Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

**“Estudo do comportamento eletroquímico do Δ^9 -tetraidrocanabinol derivatizado
com Fast Blue B”**

Marco Antonio Balbino

**Tese apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte
das exigências para a obtenção do título de Doutor em
Ciências, Área: Química.**

Ribeirão Preto
2014

Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

**“Estudo do comportamento eletroquímico do Δ^9 -tetraidrocanabinol derivatizado
com Fast Blue B”**

Marco Antonio Balbino

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Firmino de Oliveira

Ribeirão Preto

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Balbino, Marco Antonio

Estudo do comportamento eletroquímico do Δ^9 -tetraidrocanabinol derivatizado com Fast Blue B. Ribeirão Preto, 2014.

143 p. : il. ; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada a Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto – Área de concentração: Química.

Orientador: Oliveira, Marcelo Firmino.

1. Química Forense. 2. Voltametria. 3. Δ^9 -tetraidrocanabinol. 4. Detecção.

“Se não puder se destacar pelo talento, vença pelo esforço.”

Dave Weinbaum

Essa música resume o que realmente somos:

Dust in the Wind - Kansas

I close my eyes
Only for a moment
And the moment's gone
All my dreams
Pass before my eyes, in curiosity

Dust in the wind
All we are is dust in the wind

Same old song
Just a drop of water in an endless sea
All we do
Crumbles to the ground though we refuse to see

Dust in the wind
All we are is dust in the wind

Now, don't hang on
Nothing lasts forever but the earth and sky
It slips away
And all your money won't another minute buy

Dust in the wind
All we are is dust in the wind
Dust in the wind
Dust in the wind
Everything is dust in the wind

DEDICATÓRIA

A minha família,

Aos colegas e amigos que partiram mais cedo: Nelson, doutorando da FCFRP/USP, Cleitinho e Vinícius, aos exemplos de batalhadoras, Roseli Dias e sua mãe, Aparecida (IN MEMORIAN);

À todos aqueles que são vítimas da injustiça, insegurança, da falta de oportunidades e de reconhecimento como humano, cidadão, contribuinte...

À Daniele Toledo do Prado;
e sua filhinha Victoria Maria do Prado Iori Camargo (IN MEMORIAN);

Ao meu amigo, Silvano José da Silva (exemplo de persistência)...

...E, especialmente, ao meu pai, Antonio Balbino (IN MEMORIAN), pelos ensinamentos, disciplina e amizade. Sem dúvidas, foram ingredientes essenciais para que eu pudesse chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por permitir estar chegando até aqui, muito obrigado! Aos meus pais, pela educação, aos meus sogros, pela simplicidade e humildade; Aos meus irmãos. Ao Prof. Dr. Marcelo Firmino de Oliveira, pela oportunidade concedida, pelos ensinamentos e orientação. Espero ter correspondido conforme o esperado nesta etapa; aos Professores (Doutores) José Fernando de Andrade, Jesus Antonio Velho, Aline Thais Bruni, Bruno Spinosa De Martinis, Daniela e Gláucia, Yassuko e Adalgisa, por fazerem parte da minha etapa de aprendizado e amadurecimento no Doutorado; ao Prof. Dr. Emanuel e a Dra Fabiana Lopes da Silva Purgato pela generosidade, humildade, e motivação para que eu fizesse o Doutorado.

Agradeço ao Professor Matheus Manoel Teles de Menezes, por ter disponibilizado seu tempo para me ajudar nas horas de aperto. Valeu cara! Não poderia me esquecer de agradecer os demais colegas do laboratório, Yuri Laura, Julianas, Natália, Maraine, Erica e Fernanda, aos técnicos Zanatto e Valdir, Rodrigo, Mércia e Luiza, por me atenderem toda vez que eu precisei. Aos vigias Carlos, Reginaldo, Rogério; à Rose, Marli e Shirlene e todas as profissionais da limpeza, pelos préstimos e pelos sorrisos estampados (isso me anima); ao Dias, a minha Madrinha Tereza e família, aos Amigos Wagner, Jaílson, Ednílson, Cestari, Zezinho, Eliza, Ezequiel, Ronaldo, Rogério e Regiane, Ademir e Família, aos amigos do Kawai e Caramurucar, e ao Adriano, Fabiano e Leonardo, grandes parceiros dos tempos de oficina! Agradeço ao Luiz e ao Tiago, no auxílio para entender melhor a língua inglesa. Humildemente eu agradeço a Cleide e as assistentes sociais Cláudia, Márcia e Fabiana, a minha permanência aqui foi possível graças a vocês; aos colegas da casa 13 (pós-graduandos) pela convivência e troca de experiências, em especial aos amigos (irmãos de Ribeirão Preto), Daniel, Caixeta, Diógenes, Alexandre querosene, Edson, Jaseem, Prycila, Santiago, Diego, Herbert, Odival, Yagoub, Marcos Rezende e tantos outros que passaram por lá.

A Dra. Izabel Cristina Eleotério, pelo companheirismo, paciência, amor e muitos pratos maravilhosos; ao DQ e USP, por todos aqueles que nos dão suporte para realização da pesquisa, aos que lutam por melhorias; à CAPES, pela bolsa concedida e àqueles que de forma indireta contribuíram para minha trajetória.

RESUMO

BALBINO, M.A. **Estudo do Comportamento Eletroquímico do Δ^9 -tetraidrocanabinol derivatizado com Fast Blue B**, 2014. Tese de Doutorado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

A maconha é a droga ilícita mais consumida no mundo, tem como substância psicoativa o delta-9-tetraidrocanabinol (Δ^9 -THC). Os testes colorimétricos são normalmente realizados em amostras de maconha (e para qualquer outra droga ilícita) apreendidas. A adição de reagentes específicos em uma solução de extrato de maconha pode indicar a presença de substância ilícita mediante mudança de cor. No entanto, a literatura recentemente tem relatado ocorrências de resultados falso-positivos quando os testes colorimétricos são aplicados em algumas folhagens de diversas espécies de plantas. Este estudo utilizou as técnicas voltamétricas em meio orgânico N-N-dimetilformamida utilizando tetrafluoroborato de tetrabutilamônio como eletrólito de suporte e eletrodos de trabalho de disco de carbono vítreo e platina. Aplicando-se um potencial de pré concentração em - 0,5 V, verifica-se um pico de corrente anódica em $\pm 0,01$ V vs Ag/AgCl, KCl_(sat). Utilizando eletrodo de disco de carbono vítreo como eletrodo de trabalho, na modalidade de onda quadrada, obteve-se uma dependência linear na faixa de concentração entre $1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ a $2,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, com um coeficiente de correlação linear em 0,999 e um limite de detecção de $6,2 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹. Tais resultados possibilitaram a determinação de

Δ^9 -THC na ordem de nmol L⁻¹.

Palavras-chave: Química Forense, Voltametria, Δ^9 -tetraidrocanabinol, detecção.

ABSTRACT

BALBINO, M.A. **Study of electrochemical behavior of Δ^9 -tetrahydrocannabinol derivatized with Fast Blue B.** 2014. Tesis (doctorate). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Marijuana, the illicit drug that is most consumed worldwide, contains Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) as the main psychoactive substance. Presumptive colorimetric tests are usually performed on seized marijuana (or any illicit drug) samples: the addition of specific reagents to the marijuana extract solution prompts a change in. This study was developed using voltammetric techniques in organic medium (*N,N*-dimethylformamide) using tetrabutylammonium tetrafluoroborate (TBATFB) as supporting electrolyte, and glassy carbon and platinum disc as working electrode. Applying a pre-concentration potential of -0.5 by square-wave voltammetry, we detected a well-defined anodic peak current in ± 0.01 V versus Ag/AgCl, KCl_(sat); Δ^9 -THC detection presented linear dependence at concentrations ranging from 1.0×10^{-9} mol L⁻¹ to 2.2×10^{-8} mol L⁻¹, with a linear correlation coefficient 0.999 and a detection limit of 6.2×10^{-10} mol L⁻¹, using the glassy carbon disc working electrode.

Keywords: Forensic Chemistry, Voltammetry, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, detection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do Δ^9 -THC, Canabidiol e Canabinol.....	35
Figura 2. Flores e folhas típicas da <i>Cannabis sativa L</i>	37
Figura 3. Tricomas e frutos típicos da <i>Cannabis Sativa L</i>	38
Figura 4. Possível Produto da reação química entre o Δ^9 -THC e o Fast Blue B.....	42
Figura 5. Sinais de excitação em função do tempo para diferentes modalidades voltamétricas.....	47
Figura 6. Voltamograma típico de uma reação redox reversível.....	49
Figura 7. Voltamograma linear e perfil de uma rampa de potencial.....	50
Figura 8. a) Etapas sequenciais do potencial em função do tempo para VOQ; b) parâmetros de tempo e potencial aplicado em VOQ; c) corrente resultante.....	51
Figura 9. Sinal do potencial de excitação em função do tempo e voltamograma de pulso diferencial.....	52
Figura 10. Célula eletroquímica e tampa com compartimento para 3 eletrodos.....	57
Figura 11. Eletrodos de trabalho (disco de carbono vítreo e disco de platina), eletrodo de referência Ag / AgCl, KCl _(sat) e eletrodo auxiliar de platina em espiral.....	61
Figura 12. Procedimento simplificado da análise voltamétrica de Δ^9 -THC padrão e obtido de amostra purificada de maconha apreendida pela polícia.....	62
Figura 13. Voltamogramas cíclicos referente a análise do eletrólito de suporte (TBATFB) 0,1 mol L ⁻¹ em meio misto N,N-DMF/água (9:1, v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo (a) e disco de platina (b); velocidade de varredura em 100 mV s ⁻¹	65

Figura 14. Voltamogramas de onda quadrada referente a análise do eletrólito de suporte (TBATFB) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio misto N,N-DMF/água (9:1, v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo (a) e disco de platina (b). Potencial de amplitude em 100 mV; frequência, 12 Hz.....67

Figura 15. Voltamogramas de pulso diferencial referente a análise do eletrólito de suporte (TBATFB) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio misto N,N-DMF/água (9:1, v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo (a) e disco de platina (b). Amplitude de potencial de pulso em 50 mV; velocidade de varredura em 50 mV s^{-1}68

Figura 16. Voltamogramas cíclicos de sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrólito de suporte (TBATFB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de platina e velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} 70

Figura 17. Processo de oxidação eletroquímica proposto para Δ^9 -THC durante análise eletroquímica.....70

Figura 18. Voltamogramas lineares referente de sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de platina e velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}71

Figura 19. Estudo do Efeito da concentração de Δ^9 -THC na resposta voltamétrica (VVL) utilizando eletrodo de trabalho de platina.....72

Figura 20. Voltamogramas cíclicos referentes ao estudo da influência de diferentes tempos de pré-concentração de padrão Δ^9 -THC $5,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de platina e velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}74

Figura 21. Estudo comparativo da influência do tempo da etapa de pré-concentração $i_{pa} / \mu\text{A}$ vs tempo (s) para eletrodos de trabalho de disco de platina e disco de carbono vítreo.....74

Figura 22. Voltamogramas lineares referentes às diferentes velocidades de varredura para análise de $2,67 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de padrão Δ^9 -THC, utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de platina.....76

- Figura 23.** Voltamogramas lineares referentes às diferentes velocidades de varredura para análise de solução padrão Δ^9 -THC $3,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto N,N-DMF e água, na proporção 9:1 (v/v). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.....76
- Figura 24.** Relação da ipa (uA) em função da velocidade de varredura de na análise de padrão Δ^9 -THC de $2,67 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de trabalho: disco de platina.....77
- Figura 25.** Voltamogramas de pulso diferencial referentes aos diferentes tempos de duração de pulso (ms^{-1}). Análise de padrão Δ^9 -THC $3,3 \text{ nmol L}^{-1}$ (utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo e velocidade de varredura: 10 mV s^{-1}79
- Figura 26.** Voltamogramas de pulso diferencial referentes aos diferentes tempos de pré-concentração. Análise de padrão Δ^9 -THC $3,3 \text{ nmol L}^{-1}$ utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v, eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo e velocidade de varredura: 10 mV s^{-1} . Gráfico de ipa (μA) versus tempo (s).....80
- Figura 27.** Voltamogramas de pulso diferencial de sucessivas adições de padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo e velocidade de varredura: 10 mV s^{-1}81
- Figura 28.** Influência da ipa (μA) em função da concentração (nmol L^{-1}) de solução padrão Δ^9 -THC.....82
- Figura 29.** Voltamogramas de pulso diferencial de sucessivas adições de padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de platina e velocidade de varredura: 10 mV s^{-1}83
- Figura 30.** Relação da ipa (μA) em função concentração ($\times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) de padrão Δ^9 -THC.....84

- Figura 31.** Voltamogramas de onda quadrada de diferentes tempos de pré-concentração. Análise de solução padrão Δ^9 -THC 19 nmol L^{-1} utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV. Relação ipa (μA) em função do tempo (s).....86
- Figura 32.** Voltamogramas de onda quadrada referente à variação da amplitude de potencial. Análise de padrão Δ^9 -THC 22 nmol L^{-1} , utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, frequência de 12 Hz, tempo de pré-concentração em 30 segundos.....87
- Figura 33.** Estudo da influência da amplitude de potencial em função à variação da Epa (a) e aumento de ipa (b).....87
- Figura 34.** Voltamogramas de onda quadrada da solução padrão Δ^9 -THC 22 nmol L^{-1} referente ao estudo da influência da frequência de pulso (f), utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, amplitude de pulso em 100 mV e tempo de pré-concentração em 30 segundos.....88
- Figura 35.** Relação da variação da Epa (a) e ipa (b) em função da frequência de pulso (f)
.....89
- Figura 36.** Voltamogramas de onda quadrada referentes ao estudo de sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de carbono vítreo, frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV.....90
- Figura 37.** Relação da ipa (μA) em função da concentração (nmol L^{-1}) de padrão Δ^9 -THC.....91
- Figura 38.** Voltamogramas de onda quadrada referentes à variação dos tempos de pré-concentração. Análise de padrão Δ^9 -THC 30 nmol L^{-1} utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV. Influência da ipa (μA) em função do tempo (s) de pré-concentração.....92

Figura 39. Voltamogramas de onda quadrada referentes à variação da amplitude de potencial. Análise de padrão Δ^9 -THC 30 nmol L ⁻¹ , utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), frequência de 12 Hz, tempo de pré-concentração em 30 segundos.....	93
Figura 40. Variação da Epa (a) e ipa (b) em função da amplitude.....	94
Figura 41. Voltamogramas de onda quadrada referente à variação da frequência. Análise de padrão Δ^9 -THC 30 nmol L ⁻¹ , utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), amplitude e 100 mV, tempo de pré-concentração em 30 segundos	95
Figura 42. – Influência da frequência (f) em relação à variação da Epa (a) e ipa (b).....	95
Figura 43. Voltamogramas de onda quadrada referente às sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC 1,1 μ mol L ⁻¹ utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV.....	97
Figura 44. – Relação da concentração de padrão Δ^9 -THC (nmol L ⁻¹) com a ipa	97
Figura 45. Voltamogramas de onda quadrada referente às sucessivas adições de solução Δ^9 -THC 1,1 μ mol L ⁻¹ apreendida pela polícia utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV.....	103
Figura 46. Voltamogramas de onda quadrada referentes às sucessivas adições de solução Δ^9 -THC (purificada, obtida de amostra apreendida pela polícia) utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV.....	105
Figura 47. Cromatograma da solução padrão Δ^9 -THC 3,2 x10 ⁻⁶ mol L ⁻¹	106
Figura 48. Relação da concentração da espécie Δ^9 -THC padrão com a área de pico.....	107
Figura 49. Cromatograma da amostra de maconha apreendida pela polícia.....	108

Figura 50. Voltamogramas cíclicos referentes ao comportamento eletroquímico de A) eletrólito de suporte (TBATFB), e após adição de Fast Blue B nas concentrações B) $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, C) $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, D) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, E) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, F) $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.....110

Figura 51. Voltamogramas de onda quadrada na análise de: A) eletrólito de suporte (TBATFB) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), após adição de reagente colorimétrico Fast Blue B nas concentrações B) $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, C) $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, D) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, E) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ F) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de trabalho de disco de carbono.....111

Figura 52. Voltamogramas de pulso diferencial na análise de: A) eletrólito de suporte (TBATFB) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), após adição de reagente colorimétrico Fast Blue B nas concentrações B) $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, C) $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, D) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, E) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ F) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.....112

Figura 53. Voltamogramas de onda quadrada referente às sucessivas adições de padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ derivatizada com reagente colorimétrico Fast Blue B, utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.....113

Figura 54. Relação da concentração de padrão Δ^9 -THC derivatizada com Fast Blue B com a ipa, utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo pelos resultados obtidos por VOQ114

Figura 55. Voltamogramas cíclicos de sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ derivatizada com reagente colorimétrico Fast Blue B. Eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.....115

Figura 56. Relação da ipa (μA) em função da concentração de padrão Δ^9 -THC derivatizada com Fast Blue B por VC utilizando eletrodo de trabalho de carbono vítreo116

- Figura 57.** Voltamogramas de pulso referencial referentes às sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ derivatizada com reagente colorimétrico Fast Blue B. Eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.....117
- Figura 58.** Relação da ipa (μ A) em função da concentração de padrão Δ^9 -THC derivatizada com Fast Blue B utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo por VPD.....117
- Figura 59.** Análise do extrato de canabinóides de amostra apreendida de maconha (A) e solução padrão de Δ^9 -THC (P) utilizando cromatografia em camada delgada seguida de revelação com Fast Blue B.....119
- Figura 60.** Análise de canabinóides (solução padrão Δ^9 -THC “P”, e de extrato de maconha apreendida pela polícia “A”) utilizando técnica CCD e fase móvel constituída da mistura de solventes polares.....120
- Figura 61.** Voltamogramas de onda quadrada referente às sucessivas adições de Δ^9 -THC/Fast Blue B obtido de amostra de maconha apreendida pela polícia, usando eletrólito de suporte TBATFB em meio N,N-DMF/água, na proporção 9:1 (v/v). Eletrodo de trabalho: disco de carbono vítreo.....122
- Figura 62.** Voltamogramas cíclicos de sucessivas adições de Δ^9 -THC/Fast Blue B obtido de amostra de maconha apreendida pela polícia, usando eletrólito de suporte TBATFB em meio N,N-DMF/água, na proporção 9:1 (v/v). Eletrodo de trabalho: disco de carbono vítreo.....123
- Figura 63.** Voltamogramas de pulso diferencial referente às sucessivas adições de Δ^9 -THC/Fast Blue B obtido de amostra de maconha apreendida pela polícia, usando eletrólito de suporte TBATFB em meio N,N-DMF/água, na proporção 9:1 (v/v). Eletrodo de trabalho: disco de carbono vítreo.....124

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Técnicas recomendadas na análise de drogas de abuso apreendidas.....	43
Tabela 2. Reagentes e materiais utilizados.....	56
Tabela 3. Influência da velocidade de varredura sobre os parâmetros voltamétricos para solução padrão Δ^9 -THC $2,67 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$	78
Tabela 4. Valores de LD, LQ, r e DP obtidos nas diferentes modalidades voltamétricas.....	98
Tabela 5. Comparativo dos valores de b e ipa entre os eletrodos de trabalho para a análise de Δ^9 -THC utilizando VOQ.....	100
Tabela 6. Dados de precisão e exatidão obtidos na análise voltamétrica de solução padrão Δ^9 -THC por VOQ.....	102
Tabela 7. Valores de ipa, concentração do analito dentro da célula eletroquímica (Cc) e concentração da solução estoque Δ^9 -THC obtido do extrato de maconha) por VOQ utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.....	104
Tabela 8. Valores de ipa, C _C e CS (Δ^9 -THC obtido do extrato de maconha) por VOQ utilizando eletrodo de trabalho de disco de platina.....	105
Tabela 9. Comparativo entre os valores obtidos (em triplicata) por VOQ e CLAE na análise quantitativa de Δ^9 -THC em amostra de maconha apreendida pela polícia.....	109
Tabela 10. Valores dos volumes, ipa e concentração do analito derivatizado.....	125
Tabela 11. Dados estatísticos obtidos na análise voltamétrica de Δ^9 -THC (amostra de maconha apreendida) derivatizada com Fast Blue B.....	126

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Δ^9 -THC -tetraidrocanabinol

ΔE_p - variação de potencial

μ - micro ($1,0 \times 10^{-6}$)

μA – microAmpère

μm – micrometros

$\mu mol L^{-1}$ - micromol por Litro

11- OH-THC - 11-hidroxi-tetraidrocanabinol

AVC – acidente vascular cerebral

b – sensibilidade amperométrica da curva

C. – concentração

°C - grau Celsius

CB₁ - receptor canabinóide do subtipo 1

CB₂ - receptor canabinóide do subtipo 2

C_C – concentração da solução dentro da célula eletroquímica

CBD – Canabidiol

CBN - Canabinol

CCD (Thin Layer Chromatography, TLC) - cromatografia em camada delgada

CE - reações químicas precedentes ao processo de transferência de carga

CG (Gas Chromatography, GC) - cromatografia gasosa

CL (Liquid Chromatography, LC) – cromatografia líquida

CLAE (High Performance Liquid Chromatography) - cromatografia líquida de alta eficiência

C_s – Concentração da solução estoque

DAD – Detector de arranjo de diodo

DEA - *Drug Enforcement Administration*

Dm - distância percorrida pelo solvente

ddp – diferença de potencial

DP – Desvio padrão

DPR – Desvio padrão relativo

Ds - distância percorrida pelo soluto

E - potencial

E_{1/2} - potencial de meia-onda

EC - reações químicas antecedentes ao processo de transferência de carga

ECS - eletrodo de calomelano saturado

EM (Mass Spectrometry, EM)- Espectrômetro de massas

E_{pa} - potencial de pico anódico

E_{pc} - potencial de pico catódico

FFCLRP - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

FTIR - (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)- absorção no infravermelho com transformada de Fourier

g - grama

g mol⁻¹ - grama por mol

Hz – Hertz

i = corrente elétrica

ip - corrente de pico

ipa - corrente de pico anódica

ipc - corrente de pico catódica

KCl – cloreto de potássio

kHz - quiloHertz

kg – quilograma

L - Litro

LD - limite de detecção

LQ - limite de quantificação

LSD - ácido lisérgico

MDMA (ecstasy) – metilenodioximetanfetamina

mg - miligrama

mL - mililitros

m/m - massa/massa

mV s⁻¹ - milivolt por segundo

n = replicatas analisadas

N,N-DMF - N-N dimetilformamida

ng – nanograma

nm – nanometros

ONU – Organizações das Nações Unidas

pH - potencial hidrogeniônico

ppm - parte por milhão

r - coeficiente de correlação linear

REC - recuperação

Rf - fator de retenção

s – segundo

(sat.) - saturado

SNC - sistema nervoso central

SD - desvio padrão

SWGDRUG – Scientific Work Group for the Analysis of Seized Drugs

t - tonelada

TBATFB - tetrafluoroborato de tetrabutilamônio

t_r - tempo de retenção

u.a - unidade de área (área de pico)

