	Metanol (%)	Acetonitrila (%)	Trietilamina 0,01% v/v (%)
1	90	-	-	10	-
2	80	-	-	20	-
3	75	-	-	25	-
4	70	-	-	30	-
5	90	-	10	-	-
6	80	-	20	-	-
7	75	-	25	-	-
8	70	-	30	-	-
9	50	-	50	-	-
10	-	75	-	25	-
11	-	75	10	15	-
12	-	-	-	55	45

Também houve variação na solução em que o padrão de cocaína foi solubilizado. Nos testes 1 a 11 a cocaína foi solubilizada em solução aquosa de ácido acético 0,01% v/v, e no teste 12 a cocaína foi solubilizada em acetonitrila com 5 gotas de trietilamina.

3.3.2. Coluna Chromolith RP-18e

Com a troca da coluna, na tentativa de melhorar a resolução dos picos, fez-se necessário um novo estudo de fase móvel pois as condições usadas com a coluna Zorbax não estavam adequadas à coluna Chromolith.

Entretanto, um pequeno ajuste na proporção da fase móvel e na temperatura do forno foram suficientes para que a largura do pico diminuísse e o tempo de retenção fosse adequado para a análise das amostras.

No primeiro teste variou-se a proporção dos constituintes da fase móvel e o fluxo, e todos os outros fatores foram mantidos constantes como no método utilizado com a coluna Zorbax C18, ou seja, temperatura 25 °C, detecção em 230 nm e tempo de corrida de 8 minutos. O aumento do fluxo, após a troca da coluna, só foi possível pois a coluna Chromolith apresentou pressão muito menor que a Zorbax.

Após determinar a melhor proporção da fase móvel, variou-se a temperatura para avaliar qual apresentaria a melhor resolução,

3.4. Teste de Linearidade

A fim de se verificar se a resposta analítica da absorção da cocaína em 230 nm era linear com a concentração, fez-se uma curva analítica com soluções de diferentes concentrações. Essas soluções foram obtidas pela diluição da solução estoque 1000 µg/mL. Todas as soluções foram filtradas em filtro de 0,22 µm de PVDF antes de serem injetadas.

As concentrações utilizadas para a construção da curva analítica foram 1, 5, 10, 20, 50 e 100 µg/mL, quando a coluna Zorbax foi utilizada, e 0,5, 1, 5, 10 e 50 µg/mL quando a coluna Chromolith foi utilizada.

3.5. Estabilidade da Cocaína em Sonicador

Para o teste de estabilidade, uma solução de cocaína de concentração 20 µg/mL foi submetida a banho de ultrassom por diferentes tempos. A cada intervalo de tempo previamente definido, uma alíquota dessa solução era filtrada em filtro 0,22 µm e analisada em HPLC a fim de se comparar com uma solução que não passou pelo banho ultrassom. A injeção das soluções dos diferentes tempos foi feita sempre em duplicata. Os tempos de exposição das alíquotas foram de 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos.

3.6. Limpeza das Notas a Serem Usadas no Estudo da Extração

7 cédulas de 2 reais aleatoriamente recolhidas no comércio local de Seropédica foram separadas e submetidas ao processo de limpeza a fim de garantir que estivessem livres de cocaína para serem usadas, posteriormente, nos testes de extração e recuperação.

Cada cédula foi amassada manualmente e colocada em tubos tipo falcon com 50 mL de capacidade, individualmente. 20,0 mL da solução de ácido acético 0,01% v/v foram adicionados ao tubo, garantindo que toda a cédula estivesse submersa. As notas submersas foram levadas a banho ultrassom, e a cada 15 minutos a solução usada era descartada, e uma nova solução era adicionada, até o tempo final de 60 minutos. Essas soluções descartadas eram analisadas em HPLC com coluna Zorbax C18 para que pudesse ser observado o tempo necessário para que a cédula estivesse sem cocaína em concentrações detectáveis.

3.7. Teste de Recuperação da Cocaína

Das 7 cédulas que passaram pelo processo de limpeza, 5 foram utilizadas no primeiro teste de recuperação.

Cada cédula foi contaminada com 75 µL da solução estoque de cocaína 1000 µg/mL. Para a contaminação, usou-se uma pipeta automática para adicionar a solução em regiões aleatórias das cédulas, e após esta etapa, as cédulas secaram por 2 horas em recipiente aberto à temperatura ambiente.

Passadas as 2 horas de secagem, as cédulas foram amassadas manualmente e cada uma foi adicionada a tubos falcon contendo 15 mL de diferentes solventes. Os solventes utilizados foram água purificada, metanol, etanol, acetonitrila e ácido acético 0,01% v/v.

Com 100% de recuperação, a concentração de cocaína nos solventes utilizados seria de 5 µg/mL. Por esse motivo, uma solução padrão de cocaína de concentração 5 µg/mL foi analisada antes das amostras, a fim de se determinar os valores de área e tempo de retenção para essa concentração do analito.

Os tubos contendo as notas contaminadas no solvente para extração foram submetidas a banho ultrassom por diferentes tempos, e a cada intervalo de tempo uma alíquota era coletada, filtrada em filtro 0,22 µm e injetada no HPLC com coluna Zorbax para verificar a presença e a concentração de cocaína extraída.

3.8. Recolhimento e Separação das Amostras

Todas as amostras eram constituídas de cédulas de 2 reais recolhidas no comércio local de Seropédica – RJ. Nenhuma nota analisada foi recolhida diretamente de bancos, garantindo assim que as cédulas já haviam circulado e que era possível que estivessem contaminadas com cocaína.

As cédulas recolhidas eram armazenadas individualmente para que não houvesse contato entre elas após o recolhimento, até o momento da análise.

Algumas notas recolhidas estavam coladas com fita adesiva, pois estavam rasgadas. Essas notas não foram analisadas, já que não foi feito nenhum estudo sobre se a cola da fita adesiva causaria alguma alteração na análise.

3.9. Extração da Cocaína nas Amostras

De acordo com os resultados obtidos no teste de recuperação, descrito no item 3.7, a extração da cocaína foi feita em banho ultrassom por 60 minutos com ácido acético diluído 0,01%.

As notas eram amassadas manualmente, e colocadas em tubos falcon contendo 20 mL da solução extratora. Optou-se por aumentar o volume de extração para que a nota ficasse completamente submersa na solução, sem riscos de não haver extração em alguma região da cédula.

Passados os 60 minutos, as soluções eram filtradas em filtros de 0,22 µm para serem analisadas em HPLC.

3.10. Análise Cromatográfica

Após a determinação da melhor proporção da fase móvel, as análises cromatográficas foram realizadas seguindo a metodologia proposta por Almeida et al.

adaptada com detecção no comprimento de onda 230 nm, volume de injeção 20 µL, temperatura do forno mantida em 25 ±1 °C, vazão da fase móvel em 1 mL/min em modo isocrático na proporção de 75% de ácido acético 0,01% v/v e 25% de acetonitrila, com tempo de corrida reduzido a 8 minutos, em coluna Zorbax C18.

Essa metodologia foi utilizada nos testes de linearidade, estabilidade da cocaína em ultrassom, limpeza das notas e teste de recuperação. Entretanto, após todas as tentativas de diminuir a largura do pico, optou-se por trocar a coluna Zorbax C18 pela Chromolith RP-18e, o que mostrou resultados muito melhores. A partir dessa troca, foi necessária uma adaptação nas condições cromatográficas, que passou a utilizar fase móvel constituída de 80% de ácido acético 0,01% v/v e 20% de acetonitrila e temperatura do forno de 60 °C. O comprimento de onda, a vazão da fase móvel e o tempo de corrida foram mantidos inalterados. O volume de injeção foi diminuído para 10 µL devido à baixa quantidade de padrão disponível, e isso não prejudicou as análises do padrão nem das amostras.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Teste da Fase Móvel

4.1.1. Coluna Zorbax C18

Para determinar qual seria a melhor proporção e composição da fase móvel, foram avaliados os parâmetros de resolução do pico, e tempo de retenção em cada caso.

Na Tabela 4 são apresentados os resultados dos testes com o cálculo do número de pratos (N) e altura equivalente a um prato (H), que segundo Collins (2006), representam bem a eficiência de um método e quanto mais pratos, melhor a eficiência da separação. A Equação 1 e a Equação 2 foram utilizadas nos cálculos, onde Tr é o tempo de retenção do analito, $W_{1/2}$ é a largura do pico à meia altura e L é o comprimento da coluna em centímetros.

$$N = 5,545 \left(\frac{Tr}{W_{1/2}} \right)^2$$

Equação 1: Cálculo do número de pratos

$$H = \frac{L}{N}$$

Equação 2: Cálculo da altura equivalente a um prato

Tabela 3: Resultado dos testes para melhorar resolução do pico com coluna Zorbax

Teste	Ácido Acético 0,01% v/v (%)	Ácido Acético 1% v/v (%)	Metanol (%)	Acetonitrila (%)	Trietilamina 0,01% v/v (%)	Tr (min)	W _{1/2}	N	H
1	90	-	-	10	-		Sem resultado		
2	80	-	-	20	-	6,040	1,0828	175,906	0,056848
3	75	-	-	25	-	3,364	0,6959	130,8687	0,076412
4	70	-	-	30	-	2,914	0,5325	158,9745	0,062903
5	90	-	10	-	-	1,670	0,2972	175,0801	0,057117
6	80	-	20	-	-	1,830	0,6737	40,91388	0,244416
7	75	-	25	-	-	1,706	0,8237	23,786	0,420415
8	70	-	30	-	-	1,759	0,8421	24,1939	0,413327
9	50	-	50	-	-	2,029	0,8133	34,51152	0,289758
10	-	75	-	25	-	1,693	0,6292	40,14561	0,249093
11	-	75	10	15	-	2,557	0,5020	143,8651	0,06951
12	-	-	-	55	45	0,801	0,1805	109,1974	0,091577

No teste 1, como mostrado na Tabela 23, a proporção 90% ácido acético 0,01% v/v e 10% acetonitrila resultou em um pico muito pouco resolvido, a ponto do programa não calcular a integração, o que pode ser visto na Figura 4.

