



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

“Desenvolvimento de metodologias voltamétricas para análise de entorpecentes em amostras de saliva com eletrodos de baixo custo”.

Érica Naomi Oiye

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

RIBEIRÃO PRETO -SP

2024

ÉRICA NAOMI OIYE

---

**Versão Corrigida**

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências,

Área de Concentração: Química

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Firmino de Oliveira

Ribeirão Preto

2024

## FICHA CATALOGRÁFICA

Oiye, Érica Naomi

\_\_\_\_\_. Ribeirão Preto, 2024.

87 p. : il. ; 30cm

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

Orientador: Oliveira, Marcelo Firmino.

1. Química forense. 2.  $\Delta^9$ -THC. 3. MDMA. 4. Voltametria.

Nome: Oiye, Érica Naomi

Título: Desenvolvimento de metodologias voltamétricas para análise de entorpecentes em amostras de saliva com eletrodos de baixo custo

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

Aprovado em: 13/12/2023

Banca Examinadora

Prof. Dr. Bruno Spinosa de Martinis

Instituição: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Anderson Rodrigo Moraes de Oliveira

Instituição: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Victor Alexandre Percinio Gianvecchio

Instituição: Instituto Médico Legal – Superintendência da Polícia Técnico Científica de São Paulo

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. José Wilmo da Cruz Júnior

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Julgamento: \_\_\_\_\_

## RESUMO

OIYE, Érica Naomi. **Desenvolvimento de metodologias voltamétricas para análise de entorpecentes em amostras de saliva com eletrodos de baixo custo.** 2023 80f. Tese (Doutorado em Química). Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

O aumento do consumo recreativo das drogas *ecstasy* e maconha demandou por novas metodologias analíticas em matrizes biológicas alternativas, como o fluido oral. Tais drogas tem como princípios ativos o MDMA (3,4-metilenodioximetanfetamina) e o  $\Delta$ 9-THC (delta-9-tetraidrocanabinol), figurando como analitos em técnicas voltamétricas. A fabricação de eletrodos em impressora 3D para as análises eletroquímicas, juntamente à toxicologia, constitui um fértil campo para inovações na comunidade acadêmica. Neste contexto, este trabalho buscou desenvolver metodologias voltamétricas para análise de MDMA e  $\Delta$ 9-THC em fluido oral em eletrodos de baixo custo e eletrodos impressos (*screen printed electrodes* – SPE). Ademais, foi proposto também o uso de eletrodos confeccionados em impressora 3D. Primeiramente, os parâmetros experimentais para o MDMA foram configurados em solução de saliva artificial em sistema convencional com pasta de carbono. A partir da metodologia otimizada, aplicou-se em SPE para amostras reais de fluido oral fortificadas com padrão. Após o desenvolvimento de procedimento de preparo de amostra, foi possível estabelecer uma análise quantitativa em SPE, cujo valor para o Limite de Detecção foi de  $5,35 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , equivalente ao encontrado em literatura para esta matriz, com uso de técnicas cromatográficas acopladas à Espectrometria de Massas. Para a análise de  $\Delta$ 9-THC, verificou-se sua resposta em solução real de fluido oral, a partir de mesmo procedimento de preparo. Os resultados mostram que há a possibilidade de análise de  $\Delta$ 9-THC, desde que seja realizada imediatamente após o preparo de solução. O desenvolvimento de eletrodo em impressora 3D mostrou que a análise qualitativa de  $\Delta$ 9-THC é viável, bem como os metabólitos dos entorpecentes estudados em concentrações mais altas que as reportadas em literatura.