UNODC - Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime

UTI - unidade de terapia intensiva

UV – ultravioleta

V – volt

v^{1/2} - raiz quadrada da velocidade de varredura

v/v – (volume /volume)

v_a – volume adicionado

VC – voltametria cíclica

Vis - visível

VOQ (Square Wave Voltemmetry, SWV) – Voltametria de onda quadrada

VPD (Differential Pulse Vltammetry, DPV) – Voltametria de pulso diferencial

vs - versus

VVL (Linear Sweep Voltammetry, LSV) - Voltametria de varredura linear

SUMÁRIO

I – INTRODUÇÃO.....	30
I.1 – Drogas.....	30
I.2 – Maconha: um breve histórico.....	30
I.3 – Aspectos químicos da <i>Cannabis sativa</i> L.....	33
I.4 – Aspectos botânicos.....	36
I.5 – O consumo da <i>Cannabis sativa</i> L.....	38
I.5.1 – O efeito psicoativo da maconha no organismo.....	39
I.6 – Análise de Δ^9 -THC por técnicas instrumentais.....	40
I.7 – Análise de drogas de abuso: teste colorimétrico para Δ^9 -THC, CBD e CBN.....	41
I.8 – Sensores eletroquímicos.....	44
I.9 – Voltametria.....	45
I.9.1 – Voltametria Cíclica (VC).....	47
I.9.2 – Voltametria de Varredura Linear (VVL).....	49
I.9.3 – Voltametria de Onda Quadrada (VOQ).....	50
I.9.4 – Voltametria de Pulso Diferencial (VPD).....	51
I.9.5 – Etapa de pré-concentração	52
I.9.6 – Análise de drogas de abuso utilizando técnicas eletroquímicas.....	53
I.10 – Derivatização.....	54
 II – OBJETIVOS.....	 55
 III – PARTE EXPERIMENTAL.....	 56
III.1 – Reagentes e materiais.....	56
III.2 – Instrumentação.....	57
III.3 – Obtenção do extrato de maconha.....	58

III.4 – Etapa de pré-purificação do Δ^9 -THC obtido do extrato de maconha apreendida pela polícia utilizando cromatografia em camada delgada (CCD)	58
III.5 – Preparação da solução do reagente colorimétrico Fast Blue b.....	59
III.6 – Etapa de pré-purificação do Δ^9 -THC obtido do extrato de maconha apreendida pela polícia e derivatizada com reagente colorimétrico Fast Blue b utilizando a técnica CCD.....	60
III.7 – Solução eletrólito de suporte.....	60
III.8 – Preparação da solução Δ^9 -THC padrão (análise voltamétrica)	60
III.9 – Preparação dos eletrodos.....	61
III.10 – Análise Voltamétrica.....	61
III.11 – Tratamento dos dados e análise estatística.....	63
IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
IV.1 – Análise voltamétrica da solução eletrólito de suporte.....	64
IV.2 – Estudo da influência da concentração de Δ^9 -THC por VC e VVL.....	69
IV.2.1- Estudo da influência do tempo de pré-concentração.....	72
IV.2.2 – Estudo do parâmetro velocidade de varredura utilizando eletrodo de trabalho de disco de platina.....	75
IV.3 – Voltametria de pulso diferencial (VPD).....	78
IV.3.1- Análise voltamétrica de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ por VPD utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.....	78
IV.3.1.1 – Estudo da influência do tempo de pré-concentração.....	79
IV.3.1.2 –Influência da concentração de Δ^9 -THC.....	80
IV.3.2 – Análise voltamétrica de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ por VPD utilizando eletrodo de trabalho de disco de platina.....	82
IV.4 – Voltametria de onda quadrada (VOQ).....	84
IV.4.1 – Estudo da otimização dos parâmetros da VOQ utilizando eletrodo de carbono vítreo.....	85

IV.4.1.1 – Etapa de pré-concentração.....	85
IV.4.1.2 – Otimização da amplitude de potencial.....	86
IV.4.1.3 – Otimização da frequência de pulso.....	88
IV.4.1.4 – Estudo da influência da concentração do analito.....	89
IV.4.2 – Ajustes dos parâmetros instrumentais utilizando eletrodo de trabalho de disco de platina.....	91
IV.4.2.1 – Influência do tempo de pré-concentração.....	91
IV.4.2.2 – Otimização da amplitude de potencial.....	92
IV.4.2.3 – Otimização da frequência de pulso.....	94
IV.4.2.4 – Estudo da influência da concentração do analito.....	96
IV.5 – Comparativo entre os valores obtidos nas modalidades voltamétricas VC, VVL, VPD e VOQ utilizando eletrodos de trabalho de disco de carbono vítreo e platina.....	98
IV.6 – Estudo comparativo entre os valores obtidos em VOQ por diferentes eletrodos de trabalho na análise de solução padrão Δ^9 -THC	98
IV.6.1- Repetibilidade e reprodutibilidade.....	100
IV.7 – Análise voltamétrica de solução Δ^9 -THC obtido do extrato de maconha apreendida pela polícia.....	103
IV.8 – Estudo comparativo utilizando a técnica cromatográfica CLAE.....	106
IV.9 – Análise voltamétrica de Δ^9 -THC com reagente colorimétrico Fast Blue B utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.....	109
IV.9.1 – Análise da solução padrão Δ^9 -THC derivatizada com Fast Blue B..	109
IV.9.2 – Obtenção do Δ^9 -THC de amostra de maconha apreendida pela polícia utilizando a técnica cromatográfica CCD.....	118
IV.9.3 – Análise de solução Δ^9 -THC obtida do extrato de maconha apreendida pela polícia e derivatizada com Fast Blue B.....	121
V – CONCLUSÃO.....	127
REFERÊNCIAS.....	129

I - INTRODUÇÃO

I.1 - Drogas

A palavra droga, para uma grande parcela da população, está associada a fatores que envolvem questões de segurança pública, tragédias familiares, saúde pública e aspectos morais [1]. O termo droga é originário do idioma holandês, onde “droog” significa folha seca, matéria-prima à base de folhas de vegetais que eram (e ainda são) responsáveis por várias formulações de medicamentos. Do ponto de vista atual, o termo droga é referido ao caracterizar qualquer substância capaz de modificar a função dos organismos vivos, resultando em mudanças fisiológicas ou de comportamento [2,3]. Em medicina, o termo droga pode se referir a qualquer substância capaz de curar doenças ou proporcionar bem estar físico e mental [3]. Quando o termo ilícito é empregado, se designa em descrever substâncias que estão sob controle internacional (ou de acordo com a proscrição da legislação vigente de cada país). Estas podem ou não ter fins medicinais lícitos e podem alterar o estado de consciência, a percepção e as sensações do indivíduo, estimulando, perturbando ou deprimindo o funcionamento do sistema nervoso central [3]. Podem ser divididas, de acordo com sua ação no sistema nervoso central em: depressoras (barbitúricos, álcool e opiáceos), estimulantes (nicotina, cocaína, crack e anfetaminas), alucinógenas (ácido lisérgico, LSD), perturbadoras (maconha e derivados) e drogas de ação mista, como o ecstasy (MDMA), por exemplo [4].

I.2 – Maconha: um breve histórico

A maconha, nome dado ao vegetal da família *Cannabaceae*, do gênero *Cannabis* e espécie *sativa* L., é considerada a terceira droga mais consumida no mundo, perdendo apenas para o álcool e o tabaco [4-6]. Atualmente, repercute como uma rica e controversa fonte de debate entre a sociedade. Historicamente, estudos arqueológicos realizados na China estimaram que, há 10000 anos, esta planta tenha sido utilizada (além do uso recreacional) para fabricação de cordas, tecidos, artefatos

de decoração e na produção de papéis, bem como a sua utilização na alimentação [7,8]. Zuardi (2006) aponta a utilização da maconha na medicina pelos chineses, sendo indicada no combate ao reumatismo, prisão de ventre, distúrbios do sistema reprodutor feminino e malária [8]. Kundus, Ginawi e Al-Hazimi (2013) apontam que os primeiros registros de utilização da maconha para fins alimentícios e medicinais, recreacionais (e até em cerimônias religiosas) foram utilizados pelos Hindus, na Índia [9].

No Brasil, estima-se que tal droga tenha sido trazida pelos navios que transportavam os escravos africanos durante a fase colonial a partir de 1549. [10, 11] Em seguida, os índios começaram a utilizar para fins recreacionais e, posteriormente, iniciaram seu cultivo. No entanto, a propagação da maconha no Brasil foi expandida por meio de suas indicações terapêuticas/medicinais (era recomendada para mais de 100 doenças, como por exemplo, enxaquecas, tensão pré-menstrual, asma, fadigas etc.), sendo um dos três medicamentos de maior prescrição ao longo do século XIX [10].

A Convenção Internacional sobre o Ópio, realizada na cidade de Haia pela Liga das Nações, em 1912, tratava de ações para proibição e consumo de várias substâncias listadas como psicoativas e suas respectivas matérias primas [12, 13]. As principais substâncias que estavam em pauta eram o ópio, cocaína e análogos. No Brasil, em meados de 1921, foi criado o Decreto n.º 4294, amparado por esta Convenção, onde determinava a punição do comércio de substâncias listadas na classe de entorpecentes. Em 1925, na cidade de Genebra, ocorrera a II Conferência Internacional do Ópio (em Genebra, 1925), com a participação de 46 delegações de diferentes países. A literatura afirma que o representante brasileiro, Pedro Pernambuco Filho, descreveu os efeitos psicoativos da maconha sendo mais nocivos que os efeitos provocados pelo ópio. Em 1931, uma nova Convenção foi realizada, novamente em Genebra, a fim de regulamentar as propostas das Convenções anteriores, onde o processo de criminalização começou a ganhar força [10-13]. Nos Estados Unidos, o plantio da maconha foi proibido a partir de 1937 [14]. Amparada pelo decreto Lei n° 891 do Governo Federal, tornou-se proibido o cultivo, colheita e exploração da maconha em

tudo território nacional [11]. Durante o século XX, houve muitas mudanças sobre a punição do usuário de qualquer tipo de droga ilícita. Somente no século XXI, em 2006, a Lei n. 11343, onde em seu Capítulo III, Art. 28, onde a aquisição, porte, transporte de substância ilícita sem autorização judicial ou em desacordo com determinação legal estará sujeito a advertência sobre os efeitos das drogas, prestação de serviços à comunidade e será encaminhado para comparecimento de programas e/ou cursos educativos como medida educativa. Estas medidas são válidas para quem destina a droga apreendida para consumo pessoal, semeia, cultiva e colhe plantas que causem dependência física ou psíquica. O juiz, com as informações da substância apreendida e de toda etapa de apreensão, além da conduta e antecedentes do agente, decidirá se a quantidade é destinada para consumo próprio ou para fins de comercialização [15].

Nos dias de hoje, é notório o aparecimento de notícias na mídia a respeito da descriminalização do uso da maconha em todo o mundo. Alguns países como a Inglaterra e Itália, adotam medidas semelhantes à do Brasil [16]. Na Holanda, o consumo de maconha é legalizado mediante condições impostas por sua legislação. A maconha pode ser comprada em estabelecimentos cadastrados. Estes, por sua vez, não podem vender bebidas alcoólicas. E, a partir de janeiro de 2013, somente pessoas que residem no país, maiores de 18 anos de idade podem comprar uma quantia equivalente a cinco gramas (5 g). Existe uma tolerância para plantio de, no máximo, cinco variedades de maconha [16, 17]. Recentemente, o Uruguai assinou um decreto que autoriza o Estado a comercializar, cultivar e distribuir a droga para uso recreacional, medicinal e para fins industriais, na produção de papel e tecidos. No entanto, aqueles que pretendem ter acesso por vias legais para consumo devem primeiro, inscrever no programa do *Instituto de Regulación y Control del Cannabis*, se associar em clubes de cultivo (caso queiram plantar para consumo próprio, sendo um limite máximo estabelecido de 6 unidades da planta) ou comprar em estabelecimentos credenciados pelo Governo, como farmácias, por exemplo, onde o consumo é permitido no limite mensal de 40 g por pessoa [18, 19]. Os Estados norte-americanos do Colorado e Washington legalizaram o consumo da maconha para fins medicinais e recreacionais

por meio de plebiscito popular. Os locais de compra são credenciados. Nos dois Estados, a comercialização da droga arrecada impostos [19].

No Brasil, a maconha é também, a droga ilícita mais consumida e, conseqüentemente, a demanda, produção e as apreensões, aumentaram nos últimos anos. No Brasil, entre os anos de 2010 e 2011, cerca de 180 toneladas (t) foram apreendidas. De acordo com os dados apresentados pela Polícia Federal da República Federativa do Brasil, os Estados onde ocorreram as maiores apreensões desta droga, no ano de 2013, se situam em regiões fronteiriças com o Paraguai: Mato Grosso do Sul (85,6 t) e Paraná (76,6 t) [6,20].

A legalização da maconha, utilizada para fins recreacionais, não é unânime por parte da sociedade. Estudos apontam que o consumo da maconha para tal finalidade pode desenvolver problemas de saúde mental [21-22], aumentar a incidência de cáries [23] e causar dependência, se esta estiver acessível aos usuários [24]. Porém, é importante conhecer os aspectos químicos a fim de verificar quais substâncias são maléficas e se há evidências de determinados compostos possuem efeito terapêutico.

I.3 – Aspectos químicos da *Cannabis sativa L.*

De acordo com a literatura, foram encontradas 489 substâncias diferentes nesta espécie, divididos entre hidrocarbonetos, açúcares, esteróides, flavonóides, aminoácidos e compostos de nitrogênio [4, 9, 25]. Uma classe de compostos terpenofenólicos, com 21 átomos de carbono em sua estrutura molecular são listados como canabinóides, totalizando, somente nesta classe, 70 substâncias. Dentre esta classe de canabinóides, o Δ^9 -tetraidrocanabinol (Δ^9 -THC, ou 6,6,9-trimetil-3-pentil-6H-dibenzo[b,d]piran-1-ol), que teve sua estrutura elucidada em 1964 por Gaoni e Mechoulam, é a substância de interesse forense, devido ao seu efeito psicotrópico [25-27]. Alguns fatores podem interferir na concentração desta substância em uma amostra de *Cannabis sativa L.* tais como umidade, tipo de solo, plantio *indoor* ou plantio *outdoor*. A produção de maconha, quando realizada em regiões tropicais, pode

favorecer a concentração de Δ^9 -THC na planta [28]. No Brasil, é constante a realização de operações policiais para identificação e destruição de locais de plantio na região amazônica, onde são localizadas em clareiras por toda a extensão da floresta amazônica [29].

As folhas grandes podem conter de 0,5 a 1 por cento (%), na relação massa/massa (% m/m), 1 a 2 % nas folhas pequenas, 3 a 12 % nos botões florais e 5 a 10% nas brácteas. No entanto, o teor de Δ^9 -THC pode sofrer variações se forem utilizadas diferentes partes da planta. Apreensões de amostra de *Cannabis sativa* L. realizada na Suíça, foram examinadas e os resultados apontaram concentrações que variaram de 2 a 12 % de Δ^9 -THC no material resinoso [30]. Na França, Mura et al. (2006) realizaram estudos que avaliaram o teor da substância entorpecente encontrada na *Cannabis sativa*. Entre os anos de 1993 a 2004, o número de amostras de *Cannabis* apreendidas com menos de 5 % (m/m) de Δ^9 -THC diminuiu significativamente [28]. Durante o mesmo período, as apreensões de amostras contendo 10 a 15 % (m/m) de Δ^9 -THC aumentaram de 1 % para 32 %. Assim, o teor médio de Δ^9 -THC na resina de *Cannabis* disponível no mercado ilícito desta droga, no território francês, foi duplicado [31].

Além do Δ^9 -THC, outros 2 canabinóides (dibenzopiranos) são amplamente estudados e formam o grupo dos canabinóides clássicos: canabinol (CBN) e canabidiol (CBD). O CBN possui efeito agonista (termo farmacológico que se refere à ativação ou inibição da atividade celular) fraco. É considerado produto decorrente da degradação oxidativa de canabinóides (principalmente o Δ^9 -THC e o CBD) presente na *Cannabis sativa* [32]. O CBD é um canabinóide que é amplamente investigado por suas ações terapêuticas [5,8, 31, 32]. Atualmente, a Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA) aceitou discutir sobre a mudança desta substância de proscrita (proibida) para prescrita. Até a presente data, é possível obter autorização desta substância desde que seja apresentada de documentos (laudos médicos, prescrição e um termo de responsabilidade) que comprovem a necessidade do uso do medicamento [33]. A Figura 1 ilustra as estruturas moleculares para o Δ^9 -THC, CBN e CBD.

Figura 1 – Estrutura química do Δ^9 -THC, Canabidiol e Canabinol [34].

A relação entre estes três canabinóides é de suma importância para as indústrias que utilizam a *Cannabis sativa* em seus produtos. Geralmente, a espécie utilizada deve apresentar a classificação tipo-fibra; ou seja, que a concentração máxima de Δ^9 -THC não ultrapasse os limites legais estabelecidos (na Europa, os limites máximos não devem ultrapassar 0,2 %, por exemplo). Valores superiores a 0,3 % de Δ^9 -THC são classificadas como tipo-droga [30]. Para a finalidade recreacional, as plantas fêmeas são mais utilizadas, pois apresentam teores de canabinóides maiores que as plantas macho [4].

Um dos desafios das forças policiais em uma etapa de investigação sobre o tráfico de drogas ilícitas é conhecer a rota de tráfico destas substâncias, origem, destino etc. Alguns estudos concluíram que, na análise de amostras de maconha apreendidas, os isótopos de carbono e nitrogênio podem fornecer informações a respeito da origem de plantio desta espécie [4, 30].

Nos últimos anos, tem se tornado frequente o surgimento de drogas sintéticas. Dentre as mais consumidas, pode-se citar o metilenodioximetanfetamina (MDMA), que foi sintetizada e indicada como redutor de apetite e com a utilização indiscriminada para fins recreacionais e que teve sua primeira proibição em 1977 na Inglaterra [35]. Os canabinóides também possuem suas versões sintéticas. Alves (2013) cita os análogos de droga conhecidos como *Spice* e *K9*, que são uma mistura de ervas que possuem efeito psicotrópico semelhante ao Δ^9 -THC, sendo vendidos em forma de incensos. A fim de potencializar os efeitos, verificou-se que alguns usuários adicionam de canabinóides sintéticos, sendo a substância JWH-018 (iniciais do pesquisador J. W. Huffman, em sua homenagem) como uma das substâncias ativas. No entanto, fragmentos de ciclo-hexilfenol CP-47,497--C8, substância sintetizada pela Pfizer® (no intuito de utilizá-lo como analgésico), foram encontrados [34]. Outros canabinóides sintéticos foram formulados para fins terapêuticos tais como Dronabinol, Cesamet, Nabilone e Savitex [36].

I.4 - Aspectos botânicos

A *Cannabis sativa*, quando cultivada em local com boa propagação de luz e em solo bem drenado pode atingir até 5 m de altura. Suas sementes podem ter um tempo de germinação entre 3 a 7 dias. A variação de incidência de luz solar é essencial no desenvolvimento da planta, podendo ocasionar a indução de floração ou atraso da maturação. Em seu processo de polinização, é necessário uma considerável corrente de ar para que estas possam entrar em contato com as inflorescências da planta feminina, resultando assim na fertilização e conseqüente produção de sementes. Um grande planta fêmea pode produzir até 1 quilograma (kg) de frutos por ano [30, 37]. Seus

caules são fibrosos, eretos, ocos, finos, com estrias longitudinais e raiz axial. As folhas são suavemente ásperas e possui aspecto serrado nas bordas, conforme ilustrado na figura 2 [6]. As flores das plantas femininas diferem da masculina. Os tricomas (estruturas celulares cuja função é proteger a planta de predadores), ilustrados na Figura 3, estão em toda superfície da planta, mas são encontradas em uma maior quantidade nas adjacências das inflorescências da planta feminina e podem servir de referência para constatação da planta por meio da microscopia [30]. O material resinoso produzido a partir das inflorescências é responsável por proteger a planta de desidratação. As plantas masculinas costumam ser mais altas, possuem ramos mais finos e folhas mais longas quando comparada com as plantas femininas [39].

Figura 2 – Flores e folhas típicas da *Cannabis sativa* L. [39].

Figura 3 – Tricomas e frutos típicos da *Cannabis sativa* L. [30,39].

I.5 – O consumo da *Cannabis sativa* L.

Considerando a utilização da *Cannabis sativa* para fins recreacionais, há diferentes formas de consumo, variando de região para região. A mais comum, é consumida na forma de cigarros. Esta forma de utilização da Cannabis pode ser chamada vulgarmente por baseado, fininho, liamba, marijuana, bang, entre outros [9, 30, 39]. Os cigarros de maconha são preparados a partir das folhas. Quanto menor a quantidade de material fibroso, melhor a qualidade do cigarro. Uma versão potencializada deste cigarro consiste na hibridização da *Cannabis sativa* L. (75 %) com outra espécie: a *Cannabis indica* (25%). Esse processo aliado às tecnologias em todas as etapas do cultivo aumenta significativamente os teores de Δ^9 -THC [10]. Outra forma de consumo bastante difundida e com concentração maior de Δ^9 -THC é o haxixe, que tem como matéria prima o material resinoso da Cannabis, sendo recolhido, seco e comprimido, podendo ser fumado ou ingerido. O óleo de haxixe é bastante utilizado em países do oeste asiático e África. Consiste na extração de canabinóides utilizando solventes orgânicos, como o etanol, por exemplo. Possui aspecto viscoso e pode atingir concentração de Δ^9 -THC acima de 15 % [40]. As fibras da Cannabis têm sido estudadas para diversas aplicações na atividade industrial. Na construção civil, está sendo proposta como cimento ecológico. Em outras áreas industriais, a utilização da

Cannabis como uma das matérias primas tem ganhado destaque, por exemplo, na fabricação de cosméticos, na indústria alimentícia (chás, bebidas, massas) e na tecnologia de tecidos. Algumas pesquisas apontam a *Cannabis sativa L.* como uma alternativa como matéria prima na produção de biocombustíveis [41-46].

I.5.1 – Efeito psicoativo da maconha no organismo

A maconha, quando fumada, obtém valores de absorção de Δ^9 -THC em 20%. Seus efeitos (psicológicos e fisiológicos) podem ocorrer após alguns segundos da absorção, estabelecendo-se após poucos minutos. Os efeitos psicoativos do Δ^9 -THC podem ter um tempo de duração em torno de 3 horas, podendo variar de acordo com o organismo, concentração de Δ^9 -THC na droga administrada etc. Os canabinóides são distribuídos pelo organismo rapidamente, atingindo inicialmente cérebro, pulmões, fígado, rins e ovários [47], sendo o Δ^9 -THC biotransformado por reações de hidroxilação, oxidação e conjugação com ácido glicurônico ou glutathione através de enzimas hepáticas, pulmonares e cerebrais, resultando em até 80 produtos de biotransformação tais como o 11-hidroxitetraidrocanabinol (11-OH-THC), o ácido 11-nor- Δ^9 -tetraidrocanabinol carboxílico e ácido 11-nor- Δ^9 -tetraidrocanabinol carboxílico conjugado com ácido glicurônico, que é excretado na urina. Os canabinóides podem ser eliminados do organismo em até 30 dias por meio da metabolização do fígado e excreção urinária e fecal [37, 48].