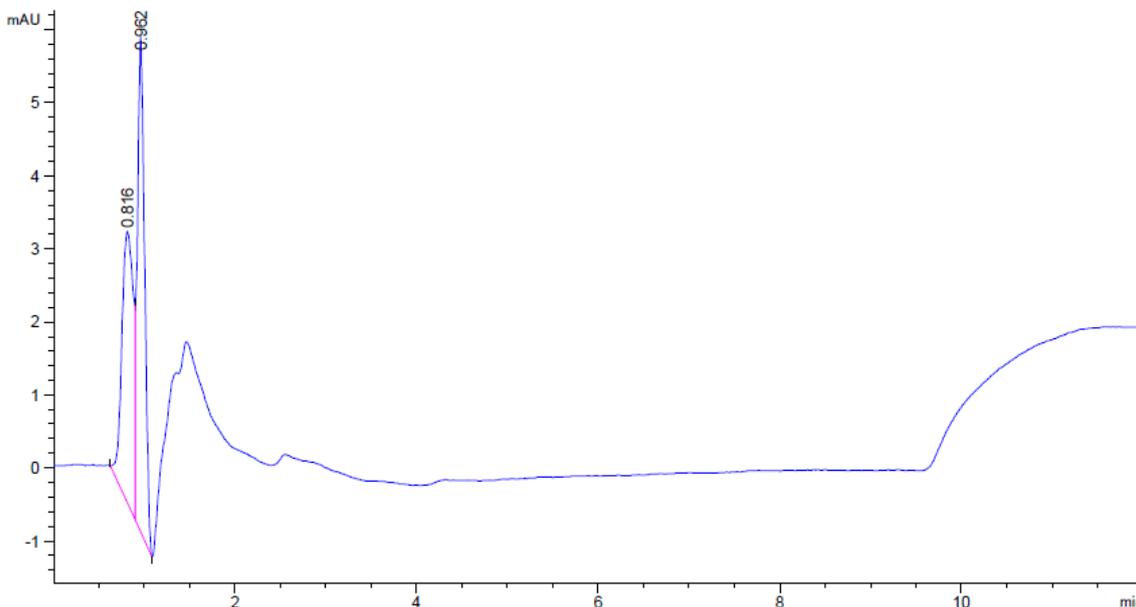


Figura 4: Teste 1 fase móvel ácido acético 0,01%:acetonitrila 90:10

No teste 2, mostrado na Figura 5, o tempo de retenção foi diminuído, porém a resolução do pico não foi a melhor, quando comparada às outras proporções de solventes.

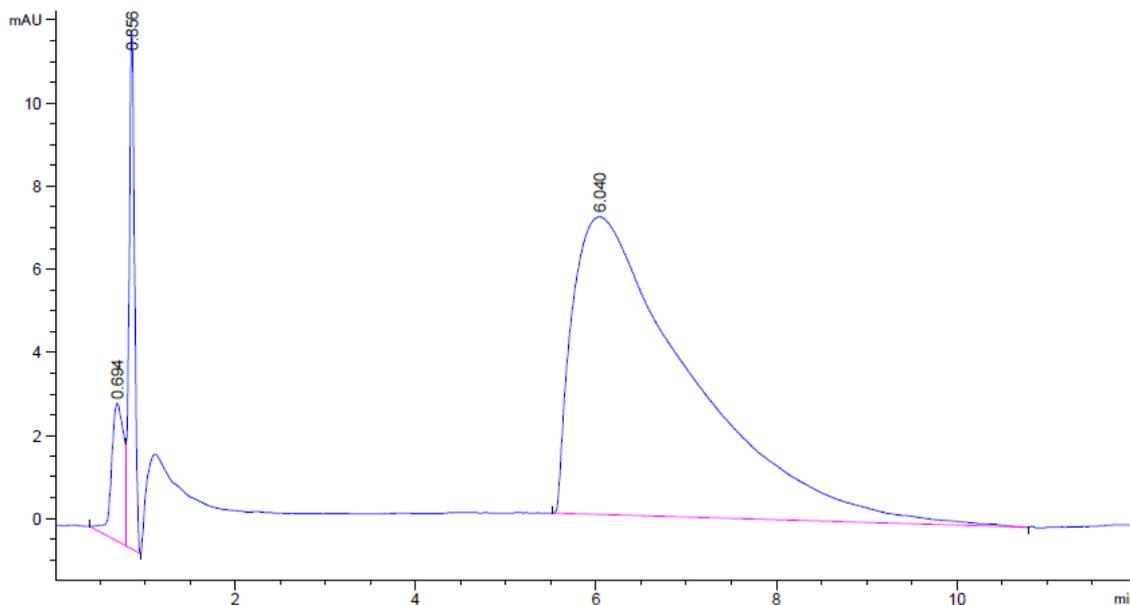


Figura 5: Teste 2 fase móvel ácido acético 0,01%:acetonitrila 80:20

O tempo de retenção em 3,3 min e a resolução do pico obtidos no teste 3 foram os melhores, apesar do pico não ter simetria, apresentando uma calda. Porém, com a fase móvel utilizada no teste 4, o pico começava a apresentar um formato ainda menos simétrico, apesar de mais fino.

A Figura 6 apresenta o cromatograma da solução padrão de cocaína 5 µg/mL com a fase móvel constituída de 75% ácido acético 0,01% v/v e 25% acetonitrila, descrita no teste 3, e a Figura 7 apresenta o cromatograma obtido no teste 4.