**Palavras chaves:** química forense, MDMA,  $\Delta$ 9-THC, saliva, voltametria

## ABSTRACT

OIYE, Érica Naomi. **Development of Voltammetric Methods for detection of illicit drugs in oral fluid in low cost electrodes.** 2023 80 f. Tese (Doutorado em Química). Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

The increase in recreational consumption of ecstasy and marijuana has demanded new analytical methodologies in alternative biological matrices, such as oral fluid. These drugs have as main active substance MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine) and  $\Delta$ 9-THC (delta-9-tetrahydrocannabinol), appearing as analytes in voltammetric techniques. The manufacture of electrodes using a 3D printer for electrochemical analysis, jointly with toxicology, are seen as a promising field for innovation in the academic community. In this context, this work aimed the development of voltammetric methodologies for the analysis of MDMA and  $\Delta$ 9-THC in oral fluid using low-cost electrodes and screen printed electrodes (SPE). Furthermore, the confection of these electrodes in a 3D printer was also proposed. Firstly, the experimental parameters for MDMA were set in artificial saliva solution in a conventional system with carbon paste. From the optimized methodology, it was applied in SPE to real oral fluid samples fortified with standard solution of the drug. After developing a sample preparation procedure, a quantitative analysis in SPE was established, with a Limit of Detection  $5.35 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , equivalent to literature for this matrix, with chromatographic techniques coupled to Mass Spectrometry. For the analysis of  $\Delta$ 9-THC, its response was verified in real oral fluid solution, using the same preparation procedure. The results show it is possible to analyze  $\Delta$ 9-THC, once it is carried out immediately after preparing the solution. The development of an electrode in a 3D printer allows the qualitative analysis of  $\Delta$ 9-THC, as well as the metabolites of the drugs studied in this project in higher concentrations than those reported in the literature.

**Keywords:** Forensic Chemistry.  $\Delta$ 9-THC. MDMA, saliva, Voltammetry.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Perfil de drogas consumidas no mundo, em 2020, com número de usuários em milhões. ....	17
Figura 2: Estatística sobre o número de artigos publicados na plataforma Web of Science, com as palavras “Forensic AND Voltammetry”, em levantamento em junho de 2023. ....	19
Figura 3 Estrutura química do MDMA .....	20
Figura 4: Reações de formação dos metabólitos de MDMA .....	22
Figura 5: Estrutura química do $\Delta$ 9-THC .....	23
Figura 6: Reação de metabolização do $\Delta$ -9-THC, formando 11-OH-THC e 11-nor- $\Delta$ -9-THC	24
Figura 7: Sistema montado para a célula eletroquímica contendo os 3 eletrodos; Eletrodo impresso comercial; Desenhos realizados a mão com lápis 5B em papel sulfite. ....	26
Figura 8: Potenciostato de bancada, usado para medidas eletroquímicas e o potenciostato portátil, com um eletrodo impresso comercial conectado. ....	27
Figura 9: Voltamograma obtido como resposta e a determinação do valor de corrente de pico através da extrapolação da linha em um sistema de hexacianoferrato de potássio a $3,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . ....	28
Figura 10: Representação gráfica sobre o processo de geração de um sinal de voltametria de onda quadrada. ....	29
Figura 11: Fluxograma de experimentos realizados para os analitos MDMA e $\Delta$ 9-THC .....	34
Figura 12: Foto da impressora 3D utilizada no projeto .....	38
Figura 14: Resposta para Voltametria de Onda Quadrada para sucessivas concentrações de MDMA em solução de saliva artificial contendo KCl em sistema convencional formado por pasta de carbono como eletrodos de trabalho e auxiliar. Os parâmetros experimentais estão apresentados no Quadro 3. ....	42
Figura 15: Resposta para Voltametria de Onda Quadrada para sucessivas concentrações de MDMA em solução de saliva artificial contendo LiClO <sub>4</sub> em sistema convencional formado por pasta de carbono como eletrodos de trabalho e auxiliar. Os parâmetros experimentais estão apresentados no Quadro 3. ....	43
Figura 16: Resposta voltamétrica do MDMA em sucessivas adições. O eletrólito de suporte foi o KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em solução de saliva artificial; pré concentração em 1,2 V por 10 s, velocidade de varredura $10 \text{ mV s}^{-1}$ . ....	45
Figura 17: : Resposta voltamétrica do MDMA em sucessivas adições. O eletrólito de suporte foi o LiClO <sub>4</sub> $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em solução de saliva artificial; pré concentração em 0,7 V por 30 s, velocidade de varredura $100 \text{ mV s}^{-1}$ . ....	46