O Δ^9 -THC age no sistema nervoso central, especificamente em receptores canabinódicos primário (CB_1) e secundário (CB_2). O CB_1 é encontrado no cérebro e tecidos neurais, que são áreas responsáveis pelas atividades motoras, de memória, cognição, emoção, percepção sensorial, em funções endócrinas e autônomas. [37, 49, 50]. Os receptores canabinódicos CB_2 , não são encontrados no cérebro, sendo mais abundantes em macrófagos do baço e células do sistema imunológico [47,50]. A falta de receptores para canabinóides no tronco encefálico explica a baixa letalidade verificada pelo Δ^9 -THC, sendo que o tronco encefálico é responsável pelo controle da

respiração e outras funções vitais. Estima-se que a dose letal em humanos seja 1000 vezes a dose necessária para produzir os efeitos psicoativos. As sensações de euforia, disforia, ansiedade, agravamento de estados psicóticos, distorções das noções de tempo e espaço, sedação, fragmentação de pensamentos, confusão mental, perda de memória, alterações das funções motoras, analgesia, efeito antiemético, aumento do apetite, depressão, as fobias e o transtorno de pânico estão correlacionadas ao sistema nervoso central [49]. Estudos têm apontado a relação de problemas cardíacos (infarto do miocárdio, arritmia cardíaca, por exemplo) relacionados ao uso da maconha quando fumada. Sua administração, associada ao tabaco, pode ocasionar diminuição do fluxo coronário, síndrome de vasoconstrição reversível e consequentemente estes estão associados ao aumento da resistência vascular cerebral, podendo ocasionar assim o acidente vascular cerebral (AVC) [51, 52]. Nos homens, há uma prevalência da motilidade de espermatozoides [53]. A fumaça do cigarro de maconha apresenta valores superiores a 50% de substâncias carcinogênicas, graças a combinação de substâncias tais como esteróides, terpenos, flavonóides, derivados furânicos e alcalóides, que estão presentes na planta e são posteriormente inaladas. Estima-se que o cigarro de maconha é mais perigoso que o cigarro de tabaco comercial sem a adição de filtro [54].

I.6 - Análise de Δ^9 -THC por técnicas instrumentais

Tanto os canabinóides quanto os demais constituintes da maconha podem ser determinados por técnicas tais como cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Técnicas chamadas hifenadas, onde há a união de duas técnicas instrumentais, são amplamente utilizadas. Uma das mais difundidas é sem dúvida, a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) [15]. GC-EM é considerada uma técnica sensível (reportados limites de quantificação, LQ, entre 5 e 20 ng mL⁻¹ para as espécies estudadas) e rápida, podendo ser realizadas análises qualitativa e quantitativa. É uma poderosa ferramenta na elucidação da estrutura química, assinatura química (responsáveis pela informação das características

da droga e outras informações relevantes, como por exemplo, o solo onde a *Cannabis sativa* foi plantada), identificação e microdosagem, tanto em amostras de maconha apreendidas, quanto a análise de seus metabólitos em urina, plasma, tecido adiposo, mecônio, fluido oral e cabelo [4, 14, 30, 37, 47, 48]. Em análises forenses, um recente estudo realizado no Brasil desenvolveu uma metodologia analítica de detecção simultânea de diferentes drogas (cocaína, canabinóides e anfetaminas) em amostras de sangue [55]. A CLAE é outro método instrumental muito utilizado na análise do Δ^9 -THC e demais canabinóides, seja em amostras apreendidas ou em matrizes biológicas, devido à sua robustez e boa sensibilidade. [37, 42, 56]. Ambach et al. (2014) desenvolveram uma metodologia para identificação e quantificação simultânea de CBD, CBN e Δ^9 -THC, utilizando a CLAE com detector espectrofotométrico de arranjo de diodo (DAD) [56].

Os métodos instrumentais cromatográficos (CLAE e CG) apresentam algumas limitações: elevado custo operacional, baixa frequência analítica (4 a 8 análises / hora), necessidade de sucessivas etapas de tratamento prévio de amostras e impossibilidade de aplicação destes equipamentos em trabalhos de campo [44].

I.7 – Análise de drogas de abuso: teste colorimétrico para Δ^9 -THC, CBD e CBN

O teste colorimétrico é considerado um teste presuntivo para constatação de drogas. Este é amplamente utilizado pelas forças policiais de vários países. Os testes colorimétricos indicados para o teste presuntivo de canabinóides são o teste de Duquenois-Levine e o Fast Blue B (sal duplo de cloreto de o-Dianisidina bis (diazotizado) de zinco, $C_{14}H_{12}Cl_2N_4O_2 \cdot ZnCl_2$). Este reagente pode ser utilizado como revelador para análise por cromatografia em camada delgada (CCD). A reação proposta para os canabinóides com o Fast Blue B envolve uma reação de acoplamento, levando a criação de cromóforos com os ingredientes ativos da substância de interesse forense [30, 37, 57]. Após análise por CCD e seguida revelação por Fast Blue B, os

três canabinóides Δ^9 -THC, CBD e CBN, apresentam cores com tons avermelhados, alaranjados e violáceos, respectivamente [30, 57].

Figura 4 – Possível Produto da reação química entre o Δ^9 -THC e o Fast Blue B [57].

Um grande problema dos testes colorimétricos é a falta de robustez científica. Algumas substâncias que não possuem caráter ilícito podem reagir com as substâncias reveladoras e obter coloração semelhante da droga ilícita [70]. Kelly (2008) listou várias folhagens de plantas cultivadas em solo norte-americano que obtiveram resultados semelhantes [58]. Bordin et al. (2013) realizaram um estudo comparativo entre os reagentes colorimétricos Fast Blue B e Duquenois-Levine, utilizando folhagens que apresentaram aspectos morfológicos idênticos ao da *Cannabis sativa*. Os resultados apontaram que o Fast Blue B apresentou uma maior seletividade perante o reagente de Duquenois-Levine. No entanto, recomendam que análises instrumentais sejam realizadas para confirmar se a amostra analisada é, de fato, uma substância proscrita [59]. A partir de 1997, uma ação conjunta envolvendo as Nações Unidas e a *Drug Enforcement Administration* (DEA) padronizaram os exames químicos utilizados para todas as drogas ilícitas. Foram estipuladas categorias de técnicas analíticas na identificação de drogas [60]. Estas foram divididas em 3 categorias: A, B e C, conforme apresentadas na Tabela 1:

Tabela 1 – Técnicas recomendadas na análise de drogas de abuso apreendidas [60].

Categoria A	Categoria B	Categoria C
Espectroscopia do Infravermelho	CG, CLAE e CCD Eletoforese Capilar Espectroscopia de mobilidade iônica	Testes Colorimétricos Imunoensaio Espectroscopia de fluorescência
Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	Identificadores farmacêuticos	Ponto de fusão
Espectroscopia Raman	Testes macroscópicos e Microscópicos (somente para maconha)	Espectroscopia do ultravioleta

Com a tabela escalonada, os critérios necessários para um protocolo de testes de drogas de abuso suficientes para elaborar um laudo definitivo acerca da ilicitude da droga devem obedecer aos seguintes requisitos:

Se uma técnica de classe A for realizada, pelo menos uma de qualquer outra categoria deve ser escolhida; caso as técnicas de categoria A não estejam disponíveis, é obrigatório a realização de pelo menos 2 técnicas diferentes de categoria B e a terceira, B ou C [60, 61].

Mesmo o Brasil seguindo tal recomendação, existe, até a data presente, limitações para que todas as etapas de análise definitiva sejam efetuadas em tempo hábil. Entre 2005 e 2006, dois casos repercutiram na mídia, onde a demora nos testes definitivos resultaram em danos morais e físicos por parte das pessoas acusadas injustamente. O primeiro caso se refere a prisão de uma bióloga, onde policiais suspeitaram que esta portava material ilícito, suspeito de ser derivado de cocaína [62, 63]. De acordo com o teste de *Scott*, que consiste na utilização do tiocianato de cobalto II [Co(SCN)₂]

a 2,5 % , em uma pequena porção da droga suspeita de ser cocaína, acidificada em ácido clorídrico 16%. Caso a amostra apresente coloração azulada, indica que há indícios de que o material suspeito seja cocaína [61]. O teste apresentou tal coloração e 10 dias de prisão foram necessários para que o teste definitivo fosse realizado, comprovando que a amostra suspeita era composta de fluoxetina, utilizada como antidepressivo [62, 63]. Em 2006, um caso que chocou o país por conta da repercussão da mídia, onde uma mãe fora acusada de colocar cocaína misturada ao leite de sua filha de 1 ano e 3 meses, e posteriormente esta viera a falecer. Após 37 dias de prisão, sendo constatado que o “pó branco” encontrado na mamadeira era medicamento a base de fenobrital, já que sua filha tinha uma doença congênita e necessitava de tratamento à base deste medicamento. Durante o tempo em que esteve presa, ela sofreu agressões por parte de outras detentas e teve sequelas irreversíveis como a perda da audição do ouvido direito (decorrente da perfuração deste membro por uma caneta) e o comprometimento da visão do olho direito [62, 63]. Em 2012, ela fora indenizada em um valor fixado em R\$ 15.000,00 e pensão vitalícia de R\$ 414,00 [64].

I.8 – Sensores eletroquímicos

Os sensores são dispositivos capazes de detectar sinais ou receber estímulos de natureza física ou química. O sistema de sensoriamento é constituído por 3 partes: sensor, transdutor ou amplificador e condutor [65]. Tais sensores podem ser ópticos, elétricos, de massa ou térmicos.

Os sensores eletroquímicos baseiam-se em reações de transferência de carga (processos faradâicos) ou em fenômenos de migração de carga (não faradaicas). Estes podem ser sensores ou biossensores, respeitando a sua natureza [66]. Os sensores eletroquímicos têm sido extensivamente aplicados nos setores industrial, farmacêutico, ambiental, dentre outros [67]. Tais sensores podem ser subdivididos em quatro classes principais: sensores potenciométricos, condutométricos e amperométricos e voltamétricos.

Os sensores voltamétricos podem ser utilizados tanto em análises quantitativas quanto em análises qualitativas, na caracterização e no estudo de mecanismo de oxidação e redução. Nestas técnicas, monitoram-se os níveis de corrente em função do potencial [68]. Entretanto, a faixa de varredura é escolhida de acordo com o objetivo, ressaltando que, para análises quantitativas, quanto menor for o potencial (valores próximos a zero) menor serão os problemas com interferentes [69].

I.9 - Voltametria

Voltametria é qualquer método analítico que depende da medida de corrente (i) em função do potencial (E) aplicado. Baseia-se na medida de corrente em uma célula eletroquímica sob condições de completa polarização de concentração, onde a velocidade de oxirredução estará limitada pela velocidade da transferência de massa do analito para a superfície do eletrodo [70]. Os registros de curva corrente/potencial são ilustrados em um voltamograma, que fornecem informações qualitativas e quantitativas sobre as espécies envolvidas em reações de oxidação e redução [71].

Heyrovsky e Kuceras foram os pioneiros a utilizarem métodos eletroquímicos de análise em meados de 1922, utilizando a técnica de polarografia. Em seus estudos, utilizaram um eletrodo gotejante de mercúrio como eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência de calomelano saturado (ECS). Nesta modalidade, dois eletrodos (trabalho e referência) foram utilizados [72].

Atualmente, a instrumentação básica necessária para se realizar as análises voltamétricas consiste na utilização um potenciostato, um dispositivo eletrônico utilizado para determinar as curvas de voltametria de uma amostra dentro da célula eletroquímica, constituída por 3 eletrodos: eletrodo de trabalho, eletrodo de referência e eletrodo auxiliar (ou contra eletrodo) [72, 73]. Dentro da célula eletroquímica, um excesso de um eletrólito não reativo chamado eletrólito de suporte deve ter por característica a ausência de eletroatividade [74]. A corrente monitorada pelo eletrodo

de trabalho se dará mediante adição de espécies eletroativas à célula eletroquímica, com a solução eletrólito de suporte já adicionada, onde poderá ocorrer processo faradaicos [73, 75]. Por meio do potenciostato, é possível variar anódica e catodicamente o potencial de um eletrodo em relação a uma referência. A diferença de potencial (ddp) será controlada variando linearmente com o tempo entre os eletrodos de trabalho e eletrodo de referência. Após ajuste de E e medição de i, o registro da corrente em função do potencial é chamado de voltamograma. Os possíveis processos de oxiredução podem estar relacionados com a concentração do analito presente na interface do eletrodo e conseqüentemente, na célula eletroquímica. A equação 1 ilustra um possível processo típico (que pode ocorrer) em voltametria, onde Ox é a espécie oxidada e R a espécie reduzida [71].

Os eletrodos de referência comumente utilizados são o eletrodo de prata/cloreto de prata, com solução de cloreto de potássio saturado, geralmente, na concentração de $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ (Ag / AgCl, $\text{KCl}_{(\text{Sat})}$) e o eletrodo de calomelano saturado (ECS) [72, 73]. Os eletrodos de Ag / AgCl, $\text{KCl}_{(\text{Sat})}$ são muitas vezes escolhidos por serem práticos e ambientalmente compatíveis (pois não utilizam mercúrio em sua composição), além de possuírem um potencial definido em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio [74].

Os eletrodos de trabalho têm como principal constituinte material condutor de eletricidade tais como ouro, platina, carbono vítreo, grafite e pasta de carbono, por exemplo. Uma vez inserido no sistema eletródico e conectado ao potenciostato, uma transferência de elétrons entre o circuito e o meio no qual está inserido ocorre durante a aplicação de um determinado potencial [75]. Os eletrodos auxiliares, por sua vez, são responsáveis pelo fornecimento de corrente requerida pelo eletrodo de trabalho. Os eletrodos auxiliares mais comuns são constituídos de platina [76].

As modalidades em voltametria variam de acordo com os sinais de excitação: Voltametria cíclica (VC), voltametria de varredura linear (VVL), e voltametria de onda quadrada (VOQ) e voltametria de pulso diferencial (VPD), conforme apresentado na

Figura 5.

Figura 5 – Sinais de excitação em função do tempo para diferentes modalidades voltamétricas [70].

I.9.1 – Voltametria Cíclica (VC)

A VC é considerada uma importante técnica eletroquímica usada em Química Eletroanalítica e se destaca por permitir estudar a eletroatividade de uma determinada substância, sendo amplamente utilizada para elucidar os mecanismos de reação ou na realização de análises quantitativas [77]. Utilizando a VC, é possível realizar varreduras

em uma velocidade constante no sentido anódico e catódico em uma faixa de potencial estabelecida e, instantaneamente, uma varredura no sentido inverso, permitindo assim observar processos de reação das espécies geradas durante a varredura. A reversibilidade da reação eletroquímica estudada está associada à troca eletrônica envolvendo o eletrodo de trabalho e as espécies eletroativas do analito investigado [78-80] e à troca rápida de elétrons entre as espécies redox e o eletrodo; a 25 °C. A diferença entre os potenciais de pico, ΔE_p , deve ser:

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 0,059 n^{-1}, \quad (2)$$

onde E_{pa} é o potencial de pico anódico, E_{pc} é relativo ao potencial de pico catódico e n , ao número de elétrons envolvidos na semi-reação [66, 73]. Em reações irreversíveis, as cinéticas de transferência de elétrons resultam em valores de ΔE_p que excedem os valores previstos. Em uma análise voltamétrica utilizando a VC em velocidades baixas, uma transferência de elétrons pode parecer reversível. No entanto, o aumento da velocidade de varredura pode aumentar os valores de ΔE_p , e conseqüentemente, apontar para irreversibilidade. As informações quantitativas são obtidas a partir da equação (3) de Randles-Sevcik, que a 25 °C é:

$$i_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} A \underline{C} D^{1/2} v^{1/2} \quad (3)$$

onde i_p é a corrente de pico (μA), A corresponde a área do eletrodo em centímetros quadrados (cm^2), D refere-se ao coeficiente de difusão em $cm^2 s^{-1}$, $\underline{C}$ equivale à concentração em mol/cm^3 e v é a velocidade de varredura em Volt por segundo, $V s^{-1}$ [35, 66, 70, 73, 80].

Figura 6 – Voltamograma cíclico de um processo redox reversível [80].

I.9.2 – Voltametria de varredura linear (VVL)

A técnica mais simples é a VVL, comparada as demais modalidades voltamétricas. A variação de potencial é aplicada de forma linear em um determinado intervalo de tempo estudado. A VVL fornece informações qualitativas e quantitativas, na identificação espécies desconhecidas e mecanismos de reação [72, 81]. A Figura 7 ilustra um voltamograma típico de VVL.

Figura 7 – Voltamograma linear e perfil de uma rampa de potencial.

I.9.3 – Voltametria de onda quadrada (VOQ)

Esta modalidade voltamétrica foi desenvolvida em 1957 por Baker. Sua vantagem é a rapidez e sensibilidade. A técnica consiste em uma onda quadrada simétrica sobreposta a uma rampa de potencial em forma de degraus, onde o pulso direto da onda quadrada deva coincidir com o início do degrau da rampa e o pulso reverso da onda quadrada com a metade da etapa da rampa em degraus conforme apresentado na Figura 5, onde: τ representa o tempo de um ciclo de onda quadrada; $1/\tau$ equivale à frequência da onda quadrada, em Hertz (Hz); E_{sw} corresponde à amplitude de pulso da onda quadrada em mV; E_{tapa} representa o potencial em mV da etapa de rampa de potencial em degraus e $2E_{sw}$ é a amplitude de pico a pico da onda quadrada em miliVolt (mV). Esse artifício contribui para que a corrente capacitiva (não desejada) seja minimizada [72, 82-83].

Figura 8 a) - Etapas sequenciais do potencial versus tempo para VOQ; b) – parâmetros de tempo e potencial aplicado em VOQ; c) corrente resultante [72].

I.9.4 - Voltametria de pulso diferencial (VPD)

A VPD consiste em pulsos de amplitude fixos (entre 10 a 100 mV) sobrepostos a uma rampa de potencial crescente aplicado ao eletrodo de trabalho [70]. Tem como vantagem a discriminação da corrente faradaica da corrente capacitiva (não desejável), onde as medidas de corrente são realizadas antes e depois da aplicação de potencial. O valor final da corrente é a diferença entre esses dois valores medidos, compensando a corrente capacitiva devido aos valores nos dois pontos onde a corrente é amostrada; estão muito próximos e separados de dois valores de potenciais por cerca de 50 a 100 mV; ou seja, o valor da amplitude do pulso superposto, dando origem ao voltamograma. Os pulsos de potencial podem ser realizados em intervalos de tempo

curtos (em torno de 17 milissegundos, ms) são definidos pela varredura de potencial utilizada. Geralmente, a VPD fornece voltamogramas com picos bem definidos e sensibilidade considerável [70-72, 81, 84].

Figura 9 - Sinal do potencial de excitação em função do tempo e voltamograma de pulso diferencial [71].

I.9.5- Etapa de pré-concentração

A sensibilidade das técnicas eletroquímicas está relacionada com a natureza, características do eletrodo de trabalho utilizado, a eletroatividade e a solubilidade do analito, a natureza do transporte de massa e o tempo de pré-concentração, por exemplo. A etapa de pré-concentração é resultante da acumulação eletrostática (apenas pela atração de cargas) na superfície do eletrodo. Alguns parâmetros devem ser ajustados tais como o tempo de pré-concentração fixado e um determinado potencial aplicado. Esta etapa poderá favorecer um sinal de corrente maior do que aquele que seria obtido a partir da difusão das espécies vindas do seio da solução. O limite de detecção pode atingir valores na ordem de $1,0 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ [79, 84-85].

I.9.6 – Análise de drogas de abuso utilizando técnicas eletroquímicas

Sabe-se que alguns Estados brasileiros enfrentam dificuldades devido à falta de recursos necessários para realização de exames confiáveis para detecção de drogas e abuso [86]. Alguns departamentos de polícia recentemente têm recebido materiais para realização de exames por CCD [87]. Com o intuito de amenizar os custos e o tempo de análise, com resultados respaldados por técnicas instrumentais que apresentem robustez científica, as técnicas eletroquímicas têm sido amplamente utilizadas em aplicações no desenvolvimento de novas metodologias para detecção de drogas ilícitas, como cocaína, maconha e ecstasy e ácido lisérgico (LSD). Por exemplo, para realizar a análise eletroquímica de cocaína, o Laboratório de Química Analítica e Química Forense, situada no Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP), na cidade de Ribeirão Preto, SP, desenvolveu um procedimento que utiliza eletrodos de trabalho de platina, carbono vítreo e de pasta de carbono quimicamente modificado com filmes constituídos de bases Schiff [88-89]. Em 2009, o eletrodo de platina foi quimicamente modificado com hexacianoferrato de cobalto para realizar uma análise qualitativa e quantitativa de cocaína em amostras apreendidas [90].

No entanto, o interesse por desenvolver metodologias utilizando técnicas eletroquímicas em na análise de drogas iniciou-se a partir de 1990. Abedul et al. (1991) realizaram um estudo utilizando eletrodo de trabalho de pasta de grafite, acoplado em um sistema de injeção em fluxo com detecção amperométrica, onde foi registrado um potencial de detecção de 1,0 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat.), sendo obtido um intervalo linear de resposta para a variação de concentração entre $2,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, um limite de detecção (LD) entre $2,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ e uma frequência analítica de 60 análises/hora [91]. Para análise de canabinóides, Goodwin et al. (2006) descreveram o uso de um eletrodo de trabalho de grafite pirolítico modificado por deposição de camada de pasta de carbono, onde foi realizado um ensaio com saliva artificial para detectar a presença de Δ^9 -THC [92]. Em 2012, um estudo investigou a análise direta de Δ^9 -THC (solução padrão e amostras de haxixe e maconha apreendidas

pela polícia), utilizando eletrodo de trabalho de carbono vítreo e voltametria de varredura linear (VVL) [93]. Ao utilizar a voltametria de onda quadrada (VOQ), um estudo comparativo envolvendo dois eletrodos de trabalho convencionais foi investigado para detecção de vestígios de Δ^9 -THC [94]. Novak et al. (2013) desenvolveram uma metodologia para detectar canabinóides em produtos alimentícios, utilizando eletrodo de grafite com micropartículas impregnadas em parafina [95]. Técnicas voltamétricas têm sido utilizadas na investigação de drogas sintéticas tais como o ecstasy e LSD [35, 96, 97]. Tadini et al. (2013) realizaram uma modificação química do eletrodo de trabalho de carbono vítreo utilizando filme de cucurbit[6]urila e Nafion (em meio orgânico metanol), proporcionando bons resultados para a detecção de ecstasy [96]. Um estudo utilizando voltametria adsortiva de redissolução foi realizado para detectar LSD em diferentes matrizes biológicas, como cabelo, plasma e urina. O método desenvolvido mostra-se seletivo para a molécula do LSD, uma vez que, se a droga for administrada em conjunto com outras drogas, a técnica voltamétrica consegue detectar o LSD mesmo se a concentração do interferente for 50 vezes maior [97].