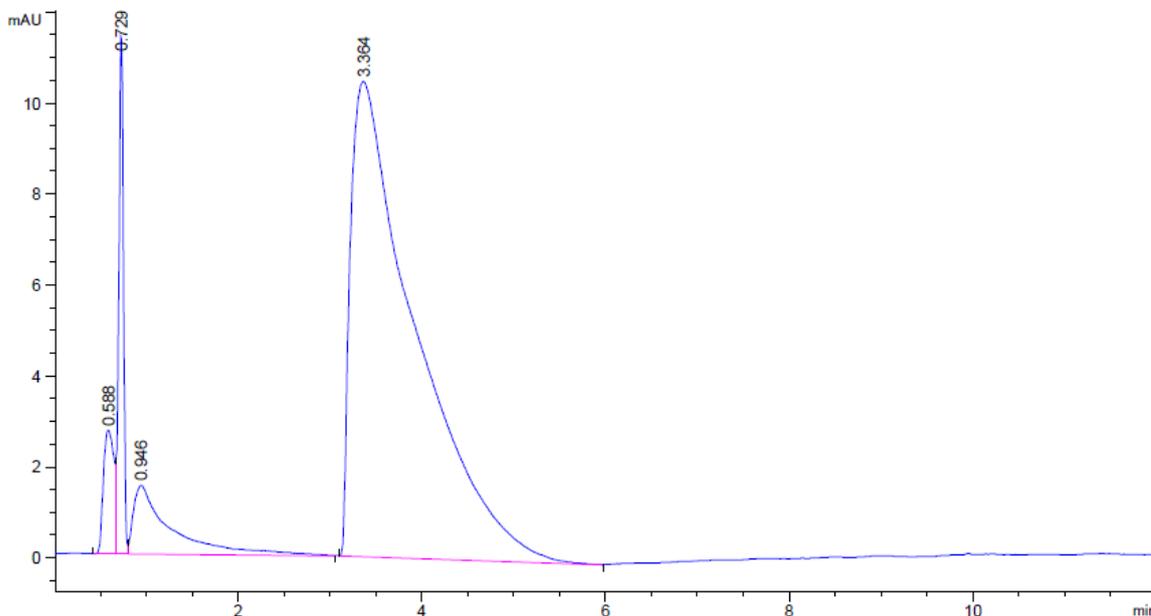


Figura 6. Teste 3 fase móvel ácido acético 0,01%:acetonitrila 75:25

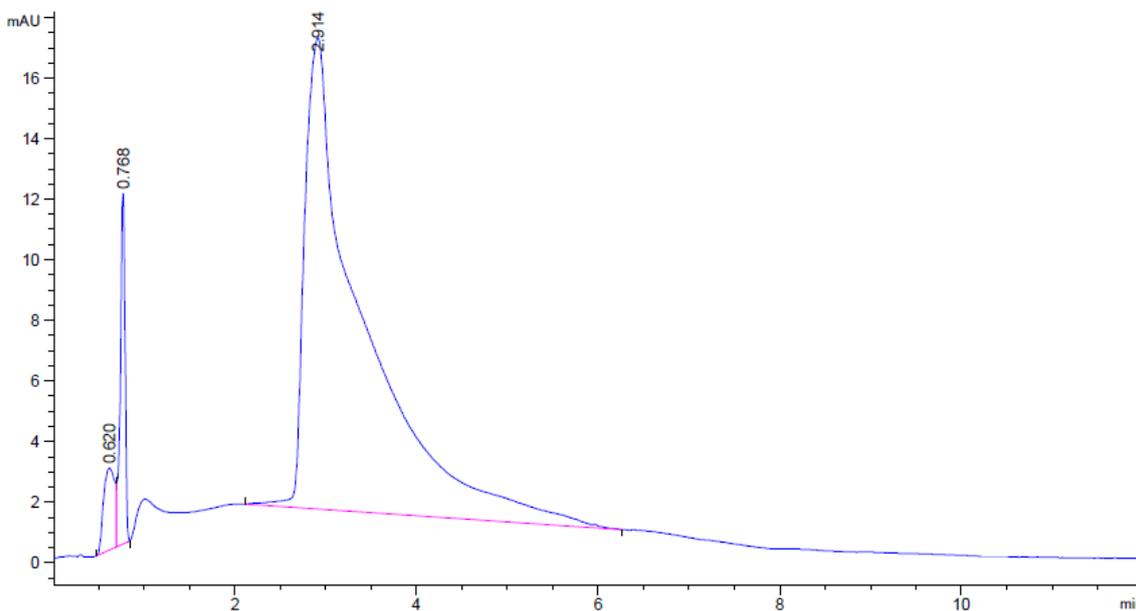


Figura 7: Teste 4 fase móvel ácido acético 0,01%:acetonitrila 70:30

Nos testes 5 a 9, a acetonitrila foi substituída por metanol para avaliar se havia alguma melhora na simetria do pico devido a possíveis ligações hidrogênio entre o metanol e a cocaína. Porém, observou-se que não houve ganhos com simetria e, mais ainda, houve um aumento na largura do pico, como pode ser visto na Figura 8, que corresponde à proporção 75% ácido acético 0,01% v/v e 25% metanol, teste 7.

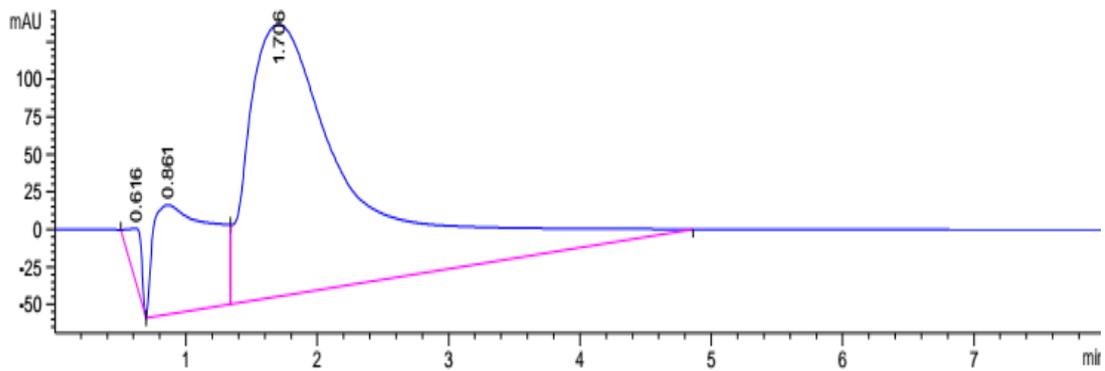


Figura 8. Teste 7 fase móvel ácido acético 0,01%:metanol 75:25

No teste 10 aumentou-se a acidez do meio, usando ácido acético 1% v/v com acetonitrila como fase móvel. O resultado, como pode ser visto na Figura 9, é que não houve melhoras na resolução, portanto, não há necessidade de adicionar mais ácido à fase móvel.

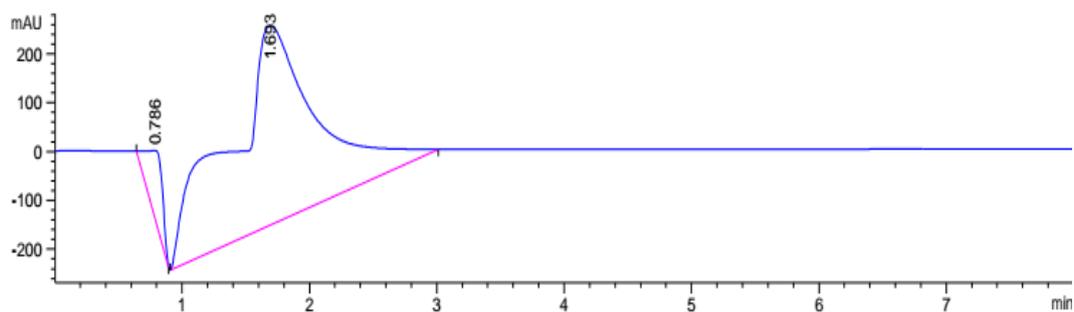


Figura 9. Teste 10 fase móvel ácido acético 1%:acetonitrila 75:25

No teste 11, adicionou-se metanol juntamente com a acetonitrila e o ácido acético 1% v/v, e novamente não houve melhoras na resolução, como mostrado na Figura 10.

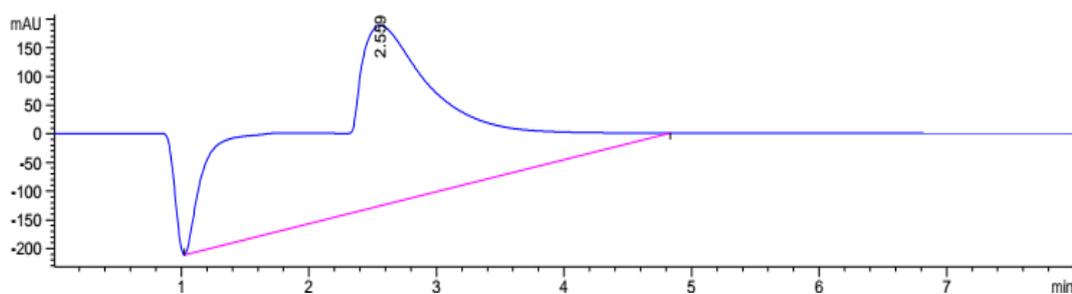


Figura 10. Teste 11 fase móvel ácido acético 1%:acetonitrila:metanol 75:15:10

O teste 12 foi realizado em meio básico, com solução aquosa de trietilamina e acetonitrila como constituintes da fase móvel. Por esse motivo, a solução de cocaína também foi preparada em meio básico. O que se observou foi o surgimento de um ombro no pico, perdendo assim em simetria e resolução, como apresentado na Figura 11.

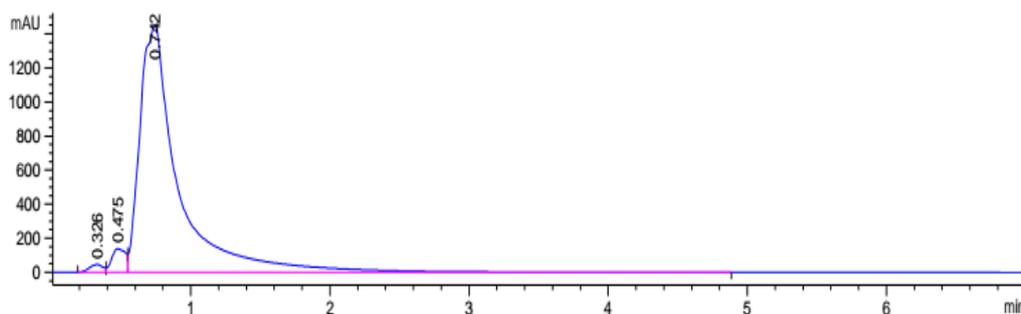


Figura 11. Teste 12 fase móvel acetoneitrila:triethylamina 55:45

Após analisar o formato do pico e os parâmetros N e H, optou-se pela composição usada no teste 3, composta de 75% de solução aquosa de ácido acético 0,01% v/v e 25% acetoneitrila.

Entretanto, esse método ainda não se mostrava satisfatório para análise das amostras, e outras modificações se eram necessárias. E a principal alteração no método foi a troca da coluna.

4.1.2. Coluna Chromolith RP-18e

Com a nova coluna, novos testes foram realizados variando-se apenas a proporção dos constituintes da fase móvel e o fluxo utilizados no método anterior. Por conta da coluna anterior trabalhar com pressão mais elevada, o fluxo teve de ser mantido em 1 mL/min, porém a coluna Chromolith permitiu um aumento do fluxo devido à baixa pressão de trabalho.

Novamente as equações 1 e 2 foram usadas para calcular o número de pratos e a altura equivalente a um prato, para avaliar a eficiência da separação de cada método. A Tabela 4 mostra os resultados dos testes realizados com a coluna Chromolith e dos cálculos de N e H.

Tabela 4: Teste de composição da fase móvel com coluna Chromolith RP-18e

Teste	Fluxo (mL/min)	Ácido Acético 0,01% v/v (%)	Acetoneitrila (%)	Tr (min)	W _{1/2}	N	H
1	2	75	25	1,231	0,1401	428,10	0,023
2	2	70	30	1,078	0,1111	522,05	0,019
3	2	65	35	0,99	0,1052	500,04	0,020
4	1,5	60	40	1,317	0,1408	485,14	0,021

Analisando-se esses resultados, optou-se pela aplicação da proporção utilizada no teste 2, ou seja, 70% ácido acético diluído e 30% acetoneitrila e fluxo de 2 mL/min.