Figura 18: Resposta voltamétrica do MDMA ( $1,34 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em diferentes velocidades de varredura. O eletrólito de suporte foi o $\text{LiClO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em solução de saliva artificial; pré-concentração em $0,7 \text{ V}$ por $30 \text{ s}$ .	49
Figura 19: Reação de oxidação na molécula de MDMA.	51
Figura 20: Comparação da resposta voltamétrica obtida para eletrodos impressos entre o MDMA em saliva artificial (a) e em fluido oral (b). Condições experimentais: pré-concentração em $0,7 \text{ V}$ por $30 \text{ s}$ e velocidade de varredura de $100 \text{ mV s}^{-1}$ .	54
Figura 21: Resposta para Voltametria Cíclica para sucessivas concentrações de MDMA em solução a partir de amostra real de fluido oral com $\text{LiClO}_4$ como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: pré-concentração em $0,7 \text{ V}$ por $30 \text{ s}$ e velocidade de varredura $100 \text{ mV s}^{-1}$ .	57
Figura 23: Resposta para Voltametria Cíclica para MDMA em soluções de metanol e etanol a partir de amostra real de fluido oral com $\text{LiClO}_4$ como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: pré-concentração em $0,7 \text{ V}$ por $30 \text{ s}$ e velocidade de varredura de $100 \text{ mV s}^{-1}$ .	60
Figura 24: Resposta para Voltametria Cíclica em dois momentos (logo após preparo de solução e decorridas 4 horas) para $\Delta^9$ -THC a partir de amostra real de fluido oral com $\text{KNO}_3$ como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: velocidade de varredura de $100 \text{ mV s}^{-1}$ , tempo de pré-concentração de $60 \text{ segundos}$ em $-0,5 \text{ V}$ .	62
Figura 25: Resposta para Voltametria Cíclica para $\Delta^9$ -THC e 11-nor-9-carboxi-THC a partir de amostra real de fluido oral com $\text{KNO}_3$ como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: velocidade de varredura de $100 \text{ mV s}^{-1}$ , tempo de pré-concentração de $60 \text{ segundos}$ em $-0,5 \text{ V}$ .	63
Figura 26: Reação de oxidação na molécula de $\Delta^9$ -THC.	64
Figura 27: Maneiras de realizar a impressão dos eletrodos em impressora 3D, a partir da modificação da base do produto, sendo em a) menor área de contato e b) maior área de contato.	65
Figura 28: Modelo de eletrodo impresso confeccionado em impressora 3D.	67
Figura 29: Voltamogramas cíclicos para análise de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $4,96 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{KCl}$ $1 \text{ mol L}^{-1}$ , a $100 \text{ mV s}^{-1}$ : a) sistema convencional com pasta de carbono; b) eletrodo impresso comercial; c) eletrodo de impressora 3D.	67
Figura 30: Resposta para voltametria cíclica para sucessivas concentrações de MDMA em solução a partir de amostra de real de fluido oral com $\text{LiClO}_4$ $1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial.	68