I.10 - Derivatização

A modificação de uma espécie química dá origem a um derivado com características mais adequadas em um determinado processo analítico. É um procedimento bastante comum em análise química. Essa modificação é, em geral, conseguida por meio de uma ou mais reações químicas, utilizando reagentes apropriados para que o composto resultante seja relacionado com o composto original que se pretende analisar. Tal procedimento denomina-se genericamente derivatização e os reagentes químicos responsáveis pela formação dos derivados denominam-se agentes derivatizantes [98]. Até a presente data, não foram reportados trabalhos que utilizem técnicas eletroquímicas para a análise de Δ^9 -THC derivatizado com reagente colorimétrico Fast Blue B.

II – OBJETIVOS

Os objetivos desse trabalho foram:

Realizar análise voltamétrica nas modalidades cíclica, linear, pulso diferencial e onda quadrada em amostras de Δ^9 -THC da solução padrão e extraído de maconha pré-purificada por CCD e checar a eletroatividade e a sensibilidade da metodologia proposta utilizando eletrodos de trabalho de disco de carbono vítreo e platina;

Utilizar protocolo de análise de presunção e constatação de canabinóides adotado pelas forças policiais utilizando a técnica CCD seguida de revelação colorimétrica com Fast Blue B para e verificar por voltametrias a eletroatividade da molécula derivatizada;

Verificar a eficácia da VC realizando um estudo comparativo com folhagens de plantas que produziram coloração semelhante aos canabinóides no teste colorimétrico e verificar o perfil eletroquímico dos extratos destas plantas e confrontá-los com os resultados para análise de Δ^9 -THC.

III - PARTE EXPERIMENTAL

III.1 – Reagentes e materiais

Os reagentes e materiais utilizados em todas as etapas deste trabalho (purificação, separação do Δ^9 -THC da amostra apreendida de maconha, dissolução da amostra padrão de Δ^9 -THC, preparação do eletrólito de suporte, análises cromatográficas, extração das folhagens de diferentes plantas utilizadas no teste colorimétrico e voltamétrico) estão listados na Tabela 2.

Tabela 2 - Reagentes e materiais utilizados.

Reagente/produto	Fórmula molecular	M. molar (g mol ⁻¹)	Pureza %	Procedência
Acetona	C ₃ H ₆ O	58,08	99,5	Merck
Acetonitrila	C ₂ H ₃ N	41,05	99,9	Merck
N-N DMF	C ₃ H ₇ NO	73,09	99,9	Merck
Fast Blue B	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₂ Cl ₂ ZnCl ₂	475,47	95,0	Fluka
Hexano	C ₆ H ₁₄	86,18	95,0	J.T. Baker
Isooctano	C ₈ H ₁₈	114,23	99,5	Merck
Metanol	CH ₃ OH	32,04	99,5	Merck
Tetrafluoroborato de tetrabutilamônio	(C ₄ H ₉) ₄ N(BF ₄)	329,27	99,0	Sigma-Aldrich
Padrão Δ^9 -THC (em metanol)	C ₂₁ H ₂₆ O ₂	314,47	99,9	Cerilliant
Nitrogênio Gasoso	N ₂	28,0	Industrial	White Martins
Papel filtro 28 µm	-----	-----	Quantitativo	J. Prolab
Unidade filtrante 0,45 µm	-----	-----	-----	Whatman
Cromatoplaça Sílica/UV 254 nm	SiO ₂	-----	-----	Fluka

III.2 – Instrumentação

Para o processo de rotaevaporação, foi utilizado um rotaevaporador da marca BÜCHI®, modelo Waterbath B-480. As pesagens foram realizadas em uma balança analítica Mettler Toledo AB-204. As análises voltamétricas foram realizadas majoritariamente utilizando potenciostato μ Autolab® III (Echo Chimie, Utrecht, Holanda), acoplado em um microcomputador e software GPES® 4.0. Algumas análises voltamétricas foram realizadas utilizando potenciostato PGSTAT® 128 N (Echo Chimie, Utrecht, Holanda), acoplado em um microcomputador e software NOVA® 1.8. Os analitos foram acondicionados em células eletroquímicas constituídas de vidro, com capacidade volumétrica de trabalho em 10 mL, uma tampa com orifícios para sistema de 3 eletrodos e purga de N_2 (Figura10). Os eletrodos de trabalho utilizados foram: disco de carbono vítreo comercial, disco de platina comercial, ambos de 3 mm de diâmetro, marca Metrohm. O eletrodo de referência Ag/AgCl, $KCl_{(sat.)}$ e auxiliar de platina (espiral e liso). As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas utilizando cromatógrafo Thermo Dionex Ultimate 3000 com detector DAD acoplados em um microcomputador, coluna cromatográfica ACE 5 C-18 250 x 4,6 mm. As soluções que foram submetidas em banho de ultrassom utilizando um dispositivo da marca Quimis, com frequência de 40 quiloHertz (KHz).

Figura 10 – Célula eletroquímica e tampa com compartimento para 3 eletrodos.

III.3 – Obtenção do extrato de maconha

Todo processo de extração e análise do Δ^9 -THC obtido por meio da amostra de maconha apreendida pela polícia foi realizado no Laboratório de Toxicologia Forense do Instituto de Criminalística - Núcleo de Perícias Criminalísticas de Ribeirão Preto. Uma amostra de maconha apreendida, com massa total de 1,0 g, foi transferida para um béquer de 10 mL. O solvente metanol foi utilizado para obtenção do extrato, sendo adicionado uniformemente em toda superfície da amostra. O extrato, de coloração verde, foi filtrado com auxílio de um funil de vidro e papel filtro. O filtrado foi acondicionado em um recipiente de vidro escuro devidamente tampado. Para a etapa do estudo comparativo entre a técnica voltamétrica VOQ e CLAE, foram utilizadas 30 mg de amostra de maconha apreendida pela polícia, sendo estas divididas igualmente em 20 mg para análise de VOQ (10 mg para análise utilizando eletrodo de disco de carbono vítreo e 10 mg para o mesmo estudo utilizando eletrodo de disco de platina) e 10 mg para análise por CLAE.

III.4 - Etapa de pré-purificação do Δ^9 -THC obtido do extrato de maconha apreendida pela polícia utilizando cromatografia em camada delgada (CCD)

As cromatoplasas utilizadas eram do tipo comerciais, com a fase estacionária de sílica (SiO_2), nas dimensões 20 x 20 cm, com detecção sob luz ultravioleta (UV) e suporte de alumínio. As cromatoplasas foram recortadas no tamanho 5 x 10 cm (4 raias de 1 cm cada). A ativação das cromatoplasas foi realizada por aquecimento em 105 °C em 30 minutos. Após o processo de ativação, adicionou-se, na primeira raia, 10 μL de padrão Δ^9 -THC. O extrato foi adicionado sobre as demais raias devidamente marcadas. Em seguida, adicionou-se em uma cuba (tampada) de 12 cm de altura cerca de 10 mL de fase móvel, composta pela mistura de hexano, acetona e metanol, na proporção 87:10:3 (v/v). As cromatoplasas utilizadas foram adicionadas à cuba com

uma angulação mais próxima de 90° com a parte inferior da cuba. A adsorção (por capilaridade) da fase móvel na cromatoplaça foi observada. O tempo de corrida foi verificado na faixa de 25 minutos. Após o término da etapa experimental CCD e posterior secagem das cromatoplaças, utilizou-se uma lâmpada ultra-violeta (UV) de comprimento de onda próximos a 260 nm para revelação das placas. Outra técnica utilizada para revelação foi a aplicação de uma quantidade muito pequena de Fast Blue B em uma área inferior a 0,1 cm nas duas extremidades da cromatoplaça (padrão e extrato). Tal procedimento pode ser uma alternativa em casos em que não haja disponibilidade da lâmpada de UV (260 nm). Após a verificação das manchas e do Rf (fator de retenção), foi realizada a raspagem da sílica contida na cromatoplaça somente nas regiões de interesse, onde continha o Δ^9 -THC e o canabinol. Esta sílica foi condicionada, tratada com 100 mL de N,N-DMF em constante agitação, para máxima extração do analito contido. Novamente realizou-se CCD, utilizando 10 μ L do solvente contido na sílica e 10 μ L de padrão Δ^9 -THC. Após a comprovação da presença da substância de interesse, utilizou-se a técnica de filtração (processo realizado em triplicata). Recolheu-se o filtrado, evaporou-se o solvente com auxílio de um rotaevaporador. Este processo foi repetido até obter massa de aproximadamente 10 mg de Δ^9 -THC e canabinol, sendo estas, em seguida, diluídas em 289 mL em N,N-DMF. As soluções foram homogeneizadas e armazenadas em balões volumétricos.

III.5 - Preparação da solução do reagente colorimétrico Fast Blue B

A solução de Fast Blue B, na concentração $5,26 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, foi preparada após pesagem de 25 mg de Fast Blue B utilizando uma balança analítica, sendo posteriormente adicionado em um balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, foram adicionados 5 mL de água deionizada. A solução foi homogeneizada e completada com água deionizada até a marca do menisco. Para revelação das cromatoplaças, utilizou-se um borrifador para aplicação. Para a análise direta de canabinóides e

possíveis interferentes, foram adicionados 0,5 g do analito (macerado em N,N-DMF) em um tubo de ensaio contendo 5 mL de solvente orgânico N-N DMF, seguido da adição de 10 mg de Fast Blue B. A possibilidade de mudança de cor proveniente da reação entre os extratos e a solução de Fast Blue B foi registrada por meio de fotografia.

III.6 - Etapa de pré-purificação do Δ^9 -THC obtido do extrato de maconha apreendida pela polícia e derivatizada com reagente colorimétrico Fast Blue B utilizando a técnica CCD

Este procedimento foi repetido (como citado no item III.4) na separação de Δ^9 -THC revelado com reagente colorimétrico Fast Blue B após borrifação desta solução às cromatoplacas. Uma solução de cor avermelhada, coloração característica da reação de acoplamento do Δ^9 -THC com o Fast Blue B foi verificada.

III.7 – Solução eletrólito de suporte

A preparação da solução de eletrólito de suporte 0,1 mol L⁻¹ foi realizada mediante adição de 25 mL de solvente N,N-DMF até completar o balão volumétrico de 25 mL com 0,66 g do sal tetrafluoroborato de tetrabutilamônio (TBATFB). A solução foi homogeneizada e desoxigenada por fluxo de N₂ durante 15 minutos.

III.8 – Preparação da solução Δ^9 -THC padrão (análise voltamétrica)

Em relação ao Δ^9 -THC padrão comercial Cerilliant[®], este possui concentração de 3,2 x 10⁻⁶ mol L⁻¹. Cabe ressaltar que este padrão é utilizado exclusivamente para análises laboratoriais e fins de pesquisa. Para análise voltamétrica, optou-se remover o

metanol presente no analito pela etapa de rotaevaporação e adicionar 25 mL de N,N-DMF. A concentração obtida da solução padrão foi de $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

III.9 – Preparação dos eletrodos

Os eletrodos de trabalho foram preparados previamente por polimento com alumina (de granulometria equivalente a $0,05 \mu$) até que a superfície (de contato com a solução eletródica) dos eletrodos apresentasse um aspecto espelhado. Em seguida, os eletrodos foram lavados com água deionizada. Os eletrodos auxiliares foram inspecionados verificando suas conexões e lavados com água deionizada. A Figura 11 ilustra os eletrodos utilizados no desenvolvimento desta pesquisa.

Figura 11 – Eletrodos de trabalho (disco de carbono vítreo e disco de platina), eletrodo de referência Ag/AgCl, $\text{KCl}_{(\text{sat.})}$ e eletrodo auxiliar de platina em espiral.

III.10 – Análise voltamétrica

As modalidades voltamétricas utilizadas nas análises foram: VC, VVL, VOQ e VPD. Por meio das modalidades voltamétricas, foram realizadas a análise da solução de eletrólito, da solução padrão de Δ^9 -THC (padrão e extrato obtido de maconha apreendida pela polícia, pré-purificados por CCD) extraído após análise por CCD. As curvas voltamétricas foram obtidas por voltamogramas cíclicos, lineares, de onda quadrada e pulso diferencial; ou seja, de acordo com a modalidade aplicada. Dois diferentes eletrodos de trabalho foram utilizados para tais análises: disco de platina e

disco de carbono vítreo, sendo este último utilizado nas análises complementares de possíveis interferentes para o teste presuntivo de maconha utilizando extrato de diferentes folhagens encontradas em solo brasileiro. O estudo voltamétrico foi realizado a fim de se obter resultados referentes à sensibilidade dos eletrodos de trabalho frente à molécula do Δ^9 -THC, influência da concentração do analito e velocidade de varredura, faixa de potencial e investigação da etapa experimental de pré-concentração. As análises voltamétricas envolvendo solução padrão Δ^9 -THC e extrato obtido de maconha apreendida foram feitas em pH 7. Todas as soluções foram desoxigenadas com fluxo de N_2 por 15 minutos cada.

A Figura 12 ilustra todas as etapas do procedimento de análise (da solução padrão Δ^9 -THC e amostra apreendida de maconha) simplificado:

Figura 12 – Procedimento simplificado da análise voltamétrica de Δ^9 -THC padrão e obtido de amostra purificada de maconha apreendida pela polícia.

III.11 – Tratamento de dados e análise estatística

O tratamento dos dados referente aos voltamogramas, curvas analíticas e análises estatísticas foi realizado com o auxílio dos softwares Microcal Origin[®] nas versões 6.0 e 8.0.

IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1 – Análise voltamétrica da solução eletrólito de suporte

O eletrólito é uma substância condutora que possui uma condutividade maior do que o solvente utilizado. O termo eletrólito de suporte (ou eletrólito suporte) é designado quando uma solução é preparada com uma determinada substância condutora em concentração 100 vezes maior que a do analito (nesse caso, a espécie eletroativa) com a finalidade de proporcionar a manutenção da força iônica (contribuindo assim para uma melhor condutividade) e constante da solução [75]. Um eletrólito de suporte adequado se caracteriza por sua alta solubilidade, elevado grau de dissociação e ser estável química e eletroquimicamente no solvente a ser empregado, além de não ser eletroativo na faixa de potencial aplicada [75,99].

O eletrólito de suporte TBATFB 0,1 mol L⁻¹ em meio misto (N,N-DMF/água, na proporção 9:1, v/v) foi investigado eletroquimicamente para verificação de possíveis interferentes contidos na solução, bem como a possível sensibilidade dos eletrodos de trabalho à solução sem a adição de Δ^9 -THC. Os eletrodos de disco de carbono vítreo e platina foram escolhidos como eletrodos de trabalho, sendo o eletrodo de referência Ag / AgCl, KCl_(sat) e o eletrodo auxiliar de platina. Para realização deste estudo, foram adicionados 5 mL da solução eletródica em uma célula eletroquímica. Novamente aplicou-se um fluxo de N₂ à amostra em um intervalo de 15 minutos. Tal processo é necessário para remoção de oxigênio (O₂) eletroativo que pode se encontrar dissolvido em solução.

Utilizando a modalidade VC, foi aplicado o potencial de varredura aplicado em -0,5 V vs Ag / AgCl na fase de pré-concentração e a velocidade de varredura em 100 mV s⁻¹. A faixa de potencial de varredura foi aplicada entre - 0,9 a 0,9 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat) e tempos de pré-concentração entre 0 e 100 segundos para ambos os eletrodos de trabalho. De acordo com a Figura 13 (“a” e “b”), os voltamogramas cíclicos para o eletrólito de suporte não resultaram em registros de eletroatividade (picos de corrente

faradaicas) mesmo variando alguns parâmetros tais como tempo de pré-concentração e potencial aplicado na pré-concentração quando comparado com a literatura [93].

Figura 13 – Voltamogramas cíclicos referentes a análise do eletrólito de suporte (TBATFB) 0,1 mol L⁻¹ em meio misto N,N-DMF/água (9:1, v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo (a) e disco de platina (b); velocidade de varredura em 100 mV s⁻¹.

Esperando verificar a inexistência de ipa em torno de $0,0 \text{ V vs Ag/AgCl, KCl}_{(\text{sat.})}$, a solução do eletrólito de suporte foi submetida à análise voltamétrica utilizando a VOQ. Esta modalidade, devido à sua melhor sensibilidade quando comparada com voltametria cíclica, foi estudada em uma faixa de potencial entre $-0,4$ a $1,2 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat.})}$, potencial de pré-concentração em -0.5 V em diferentes tempos (de 0 a 100 segundos), amplitude de potencial aplicada em 100 mV e frequência de 12 Hz . A Figura 14 (“a”, para eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo e “b” para eletrodo de trabalho de disco de platina) apresenta voltamogramas de onda quadrada. Na faixa investigada, novamente, não foram observados picos de corrente faradaica.

Por fim, o eletrólito de suporte foi analisado por VPD. A faixa de potencial estudada foi entre $-0,4$ a $1,2 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat.})}$, amplitude do potencial de pulso ajustada em 100 mV , tempo de duração de pulso em 50 m s^{-1} velocidade de varredura em 10 mv s^{-1} . De acordo com a Figura 15, os voltamogramas registrados não apresentaram corrente de pico faradaicas quando os eletrodos de trabalho de disco de carbono vítreo (a) e platina (b) foram utilizados.

Figura 14 – Voltamogramas de onda quadrada referentes a análise do eletrólito de suporte (TBATFB) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio misto N,N-DMF/água (9:1, v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo (a) e disco de platina (b). Potencial de amplitude em 100 mV; frequência, 12 Hz.

Figura 15 – Voltamogramas de pulso diferencial referentes à análise do eletrólito de suporte (TBATFB) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio misto N,N-DMF/água (9:1, v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo (a) e disco de platina (b). Amplitude de potencial de pulso em 50 mV; velocidade de varredura em 50 mv s^{-1} .

As etapas voltamétricas do eletrólito de suporte foram propostas para serem realizadas antes das análises voltamétricas futuras envolvendo os analitos, a fim de certificar-se da ausência de espécies eletroativas decorrentes de contaminação, por exemplo.

IV.2 – Estudo da influência da concentração de Δ^9 -THC por VC e VVL

Esta etapa de análise foi realizada com a finalidade de investigar a sensibilidade do eletrodo de trabalho de platina frente à molécula de Δ^9 -THC, visto que a sensibilidade do eletrodo de trabalho de carbono vítreo fora descrita na literatura [93,99]. O primeiro passo foi utilizar a VC para investigar a sensibilidade através de possíveis corrente de pico anódica (ipa) e catódica (ipc). O registro da primeira ipa (bem definido) surgiu após fixar o potencial de pré-concentração em -0,5 V em 30 segundos, faixa de potencial de varredura entre -0,5 a 0,5 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat). Em faixas de potenciais mais extensas não foram observados outros picos. A velocidade de varredura aplicada foi de 100 mV s⁻¹. No entanto, esta etapa foi investigada posteriormente. A adição inicial do analito à célula foi de 10 µL e a final de 1,3 mL. De acordo com os voltamogramas apresentados na Figura 16, foi observado o aumento de ipa proporcional ao aumento da concentração de Δ^9 -THC. Quando o eletrodo de trabalho de disco de platina foi utilizado, observou-se a sensibilidade deste frente à molécula de Δ^9 -THC com ipa definido em -0.02 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat) a partir da concentração de $1,3 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ de Δ^9 -THC padrão. Não foram observados ipc na região estudada. A ipa em -0,02 V pode ser decorrente do processo de eletro-oxidação do grupo fenólico presente na molécula de Δ^9 -THC, em um processo eletroquímico envolvendo um elétron, conforme a Figura 17.

Figura 16 - Voltamogramas cíclicos de sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrólito de suporte (TBATFB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de platina e velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} .

Figura 17 – Processo de oxidação eletroquímica proposto para Δ^9 -THC durante análise eletroquímica [93].

A técnica VVL foi proposta para a investigação da influência da concentração do analito em função da corrente (μA), com adições sucessivas do padrão Δ^9 -THC e influência da velocidade de varredura. As condições experimentais propostas foram: potencial aplicado na etapa de pré-concentração em $-0,5 \text{ V}$ versus Ag / AgCl , faixa de potencial de varredura entre os intervalos de $-0,4$ a $0,4 \text{ V}$ versus Ag / AgCl e velocidade de varredura ajustada em 100 mV s^{-1} . A adição inicial foi de $10 \mu\text{L}$ e a final

de 1,8 mL. De acordo com os voltamogramas apresentados na Figura 18, foi observado o aumento de ipa em -0,02 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat) proporcional ao aumento da concentração de Δ^9 -THC. No entanto, foi observado aparecimento de pico definido, a partir da adição de 180 μ L de Δ^9 -THC padrão $1,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

Figura 18 - Voltamogramas lineares de sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de platina e velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.

A investigação da solução padrão de Δ^9 -THC em sucessivas adições forneceu dados para a obtenção da curva analítica. Esta foi construída pelos valores da ipa em função da concentração de Δ^9 -THC no interior da célula eletroquímica. De acordo com a curva analítica apresentada na Figura 19, os valores calculados para o coeficiente de correlação linear (r) e desvio padrão (DP) foram 0,994 e 0,416 μ A, respectivamente. Sua correspondente equação foi:

$$\text{ipa} = -0,35 \mu\text{A} + 4,33 \times 10^7 \mu\text{A} / \text{mol L}^{-1} C.(\Delta^9\text{-THC}) \quad (4)$$

tais resultados permitem um limite de detecção (LD) equivalente a $2,9 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, com base na relação de 3 DP / b (onde b é a sensibilidade

amperométrica da curva) e o limite de quantificação (LQ), na relação de 10 DP / b, apresenta valores em $9,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

Os valores reportados em literatura para os valores de LD e LQ (quando a mesma técnica é aplicada utilizando eletrodo de trabalho de carbono vítreo) estão abaixo dos valores obtidos quando o eletrodo de trabalho de disco de platina é utilizado; ou seja, os valores de LD e LQ quando o eletrodo de trabalho de disco de platina é utilizado são 26,3 e 26,7 vezes maiores, respectivamente [99].

Figura 19 – Estudo do efeito da concentração de $\Delta^9\text{-THC}$ na resposta voltamétrica (VVL) utilizando eletrodo de trabalho de platina .

IV.2.1 – Estudo da influência do tempo de pré-concentração

Após a verificação da sensibilidade do eletrodo trabalho de disco de platina frente à molécula de $\Delta^9\text{-THC}$, foi proposta a investigação do efeito do tempo de pré-concentração do padrão em diferentes tempos para comparação do comportamento do eletrodo de trabalho de disco de platina com os resultados do eletrodo de trabalho de carbono vítreo, já reportado em literatura [93,99].