Um fator considerável quando se compara a Tabela 3 e a Tabela 4 é o grande aumento no número de pratos e, conseqüentemente, a diminuição na altura equivalente a um prato, significando que a coluna Chromolith é muito mais eficiente na separação dos compostos das amostras.

Na Figura 12 pode-se observar o cromatograma obtido quando se utiliza essa proporção de fase móvel. Pode-se observar também que o pico tem sua largura muito inferior quando comparado a qualquer cromatograma obtido nas análises com a coluna Zorbax.

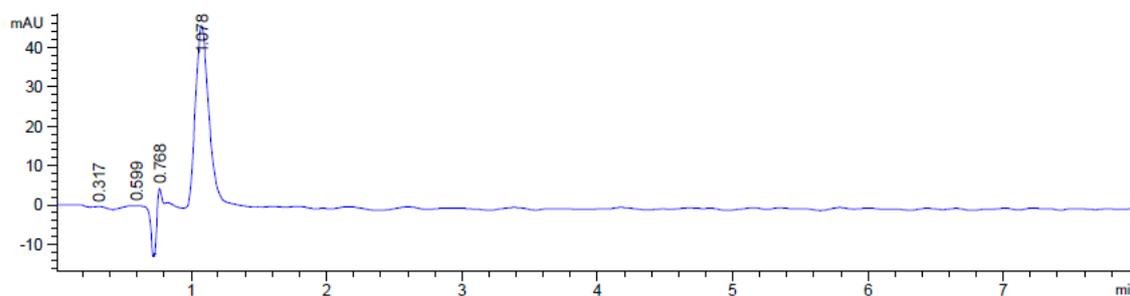


Figura 12. Teste de fase móvel com coluna Chromolith RP-18e na proporção ácido acético 0,01%:acetonitrila 70:30

Após a escolha da proporção da fase móvel, avaliou-se a mudança na eficiência da separação com a variação de temperatura pela mesma forma de avaliação usada nos testes anteriores, ou seja, através do cálculo do número de pratos e altura equivalente a um prato.

Tabela 5. Variação da temperatura com coluna Chromolith RP-18e

Teste	Temperatura (°C)	Tr (min)	W _{1/2}	N	H
5	25	1,154	0,0722	1416,57	7,06e-3
6	30	1,145	0,0720	1402,32	7,13e-3
7	40	1,129	0,0697	1454,87	6,87e-3
8	50	1,111	0,0661	1566,49	6,38e-3
9	60	1,093	0,0642	1607,21	6,22e-3

Como pode ser observado na Tabela 5, a temperatura que apresentou melhor eficiência foi 60 °C.

Dessa forma, o novo método ficou definido com fluxo de 2 mL/min, temperatura do forno de 60 °C, composição da fase móvel de ácido acético 0,01% e acetonitrila na proporção 70:30, comprimento de onda de detecção em 230 nm, e tempo de corrida de 8 minutos.

Esse novo método se mostrou satisfatório na análise dos padrões, porém não era adequado para a análise das amostras, pois era ineficaz na separação dos compostos presentes nas amostras e principalmente na separação do analito, como pode ser visto nos cromatogramas das amostras N01R e N02R.

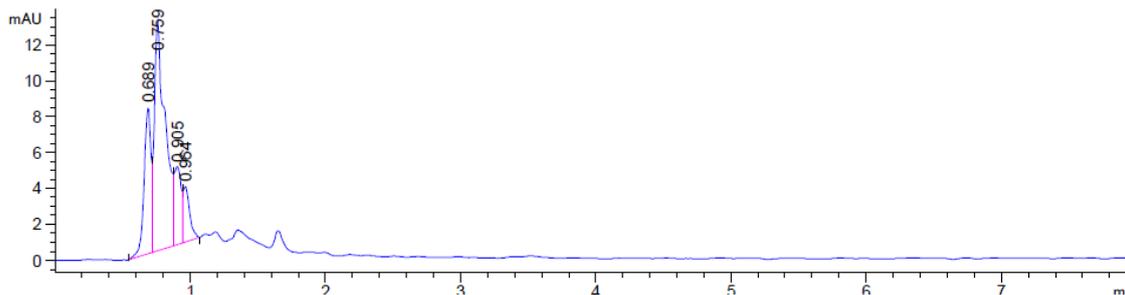


Figura 13. Amostra N01R

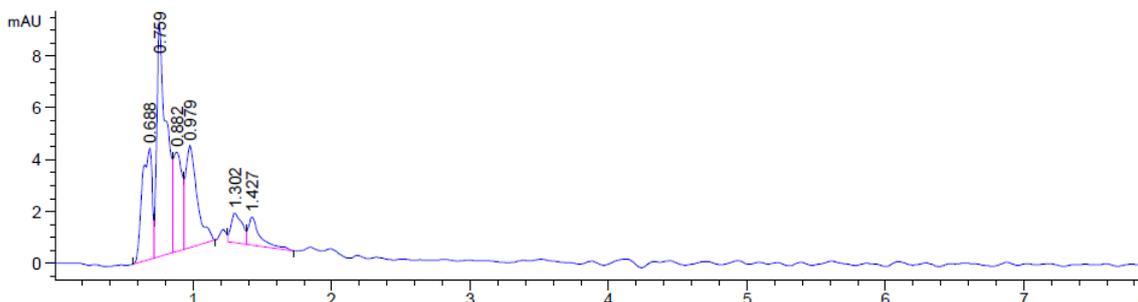


Figura 14. Amostra N02R

Por esse motivo, foi necessária uma nova mudança no método, porém dessa vez os testes foram realizados na própria amostra, N21, onde variou-se novamente o fluxo e a proporção dos constituintes da fase móvel, e desta vez o volume de injeção foi diminuído para 10 μ L.

A Figura 15 apresenta o cromatograma da amostra N03R com o método sem alteração, ou seja, a primeira análise da amostra a fim de comparação na variação dos picos.

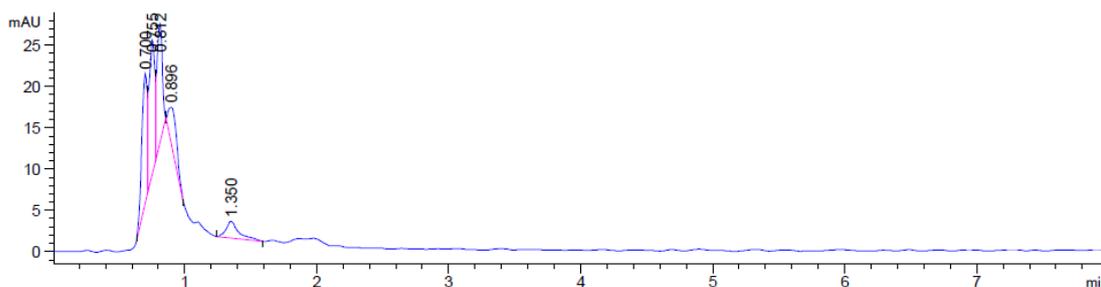


Figura 15. Primeira análise da amostra N03R sem alteração do método

A primeira medida tomada foi a diminuição do fluxo para 1,5 mL/min e posteriormente a 1 mL/min, e os resultados são mostrados na Figura 16 e na Figura 17, respectivamente.

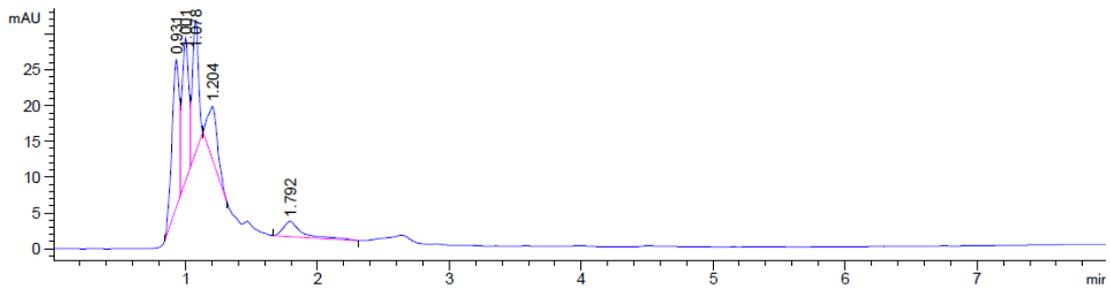


Figura 16. Análise da amostra N03R com fluxo 1,5 mL/min

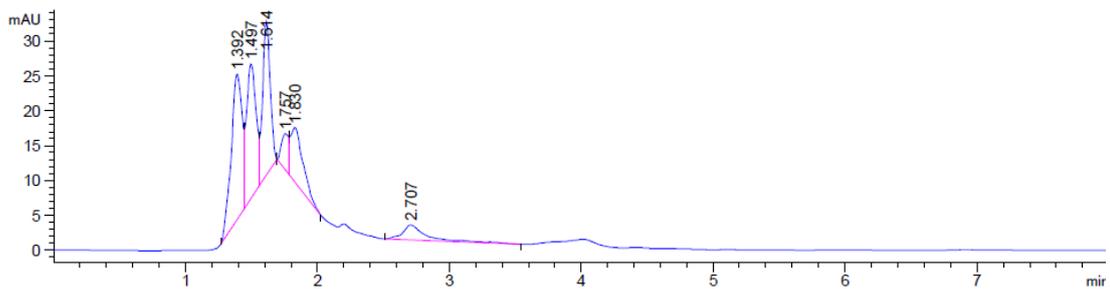


Figura 17. Análise da amostra N03R com fluxo 1 mL/min

Como pode ser observado, a diminuição do fluxo favoreceu a separação, como era esperado. O próximo passo foi alterar a proporção da fase móvel, variando em 10% para mais e para menos a proporção dos solventes. A Figura 18 e a Figura 19 apresentam o cromatograma com as proporções 60:40 e 80:20 de ácido acético 0,01%:acetonitrila, respectivamente.