Figura 31: Resposta para voltametria cíclica para sucessivas concentrações de MDMA em solução a partir de amostra real de fluido oral com KCl 3 mol L <sup>-1</sup> como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial.....	69
Figura 32: Resposta para voltametria cíclica após tratamento de dados sobre a linha base, para diferentes concentrações de Δ9-THC em solução de KNO <sub>3</sub> 0,1 mol L <sup>-1</sup> como eletrólito de suporte em análise com eletrodo confeccionado em impressora 3D.....	70
Figura 33: Resposta para voltametria cíclica para sucessivas concentrações de 11-nor-Δ9-THC a partir de solução de fluido oral com KNO <sub>3</sub> 0,1 mol L <sup>-1</sup> como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial.....	71
Figura 34: Resposta para voltametria cíclica antes e após tratamento de dados sobre a linha base, para sucessivas concentrações de 11-nor-Δ9-THC a partir de solução de fluido oral com KNO <sub>3</sub> 0,1 mol L <sup>-1</sup> como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial .....	72
Figura 35: Resposta voltamétrica do HMA com eletrólito de suporte KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> ; Eletrodo de trabalho pasta de carbono: parafina 50:50, eletrodo auxiliar pasta de carbono: parafina 60:40 e eletrodo de referência Ag/AgCl; pré-concentração em 1,2 V por 10 s, velocidade de varredura 10 mV s <sup>-1</sup> .....	73

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Categorias de técnicas analíticas, de acordo com a SWGDRUG.....	31
Quadro 2: Matriz de resultados obtidos em relação ao analito e ao tipo de eletrodo utilizado.....	40
Quadro 3: Parâmetros experimentais para voltametria de onda quadrada para cada eletrólito de suporte.....	41
Quadro 4: Parâmetros obtidos a partir da curva analítica para cada eletrólito de suporte em análise por voltametria de onda quadrada.....	43
Quadro 5: Parâmetros experimentais para voltametria cíclica para cada eletrólito de suporte.....	44
Quadro 6: Parâmetros obtidos a partir da curva analítica para cada eletrólito de suporte em análise por voltametria cíclica.....	44
Quadro 7: Resumo sobre as características observadas para os mecanismos de reação a serem elucidados a partir de um voltamograma cíclico.....	49
Quadro 8: Relação entre os parâmetros da voltametria cíclica (potencial, corrente e velocidade) e o mecanismo da reação.....	50
Quadro 9: Relação de potenciais e intensidade para os sinais anódicos e catódicos obtidos por voltametria cíclica para cada sistema de eletrodo distinto.....	67

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\Delta$ 9-THC	delta 9-tetraidrocannabinol
11-nor-9-carboxi- $\Delta$ 9-THC	11-nor-9-carboxi-delta 9-tetraidrocannabinol
11-OH-THC	11-hidroxi-delta-9-tetraidro-cannabinol
°C	Grau Celsius
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CE	Reação química seguida por transferência de carga
CG	Cromatografia Gasosa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CV	Coefficiente de Variação
CYP	Sistema enzimático Citocromo P450
DEA	Drug Enforcement Administration
DIC	Detector de ionização de chama
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
EC	Transferência de carga seguida de reação química
EM	Espectrometria de massas
HHMA	3,4-diidroxianfetamina
HMA	4-hidroxi-3-metoxi-anfetamina
HMMA	4-hidroxi-3-metoxi-metanfetamina
HPLC	High-performance liquid chromatography
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
LSD	Dietilamida do ácido lisérgico
MDA	3,4-metilenodioxianfetamina
MDMA	3,4-metilenodioximetanfetamina
NIDA	National Institute of Drug Abuse
NBOMe	Fenilaminas substituídas por N-benzil
OID	Observatório Interamericano sobre Drogas
PLA	Ácido poliláctico