A etapa de pré-concentração é a acumulação eletrostática pela atração de cargas otimizando assim o sinal voltamétrico, pois em concentrações muito baixas pode ocorrer diminuição da corrente faradaica [73]. De acordo com a Figura 20, a análise de $5,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de padrão Δ^9 -THC foi realizada aplicando-se um potencial de pré-concentração em $-0,5 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$, evidenciando que o acúmulo da espécie eletroativa na superfície do eletrodo foi otimizado em potenciais mais negativos (anódicos). Estudos prévios (entre 0 a $-1,2 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$) indicaram que potenciais mais negativos que $-0,5 \text{ V}$ não proporcionaram melhores resultados. A faixa de potencial de varredura foi entre $-0,5$ a $0,5 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$. Os voltamogramas apresentam picos de oxidação em $-0,02 \text{ V vs Ag / AgCl}$, mesmo sem tempo de pré-concentração. Verifica-se o aumento da corrente de pico a medida que se aumenta a concentração do analito. O aumento entre 30 segundos é em torno de 3,27 vezes quando comparado com o início (0 segundos). Entre 30 a 80 segundos de pré-concentração, o aumento do valor de ipa foi de $6,85 \mu\text{A}$. Entre estes intervalos, um possível processo de saturação do eletrodo pode ter ocorrido [100]. Segundo a literatura, na análise direta de compostos fenólicos, o processo eletroquímico de oxidação pode formar produtos responsáveis pela passivação tais como o radical fenóxi [101-107]. Em 120 segundos, foi observado aumento do valor de ipa em $4,75 \mu\text{A}$. O tempo de pré-concentração em 30 segundos foi considerado ideal para análises voltamétricas de Δ^9 -THC, pois, para ambos eletrodos de trabalho, este tempo de pré-concentração apresentou valores significativos e foi considerado para estudo voltamétrico de Δ^9 -THC em futuras investigações. O estudo da influência do tempo de pré-concentração é ilustrado na Figura 21. Nele, é possível observar a proporcionalidade do aumento de ipa para o eletrodo de trabalho de disco de platina e um comparativo com os valores obtidos para o eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo (reportado na literatura) [99].

Figura 20 - Voltamogramas cíclicos referentes ao estudo da influência de diferentes tempos de pré-concentração de padrão Δ^9 -THC $5,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de platina e velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} .

Figura 21 - Estudo comparativo da influência do tempo da etapa de pré-concentração $i_p / \mu\text{A}$ vs tempo (s) para eletrodos de trabalho de disco de platina e disco de carbono vítreo.

IV.2.2 – Estudo do parâmetro velocidade de varredura utilizando eletrodo de trabalho de disco de platina

A Figura 22 apresenta os voltamogramas para diferentes velocidades de varredura entre 10 a 200 mV s^{-1} e tempo de pré-concentração fixado em -0,5 V por 30 segundos e a concentração do analito aplicada à solução eletródica dentro da célula eletroquímica em $2,67 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados registrados apontaram um aumento proporcional da ipa com a velocidade de varredura. Para a velocidade de 10 mV s^{-1} , o potencial de pico anódico (Epa) foi registrado em -0,016 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat). Foi observado aumento do Epa equivalente a 2 mV vs Ag / AgCl, KCl_(sat) entre as velocidades de 10 e 20 mV s^{-1} . Para a velocidade de varredura 30 mV s^{-1} , o valor de Epa foi registrado em -0,014 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat). A partir da velocidade de 50 mV s^{-1} , verificou-se diminuição de Epa, sendo este registrado em -0,016 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat). Para velocidades entre 100 e 200 mV s^{-1} , os valores para Epa foram observados em -0,013 e -0,015 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat). O aumento da ipa foi proporcional com a velocidade de varredura. Na velocidade de 10 mV s^{-1} , a ipa atingiu valores de 1,89 μA , enquanto que, na velocidade de 100 mV s^{-1} , a ipa registrada foi de 9,76 μA ; ou seja, aproximadamente 5,16 vezes o valor obtido na velocidade de 10 mV s^{-1} . A maior ipa obtida foi para a velocidade de varredura de 200 mV s^{-1} (16,42 μA). Quando utilizado eletrodo de trabalho de carbono vítreo, velocidades acima de 100 mV s^{-1} apresentaram ruídos decorrentes de corrente capacitiva, como ilustrado na Figura 23 [99]. No entanto, quando utilizado o eletrodo de trabalho de disco de platina, a velocidade de 200 mV s^{-1} não apresentou um alto índice de ruídos, sendo esta ideal para as condições propostas quando tal aparato eletródico for utilizado. A corrente capacitiva está propensa a aumentar proporcionalmente com a velocidade de varredura e pode ocorrer com maior frequência quando a análise voltamétrica de um determinado analito é realizada em baixas concentrações [73, 93, 100-102].

Figura 22 - Voltamogramas lineares referentes às diferentes velocidades de varredura para análise de $2,67 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de padrão Δ^9 -THC, utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de platina.

Figura 23 - Voltamogramas lineares referentes às diferentes velocidades de varredura para análise de solução padrão Δ^9 -THC $3,6 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto N,N-DMF e água, na proporção 9:1 (v/v). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo [99].

De acordo com a Figura 24, o aumento linear da i_{pa} em função da velocidade de varredura indica comportamento caracterizado por transporte de massa controlado por adsorção da espécie [73, 101-103]. O valor de E_{pa} se mantendo constante pode indicar um comportamento característico de processo eletródico irreversível, além da dependência de i_{pa} em função da concentração do analito, onde a irreversibilidade deve ser linear, conforme resultados apresentados nos voltamogramas da Figura 22. Os valores obtidos para o coeficiente de correlação linear (r) e desvio padrão (DP), a partir da curva analítica foram 0,993 e 0,68 μA , respectivamente. A Figura 24 apresenta a relação da velocidade de varredura em função do i_{pa} .

Figura 24 – Relação da i_{pa} (μA) em função da velocidade de varredura de na análise de padrão Δ^9 -THC de $2,67 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de trabalho: disco de platina.

Na Tabela 3, estão inseridos os valores da velocidade de varredura, i_{pa} e E_{pa} obtidos neste estudo.

Tabela 3 – Influência da velocidade de varredura sobre os parâmetros voltamétricos para solução padrão Δ^9 -THC $2,67 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

v (mV s⁻¹)	ipa (μA)	Epa / V vs Ag/AgCl
10	1,9	-0,016
20	4,2	-0,014
30	4,8	-0,014
50	7,0	-0,016
100	9,8	-0,013
200	16,5	-0,015

IV.3 – Voltametria de pulso diferencial (VPD)

Após constatação dos resultados de detecção e quantificação considerados satisfatórios quando as técnicas voltamétricas utilizadas foram a VC e VVL, optou-se por fazer uma investigação acerca de duas modalidades voltamétricas que possuem como vantagens maior sensibilidade. Dentre estas técnicas, estão listadas a VOQ e VPD. A sensibilidade pode ser otimizada no estudo voltamétrico de soluções de baixas concentrações quando uma etapa de pré-concentração do analito na superfície de eletrodo é utilizada [73, 76].

IV.3.1 – Análise voltamétrica de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ por VPD utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo

Para a VPD, realizou-se o estudo da otimização dos parâmetros instrumentais, onde o potencial de pré-concentração aplicado foi em - 0,5 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat). A faixa de potencial de varredura foi entre os intervalos de - 0,4 a 0,3 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat). Ensaio prévios permitiram observar que (durante a análise voltamétrica utilizando modalidade cíclica), regiões da faixa de potencial abaixo de -0,5 V e acima

de 0,4 V não foram registrados picos. A amplitude do potencial de pulso aplicado foi ajustada em 25 mV, visto que em potenciais maiores ocorreu somente alargamento de pico (sem aumento da ipa) para o tempo de duração de pulso em 50 ms^{-1} (Figura 25) e velocidade de varredura em 10 mV s^{-1} , apontando que em velocidades maiores ocorre somente o alargamento de pico (e não o aumento de ipa).

Figura 25: Voltamogramas de pulso diferencial referentes aos diferentes tempos de duração de pulso (ms^{-1}). Análise de padrão Δ^9 -THC $3,3 \text{ nmol L}^{-1}$ (utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo e velocidade de varredura: 10 mV s^{-1} .

IV.3.1.1 – Estudo da influência do tempo de pré-concentração

Para o estudo da influência do efeito de pré-concentração de solução padrão Δ^9 -THC $3,5 \text{ nmol L}^{-1}$ é apresentado, na Figura 26, voltamogramas com picos de oxidação em $0,01 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$ a partir de 10 segundos de

pré-concentração. Foi verificado aumento de ipa proporcional à medida do tempo de pré-concentração do analito.

Figura 26 - Voltamogramas de pulso diferencial referentes aos diferentes tempos de pré-concentração. Análise de padrão Δ^9 -THC $3,3 \text{ nmol L}^{-1}$ utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v, eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo e velocidade de varredura: 10 mV s^{-1} . Gráfico de ipa (μA) versus tempo (s).

IV.3.1.2 – Influência da concentração de Δ^9 -THC

A análise da influência da concentração do analito em função da corrente (μA) foi realizada mediante adições sucessivas do padrão Δ^9 -THC entre os volumes de $1 \mu\text{L}$ a $15 \mu\text{L}$. De acordo com os voltamogramas apresentados na Figura 27, foi observado proporcionalmente aumento de ipa à medida que a concentração de Δ^9 -THC foi elevada dentro da célula eletroquímica. Observou-se aparecimento de pico definido a partir da adição de $3 \mu\text{L}$ de Δ^9 -THC padrão. O coeficiente de correlação linear (r)

obtido foi de 0,996 com desvio padrão (DP) de 0,2 μA . Sua correspondente equação foi:

$$i_{pa} = -0,02 + 7,90 \times 1,0 \times 10^8 \mu\text{A} / \text{mol L}^{-1} \text{C. } (\Delta^9\text{-THC}), \quad (5)$$

sendo o limite de detecção (calculado de acordo com a relação 3 DP/b, onde b é a sensibilidade amperométrica da curva) em 0,8 nmol L^{-1} e o limite de quantificação (com base na relação 10 DP/b) em 2,6 nmol L^{-1} .

Figura 27 - Voltamogramas de pulso diferencial de sucessivas adições de padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo e velocidade de varredura: 10 mV s^{-1} .

A Figura 28 apresenta a relação da i_{pa} em função da concentração de padrão Δ^9 -THC:

Figura 28 - Influência da i_{p_a} (μA) em função da concentração (nmol L^{-1}) de solução padrão $\Delta^9\text{-THC}$.

IV.3.2 – Análise voltamétrica de solução padrão $\Delta^9\text{-THC}$ $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ por VPD utilizando eletrodo de trabalho de disco de platina

Após a verificação da melhora na sensibilidade frente aos valores de LD e LQ quando comparados com a técnica VC, optou-se em utilizar a VPD utilizando eletrodo de trabalho de disco de platina. Alguns parâmetros otimizados apresentaram comportamento semelhante para o eletrodo de disco de carbono vítreo (descritos no item IV.3.1). O potencial de pré-concentração aplicado foi em $-0,5 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$. Valores abaixo deste não resultaram em melhoras no registro de i_{p_a} . A faixa de potencial de varredura foi entre os intervalos de $-0,4$ a $0,3 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$, pois em faixas de potenciais mais extensas não foram registrados picos. A amplitude do potencial de pulso aplicado foi mantida em 25 mV , tempo de duração de pulso em 50 ms^{-1} e velocidade de varredura em 10 mV s^{-1} . Os valores destes parâmetros, assim

como apresentado no item IV.3.1.2, não apresentaram melhora significativa quando foram variados.

Na análise da influência da concentração do analito em função da corrente (μA), com adições sucessivas do padrão Δ^9 -THC, foi adicionado inicialmente cerca de $1\ \mu\text{L}$ e finalizou-se a adição com volume de $0,8\ \text{mL}$. De acordo com os voltamogramas apresentados na Figura 29, foi observado proporcionalmente um aumento de ipa à medida que a concentração de Δ^9 -THC foi elevada. No entanto, houve a necessidade de se adicionar uma quantidade maior do analito. Observou-se aparecimento de pico a partir da adição de $180\ \mu\text{L}$ ($3,0 \times 10^{-8}\ \text{mol L}^{-1}$) de Δ^9 -THC padrão. O coeficiente de correlação linear (r) obtido foi de $0,995$ e o valor de DP em $0,126\ \mu\text{A}$. Sua correspondente equação foi:

$$\text{ipa} = -0,05\ \mu\text{A} + 1,37 \times 10^7\ \mu\text{A} / \text{mol L}^{-1}\ \text{C.} (\Delta^9\text{-THC}). \quad (6)$$

O limite de detecção (calculado de acordo com a relação $3\ \text{DP/b}$) em $2,8 \times 10^{-8}\ \text{mol L}^{-1}$ e o limite de quantificação (com base na relação $10\ \text{DP/b}$) em $9,2 \times 10^{-8}\ \text{L}^{-1}$. A Figura 30 apresenta a proporcionalidade entre a concentração do analito e os valores de ipa.

Figura 29 - Voltamogramas de pulso diferencial de sucessivas adições de padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6}\ \text{mol L}^{-1}$, utilizando eletrólito de suporte TBATFB em meio misto

(N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de platina e velocidade de varredura: 10 mV s⁻¹.

Figura 30 - Relação da i_{p_a} (μA) em função concentração ($\times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) de padrão $\Delta^9\text{-THC}$.

IV.4 – Voltametria de onda quadrada (VOQ)

A VOQ é uma modalidade voltamétrica que possui vantagens perante as demais tais como uma baixa incidência do bloqueio da superfície do eletrodo e uma maior eficiência na discriminação da corrente capacitiva [104].

A VOQ se mostrou importante no estudo voltamétrico de canabinóides. Novak, Mlakar e Komorsky-Lovric (2013) apresentaram a dependência do pH com a variação de potencial na análise de maconha utilizada para fins industriais utilizando VOQ. Os resultados apontaram que valores de pH próximos a 7 ocorre o processo de eletro-oxidação da espécie eletroativa dos canabinóides envolvendo um elétron [95]. Em pH acima de 7, os picos registrados perdem definição, alargando-se [95].

Os parâmetros instrumentais ajustados para esta técnica foram: tempo de pré-concentração, magnitude de pulso e frequência de pulso. Estes ensaios foram realizados para cada um dos eletrodos de trabalho.

IV.4.1 – Estudo da otimização dos parâmetros da VOQ utilizando eletrodo de carbono vítreo

IV.4.1.1 – Etapa de pré-concentração

Nesta etapa, verificou-se que as condições otimizadas foram estabelecidas mediante aplicação de potencial na etapa de pré-concentração em -0,5 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat). Foi observado nesta modalidade que valores de potencial aplicado diferentes destes (entre -0,1 a -0,45 V) diminuía a sensibilidade amperométrica ou não ocorria alteração (abaixo de -0,5 V). A faixa de potencial de varredura foi fixada entre os intervalos de - 0,3 a 0,3 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat), amplitude do potencial de pulso aplicada em 100 mV e frequência de 12 Hz. Para o estudo da influência do efeito de pré-concentração, utilizando as mesmas condições, a Figura 31 ilustra voltamogramas da solução padrão de Δ^9 -THC $1,9 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (100 μL) onde foram observados picos de oxidação em 0,01 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat), a partir de 10 segundos de pré-concentração. Verificou-se o aumento proporcional ao tempo de pré-concentração do analito. Essa dependência do tempo de pré-concentração indica que após a etapa de adsorção e subsequente análise do potencial anódico ocorre a oxidação do grupo fenólico presente na estrutura molecular do Δ^9 -THC [93-94,105-108]. Tempos acima de 30 segundos não resultaram em significativo aumento da ipa, sendo escolhido assim o tempo de 30 segundos para futuras análises.

Figura 31 - Voltamogramas de onda quadrada de diferentes tempos de pré-concentração. Análise de solução padrão Δ^9 -THC 19 nmol L^{-1} utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV. Relação da i_{pa} (μA) em função do tempo (s).

IV.4.1.2 – Otimização da amplitude de potencial

A Figura 32 apresenta voltamogramas de onda quadrada na análise da solução padrão Δ^9 -THC $2,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (115 μL) em diferentes valores da amplitude de potencial. Um aumento proporcional da i_{pa} com o aumento significativo da amplitude e potencial é observado até 100 mV. O deslocamento de E_{pa} para potenciais mais positivos é notado. Este comportamento pode indicar um processo de oxidação para um sistema irreversível [82,83]. A Figura 33 ilustra a relação da variação da amplitude de potencial com a E_{pa} (a) e i_{pa} (b), respectivamente.

Figura 32 - Voltamogramas de onda quadrada referentes à variação da amplitude de potencial. Análise de padrão Δ^9 -THC 22 nmol L^{-1} , utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, frequência de 12 Hz, tempo de pré-concentração em 30 segundos.

Figura 33 – Estudo da influência da amplitude de potencial em função da variação da E_{p_a} (a) e aumento de i_{p_a} (b).

IV.4.1.3 – Otimização da frequência de pulso

A Figura 34 ilustra voltamogramas da solução padrão Δ^9 -THC 22 nmol L^{-1} ($115 \text{ }\mu\text{L}$) para diferentes valores de frequência de pulso. O aumento da i_{pa} e E_{pa} foi observado para frequências até 12 Hz , sendo este valor escolhido como adequado para esta análise, por apresentar um melhor perfil voltamétrico. A partir deste valor, a sensibilidade amperométrica não obedece a essa linearidade. A relação entre i_{pa} e E_{pa} com a variação da frequência de pulso é ilustrada na Figura 35 (a e b, respectivamente).

Figura 34 – Voltamogramas de onda quadrada da solução padrão Δ^9 -THC 22 nmol L^{-1} referente ao estudo da influência da frequência de pulso (f), utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de carbono vítreo, amplitude de pulso em 100 mV e tempo de pré-concentração em 30 segundos .

Figura 35 – Relação da variação da E_{p_a} (a) e i_{p_a} (b) em função da frequência de pulso (f).

IV.4.1.4 – Estudo da influência da concentração do analito

A Figura 36 ilustra os voltamogramas referentes às sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC, utilizando a etapa de pré-concentração por 30 segundos. A investigação desta influência foi na faixa de concentração entre $1,0 \times 10^{-9}$ a $2,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. A partir da adição de $2,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ (10 μL) à célula eletroquímica, foi observado um pico de corrente. Observou-se que a concentração da substância é proporcional à i_{p_a} . Foi observado um pico de oxidação bem resolvido após a adição de $1,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando uma faixa de potencial em -0,3 a 0,3 V vs Ag / AgCl, KCl (sat), nas condições previamente otimizadas tais como amplitude do potencial de 100 mV, e a frequência em 12 Hz. A Figura 37 ilustra a relação de proporcionalidade da i_{p_a} com a concentração de Δ^9 -THC no interior da célula eletroquímica, apresentando boa linearidade no intervalo de concentração estudado. Os valores de r e DP foram de 0,999 e 0,21 μA , respectivamente. Sua correspondente equação foi:

$$i_{pa} = 0,81 \mu A + 1,02 \times 10^9 \mu A / \text{mol L}^{-1} C.(\Delta^9\text{-THC}). \quad (7)$$

O limite de detecção (calculado de acordo com a relação 3 DP/b) foi obtido em valores próximos em $0,62 \text{ nmol L}^{-1}$ e o limite de quantificação (com base na relação 10 DP/b) em $2,10 \text{ nmol L}^{-1}$. Estes valores apontam que esta modalidade voltamétrica é a mais sensível dentre as estudadas anteriormente.

Figura 36 - Voltamogramas de onda quadrada referentes ao estudo de sucessivas adições de solução padrão $\Delta^9\text{-THC}$ $1,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV.

Figura 37 – Relação da i_{p_a} (μA) em função da concentração (nmol L^{-1}) de padrão $\Delta^9\text{-THC}$.

IV.4.2 - Ajuste dos parâmetros instrumentais utilizando eletrodo de trabalho de disco de platina

Esta etapa do estudo foi repetida conforme descrito no item IV.4.1, no entanto, o eletrodo de trabalho de disco de platina foi utilizado.

IV.4.2.1 – Influência do tempo de pré-concentração

As condições otimizadas foram estabelecidas mediante potencial aplicado de pré-concentração em $-0,5 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$. A faixa de potencial de varredura foi fixada entre os intervalos de $-0,3$ a $0,3 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$, amplitude do potencial de pulso aplicada em 100 mV e frequência de 12 Hz . Para o estudo da influência do efeito de pré-concentração, utilizando as mesmas condições, a Figura 38 ilustra os voltamogramas da solução padrão de $\Delta^9\text{-THC}$ $3,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ($157 \mu\text{L}$)

onde foram observados picos de oxidação em $-0,01$ V vs Ag / AgCl, KCl_(sat), a partir de 10 segundos de pré-concentração. Verificou-se, assim como no estudo para o eletrodo de carbono vítreo, o aumento da ipa proporcional ao tempo de pré-concentração do analito. Tempos acima de 30 segundos não resultaram em significativo aumento da ipa, sendo escolhido assim o tempo de 30 segundos para futuras análises para este aparato eletródico.

Figura 38 - Voltamogramas de onda quadrada referentes à variação dos tempos de pré-concentração. Análise de padrão Δ^9 -THC 30 nmol L⁻¹ utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV. Influência da ipa (μA) em função do tempo (s) de pré-concentração.

IV.4.2.2 – Otimização da amplitude de potencial

A Figura 39 apresenta os voltamogramas de onda quadrada na análise da solução padrão Δ^9 -THC $3,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (57 μL) em diferentes valores da amplitude de

potencial. Assim como reportado no item IV.4.1.2, um aumento proporcional da ipa com o aumento significativo da amplitude e potencial é observado até 100 mV, bem como o comportamento do deslocamento de Epa para potenciais mais positivos. A Figura 40 ilustra a relação da variação da amplitude de potencial com a Epa (a) e ipa (b), respectivamente.

Figura 39 - Voltamogramas de onda quadrada referentes à variação da amplitude de potencial. Análise de padrão Δ^9 -THC 30 nmol L⁻¹, utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), frequência de 12 Hz, tempo de pré-concentração em 30 segundos.

Figura 40 – Variação da E_{pa} (a) e i_{pa} (b) em função da amplitude.

IV.4.2.3 – Otimização da frequência de pulso

A Figura 41 ilustra voltamogramas da solução padrão Δ^9 -THC 30 nmol L^{-1} ($157 \mu\text{L}$) para diferentes valores de frequência de pulso. Novamente, foram verificados o aumento da i_{pa} e E_{pa} para frequências até 12 Hz, perdendo a linearidade a partir deste valor. A relação entre E_{pa} e i_{pa} com a variação da frequência de pulso é ilustrada na Figura 42 (a e b, respectivamente). A otimização deste parâmetro apontou comportamento semelhante quando utilizado eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, indicando um processo de oxidação para um sistema irreversível [82,83].

Figura 41- Voltamogramas de onda quadrada referentes à variação da frequência. Análise de padrão Δ^9 -THC 30 nmol L⁻¹, utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), amplitude e 100 mV, tempo de pré-concentração em 30 segundos.

Figura 42 – Influência da frequência (f) em relação à variação da E_{p_a} (a) e i_{p_a} (b).