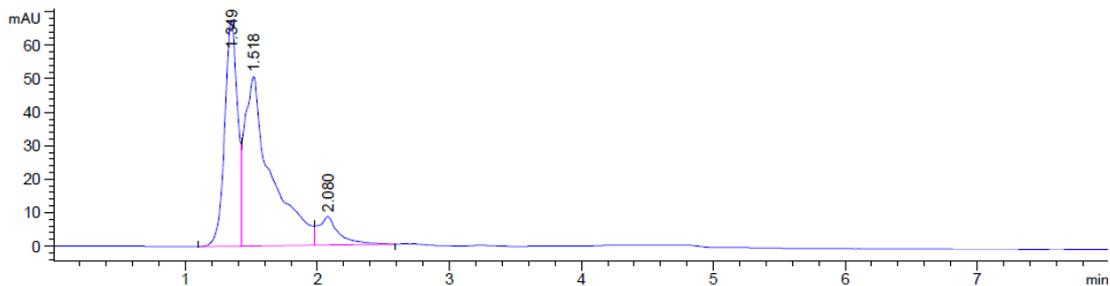


Figura 18. Amostra N03R com fase móvel na proporção 60:40

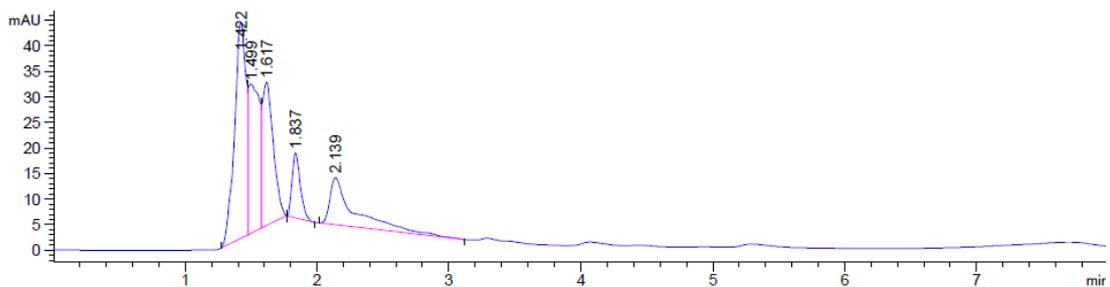


Figura 19. Amostra N03R com proporção de fase móvel 80:20

Todos esses testes com a amostra foram acompanhados dos testes com o padrão a cada variação na proporção da fase móvel, para que não se perdesse a resolução do pico da cocaína. A Figura 20 e a Figura 21 apresentam o cromatograma do padrão de cocaína 100 µg/mL nas mesmas proporções usadas nas análises das amostras.

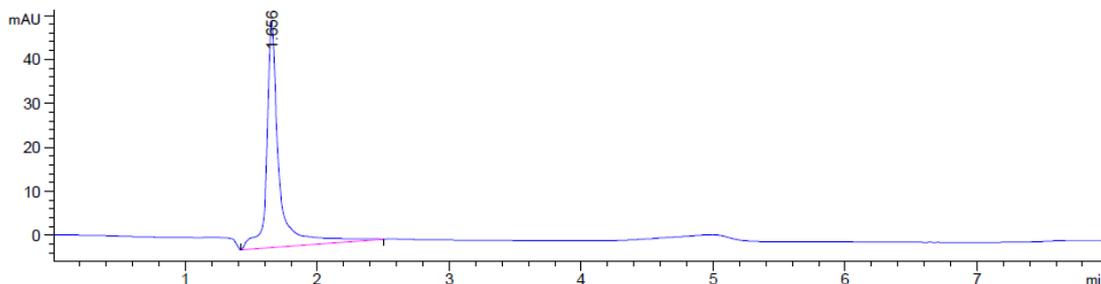


Figura 20. Padrão Cocaína 100 µg/mL na proporção 60:40 da fase móvel

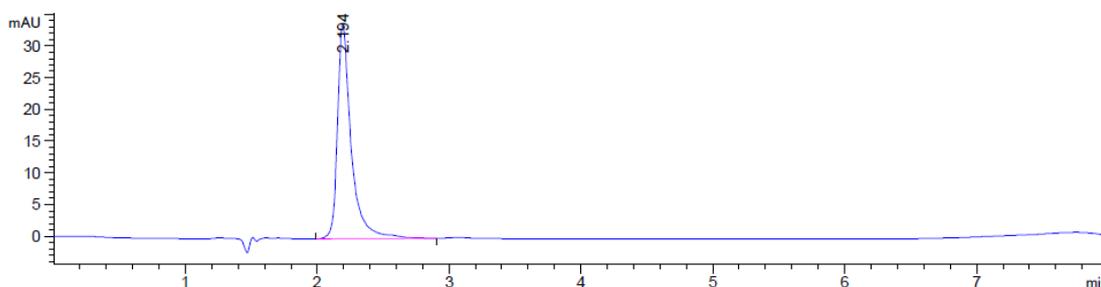


Figura 21. Padrão Cocaína 100 µg/mL na proporção 80:20 da fase móvel

Foi testada também a proporção 90:10 de ácido acético 0,01%:acetoneitrila, como mostra a Figura 22, porém a perda de resolução do pico já mostra que utilizar essa proporção não é favorável, e por esse motivo, não houve injeção da amostra.

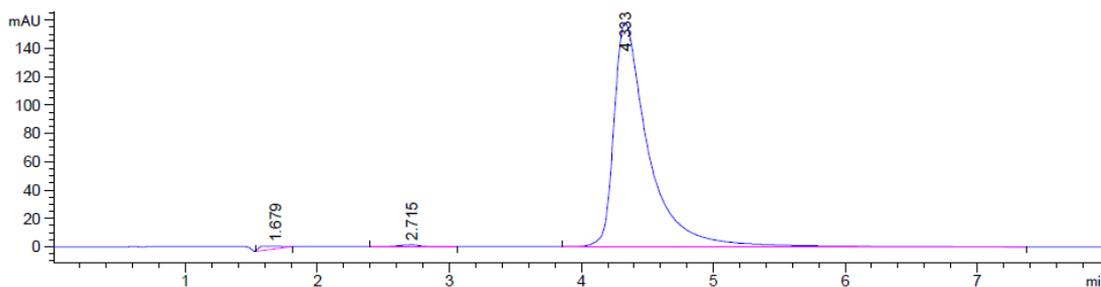


Figura 22. Padrão Cocaína 100 µg/mL na proporção 90:10 da fase móvel

Após a análise dos resultados dos testes de variação da temperatura e da proporção da fase móvel, definiu-se o método que deveria ser utilizado nas análises de todas as amostras, a saber: fase móvel ácido acético 0,01% v/v e acetoneitrila na proporção 80:20, temperatura do forno 60 °C, fluxo 1 mL/min, detecção em 230 nm, tempo de corrida de 8 minutos e injeção de 10 µL.

O espectro de ultravioleta da cocaína está mostrado na Figura 23.

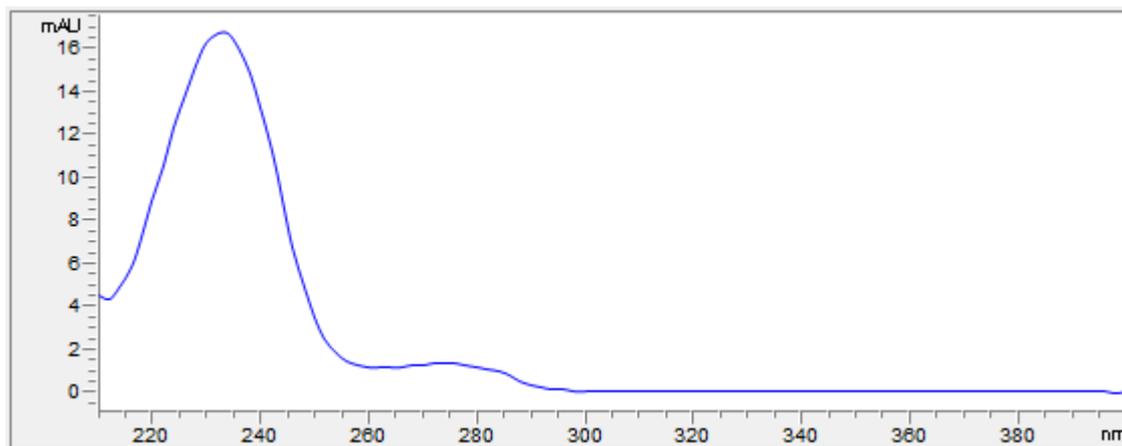


Figura 23: Espectro de ultravioleta Cocaína

4.2. Teste da Linearidade e Obtenção da Curva Analítica

4.2.1. Coluna Zorbax

A linearidade do método foi estudada preparando-se seis soluções de concentrações diferentes, em triplicata, e o valor da área dos picos referentes à cocaína foi utilizado nos cálculos de regressão linear para se determinar a equação da curva e o coeficiente de correlação (r). A linearidade do método foi estudada preparando soluções padrão de cocaína nas diferentes concentrações em triplicata a partir da solução estoque de 1000 $\mu\text{g/mL}$.