SAMHSA	Substance Abuse and Mental Health Services Administration
SD	Desvio padrão (Standard Deviation)
SOT	Society of Toxicology
SPE	Screen printed electrodes
SPCE	Screen-printed carbon electrode
SWGDRUG	Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs
TIAFT	The International Association of Forensic Toxicologists
UNODC	United Nations Office on Drugs and Crime
USPTO	United States Patent and Trademark Office
VC	Voltametria Cíclica
VOQ	Voltametria de Onda Quadrada
V	Volt
$\sigma$	Desvio padrão do coeficiente linear da curva de calibração
$E_{pa}$	Potencial de pico anódico
$E_{pc}$	Potencial de pico catódico
$i_{pa}$	Corrente de pico anódica
$i_{pc}$	Corrente de pico catódica
$\Delta E_p$	Diferença entre os potenciais de pico
$n$	Número de elétrons
$i_p$	Corrente de pico
$a$	Área
$D$	Coefficiente de difusão
$c$	Concentração
$v$	Velocidade de varredura
$t$	Período dos pulsos
$\Delta E_s$	Potencial de cada degrau da escada
$E_{oq}$	Potencial da onda quadrada
$\Delta i$	Variação de corrente elétrica
$E_{oq}$	Potencial da onda quadrada
$\Delta i$	Variação de corrente elétrica
$f$	Desvio padrão do coeficiente linear da curva analítica

$s$	Sensibilidade
$A$	Ampère
$f$	Frequência
$A$	Amplitude

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	16
1.1 Contexto social.....	16
1.2 Contexto comercial.....	17
1.3 Contexto científico.....	18
1.4 Aspectos químicos sobre MDMA .....	20
1.5 Aspectos químicos sobre $\Delta^9$ -THC.....	23
1.6 Técnicas voltamétricas.....	25
1.7 Voltametria cíclica .....	27
1.8 Voltametria de onda quadrada .....	28
1.9 Análises forenses.....	30
2. OBJETIVOS .....	33
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	34
3.1 Materiais e métodos .....	34
3.2 Soluções e padrões .....	35
3.3 Medidas voltamétricas .....	36
3.4 Preparo de amostras reais de fluido oral .....	37
3.5 Impressão 3D .....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	40
4.1 Saliva artificial em sistema convencional .....	41
4.2 Estudo sobre a cinética .....	48
4.3 Análise de MDMA em SPE.....	53
4.4 Preparo de amostra (fluido oral) .....	54
4.5 Análise voltamétrica com fluido oral .....	56
4.6 Análise de interferentes.....	58
4.7 Análise de $\Delta^9$ -THC .....	61
4.8 Impressão 3D de eletrodos.....	64
4.9 Análise em eletrodos fabricados por impressora 3D.....	68
4.10 Análise de metabólito ( $\Delta^9$ -THC).....	70
4.11 Análise de metabólito (MDMA) .....	73
5. CONCLUSÕES.....	75
6. PERSPECTIVAS .....	77

7. REFERÊNCIAS .....	78
8. ANEXO.....	86

## 1. INTRODUÇÃO

Para a presente pesquisa, teve-se como base três pilares para seu desenvolvimento: viabilidade econômica sobre os materiais utilizados, simplificação no preparo de amostras e a possibilidade de portabilidade de análise.

Estes três pilares foram escolhidos de forma que possibilite a aplicação da análise na rotina de laboratórios. Para o fluxo de experimentos que guiaram esta pesquisa, contextualizou-se em contextos científico, social e comercial, a serem primeiramente apontados a seguir.

Posteriormente, uma breve apresentação sobre os analitos propostos, MDMA e  $\Delta^9$ -THC juntamente com aspectos teóricos das técnicas voltamétricas utilizadas buscam mostrar o embasamento científico utilizado ao longo do projeto.

### 1.1 Contexto social

O consumo de drogas sempre figurou como um problema que envolve as esferas sociais, científica, saúde, segurança e política pública. Os desafios que permeiam este contexto envolvem a prevenção, o tratamento e o controle sobre o uso de drogas ilícitas.

Em 2020, estima-se que 284 milhões de pessoas no mundo todo, entre 15 a 64 anos, tenha consumido alguma droga no intervalo de 12 meses. [01]

Dentre as drogas mais consumidas, de acordo com as últimas publicações do *World Drug Report* e o *European Drug Report 2022: Trends and Developments*, ambos de 2022, enumeram-se a cannabis e o ecstasy como a primeira e a quinta drogas mais consumidas no mundo, respectivamente [01 e 02]. A Figura 1 mostra os números relacionando com a quantidade de usuários em milhões sobre os dados coletados no ano de 2020.