IV.4.2.4 – Estudo da influência da concentração do analito

A utilização do eletrodo de trabalho de disco de platina permitiu a investigação da influência da concentração de solução padrão Δ^9 -THC nas condições otimizadas: faixa de potencial em -0,3 a 0,3 V vs Ag / AgCl, KCl (sat), potencial de pulso em 100 mV e a frequência em 12 Hz e etapa de pré-concentração, consistindo na aplicação de um potencial de -0.5 V em 30 segundos. A faixa de concentração investigada foi entre $1,0 \times 10^{-9}$ a $4,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. A partir da adição de $8,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ (40 µL) à célula eletroquímica, observou-se um pico de corrente, sendo verificado uma linearidade do aumento de ipa com a concentração do analito dentro da célula eletroquímica. Observou-se aparecimento de pico de bem resolvido a partir da concentração de $2,1 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. A Figura 43 ilustra os voltamogramas referentes à variação da concentração de solução padrão Δ^9 -THC no interior da célula eletroquímica. A proporcionalidade dos valores de ipa com a concentração Δ^9 -THC no interior da célula eletroquímica é apresentada na Figura 44. Os valores obtidos de r e DP foram de 0,992 e 0,145 µA, respectivamente. Sua correspondente equação foi:

$$ipa = - 0,05 \mu A + 1,60 \times 10^8 \mu A / \text{mol L}^{-1} C.(\Delta^9\text{-THC}). \quad (8)$$

O valor de LD, calculado de acordo com a relação $3 DP/b$ foi de $2,7 \text{ nmol L}^{-1}$ e o limite de quantificação, com base na relação $10 DP/b$, em $9,0 \text{ nmol L}^{-1}$.

Figura 43 - Voltamogramas de onda quadrada referentes às sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV.

Figura 44 – Relação da concentração de padrão Δ^9 -THC (nmol L^{-1}) com a i_{p_a} .

IV.5 – Comparativo entre os valores obtidos nas modalidades voltamétricas VC, VVL, VPD e VOQ utilizando eletrodos de trabalho de disco de carbono vítreo e platina

De acordo com os resultados apresentados para as 4 técnicas voltamétricas citadas, foi verificado que o eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo se mostrou mais sensível do que o eletrodo de trabalho de disco de platina. No entanto, no comparativo entre as técnicas voltamétricas, a modalidade VOQ apresentou menores valores de LD e LQ para o eletrodo de disco de carbono vítreo e para eletrodo de trabalho de disco de platina. Assim, a VOQ foi escolhida para realizar um comparativo entre os eletrodos de trabalho utilizando dados estatísticos, como repetibilidade e reprodutibilidade, descritas no item IV.6. A Tabela 4 ilustra os valores obtidos a respeito da LD, LD, LQ, r e o desvio padrão de cada técnica.

Tabela 4 – Valores de LD, LQ, r e DP obtidos nas diferentes modalidades voltamétricas.

Eletrodo	Carbono Vítreo				Platina			
	LD nmolL ⁻¹	LQ nmolL ⁻¹	r	DP μA	LD nmolL ⁻¹	LQ nmolL ⁻¹	r	DP μA
VVL	1,1	3,6	0,999	0,4	29,8	96,1	0,994	0,4
VPD	0,8	2,6	0,996	0,2	27,6	91,9	0,995	0,1
VOQ	0,6	2,1	0,999	0,2	27,0	90,0	0,992	0,1

IV.6 – Estudo comparativo entre os valores obtidos em VOQ por diferentes eletrodos de trabalho na análise de solução padrão Δ⁹-THC

Realizando um estudo comparativo entre os eletrodos de trabalho em uma mesma modalidade voltamétrica, os resultados apontam que o valor de LD obtido ao utilizar

eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo é 48 vezes maior quando comparado com o valor obtido para o eletrodo de trabalho de disco de platina, quando analisada por modalidade voltamétrica VOQ. Na Tabela 5, são reportados para comparação os resultados obtidos com diferentes eletrodos de trabalho (disco de carbono vítreo e platina) utilizando a técnica voltamétrica VOQ. Os valores de sensibilidade amperométrica da curva (b) e o valor de ipa para adição de $1,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de solução padrão $\Delta^9\text{-THC}$ $1,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram comparados. Quanto à adição de $1,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ da solução padrão $\Delta^9\text{-THC}$ $1,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ à célula eletroquímica, observou-se que os valores de ipa para o sistema eletródico utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo foram 6,4 vezes maior quando comparado com o sistema eletródico utilizando eletrodo de trabalho de disco de platina. Utilizando o teste t de Student (com limite de confiança em 95%), foi verificado que nas condições otimizadas, a análise de $\Delta^9\text{-THC}$ utilizando VOQ para os dois sistemas eletródicos apresentou boa linearidade. Os cálculos de recuperação, utilizando a equação 9:

$$\text{Rec}(\%) = \frac{\text{X ipa}}{\text{ipa (padrão)}} \times 100, \quad (9)$$

onde X ipa representa a média dos valores de ipa obtidos para uma dada concentração do analito dentro da célula eletroquímica. Os valores de recuperação foram calculados resultando entre valores de 98,0 a 100,6% (com intervalo de confiança de 95%). Os valores do desvio padrão relativo para ambos sistemas eletródicos para na adição de $1,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ da solução padrão $\Delta^9\text{-THC}$ à célula eletroquímica foram apresentados (6 medidas voltamétricas).

Tabela 5 - Comparativo dos valores de b e ipa entre os eletrodos de trabalho para a análise de Δ^9 -THC utilizando VOQ.

Parâmetros	Eletrodo	Carbono Vítreo	Platina
Linearidade (nmol L ⁻¹)		2,0 a 21,0 nmol L ⁻¹	8,0 a 40,0 nmol L ⁻¹
b		1,02 x 10 ⁹ μ A /mol L ⁻¹	1,6 x 10 ⁸ μ A/mol L ⁻¹
r		0,999	0,992
DP		0,2	0,1
LD (mol L ⁻¹)		6,2 x 10 ⁻¹⁰	2,7 x 10 ⁻⁸
LQ (mol L ⁻¹)		2,1 x 10 ⁻⁹	9,0 x 10 ⁻⁸
ipa 12 nmol L ⁻¹		13,5 μ A	1,7 μ A
Repetibilidade (ipa, DPR/%)		0,5	0,7
Reprodutibilidade (ipa DPR/%)		0,8	1,0
Rec (%)		100,6	98,9

IV.6.1 – Repetibilidade e reprodutibilidade

Os valores obtidos para o estudo da repetibilidade e reprodutibilidade estão reportados na Tabela 6. Estes foram avaliados considerando 6 medidas, sendo a precisão intra-ensaio calculada e medida pelo período de um dia e o estudo a precisão inter-ensaio realizada em seis dias pelo período de uma semana, utilizando um potenciostato diferente (PGSTAT 128 N) e uma outra célula eletroquímica, com as mesmas dimensões utilizadas nos estudos anteriores. As concentrações de solução Δ^9 -THC padrão 1,1 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ analisadas por VOQ (nas condições otimizadas) foram de 3, 12 e 21 nmol L⁻¹ (eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo) e 12, 30

e 40 nmol L⁻¹ (eletrodo de trabalho de disco de platina). Os resultados foram expressos pelo desvio padrão relativo (DPR), calculados pela equação 10:

$$\% \text{DPR} = \frac{\text{DP}}{\text{C} \cdot (\Delta^9\text{-THC})} \times 100 \quad (10)$$

Os valores de erro (E%) foram calculados segundo a equação 11:

$$\text{E}\% = \frac{\text{C} \cdot (\Delta^9\text{-THC})_{\text{experimental}} - \text{C} \cdot (\Delta^9\text{-THC})_{\text{real}}}{\text{C} \cdot (\Delta^9\text{-THC})_{\text{real}}} \times 100 \quad (11)$$

De acordo com os resultados, os valores de precisão estiveram entre 96,0 e 100,5%.

Visto que a modalidade voltamétrica VOQ apresentou uma melhor sensibilidade frente às demais para os dois arranjos eletródicos investigados, esta foi escolhida para análise voltamétrica da solução Δ^9 -THC obtida de amostra de maconha apreendida pela polícia, descrita no item IV.7.

Tabela 6 - Dados de precisão e exatidão obtidos na análise voltamétrica de solução padrão Δ^9 -THC por VOQ.

Analito	Conc. real (nmol L⁻¹)	Conc.Exp. (nmol L⁻¹)	DPR (%)	E (%)
Intra-ensaio ⁽ⁿ⁼⁶⁾	3,0	2,9 ± 0,081	2,8	-3,3
Eletrodo	12,0	12,0 ± 0,077	0,6	-0,1
(Carbono vítreo)	21,0	20,6 ± 0,094	0,4	-1,9
	12,0	11,6 ± 0,16	1,4	-3,2
(Platina)	30,0	28,9 ± 1,15	4,0	-3,6
	40,0	38,6 ± 0,95	2,5	- 3,5
Inter-ensaio ⁽ⁿ⁼⁶⁾	3,00	2,9 ± 0,04	1,4	- 3,3
Eletrodo	12,0	12,0 ± 0,07	0,6	0,4
(Carbono Vítreo)	21,0	20,7 ± 0,076	0,4	-1,3
	12,0	11,7 ± 0,14	1,2	-2,3
(Platina)	30,0	28,9 ± 0,25	0,9	-3,8
	40,0	38,6 ± 0,35	0,9	-3,4

IV.7 – Análise voltamétrica de solução Δ^9 -THC obtida de amostra de maconha apreendida pela polícia

Nesta etapa do trabalho, as condições otimizadas para VOQ foram aplicadas e a faixa de concentração estudada foi entre de $5,0 \times 10^{-10}$ a $4,1 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Os voltamogramas apresentados na Figura 45 (Δ^9 -THC extraído da amostra de maconha) apresenta picos de oxidação no intervalo de $\pm 0,01$ V vs Ag / AgCl, KCl_(sat) a partir de 30 segundos de pré-concentração quando analisada com eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo. Verifica-se o aumento da ipa à medida que se aumenta a concentração do analito. O aparecimento de pico bem definido foi observado após a adição de $1,2 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ (após a adição de 6,0 μ L do analito em 5,6 mL da solução de eletrólito de suporte contido na célula eletroquímica). As análises foram realizadas em triplicata, utilizando o processo de sucessivas adições do analito a célula eletroquímica.

Figura 45 - Voltamogramas de onda quadrada referentes às sucessivas adições de solução Δ^9 -THC $1,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ apreendida pela polícia utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV.

Os valores de ipa registrados, concentração do analito dentro da célula (Cc) eletroquímica e a concentração da solução estoque (CS) de Δ^9 -THC (purificada por CCD) obtida de amostra apreendida pela polícia estão reportados na Tabela 7. Tais resultados foram comparados com a curva analítica.

Tabela 7 – Valores de ipa, concentração do analito dentro da célula eletroquímica (Cc) e concentração da solução estoque Δ^9 -THC obtido do extrato de maconha) por VOQ utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.

ipa (μA)	C _C (nmol L ⁻¹)	CS (mol L ⁻¹)
0,4	0,2	1,07 x 10 ⁻⁶
1,5	0,6	1,12 x 10 ⁻⁶
2,2	1,2	1,12 x 10 ⁻⁶
2,8	1,6	1,11 x 10 ⁻⁶
4,6	3,6	1,09 x 10 ⁻⁶
7,7	6,1	1,10 x 10 ⁻⁶
8,9	7,9	1,11 x 10 ⁻⁶
9,4	8,3	1,12 x 10 ⁻⁶
10,9	9,7	1,11 x 10 ⁻⁶
12,3	10,8	1,12 x 10 ⁻⁶

Quando utilizado o eletrodo de trabalho de disco de platina, verificou-se comportamento semelhante. A ipa foi observada em -0,01 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat), sendo que o aparecimento de pico bem definido ocorreu após a adição de 12,2 x 10⁻⁹ mol L⁻¹ do analito à célula eletroquímica, conforme ilustrado na Figura 46. Os valores de ipa registrados, concentração do analito dentro da célula eletroquímica e a concentração da solução de solução Δ^9 -THC (purificada por CCD) obtida de amostra apreendida pela polícia estão reportados na Tabela 8.

Figura 46 - Voltamogramas de onda quadrada referentes às sucessivas adições de solução Δ^9 -THC (purificada, obtida de amostra apreendida pela polícia) utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (DMF e água, na proporção 9:1 v/v), eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, frequência de 12 Hz, amplitude de potencial em 100 mV.

Tabela 8 – Valores de i_{pa} , C_C e CS (Δ^9 -THC obtido do extrato de maconha) por VOQ utilizando eletrodo de trabalho de disco de platina.

i_{pa} (μA)	C_C ($nmol L^{-1}$)	CS ($mol L^{-1}$)
0,4	1,2	$1,07 \times 10^{-6}$
0,4	1,5	$1,07 \times 10^{-6}$
0,7	2,7	$1,08 \times 10^{-6}$
2,2	12,2	$1,08 \times 10^{-6}$
2,9	16,1	$1,09 \times 10^{-6}$
3,9	22,6	$1,08 \times 10^{-6}$
4,2	24,2	$1,09 \times 10^{-6}$
5,6	31,0	$1,09 \times 10^{-6}$
6,9	39,1	$1,08 \times 10^{-6}$
7,2	40,7	$1,10 \times 10^{-6}$

IV.8 - Estudo comparativo utilizando a técnica cromatográfica CLAE

Nesta etapa, foi realizado o estudo comparativo utilizando a CLAE para obtenção dos resultados necessários tais como os tempos de retenção (t_r 's) e posterior determinação da concentração de Δ^9 -THC obtido na amostra de maconha apreendida, as frações de Δ^9 -THC (padrão e amostra) injetadas ao cromatógrafo foram diluídas em metanol. O cromatógrafo Thermo Dionex U-3000 acoplado com um detector de arranjo de diodo (DAD) em 209 nm. A coluna cromatográfica utilizada foi da marca ACE 5 C18, com as dimensões 250 x 4,6 mm. A fase móvel (modo isocrático) foi constituída de metanol e água na proporção 9:1 (v/v), A concentração da solução padrão recém preparada para a análise em CLAE era de $3,2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. De acordo com o cromatograma reportado na Figura 47, verifica-se um pico no tempo de 9,09 minutos.

Figura 47 – Cromatograma da solução padrão Δ^9 -THC $3,2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

A análise do padrão Δ^9 -THC foi realizada em triplicata e em diferentes concentrações, nos intervalos de $3,2 \times 10^{-6}$ a $3,2 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, preparadas em metanol mediante diluição de padrão certificado. Os valores de recuperação obtidos após adição de alíquotas de padrões situaram-se entre 98,1% e 100,8%. A relação entre o sinal registrado e a concentração da espécie estudada (Figura 48) apresentou linearidade em todo o intervalo estudado com um r em 0,999 e DP em 2,43. Tais resultados permitem o LD equivalente a $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e LQ em $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Sua correspondente equação foi:

$$u.a = 9,9 + 2,4 \times 10^6 / \text{mol L}^{-1} C.(\Delta^9\text{-THC}). \quad (12)$$

Figura 48 – Relação da concentração da espécie Δ^9 -THC padrão com a área de pico.

A Figura 49 apresenta cromatograma de amostra de maconha apreendida pela polícia. Utilizado os mesmos parâmetros operacionais quando foi realizada a análise cromatográfica por HPLC, verificou-se pico com t_r em torno de 9,02 min. Um pico de maior intensidade foi visualizado (7,6 min.) pode ser atribuído ao canabinol. Esta

substância é encontrada em maiores quantidades devido à degradação do Δ^9 -THC em amostras de maconha apreendida. Após a prensagem da droga, as condições de umidade e exposição ao ar atmosférico contribuem para o aceleração da degradação. No entanto, a confirmação seria possível mediante análise com padrão certificado da substância [109].

Após a obtenção dos valores, calculou-se a porcentagem (m/m, %) de Δ^9 -THC na amostra de maconha. As amostras foram injetadas ao cromatógrafo com massa equivalente a 10 mg, diluídos em solvente orgânico metanol. Utilizando a curva analítica como referência, os cálculos apontaram que a amostra de maconha apreendida possui 3,7 % (m/m) da substância ilícita e com valor de DPR entre 0,03 %.

Figura 49 - Cromatograma da amostra de maconha apreendida pela polícia.

A Tabela 9 apresenta os valores obtidos por VOQ e CLAE. As amostras de maconha apreendida pela polícia e utilizadas para este estudo foram pesadas em

balança analítica, indicando uma massa equivalente a 10 mg. Os cálculos apontaram que a amostra de maconha apreendida possui 3,5 % (m/m) da substância proscrita quando analisada com VOQ utilizando arranjo eletródico constituído pelo eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo e 3,4 % (m/m) quando analisada com eletrodo de trabalho de disco de platina, com valores de DPR entre 0,02 e 0,08 % respectivamente. O valor coeficiente de variação (COV) para o eletrodo de trabalho de carbono vítreo apresentou valores próximos quando comparado com a análise por CLAE.

Tabela 9 - Comparativo entre os valores obtidos (triplicata) por VOQ e CLAE na análise quantitativa de Δ^9 -THC em amostra de maconha apreendida pela polícia.

Método	Deteção	CS ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Δ^9 -THC (m/m, %)	DPR	CoV (%)
VOQ	Carbono vítreo	1,11	3,50	0,02	0,57
VOQ	Platina	1,08	3,40	0,08	2,35
CLAE	UV-Vis	1,12	3,70	0,03	0,81

IV.9 - Análise voltamétrica de Δ^9 -THC com reagente colorimétrico Fast Blue B utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo

IV.9.1 – Análise da solução padrão Δ^9 -THC derivatizada com Fast Blue B

Para tal investigação, as técnicas VC, VPD e VOQ foram utilizadas para verificar o comportamento voltamétrico. Esta etapa do trabalho foi proposta com o intuito de propor um protocolo de análise pericial em rotina de laboratório forense, aproveitando a utilização das técnicas colorimétricas e cromatográficas, recomendadas e padronizadas em análises forenses na identificação de drogas de abuso [110].

Inicialmente, o eletrólito de suporte TBATFB $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio orgânico (N,N-DMF) foi analisado, com a adição de $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$ até $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do reagente colorimétrico Fast Blue B à célula eletroquímica para verificação da possibilidade de espécie eletroativa e até possíveis interferentes contidos na solução. O eletrodo de disco de carbono vítreo foi escolhido como eletrodo de trabalho. A aplicação do gás nitrogênio (N_2) à solução foi realizada em um intervalo de 15 minutos, necessário para remoção de O_2 eletroativo [102, 111-112].

Os voltamogramas apresentados nas Figuras 50, 51 e 52 não registraram picos que comprovassem a presença de espécie eletroativa na solução. A Figura 50 apresenta voltamogramas cíclicos, onde o potencial de pré-concentração aplicado foi em $-0,5 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$ na fase de pré-concentração, utilizando os parâmetros otimizados. A faixa de potencial de varredura foi aplicada entre $-0,9$ a $0,9 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat})}$, a fim de verificar a possibilidade de ipa e ipc.

Figura 50 - Voltamogramas cíclicos referentes ao comportamento eletroquímico de A) eletrólito de suporte (TBATFB), e após adição de Fast Blue B nas concentrações B) $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, C) $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, D) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, E) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, F) $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.

A Figura 51 ilustra voltamogramas de onda quadrada. A faixa de potencial de varredura foi fixada entre os intervalos de -0,5 a 1,0 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat) utilizando os parâmetros otimizados para esta técnica.

Figura 51 - Voltamogramas de onda quadrada na análise de: A) eletrólito de suporte (TBATFB) 0,1 mol L⁻¹ em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v) após adição de reagente colorimétrico Fast Blue B nas concentrações B) $1,0 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹, C) $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, D) $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, E) $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, F) $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.

A Figura 52 apresenta voltamogramas de pulso diferencial em uma faixa de potencial entre -1,2 a 0,9 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat), utilizando as condições experimentais otimizadas para esta modalidade voltamétrica.

Figura 52 - Voltamogramas de pulso diferencial na análise de: A) eletrólito de suporte (TBATFB) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v), após adição de reagente colorimétrico Fast Blue B nas concentrações B) $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, C) $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, D) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, E) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ F) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.

A ausência de ipa na análise da solução de Fast Blue B motivou a realizar o estudo voltamétrico a partir solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em meio orgânico N-N DMF derivatizada com o reagente colorimétrico. Inicialmente, esta análise foi realizada por VOQ utilizando o sistema eletródico constituído pelo eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo. A Figura 53 ilustra os voltamogramas de onda quadrada onde há registro de ipa a partir da adição de $12 \text{ } \mu\text{L}$ da solução Δ^9 -THC padrão com Fast Blue B à célula eletroquímica. A faixa de potencial estudada foi entre $-0,3$ a $0,3 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat.})}$. Verificou-se o primeiro registro de ipa em $\pm 0,0 \text{ V vs Ag / AgCl, KCl}_{(\text{sat.})}$. Confrontando os resultados, nota-se que a ipa para a solução padrão com Fast Blue B é menor e necessita de uma adição de analito à célula eletroquímica maior do que a análise voltamétrica (nas mesmas condições) do padrão Δ^9 -THC sem a derivatização. Segundo Assis (2012), um aumento da resistência

elétrica à solução pode estar sendo proporcionado pelo aumento de substâncias não condutoras à célula [112].

Figura 53 - Voltamogramas de onda quadrada referente às sucessivas adições de padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ derivatizada com reagente colorimétrico Fast Blue B, utilizando eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.

A Figura 54 ilustra a curva analítica referente à ipa em função da concentração de Δ^9 -THC ($\times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) derivatizada com o reagente colorimétrico Fast Blue B. Os valores obtidos de r e DP foram 0,998 e DP e 0,4 μA , respectivamente. Sua correspondente equação foi:

$$ipa = 0,2 \mu\text{A} + 0,6 \times 10^9 \mu\text{A} / \text{mol L}^{-1} C.(\Delta^9\text{-THC}). \quad (13)$$

Por meio desta, foram obtidos valores de, LD em $2,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e LQ em $6,7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ usando a relação 3DP/b e 10DP/b respectivamente, onde b é a sensibilidade amperométrica da curva.

Figura 54 – Relação da concentração de padrão Δ^9 -THC derivatizada com Fast Blue B com a ip_a , utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo pelos resultados obtidos por VOQ.

Após a verificação da sensibilidade da VOQ frente ao analito derivatizado, foi proposto a utilização da VC, a fim de verificar a linearidade da sensibilidade em concentrações maiores. A modalidade voltamétrica VC foi utilizada para este estudo. A Figura 55 apresenta os voltamogramas de sucessivas adições da solução de padrão Δ^9 -THC derivatizada com o reagente colorimétrico dentro do intervalo de potencial - 0,9 a 0,9 V, utilizando os parâmetros instrumentais otimizados para esta modalidade. A concentração Δ^9 -THC adicionada à célula eletroquímica variou de $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Assim, verificou-se o registro de ip_a a partir de uma concentração superior a $1,1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. A ip_a variou linearmente com a concentração. Não foram verificados registro de ip_c . A curva analítica apresentada na Figura 56 ilustra tal linearidade. O valor obtido de r foi de 0,998, DP em 1,85 μA . A equação obtida para a curva analítica foi a seguinte:

$$ip_a = -2,20 \mu\text{A} + 1,06 \times 10^9 \mu\text{A} / \text{mol L}^{-1} C.(\Delta^9\text{-THC}). \quad (14)$$

Os valores de LD e LQ foram $5,23 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,74 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, usando a relação 3DP/b, e 10DP/b, respectivamente.