A curva analítica obtida é mostrada na Figura 24 e os dados dos parâmetros analíticos estão na Tabela 6.

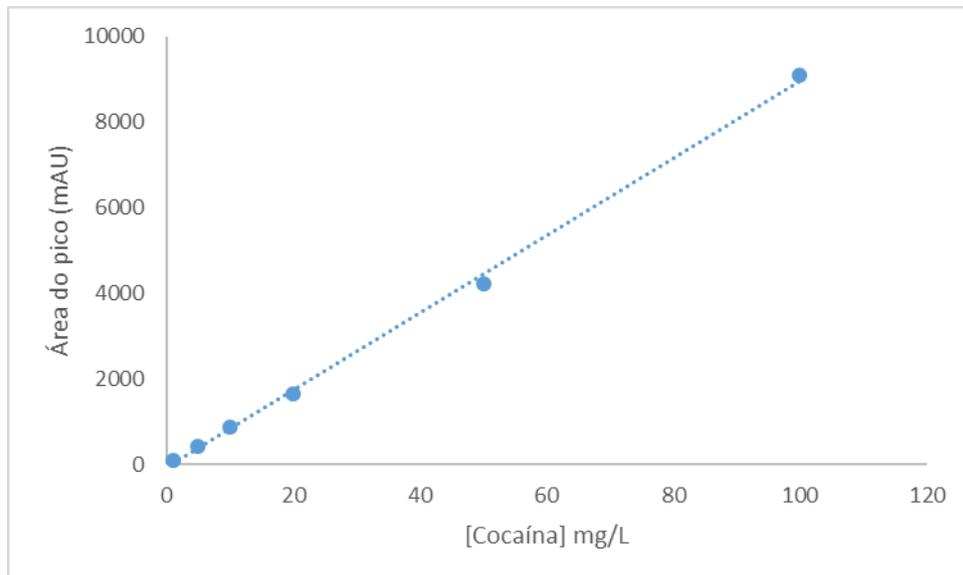


Figura 24. Curva Analítica Cocaína usando coluna Zorbax

Tabela 6. Parâmetros de mérito da curva analítica obtida usando coluna Zorbax

<i>Parâmetros analíticos de mérito</i>	<i>Valor</i>
Equação da reta	$y = 90,481x - 71,13$
Coefficiente de correlação (r)	0,9993
LD	0,141 µg/mL
LQ	0,428 µg/mL
Faixa linear	1 a 100 µg/mL

O método mostrou-se linear na faixa de concentração compreendida entre 1,0 a 100 µg/mL.

O limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. E pode ser definido como três vezes o desvio padrão do branco dividido pela sensibilidade do analito (ANVISA, 2003). Apesar da existência da RDC 166 da ANVISA, de 24 de julho de 2017, optou-se pelo uso da RDC 899, de 2003.

O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. E pode ser definido como dez vezes o desvio padrão do branco dividido pela sensibilidade do analito (ANVISA, 2003).

4.2.2. Coluna Chromolith

Com a coluna Chromolith, o mesmo estudo foi realizado para garantir a manutenção da linearidade das curvas obtidas.

Da mesma forma, a curva foi obtida preparando-se cinco soluções nas concentrações 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL e 50 µg/mL, em triplicata, e o valor das áreas dos picos referentes à cocaína foi utilizado nos cálculos de regressão linear para a obtenção da curva e do coeficiente de correlação (r), apresentados na Figura 25 e na Tabela 7.

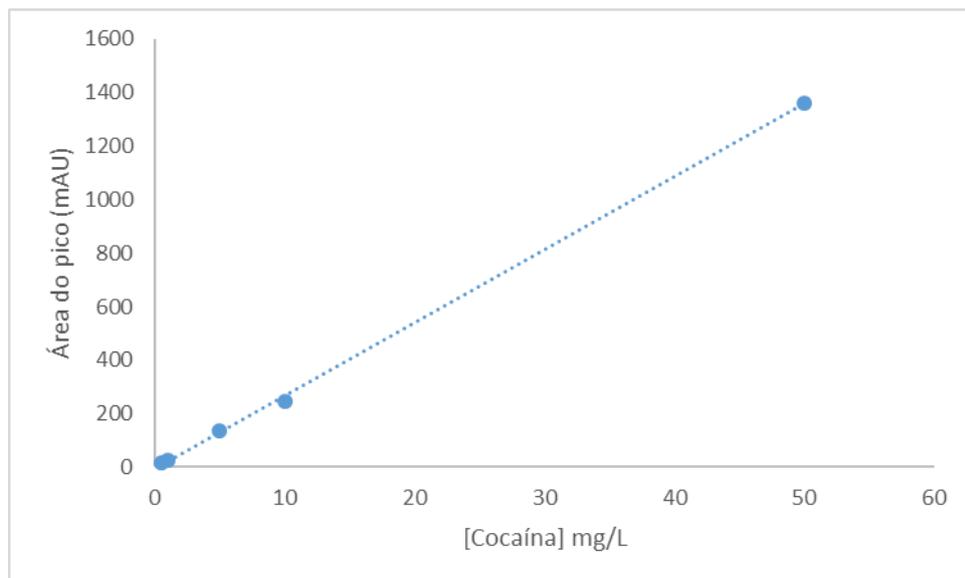


Figura 25: Curva analítica Cocaína usando coluna Chromolith

Tabela 7: Parâmetros de mérito da curva analítica obtida usando coluna Chromolith

<i>Parâmetros analíticos de mérito</i>	<i>Valor</i>
Equação da reta	$y = 27,263x - 6,0459$
Coefficiente de correlação (r)	0,9998
LD	0,130 $\mu\text{g/mL}$
LQ	0,394 $\mu\text{g/mL}$
Faixa linear	0,5 a 50 $\mu\text{g/mL}$

A precisão de um método analítico segundo a Resolução 899 de 2003 da Anvisa pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de uma série de medidas. O valor máximo aceitável deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores maiores que 5%.

O estudo da precisão analítica foi realizado por meio da determinação dos coeficientes de variação intra-ensaio e inter-ensaio (variando os dias) para as soluções padrão nas concentrações de 0,5, 5 e 50 µg/mL, sendo as médias encontradas de 0,83% (intra-ensaio) e 0,61% (inter-ensaio). (Tabela 8)

Tabela 8: Precisão intra e inter ensaio obtidos com coluna Cromolith

Concentração (µg/mL)	CV (%)	
	Intra-ensaio (n= 3)	Inter-ensaio (n= 4)
0,5	1,91	1,41
5	0,50	0,33
50	0,07	0,10
Média	0,83	0,61

4.3. Estabilidade da Cocaína em Sonicador

Para que a extração em banho ultrassom fosse utilizada em ensaios posteriores, fez-se necessário garantir que a cocaína fosse estável à ultrassom, mesmo depois de longos períodos de exposição. A solução de cocaína 20 µg/mL foi analisada após diferentes períodos de exposição ao banho ultrassom, e os valores das concentrações foram comparados para avaliar se houve perdas do analito.

A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos nessas análises:

Tabela 9. Estabilidade da cocaína em banho ultrassom

Tempo de exposição (min)	Concentração (µg/mL)	%
0	20,32	100,0
5	21,18	104,2
10	20,14	99,1
20	19,11	94,0
30	19,54	96,1
40	19,07	93,8
50	18,95	93,2
60	18,54	91,2

A concentração da cocaína se manteve praticamente constante mesmo em longos períodos de exposição das soluções ao banho ultrassom. Esses dados confirmam que o método de extração por ultrassom é seguro no que diz respeito à uma possível degradação do analito, não interferindo na quantificação.

4.4. Limpeza das Cédulas

As cédulas que, posteriormente, foram utilizadas no estudo da extração da cocaína precisavam estar isentas do analito para que fossem contaminadas com uma quantidade exata de cocaína. Para isso, 7 cédulas foram submetidas ao processo de limpeza em banho ultrassom usando ácido acético diluído. O processo todo teve duração de 60 minutos, sendo

que a cada 15 minutos a solução de ácido acético era trocada e analisada em HPLC para determinar a presença ou não de cocaína na solução.

Uma solução padrão de cocaína 5 µg/mL foi usada para a comparação do tempo de retenção do analito naquelas condições, resultando em 2,216 minutos. (Figura 26)

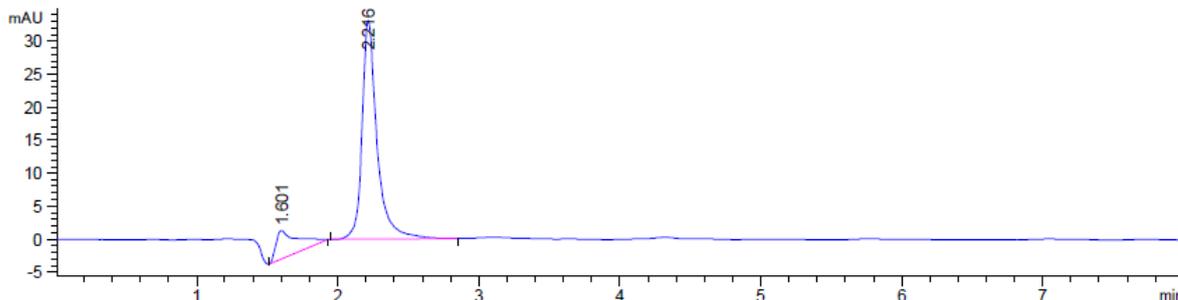


Figura 26. Padrão Cocaína 5 µg/mL

O cromatograma de uma das cédulas após o processo de limpeza é mostrado na Figura 27, confirmando que a cédula está livre de cocaína a níveis detectáveis pela análise.