Figura 55 - Voltamogramas cíclicos de sucessivas adições de solução padrão Δ^9 - THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ derivatizada com reagente colorimétrico Fast Blue B. Eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.

Figura 56 – relação da i_{pa} (μA) em função da concentração de padrão $\Delta^9\text{-THC}$ derivatizada com Fast Blue B por VC utilizando eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

Um estudo voltamétrico por VPD envolvendo a solução padrão $\Delta^9\text{-THC}$ derivatizada com Fast Blue B foi realizado, buscando verificar a sensibilidade da modalidade voltamétrica frente à solução. A Figura 57 apresenta voltamogramas de pulso diferencial referentes às sucessivas adições de solução padrão $\Delta^9\text{-THC}$ derivatizada. Utilizando os parâmetros instrumentais otimizados para esta modalidade voltamétrica, em uma faixa de potencial entre -0,5 a 0,5 V vs Ag/AgCl, $\text{KCl}_{(\text{sat})}$, a concentração de $\Delta^9\text{-THC}$ adicionada à célula eletroquímica variou de $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. No entanto, o registro de i_{pa} bem definido foi observado após a adição de 3 nmol L^{-1} ($15 \mu\text{L}$, aproximadamente), obedecendo a linearidade do aumento de i_{pa} com a concentração adicionada à célula eletroquímica, conforme apresentado na Figura 57. A Figura 58 ilustra a curva analítica referente à i_{pa} em função da concentração de $\Delta^9\text{-THC}$ ($\times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$) derivatizada com o reagente colorimétrico Fast Blue B, tendo os valores obtidos de r em 0,999 e DP em 0,21. Sua correspondente equação foi:

$$i_{pa} = 0,3 \mu\text{A} + 2,0 \times 10^8 \mu\text{A} / \text{mol L}^{-1} (\Delta^9\text{-THC}). \quad (15)$$

Por meio desta, foram obtidos valores de, LD em $2,7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e LQ em $9,1 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ usando a relação 3DP/b e 10DP/b respectivamente, onde b é a sensibilidade amperométrica da curva.

Figura 57 - Voltamogramas de pulso referencial referentes às sucessivas adições de solução padrão Δ^9 -THC $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ derivatizada com reagente colorimétrico Fast Blue B. Eletrólito de suporte (TBATFB) em meio misto (N,N-DMF e água, na proporção 9:1 v/v). Eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo.

Figura 58 - Relação da i_{p_a} (μA) em função da concentração de padrão Δ^9 -THC derivatizada com Fast Blue B utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo por VPD.

IV.9.2 – Obtenção do Δ^9 -THC de amostra de maconha apreendida pela polícia utilizando a técnica cromatográfica CCD

Utilizando a CCD, foi possível separar o Δ^9 -THC dos demais canabinóides presentes na amostra de maconha apreendida. Quando se utiliza a CCD seguida de revelação com Fast Blue B, é observada a revelação de outros canabinóides tais como CBN e CBD. Porém, as cores dos canabinóides que reagem com Fast Blue B diferem-se, sendo verificado tons intensos e avermelhados para Δ^9 -THC, púrpura para CBN e alaranjado para CBD, dependendo das condições (efeitos da degradação) da amostra analisada. A Figura 59 ilustra a análise de canabinóides extraídos por solvente orgânico utilizando técnica CCD seguida de revelação colorimétrica por Fast Blue B (cromatoplaça “A”). Na cromatoplaça “B” é apresentada a prévia separação do Δ^9 -THC e CBN sem o reagente colorimétrico. Na ausência de lâmpada UV, sugeriu-se a destinação de umas das raias da cromatoplaça localizada na extremidade, realizar a revelação com Fast Blue B e verificar a tonalidade da cor e a comparação com o Rf do padrão de Δ^9 -THC. A fase móvel utilizada foi a mistura de solventes composta por hexano, acetona e metanol nas proporções 87:10:3 (v/v). A cromatoplaça C ilustra a CCD de uma amostra de maconha apreendida. Neste caso, nota-se cores mais claras, evidenciando que esta amostra foi processada por um tempo inferior a 1 ano. Cabe lembrar que tal procedimento é descrito no manual de métodos recomendados para análise de narcóticos da Organização das Nações Unidas (ONU) [109].

Figura 59 – Análise do extrato de canabinóides de amostra apreendida de maconha (A) e solução padrão de Δ^9 -THC (P) utilizando cromatografia em camada delgada seguida de revelação com Fast Blue B.

A razão entre a distância percorrida pelo soluto pela distância percorrida pelo solvente (D_s/D_m) é, para uma dada substância, sob condições específicas, uma constante independente da quantidade relativa da substância ou de outras substâncias presentes, sendo assim possível calcular o valor de R_f para substâncias sob determinadas condições experimentais [113-114]. Utilizando a equação 16:

$$R_f = \frac{D_s}{D_m}$$

Após medir os valores de D_s e D_m com auxílio de um paquímetro, os valores obtidos de R_f para o Δ^9 -THC e para o CBN foram 0,576 e 0,466, respectivamente. A escolha da fase móvel em CCD pode influenciar nos valores de R_f para estas substâncias. Na literatura, foram reportados trabalhos que envolveram o isolamento do Δ^9 -THC utilizando técnicas cromatográficas clássicas, como a cromatografia líquida (CL) e CCD, onde foram utilizadas fases móveis constituída da mistura de solvente apolar e polar, na razão entre 95:5 a 80:20 (v/v) [115]. Elsohly e Ross (2002)

descreveram a adição de solventes não polares inicialmente e, gradativamente, aumentaram a polaridade utilizando solventes polares durante a eluição [115]. Segundo Colins (2006), há uma “competição” entre as moléculas da fase móvel e da amostra, pela superfície do adsorvente, sendo importante levar em consideração a natureza química das substâncias a serem separadas e a polaridade da fase móvel [116]. Como alternativa em uma eventual falta de reagentes apolares, uma mistura de solventes polares pode ser utilizada. Uma mistura de solventes polares pode diminuir o valor do R_f para o Δ^9 -THC e aumentar para o CBN, conforme Figura 60, onde foram utilizados como fase móvel metanol e água, na proporção 80:20 (v/v). O valor obtido para a molécula de Δ^9 -THC foi de 0,506 e para o CBN, 0,765.

Figura 60 – Análise de canabinóides (solução padrão Δ^9 -THC “P”, e de extrato de maconha apreendida pela polícia “A”) utilizando técnica CCD com mistura de solventes polares.

A solução de reagente colorimétrico Fast Blue B, para revelação das cromatoplasmas, é considerada instável quando preparada em solução aquosa. Nesse aspecto, a solução foi preparada antes da sua aplicação como revelador das cromatoplasmas de CCD. O armazenamento da solução não é recomendável, uma vez que seu poder de revelação é enfraquecido, em decorrência de problemas de degradação [109]. Ensaios realizados no laboratório constataram que o armazenamento em local arejado e protegido da luz garante sua ação reveladora em até 7 dias, sem a adição de NaOH.

A quantidade necessária de cromatoplasmas (considerando a medida comercial, 20x20 cm) utilizadas para preparar a solução de Δ^9 -THC e canabinol obtida do extrato de maconha apreendida pela polícia foi de aproximadamente 3 cromatoplasmas (sendo adicionada uma quantidade total de 1,2 mL do extrato em solvente orgânico, como metanol, hexano ou éter de petróleo). Considerando a quantidade média de Δ^9 -THC encontrada nas amostras apreendidas desta droga (4%, m/m) a quantidade de Δ^9 -THC em 1,0 g de maconha é de aproximadamente 40 mg. De acordo com a literatura e com a sensibilidade da técnica voltamétrica frente a esta molécula, uma solução de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ é suficiente para análises voltamétricas. O tempo aproximado de toda esta etapa experimental (pesagem da droga, extração em solvente orgânico, condicionamento das cromatoplasmas e fase móvel, tempo de eluição e revelação das cromatoplasmas, raspagem da região onde foi encontrada a molécula de Δ^9 -THC e CBN, filtração para separação da substância com a sílica da cromatoplasma) foi de aproximadamente duas horas. Considerando a preparação de uma solução $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, em 10 mL de N-N DMF, são necessários 3,14 μg de Δ^9 -THC (derivatizada ou não), sendo necessária a extração de aproximadamente 100 mg de extrato de maconha apreendida, utilizando uma cromatoplasma comercial, dividida ao meio, 10 mL de eluentes constituintes da fase móvel. O tempo total desta etapa experimental de pré purificação é de 80 minutos.

IV.9.3 – Análise de solução Δ^9 -THC obtida do extrato de maconha apreendida pela polícia derivatizada com Fast Blue B

A solução preparada de Δ^9 -THC em amostras de maconha apreendida e revelada com Fast Blue B em meio orgânico N,N-DMF foi analisada por VOQ. Foi utilizado o eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, além dos parâmetros instrumentais otimizados, o intervalo de potencial de varredura entre - 0,4 a 0,3 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat) em aplicações sucessivas do analito entre 5 e 26 μL . Nos voltamogramas apresentados na Figura 61 (Δ^9 -THC extraído da amostra de maconha com reagente colorimétrico Fast Blue B) foi observado um valor de E_{pa} no intervalo de $\pm 0,02 \text{ V}$ vs

Ag / AgCl, KCl_(sat). Novamente, verificou-se o aumento da ipa à medida que se aumenta a concentração do analito. Notou-se o aparecimento de pico bem definido após 13 µL da solução. As análises foram realizadas em triplicata, utilizando o processo de sucessivas adições do analito a célula eletroquímica.

Figura 61 - Voltamogramas de onda quadrada referentes às sucessivas adições de Δ^9 -THC/Fast Blue B obtido de amostra de maconha apreendida pela polícia, usando eletrólito de suporte TBATFB em meio N,N-DMF/água, na proporção 9:1 (v/v). Eletrodo de trabalho: disco de carbono vítreo.

O comportamento voltamétrico da solução Δ^9 -THC obtida de amostra de maconha apreendida derivatizada com Fast Blue B por VC foi adicionado sucessivamente à célula eletroquímica, entre 10 e 165 µL, nas condições otimizadas e utilizando eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, em um intervalo de potencial de varredura entre - 0,8 a 0,8 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat). A Figura 62 apresenta os voltamogramas cíclicos, onde foi observada Epa no intervalo de 0,0 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat). Um comportamento similar foi observado quando comparado com a análise de solução padrão de Δ^9 -THC (derivatizada ou não). Nesta etapa, picos bem definidos começaram a ser registrados a partir da adição de 46 µL da solução analisada. As análises foram

realizadas em triplicata, utilizando o processo de sucessivas adições do analito à célula eletroquímica.

Figura 62 - Voltamogramas cíclicos de sucessivas adições de Δ^9 -THC/Fast Blue B obtido de amostra de maconha apreendida pela polícia, usando eletrólito de suporte TBATFB em meio N,N-DMF/água, na proporção 9:1 (v/v). Eletrodo de trabalho: disco de carbono vítreo.

A análise voltamétrica da solução de Δ^9 -THC obtida de amostra de maconha apreendida revelada com Fast Blue B foi analisada por VPD, conforme apresentado na Figura 63, utilizando arranjo eletródico constituído pelo eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo, utilizando os parâmetros instrumentais otimizados para esta modalidade. O intervalo de potencial de varredura estudado foi entre - 05 a 0,5 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat), aplicações sucessivas do analito entre 8 e 50 μ L. A Epa foi observada em -0,01 V vs Ag / AgCl, KCl_(sat), obedecendo a proporcionalidade do aumento da ipa com a concentração do analito. Notou-se o aparecimento de pico após 18 μ L da solução. As análises foram realizadas em triplicata, utilizando o processo de sucessivas adições do analito à célula eletroquímica.

Figura 63 - Voltamogramas de pulso diferencial referentes às sucessivas adições de Δ^9 -THC/Fast Blue B obtido de amostra de maconha apreendida pela polícia, usando eletrólito de suporte TBATFB em meio N,N-DMF/água, na proporção 9:1 (v/v). Eletrodo de trabalho: disco de carbono vítreo.

Utilizando a curva analítica obtida por meio da análise da solução padrão de Δ^9 -THC/Fast Blue B para as diferentes modalidades voltamétricas utilizadas, foi possível determinar a concentração de Δ^9 -THC obtido de amostras apreendidas de maconha. Os valores da ipa são fundamentais para que os valores de concentração sejam determinados. A Tabela 10 apresenta os valores dos volumes do analito adicionado à célula eletroquímica, o valor de ipa registrado para cada adição, a concentração (C_c , nmol L⁻¹), correspondente ao ipa registrado (verificada na curva analítica) e a concentração do analito (C_s , mol L⁻¹). As 3 modalidades voltamétricas estudadas foram investigadas os valores de ipa e a concentração da solução de Δ^9 -THC oriundo de amostras apreendidas de maconha derivatizado com Fast Blue B de cada uma das replicatas analisadas (n=10). Para cada modalidade voltamétrica, os valores de DPR, a média dos valores de concentração, recuperação e erro foram calculados e reportados na Tabela 11.

Tabela 10 – Valores dos volumes, ipa e concentração do analito derivatizado.

Voltametria	v_a (μL)	ipa (μA)	C_C (nmol L⁻¹)	CS (mol L⁻¹)
VOQ	13	1,86	2,60	1,12 x 10 ⁻⁶
	14	1,91	2,72	1,09 x 10 ⁻⁶
	15	2,01	2,90	1,08 x 10 ⁻⁶
	16	2,08	3,04	1,07 x 10 ⁻⁶
	17	2,16	3,24	1,07 x 10 ⁻⁶
	18	2,22	3,34	1,04 x 10 ⁻⁶
	20	2,67	4,03	1,13 x 10 ⁻⁶
	21	2,78	4,24	1,13 x 10 ⁻⁶
	22	2,89	4,35	1,11 x 10 ⁻⁶
	23	3,04	4,50	1,11 x 10 ⁻⁶
VC	46	8,93	9,80	1,09 x 10 ⁻⁶
	65	11,05	12,09	1,05 x 10 ⁻⁶
	70	12,50	13,79	1,07 x 10 ⁻⁶
	75	13,03	14,40	1,09 x 10 ⁻⁶
	78	14,37	15,60	1,13 x 10 ⁻⁶
	80	14,79	15,90	1,13 x 10 ⁻⁶
	100	18,63	19,80	1,14 x 10 ⁻⁶
	120	20,86	22,18	1,06 x 10 ⁻⁶
	140	26,05	26,70	1,09 x 10 ⁻⁶
	165	31,75	32,02	1,12 x 10 ⁻⁶
VPD	18	1,12	3,50	1,09 x 10 ⁻⁶
	19	1,15	3,68	1,09 x 10 ⁻⁶
	20	1,17	3,72	1,05 x 10 ⁻⁶
	21	1,24	4,02	1,08 x 10 ⁻⁶
	22	1,30	4,35	1,11 x 10 ⁻⁶
	23	1, 35	4,52	1,10 x 10 ⁻⁶
	24	1,41	4,76	1,11 x 10 ⁻⁶
	25	1,42	4,85	1,09 x 10 ⁻⁶
	26	1,46	5,03	1,09 x 10 ⁻⁶
	27	1,53	5,30	1,10 x 10 ⁻⁶

Tabela 11 – Dados estatísticos obtidos na análise voltamétrica de Δ^9 -THC (amostra de maconha apreendida) derivatizada com Fast Blue B.

Voltametria	VOQ	VC	VPD
Média C. Δ^9-THC/$\mu\text{mol L}^{-1}$	1,09	1,10	1,09
Valor máximo t= (95%)	1,11	1,12	1,10
Valor mínimo t= (95%)	1,07	1,07	1,08
DP ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,02	0,03	0,02
DPR (%)	1,83	2,73	1,58
Rec (%)	99,09	99,72	98,30
Erro (%)	0,45	0,27	1,74

Os resultados apontam que os valores de concentração obtidos, para um limite de confiança em 95%, não são significantemente diferentes. A concentração do analito, de acordo com os resultados obtidos por técnicas voltamétricas, indicaram um valor de $1,09 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

V – CONCLUSÃO

Neste estudo, a análise voltamétrica de Δ^9 -THC se mostrou útil para determinar a concentração de Δ^9 -THC (abaixo de $1,0 \text{ nmol L}^{-1}$) quando se utiliza a técnica VOQ combinada com a utilização de eletrodo de carbono vítreo. As demais modalidades (VPD, VVL e VC) apresentaram resultados satisfatórios para análise de padrão e amostra apreendida, derivatizada ou não. Cabe ressaltar que o eletrodo de trabalho de disco de platina apresentou valores de LD e LQ maiores em todas as técnicas voltamétricas quando comparadas com o eletrodo de trabalho de disco de carbono vítreo. No entanto, ao considerar que as técnicas voltamétricas são eficazes na detecção de outras drogas, como cocaína e ecstasy, por exemplo, este eletrodo de trabalho pode ser utilizado. A aplicação de um potencial de pré-concentração em $-0,5 \text{ V}$ por um tempo de 30 s foi considerado adequado para análise Δ^9 -THC nas modalidades investigadas.

A Análise voltamétrica de Δ^9 -THC utilizando modalidade VC possibilitou observar o comportamento voltamétrico na região catódica e anódica dos extratos analisados. Em uma eventual análise de substâncias entorpecentes apreendidas, sugere-se que a VC seja utilizada devido sua versatilidade em analisar as nas regiões catódica e anódica em uma única varredura para verificação de algum possível interferente. A presença do reagente colorimétrico Fast Blue B na solução eletrólito de suporte não apresentou processo redox e não impediu a resposta voltamétrica de Δ^9 -THC, sendo observado apenas diminuição da ipa. O método da curva analítica pode ser considerado uma ferramenta importante para o parâmetro de comparação entre a solução padrão e soluções de amostras apreendidas da referida droga. A CCD se mostrou essencial para pré-purificação de Δ^9 -THC obtida do extrato de amostra de maconha apreendida pela polícia. No entanto, esta técnica pode ser inconclusiva se não for obedecidos os critérios de execução, principalmente na escolha dos eluentes constituintes da fase móvel.

Assim, espera-se que os resultados deste estudo, em conjunto com os já desenvolvidos para as demais drogas de abuso utilizando eletroquímica, possam ser

úteis na criação de protótipos de dispositivos portáteis para a utilização destes em locais de crime relacionados com tráfico de drogas.

VI – REFERÊNCIAS

- [1] NOTO, A. R.; BAPTISTA, M. C.; FARIA, S. T.; NAPPO, S. A.; GALDURÓZ, J. C.; CARLINI, E. A. Drogas e saúde na imprensa brasileira: uma análise de artigos publicados em jornais e revistas. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.19, p. 69-79, jan-fev, 2003.
- [2] Drogas Psicotrópicas. Disponível em:
<http://www.unifesp.br/dpsicobio/cebrid/folhetosdrogas_htm>.
Acessado em 19/07/2014
- [3] Drogas ilícitas. Disponível em:
<<http://www.unodc.org/unodc/en/illicit-drugs/definitions/>>.
Acessado em 09/08/2014.
- [4] SHIBUYA, E. K. **Rastreamento da origem geográfica de amostras de maconha apreendidas nas ruas de São Paulo, por meio de Assinaturas Químicas**. 225 f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear – Materiais). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- [5] SCHIER, A. R. M.; RIBEIRO, N. P. O.; SILVA, A. C. O.; HALLAK, J. E. C.; CRIPPA, J. A. S.; NARDI, A. E.; ZUARDI, A. W. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, as an anxiolytic drug. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, Rio de Janeiro, v.34, sup.1, p. S104-S117, jun. 2011.
- [6] World Drug Report 2013. Disponível em:
<http://www.unodc.org/documents/lpobrazil//Topics_drugs/WDR/2013/PTReferencias_BRA_Portugues.pdf>. Acessado em 05/08/2014.
- [7] ABEL, E. L. **Marijuana: the first twelve thousand years**. 1 ed., Springer, New York, 1980, 289 p.

- [8] ZUARDI, A. W. History of cannabis as a medicine: a review. **Rev Bras. Psiquiatr.**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 2, p. 153-157, jun. 2006.
- [9] KUDDUS, M.; GINAWI, I. A. M.; AL-HAZIMI, A. Cannabis sativa: an ancient wild edible plant of India. **Emir. J. Food Agric.**, Abu Dahbi, v. 25, n.10, p. 736-745, out. 2013.
- [10] CARLINI, E. A. A história da maconha no Brasil. **J. Bras. Psiquiatr.**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 4, p. 314-317, dez. 2006
- [11] SAAD, L. G. O discurso da Medicina na proibição da maconha: preocupações acerca da composição racial na formação de uma República exemplar. Simpósio Nacional de História, 26, 2011. Disponível em:
<http://www.snh2011.anpuh.org/resources/anais/14/1307677474_ARQUIVO_textoanpuhok.pdf>. Acessado em 06/08/2014.
- [12] KARAM, M. L. **Proibições, riscos, danos e enganos: as drogas tornadas ilícitas**. 3 ed, Lumen Juris, Rio de Janeiro, 2009, 57 p.
- [13] BARROS, A.; PERES, M. Proibição da maconha no Brasil e suas raízes históricas escravocratas. *Rev. Periferia*. Rio de Janeiro, v.3, n. 2. Disponível em:
<<http://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/periferia/article/view/3953/2742>>. Acessado em 06/08/2014.
- [14] SOUBHIA, P. C. **Período de detecção de canabinóides urinários por imunofluorescência polarizada em população usuária de Cannabis**. Dissertação, 92 f. (Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.
- [15] BRASIL, Lei nº 11.343, de 23 de agosto de 2006. Institui o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas - Sisnad; prescreve medidas para prevenção do uso indevido, atenção e reinserção social de usuários e dependentes de drogas; estabelece normas para repressão à produção não autorizada e ao tráfico ilícito de drogas;

define crimes e dá outras providências. Disponível em:
 <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/l11343.htm>.

Acessado em: 06/08/2014.

[16] ALMEIDA, A. C. S. **Políticas Públicas na Nova Lei de Drogas**. 22f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Direito) – Centro Universitário do Pará, Belém, 2009.

[17] Toleration policy regarding soft drugs and coffee shops. Disponível em:

<<http://www.government.nl/issues/drugs/toleration-policy-regarding-soft-drugs-and-coffee-shops>>. Acessado em 07/08/2014.

[18] Presidencia de la Republica Oriental del Uruguay. Proyecto de Ley. Disponível em:

<http://archivo.presidencia.gub.uy/sci/leyes/2013/12/cons_min_803.pdf>.

Acessado em 07/08/2014.

[19] PARDO, B. Cannabis policy reforms in the Americas: A comparative analysis of Colorado, Washington, and Uruguay. **Int. J. Dug Policy**, London, v. 25, p. 727, 735, jul. 2014.

[20] Dados sobre apreensão de maconha 2013 pela Polícia Federal em território brasileiro. Disponível em: <<http://www.dpf.gov.br/agencia/noticias/2014/01/pf-bate-recorde-de-apreensao-de-drogas-em-2013>>. Acessado em 07/07/2014.

[21] SHI, Y. At high risk and want to quit: Marijuana use among adults with depression or serious psychological distress. **Addict. Behav.**, New York, v. 39, p. 761-767, abr. 2014.

[22] MATHEWS, R. R.; HALL, W. D.; GARTNER, C. E. Depression and psychological distress in tobacco smokers and people with cannabis dependence in the National Survey of Mental Health and Wellbeing. **Med. J. Aust.**, Sydney, v. 195, S12–S15, ago. 2011.

- [23] DITMYER, M.; DEMOPOULOS, C.; McCLAIN, M.; DOUNIS, G.; MOBLEY, C. The Effect of tobacco and marijuana use on dental health status in Nevada adolescents: a trend analysis. **J. Adolesc. Health.**, New York, v.52, p. 641-648, fev. 2013.
- [24] HUGHES, J. R.; FINGAR, J. R.; BUDNEY, A. J.; NAUD, S.; HELZER, J. E.; CALLAS, P. W. Marijuana use and intoxication among daily users: An intensive longitudinal study. **Addict. Behav.**, New York, v. 39, p. 1464-1470, jun. 2014.
- [25] ELSOHL, M. A.; SLADE, D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. **Life Sci.**, Oxford, v.78, n5., p 539-548, dez. 2005.
- [26] GAONI, Y.; MECHOULAM, R. Isolation structure and partial synthesis of a constituent of hashish. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 86, p. 1646-1647, 1964.
- [27] PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; RATES, S. M. K.; Von POSER, G. L. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Braz. J. Pharmacogn.**, João Pessoa, Vol. 19 n. 1A p. 140-149, mar. 2009.
- [28] MURA P., BRUNET, B.; DUJOURDY, L.; PAETZOLD, C.; BERTRAND, G.; SERA, B.; SACLIER, B.; DEVEAUX, M.; PÉPIN, G.; PERRIN, M.; LECOMPTE, Y.; DUMESTRE-TOULET, V.; CIRIMELE, V.; KINTZ, P. Cannabis d'hier et cannabis d'aujourd'hui. Augmentation des teneurs en THC de 1993 à 2004 en France. **Ann Toxicol Anal.**, Paris, v. 18, n.1 p.3-6, fev. 2006.
- [29] O Plantio e cultivo de maconha na Amazônia. Disponível em: <<http://new.d24am.com/noticias/amazonas/policia-queima-plantacao-de-maconha-as-margens-de-rio-no-amazonas/81393>>. Acessado em 07/08/2014.
- [30] UNITED NATIONS. **Office on Drugs and crime. Recommended Methods for the Identification and Analysis of Cannabis and Cannabis Products.** United Nations publication, Viena, 2009, 60 p.

- [31] GOULLÉA, J.P.; SAUSSEREAU, E.; LACROIX, C. Pharmacocinétique du delta-9-tétrahydrocannabinol (THC). **Ann. Pharm. Françaises**. Paris, vol. 66, p. 232-244, jan. 2008.
- [32] HAZEKAMP, A. Chemistry of Cannabis. In: MANDER, L, LIU, H. W. **Comprehensive Natural Products II**. Milano, Elsevier, v.10, 2010, p. 1033- 1084.
- [33] Liberação do canabidiol. Disponível em:
<<http://exame.abril.com.br/brasil/noticias/anvisa-autorizou-37-pedidos-de-importacao-do-canabidiol-4>>. Acessado em 15/08/2014.
- [34] ALVES, A. O.; SPANIOL, B.; LINDEN, R. Canabinoides sintéticos: drogas de abuso emergentes. **Rev. Psiqu. Clín.**, São Paulo, v.39, n.4, p. 142-148, jun. 2012.
- [35] AGOSTINHO, T. C. **Análise Voltamétrica de 3,4- metilenodioximetanfetamina**. Ribeirão Preto. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, na área de Química). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.
- [36] RUSSO, E.; GUY, G. W. A tale of two cannabinoids: the therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. **Med. Hypotheses**, Philadelphia, v. 66, n.2, p. 234-246, 2006.
- [37] ELSOHL, M. A. **Marijuana and the cannabinoids**. Totowa, Humana Press, 2007, p. 1-119.
- [38] PASSAGLI, M. **Toxicologia Forense**. Campinas, Millennium, 2008, p.127-169.
- [39] MENEZES, M. M. T. **Desenvolvimento de sensores Piezelétricos para análises forenses de Δ^9 -THC e Cocaína**. Ribeirão Preto. 189 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, na área de Química). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

[40] Haxixe. Disponível em:

<http://www.justice.gov/dea/druginfo/concern_fentanyl.shtml#hashishoil>.

Acessado em 09/08/2014.

[41] COLLET, F.; PRETOT, S. Thermal conductivity of hemp concretes: Variation with formulation, density and water content. **Constr. Build. Mater.**, v. 65, p. 612–619, ago. 2014.

[42] MENEZES, M. M. T.; ANDRADE, J. F.; OLIVEIRA, M. F.; TRISTÃO, H. M.; SACZK, A. A.; OKUMURA, L. L.. Analysis of Δ^9 -THC in cosmetics by high performance liquid chromatography with UV-Vis detection. **Br. J. Anal. Chem.**, São Paulo, v. 8, p. 341–344, abr. 2012.

[43] ZOLLER, O.; RHYN, P.; ZIMMERLI, B. High-performance liquid chromatographic determination of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and the corresponding acid in hemp containing foods with special regard to the fluorescence properties of Δ^9 -tetrahydrocannabinol. **J. Chromatogr. A.**, New York, 872, p. 101–110, mar. 2000.

[44] KOSTIC, M., PEJIC, B., SKUNDRIC, P. Quality of chemically modified hemp fibers. **Bioresour. Technol.**, New York, v. 99, p. 94–99, jan. 2008.

[45] KUGLARZ, M., GUNNARSSON, I. B.; SVENSSON, S.; PRADE, T.; JOHANSSON, E.; ANGELIDAKI, I. Ethanol production from industrial hemp: effect of combined dilute acid/steam pretreatment and economic aspects. **Bioresour. Technol.**, New York, v. 163, p. 236-243, jul.2014.

[46] LI, S.; STUART, J. D.; LI, Y.; PARNAS, R. S. The feasibility of converting Cannabis sativa L. oil into biodiesel. **Bioresour. Technol.**, New York, v. 101, p. 8457-8460, nov. 2010.

[47] NOCERINO, E.; AMATO, M.; IZZO, A. A. Cannabis and cannabinoid receptors. **Fitoterapia**, Milano, v. 71, p. S6-S12, 2000.

[48] STEINMEYER, S.; OHR, H.; MAURER, H. J.; MOELLER, M. R. Practical aspects of roadside tests for administrative traffic offences in Germany. **Forensic Sci. Int.**, Amsterdam, v. 121, p. 33-36, set. 2001.

[49] YONAMINE, M. **A saliva como espécime biológico para monitorar o uso do álcool, anfetamina, metanfetamina, cocaína e maconha por motoristas profissionais.** 139 f. Tese (Doutorado em Toxicologia). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

[50] LIMA, E. F. **Estudo da modelagem molecular do receptor canabinoide CB1 e suas interações com Δ^9 -THC.** 106 f. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

[51] THOMAS, G.; KLONER, R. A.; REZKALLA, S. Adverse cardiovascular, cerebrovascular, and peripheral vascular effects of marijuana inhalation: what cardiologists need to know. **Am. J. Cardiol.**, New York, v.113, p. 187-190, jan. 2014.

[52] FITZGERALD, K. T.; BRONSTEIN, A.; NEWQUIST, K. L. Marijuana Poisoning. **Topics in Compan. An. Med.**, New York, v.28, p. 8–12, fev. 2013.

[53] WHAN, L. B.; WEST, M. C. L.; McCLURE, N.; LEWIS, S. E. M. Effects of delta-9-tetrahydrocannabinol, the primary psychoactive cannabinoid in marijuana, on human sperm function in vitro. **Fertil. Steril.**, New York, v.85, n.3, p. 653-660, mar. 2006.

[54] WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cannabis, a health perspective and research agenda.** Genebra: Division of Mental and Health and Prevention of Substance of Abuse, 1997, 50 p.

[55] PELIÇÃO, F. S.; PERES, M. D.; PISSINATE, J. B.; MARTINIS, B. S. A One-Step Extraction Procedure for the Screening of Cocaine, Amphetamines and Cannabinoids in Postmortem Blood Samples. **J. Anal. Toxicol.**, Oxford, v.38, n.6, p. 341-348, jul. 2014.

[56] AMBACH, L., PENITSCHKA, F.; BROILLET, S.; KÖNIG, S.; WEINMANN, W.; BERNHARD, W. Simultaneous quantification of delta-9-THC, THC-acid A, CBN and CBD in seized drugs using HPLC-DAD. **For. Sci. Int.**, Philadelphia, v. 243, p. 107–111, out. 2014.

[57] BELL, S. **Forensic Chemistry**. New Jersey: Prentice Hall, 2006, p. 281-318.

[58] KELLY, J. False positive equal false justice. Disponível em: <http://www.cacj.org/documents/sf_crime_lab/studies__misc_materials/falsepositives.pdf>. Acessado em 03/05/2014.

[59] BORDIM, D.C.; MESSIAS, M.; LANARO, R; CAZENAVE, S. O. S; COSTA, J. L. Análise forense: pesquisa de drogas vegetais interferentes de testes colorimétricos para identificação dos canabinoides da maconha (*Cannabis Sativa* L.). **Quím. Nova**, São Paulo, v.35, n. 10, p. 2040, 2043, set. 2012.

[60] VELHO, J. A.; GEISER, G. C.; ESPINDULA, A. **Ciências Forenses: uma introdução às principais áreas da criminalística moderna**. Campinas, Millennium, 2012, p. 99-188.

[61] BRUNI, A. T.; VELHO, J.; OLIVEIRA, M. F. **Fundamentos de química forense: uma análise prática da química que soluciona crimes**. Campinas, Millennium, 2012, p. 1-35.

[62] Ação indenizatória por danos morais e materiais. Disponível em: <[http://www.defensoria.sp.gov.br/dpesp/Repositorio/30/Documentos/REPARA_DANIELE\[1\].doc](http://www.defensoria.sp.gov.br/dpesp/Repositorio/30/Documentos/REPARA_DANIELE[1].doc)>. Acessado em 28/08/2014.

[63] Teste reprovado. Disponível em: <<http://revistaepoca.globo.com/Revista/Epoca/0,,EDG759356014,00TESTE+REPROVADO.html>>. Acessado em 15/08/2014.

[64] Injustiça brasileira. Disponível em:

<<http://www1.folha.uol.com.br/fsp/opiniao/22120-injustica-brasileira.shtml>>.

Acessado em 15/08/2014.

[65] CARDOSO, J. L. **Desenvolvimento de sistemas portáteis de monitoramento eletroquímico**. 146 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica). Escola Politécnica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

[66] JANATA, J. **Principles of chemical sensors**. New York, Plenum, 1989, 317 p.

[67] STRADIOTTO, N R; YAMANAKA, H; ZANONI, M V B. Electrochemical Sensors: A powerful tool in analytical chemistry. **J. Bras. Chem. Soc.**, São Paulo, v.14, n. 2, p.159-173, abr. 2003.

[68] BAIZER, M. **Organic Electrochemistry**. New York, Marcel Decker, 2 ed., 1972, p. 464-465.

[69] KUSLEZA, P.J.; COX, J.A. Solid state voltammetry. **Eletroanalysis**, Wheinhein, v.10, n.2, p. 73-80, dez. 1998.

[70] SKOOG, D. A. **Fundamentos de Química Analítica**. 6 ed. Thomson: São Paulo, 2006, p. 461-665.

[71] HARVEY, D. T. **Modern Analytical Chemistry**. McGraw-Hill: New York, 2000, p. 460-532.

[72] ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e técnicas. Chemkeys. Disponível em: <<http://chemkeys.com/br/wpcontent/themes/chemkeysbr/articleI.php>>.

Acessado em 01/05/2014.

[73] BARD, J., FAULKNER, L. R. **Eletrochemical methods – fundamentals and applications**. 2 ed., John Willey & Sons, New York, 200, 807 p.

- [74] YIN, J., WANG, H. Antifreezing Ag/AgCl reference electrodes: fabrication and applications. **J. Electroanal. Chem.**, New York, v. 666, p. 25-31, 2012.
- [75] AGOSTINHO, S. M. L.; VILLAMIL, R. F. V.; AGOSTINHO NETO, A.; ARANHA, H.. O eletrólito de suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. **Quím. Nova**. São Paulo, v. 27, n. 5, p. 813-817, 2004.
- [76] SALES, M. O. **Desenvolvimento de sensor eletroquímico para monitoramento de chumbo em resíduos de disparo de armas de fogo**. 142 f. Tese (Doutorado em Ciências, área: Química). Instituto de Química. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- [77] GIRAULT, H. H. **Analytical and Physical Electrochemistry**. Marcel Decker: New York, 2004, p. 301-385.
- [79] OLIVEIRA, F. C. M. **Desenvolvimento de sensores eletroanalíticos utilizando eletrodos modificados com filme de Bismuto**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- [80] GALATO, D. **Correlação entre os dados eletroquímicos, fotométricos e de cálculos teóricos obtidos para avaliar a atividade antioxidante in vitro de compostos fenólicos**. 109 f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- [81] ROSA, T. F., SACZK, A. A.; ZANONI, M. V. B; STRADIOTTO, N. R.. Determinação voltamétrica do nedocromil de sódio utilizando eletrodo de carbono vítreo. **Eclét. Quím.**, São Paulo, v. 28, n.3, p. 63-68, 2003.
- [82] DANTAS, L. M. F. **Determinação de hidrazina por voltametria de onda quadrada sobre eletrodo modificado com FETPyPz**. 58 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2007.

[83] SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Quím. Nova**. São Paulo, v. 26, n. 1 p. 81-89, 2003.

[84] GULABOSKI, R.; PEREIRA, C. M. Electroanalytical Techniques and Instrumentation in Food Analysis. In: OTLES, S. **Handbook of Food Analysis Instruments**. Boca Raton, CRC Press, 2008, p. 379-390.

[85] ADELOJU, S. Electrochemical stripping analysis of trace and ultra-trace concentrations of toxic metals and metalloids in foods and beverages. In: PICÓ, Y. **Food Toxicants Analysis, thecniques, strategies and developments**. Elsevier: Amsterdam, 2007 p. 667 – 696.

[86] Falta de Laudo. Disponível em:

<<http://g1.globo.com/rn/rio-grande-do-norte/noticia/2014/06/itep-responsabiliza-perito-por-falta-de-laudo-que-fez-juiza-soltar-presno-rn.html>>. Acessado em 29/08/2014.

[87] Exame definitivo de drogas de abuso utilizando CCD. Disponível em:

<<http://www.calilanoticias.com/2013/02/laboratorio-da-policia-tecnica-em-irece-ja-faz-exame-definitivo-de-drogas.html>>. Acessado em 29/08/2014.

[88] OLIVEIRA, L. S; BALBINO, M. A.; MENEZES, M. M. T., DOCKAL, E. R.; OLIVEIRA, M. F. Voltammetric analysis of cocaine using platinum and glassy carbon electrodes chemically modified with Uranyl Schiff base films. **Microchem. J.**, New York, v. 110, p. 374-378, set. 2013.

[89] OLIVEIRA, L.; POLES, A. P. S.; BALBINO, M. A.; MENEZES, M. M. T.; ANDRADE, J. F.; DOCKAL, E. R.; TRISTÃO. H. M.; OLIVEIRA, M. F. Voltammetric Determination of Cocaine in Confiscated Samples Using a Carbon Paste

Electrode Modified with Different $[\text{UO}_2(\text{X-MeOsalen})(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ Complexes. **Sensors**, Basel, v. 13, p. 7668-7679, jun. 2013.

[90] OIYE, E. N., FIGUEIREDO, N. B.; ANDRADE, J. F.; TRISTÃO, H. M.; OLIVEIRA, M. F. Voltammetric determination of cocaine in confiscated samples using a cobalt hexacyanoferrate film-modified electrode, **For. Sci. Int.**, Lausanne, v. 192, p. 94-97, ago. 2009.

[91] ABEDUL, M. T. F.; RODRIGUEZ, J. R. B.; GARCIA, A. C.; BLANCO, P. T. Voltammetric determination of cocaine in confiscated samples. **Electroanalysis**. Weinheim, v. 3, p. 409-412, jun. 1991.

[92] GOODWIN, A.; BANKS, C. E.; COMPTON, R. G. Graphite micropowder modified with 4-amino-2, 6-diphenylphenol supported on basal plane pyrolytic graphite electrodes: micro sensing platforms for the indirect electrochemical detection of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol in saliva. **Electroanalysis**. Wheinhein, v.18, p. 1063-1067, jun. 2006.

[93] BALBINO, M.A.; MENEZES, M. M. T; ELEOTERIO, I. C.; SACZK, A. A.; OKUMURA, L. L., TRISTÃO, H. M.; OLIVEIRA, M. F. Voltammetric determination of Δ^9 -THC in glassy carbon electrode: an important contribution to forensic electroanalysis. **For. Sci. Int.**, Co. Clare, n. 221, p. 29-32, set. 2012.

[94] BALBINO, M. A., ELEOTERIO, I. C.; OLIVEIRA, L. S; MENEZES, M. M. T; ANDRADE, J. F.; IPOLITO, A. J.; OLIVEIRA, M. F.. A comparative study between two different conventional working electrodes for detection of Δ^9 -tetrahydrocannabinol using square-wave voltammetry: a new sensitive method for forensic analysis. **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 589-596, mar. 2014.

[95] NOVAK, I.; MLAKAR, M; KOMORSKY-LOVRIC, S. Voltammetry of Immobilized Particles of Cannabinoids. **Electroanal.**, Wheinheim, v. 25, n. 12, p. 2631-2636, dez. 2013.

- [96] TADINI, M. C., BALBINO, M.A.; ELEOTERIO, I. C.; OLIVEIRA, L. S.; DIAS, L. G.; DEMETS, G. J.; OLIVEIRA, M. F. Developing electrodes chemically modified with cucurbit[6]uril to detect 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) by voltammetry. **Electrochim. Acta**, New York, v. 121, p. 188-193, mar. 2014.
- [97] MERLI, D., ZAMBONI, D.; PROTI, S.; PESAVENTO, M.; PROFUMO, A.. Electrochemistry and analytical determination of lysergic acid diethylamide (LSD) via adsorptive stripping voltammetry. **Talanta**, New York, v.130, p. 456-461, dez. 2014.
- [98] RODRIGUES, J. A. M. **Análise voltamétrica, após derivatização, de compostos passíveis de condensação cíclica: análise em alimentos.** 356 f. Dissertação (Doutorado em Química). Departamento de Química. Universidade do Porto, Porto, 1998.
- [99] BALBINO, M.A. **Análise voltamétrica de tetraidrocanabinol.** 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, na área de Química). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.
- [100] WU, K., JI, X.; FEI, J.; HU, S. The fabrication of a carbon nanotube film on a glassy carbon electrode and its application to determining thyroxine. **Nanotechnology**, Bristol, v.15, p. 287-290, mar. 2004.
- [101] SAFAVI, A.; MALEKI, N.; TAJABADI, F. Highly stable electrochemical oxidation of phenolic compounds at carbon ionic liquid. **Analyst**, v. 132, p. 54–58, jan. 2007.
- [102] BOND, A. M. **Modern polarographic methods in Analytical Chemistry.** New York, Marcel Decker, 1980, p. 178-197.
- [103] PAIM, L. L. **Desenvolvimento de sensores baseados em eletrodo modificados com pentacianonitrosilferratos para determinação de compostos sulfurados em**

gás natural. 202 f. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química. Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

[104] DOGAN-TOPAL, B.; OZKAN, S. A.; USLU, B. The Analytical Applications of Square Wave Voltammetry on Pharmaceutical Analysis, **TOCBMJ.**, Sharjah, v.3, p. 56-73, mai. 2010.

[105] ROSATTO, S. S.; FREIRE, R. S.; DURAN, N.; KUBOTA, L. T. Biossensores amperométricos para determinação de compostos fenólicos em amostras de interesse ambiental, *Quím. Nova*, São Paulo, v. 24, p. 77-86, fev. 2001.

[106] BURESTEDT, E.; NARVAEZ, A.; RUZGAS, T.; GORTON, L.; EMNEUS, J.; DOMINGUEZ, E.; MARKO-VARGA, G. Rate-limiting steps of tyrosinase-modified electrodes for the detection of catechol, *Anal. Chem.* v. 68 p. 1605-1611, mai. 1996.

[107] YAMAKURA, S. In: *The Chemistry of Phenols*; RAPPOPORT, Z., ed.; John Wiley & Sons: West Sussex, 2003.

[108] KING, W. P.; JOSEPH, K. T.; KISSINGER, P. T.; Liquid chromatography with amperometric detection for determining phenolic preservatives. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, Rockville, v. 63, p. 137.1980.

[109] UNITED NATIONS. Division of Narcotic Drugs. **Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products: Manual for Use by National Drug Analysis Laboratories**. Viena, 2009, 50p.

[110] Scientific Working Group for the analysis of seized drugs recommendations, SWGDRUG. Disponível em:
<http://www.swgdrug.org/archived/MethodsofAnalysis_DrugIdentification102003.pdf>. Acessado em 25/08/2014.

- [111] OLIVEIRA, M. F. **Estudo do comportamento eletroquímico do Albendazol e Fenbendazol. Ribeirão Preto.** 69 f. Dissertação (Mestrado em Química). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1999.
- [112] ASSIS, A. P. Desenvolvimento de um método voltamétrico para determinação de herbicida tebutiuram em amostras de açúcar. **Viçosa, 132p. Dissertação (mestrado em Química). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.**
- [113] HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa.** 7 ed, Rio de Janeiro: LTC, 2008, p. 1-120.
- [114] CONSTANTINO, M. G.; DA SILVA, G. V. J.; DONATE, P. M. **Fundamentos de Química Experimental.** São Paulo: EDUSP, 2004, p. 202.
- [115] THE UNIVERSITY OF MISSISSIPPI. School of Pharmacy. Mahmoud A. Elsholy, Samir A. Ross. Method of preparing Δ^9 -THC. US n. 6365416. 22 abr. 2002, 26 out. 2018. Disponível em: <<http://www.patentstorm.us.patents/6365416/description.htm>>. Acesso em 09/06/2014.
- [116] COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia.** Campinas: Unicamp, 2006, 452 p.
- [117] BRASIL, **LEI Nº 11.343**, DE 23 DE AGOSTO DE 2006. Institui o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas - Sisnad; prescreve medidas para prevenção do uso indevido, atenção e reinserção social de usuários e dependentes de drogas; estabelece normas para repressão à produção não autorizada e ao tráfico ilícito de drogas; define crimes e dá outras providências.