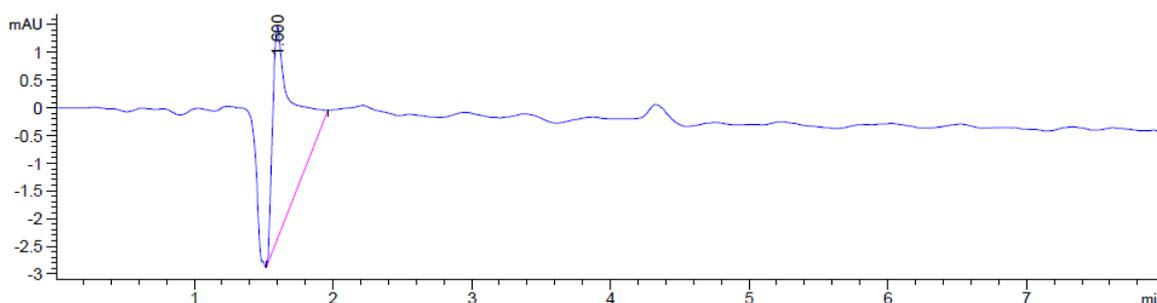


Figura 27. Nota 1 após limpeza

4.5. Recuperação e Extração da Cocaína em Cédulas

Como mostrado na revisão bibliográfica, é comum o uso de diversos solventes para a extração de cocaína de cédulas. Neste trabalho, diversos solventes foram testados para obtenção de uma melhor eficiência do processo de extração. Os solventes testados foram solução aquosa de ácido acético 0,01% v/v, metanol, etanol, água e acetonitrila.

As 5 cédulas livres de cocaína, conforme descrito no item 4.4, foram contaminadas com 75 µL da solução padrão de concentração 1000 µg/mL. A verificação da extração da cocaína adicionada a essas cédulas se fez por comparação da área do pico obtido na análise cromatográfica de uma solução padrão 5 µg/mL com a área obtida nas análises dos solventes usados na extração após o banho ultrassom com as notas contaminadas.

Cada nota contaminada passou pelo processo de extração com um solvente diferente, sendo o tempo de extração e as condições de análise iguais para todas as cédulas, mudando apenas o solvente.

Como pode ser visto na Tabela 10, os solventes que apresentaram melhores taxas de recuperação foram o metanol e o ácido acético diluído. Pelo fato do ácido acético diluído constituir a maior proporção da fase móvel utilizada na análise cromatográfica, gerar um resíduo menos agressivo ao meio ambiente, ter baixo custo, e ter apresentado um perfil de recuperação melhor, como visto na Figura 28, este foi escolhido como extrator da cocaína em ultrassom, com o tempo de 60 minutos.

Tabela 10. Recuperação de Cocaína com Diferentes Solventes

		Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Recuperação (%)
Padrão	0 min	4,96	100,00
	15 min	4,17	84,00
Ácido Acético 0,01% v/v	30 min	4,67	94,02
	60 min	4,76	95,95
	90 min	4,73	95,30
	15 min	3,35	67,58
Água	30 min	3,77	75,98
	60 min	3,83	77,08
	90 min	3,79	76,38
	15 min	4,65	93,60
Metanol	30 min	4,85	97,67
	60 min	4,62	93,04
	90 min	4,62	93,12
	15 min	4,10	82,52
Etanol	30 min	4,43	89,26
	60 min	4,53	91,30
	90 min	4,69	94,42
	15 min	3,02	60,78
Acetonitrila	30 min	3,18	63,97
	60 min	3,30	66,42
	90 min	3,36	67,60

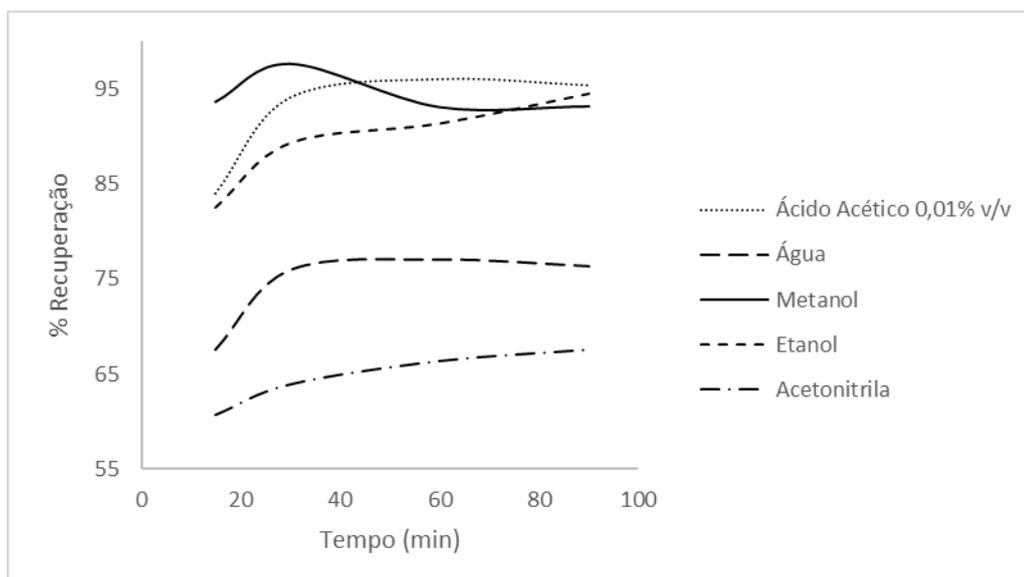


Figura 28. Percentual e perfil de recuperação da cocaína em diferentes solventes

4.6. Análise das Amostras

Após definir exatamente como seria o método usado na extração da cocaína das notas, e nas análises cromatográficas, iniciou-se então a etapa de recolhimento das amostras. As notas analisadas foram apenas aquelas que não tinham nenhuma marcação com tinta, caneta, ou fitas coladas.

Na Tabela 11 encontra-se o resultado das análises, cujas concentrações estão expressas em miligrama por litro, como nos padrões usados nas curvas analíticas, e em microgramas por cédula.

Tabela 11: Concentração de cocaína encontrada nas cédulas analisadas

Amostra	$\mu\text{g/mL}$	Desvio Padrão(N=3)	$\mu\text{g/nota}$
N01	21,474	0,046	429,487
N02	5,121	0,030	102,422
N03	4,175	0,072	83,508
N04	1,831	0,042	36,619
N05	<LQ	-	-
N06	7,671	0,060	153,429
N07	1,738	0,061	34,758
N08	1,806	0,009	36,129
N09	<LQ	-	-
N10	1,555	0,109	31,106
N11	1,332	0,036	26,644
N12	6,290	0,110	125,797
N13	1,764	0,012	35,278
N14	4,685	0,041	93,691
N15	0,782	0,018	15,630

N16	0,781	0,003	15,617
N17	2,274	0,031	45,470
N18	<LQ	-	-
N19	2,059	0,068	41,176
N20	4,021	0,102	80,422
N21	0,572	0,011	11,440
N22	0,901	0,007	18,015
N23	1,123	0,013	22,462
N24	2,298	0,016	45,953
N25	4,038	0,002	80,768
N26	8,643	0,102	172,852
N27	4,012	0,026	80,250
N28	0,931	0,020	18,627
N29	1,336	0,011	26,722
N30	8,116	0,097	162,313
N31	2,579	0,020	51,581
N32	4,643	2,135	92,863

Das 32 notas analisadas, apenas as notas N05, N09 e N18 apresentaram quantidades de cocaína abaixo do limite de quantificação, por isso os valores não estão incluídos na tabela.

A Figura 29 mostra o cromatograma de uma dessas amostras, em que se pode observar que não há um pico em 2,1 minutos, que é o tempo de retenção do analito em todas as amostras analisadas.

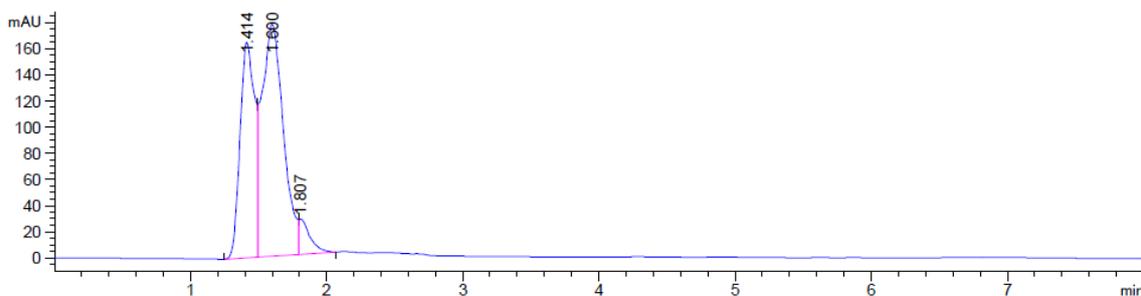


Figura 29: Amostra N18

As figuras 30 e 31 mostram alguns cromatogramas das amostras, evidenciando o pico da cocaína em 2,1 minutos, o qual foi confirmado analisando-se o espectro de UV.

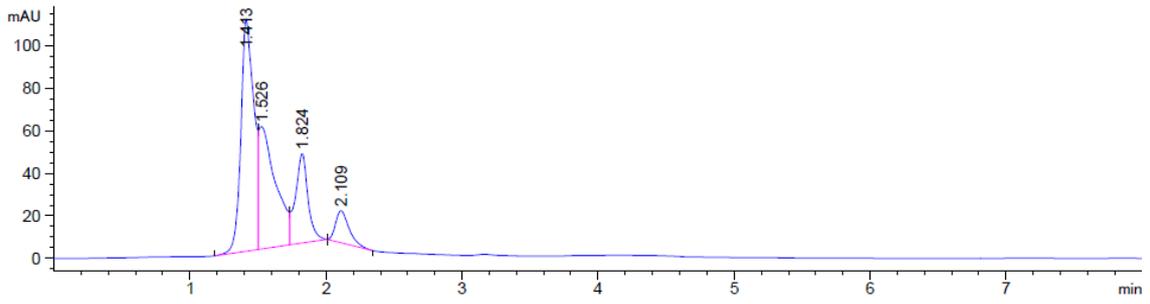


Figura 30: Amostra N27

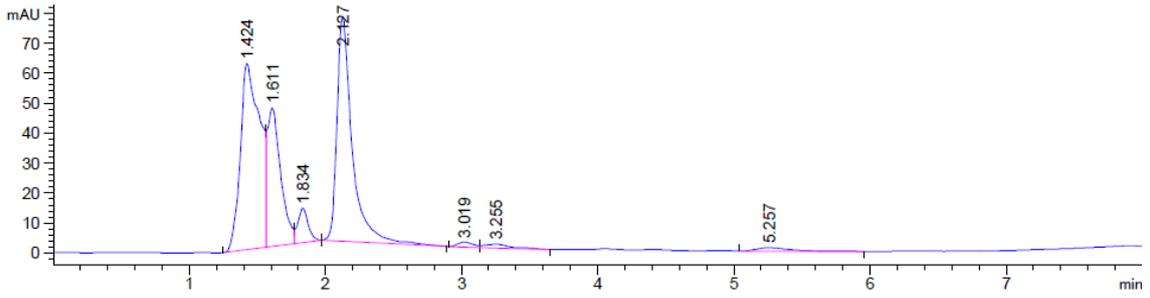


Figura 31: Amostra N01

5 CONCLUSÕES

Existem muitas metodologias diferentes para a análise da contaminação das notas por cocaína, devido principalmente ao seu uso como ferramenta para inalar o pó da cocaína. Este trabalho apresentou adaptações a métodos já existentes, cujas principais mudanças foram a forma de extração e as condições cromatográficas de análise.

As adaptações ao método se mostraram satisfatórias para a análise de cocaína nas notas contaminadas, com resposta linear na faixa de concentração 0,5 µg/mL a 50 µg/mL, suficiente para a análise das amostras sem a necessidade de fazer diluições das amostras, o que pode fazer com que erros aumentem.

A extração com banho ultrassom, que pode ser utilizada por ser uma forma não destrutiva, de fácil execução, e com boa taxa de recuperação também se mostrou como uma boa alternativa a outros métodos de extração mais caros, ou mais trabalhosos, com taxa de extração média de 95%.

32 notas de 2 reais coletados no município de Seropédica – RJ foram analisadas, sendo que em 3 delas não foi encontrada cocaína a níveis quantificáveis. As 29 notas em que foi possível a quantificação da cocaína apresentaram quantidades de 11,44 µg/nota a 429,487 µg/nota.

6 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, V. G. K., CASSELLA, R. J., PACHECO, W. F. Determination of cocaine in Real banknotes circulating at the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Forensic Science International*. vol 215, 50-55, 2016.

ANVISA, Resolução nº 192 de 11 de dezembro de 2017. *Diário Oficial da União*, Brasília, 12 de dezembro de 2017.

ANVISA, Resolução nº 899 de 29 de maio de 2003. *Diário Oficial da União*, Brasília, 02 de junho de 2003.

ARMENTA, S., GUARDIA, M. de la. Analytical methods to determine cocaine contamination of banknotes from around the world. *Trends in Analytical Chemistry*. vol. 27, 344-350, 2008.

BAHLS, F. C., BAHLS, S. C. Cocaína: origem, passado e presente. *Interação em Psicologia*, vol. 6, 177-181, 2002.

BONES, J., MACKA, M., PAULL, BRETT. Evaluation of monolithic and sub 2 mm particle packed columns for the rapid screening for illicit drugs—application to the determination of drug contamination on Irish euro banknotes. *Analyst*. Vol. 132, 208-217, 2007.

BRANCACCIO, A., MARESCA, P., ALBRIZIO, S., FATTORE, M., COZZOLINO, M., SECCIA, S. Development and validation of a diode array high performance liquid chromatography method to determine seized street cocaine sample purity. *Analytical Methods*, vol. 5, 2584-2590, 2013.

BRASIL. Lei nº. 11.343 de 26 de agosto de 2006. Brasília, 2006.

CARLINI, E. A., NOTO, A. R., GALDUZROZ, J. C. F., NAPPO, S. A. Visão histórica sobre o uso de drogas: passado e presente: Rio de Janeiro e São Paulo. *Jornal Brasileiro de Psicologia*. vol 4(45), 227-236, 1996.

CARLINI-COTRIM, B. Movimentos e discursos contra as drogas: o caso da sociedade norte-americana. *ABP-APAL Associação Brasileira de Psiquiatria – Asociación Psiquiátrica de la América Latina*. vol. 3(17), 93-101, 1995.

COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S. Fundamentos de Cromatografia. Editora da Unicamp, Campinas – SP, 2006

DONATO, E. D., MARTIN, C. C. S., MARTINS, B. S. Determination of cocaine in Brazilian paper currency by capillary gás chromatography/ mass spectrometry. *Química Nova*. vol. 30, 1966-1967, 2007.

DRUGBANK. <http://www.drugbank.ca> acessado em março de 2018.

ESTEVE-TURRILLAS, F., ARMENTA, S., MOROS, J., GARRIGUES, S., PASTOR, A., GUARDIA, M. Validated, non-destructive and environmentally friendly determination of cocaine in euro bank notes. *Journal of Chromatography A*. vol. 1065, 321-325, 2005

FERNÁNDEZ, P., MORALES, L., VÁZQUEZ, C., BERMEJO, A. M., TABERNERO, M. J. HPLC–DAD determination of opioids, cocaine and their metabolites in plasma. *Forensic Science International*. Vol. 161, 31-35, 2006.

FLORIANI, G., GASPARETO, J. C., PONTAROLO, R., GONÇALVES, A. G. Development and validation of na HPLC-DAD method for simultaneous determination of cocaine, benzoic acid, benzoylecgonine and the main adulterants found in products based on cocaine. *Forensic Science International*. vol. 235, 32-39, 2014.

FLORIANI, G. Desenvolvimento e validação de método por CLAE para análise de cocaína, seus produtos de degradação e adulterantes. Dissertação. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2012.

MARTINS, A. F., SANTOS, J. B., TODESCHINI, B. H., SALDANHA, L. F., SILVA, D. S., REICHERT, J. F., SOUZA, D. M. Occurrence of cocaine and metabolites in hospital effluent - A risk evaluation and development of a HPLC method using DLLME. *Chemosphere*, vol. 170, 176-182, 2017.

MERCOLINI, L., MANDRIOLI, R., SALADINI, B., CONTI, M., BACCINI, C., RAGGI, M. A. Quantitative analysis of cocaine in human hair by HPLC with fluorescence detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. vol. 48, 456-461, 2008.

NICASTRI, S. Drogas: classificação e efeitos. Senad, 2006.

PEREIRA, A.G., D'AVILA, F.B., FERREIRA, P. C. L., HOLLER, M. G., LIMBERGUER, R. P., FROEHLICH, P. E. Method Development and Validation for Determination of Cocaine, its Main Metabolites and Pyrolytic Products by HPLC–UV–CAD. *Chromatographia*, Vol. 79, 179-187, 2016.

SLEEMAN, R., BURTON, F., CARTER, J., ROBERTS, D., HULMSTON, P. Drugs on money. *Analytical Chemistry*, Vol. 72, 397-404, 2000.

TROINO, G., MERCURIO, I., GOLFERA, M., NANTE, N., MELAI, P., LANCIA, M., BACCI, M. Cocaine contamination of banknotes: a review. *The European Journal of Public Health*. Vol. 27, 1097-1101, 2017.

UNITED NATIONS DIVISION OF NARCOTIC DRUGS. Recommended methods for testing cocaine. New York, 1986.

UNODC. United Nations Office on Drugs and Crime. *World Drug Report*. 2016.

USDA. United States Department of Agriculture. <https://plants.usda.gov> acessado em junho de 2017.

VINKOVIC, K. GALIC, N. SCHMID, M. G. Micro-HPLC–UV analysis of cocaine and its adulterants in illicit cocaine samples seized by Austrian police from 2012 to 2017. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 41:1, 6-13, 2018.

WEISS, R. D.; MIRIN, S. M.; BARTEL, R. L. Cocaine. *American Psychiatric Press*. Washington-DC. 1994