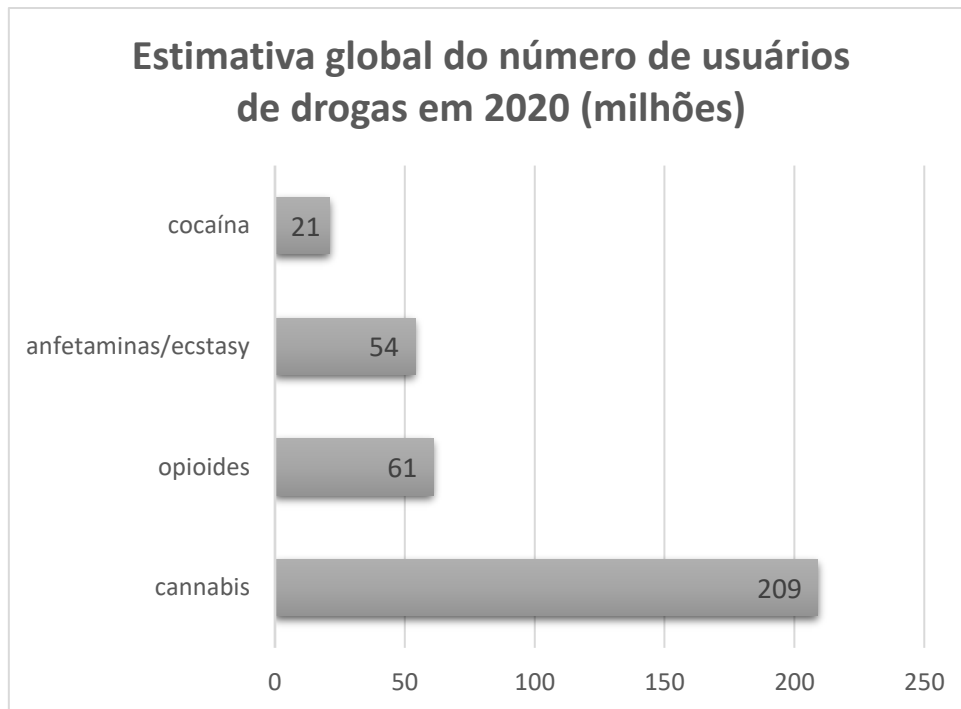


Figura 1: Perfil de drogas consumidas no mundo, em 2020, com número de usuários em milhões. (Adaptado da fonte: World Drug Report 2022)

Ainda, de acordo com o relatório *European Drug Report 2022: Trends and Developments*, ressalta-se a necessidade de maior testagem sobre amostras de cannabis, a fim de monitorar a disponibilidade e efeitos inclusive dos canabinoides sintéticos que estão surgindo. [02]

### 1.2 Contexto comercial

O interesse no desenvolvimento de metodologias rápidas e em matrizes biológicas alternativas ao sangue está relacionado à praticidade de coleta não invasiva com uma demanda de testes que tende a crescer.

Em um cenário nacional, a Portaria nº 384, de 10/04/2019, publicada no Diário Oficial da União, institui ações que viabilizem a análise de substâncias psicoativas em condutores no trânsito brasileiro. Dentre os estudos explorados, destaca-se o “drogômetro”, com a finalidade de através de um teste qualitativo e rápido em amostras de saliva, detectar motoristas que estejam sob efeito de alguma substância psicoativa. [03]

Mundialmente há também maior foco no uso de amostras de fluido oral para fins de testes antidoping. As análises neste tipo de matriz ocorrem por técnicas cromatográficas aliadas à Espectrometria de Massas. [04]

Desta forma, ao propor uma metodologia portátil e rápida para análise de drogas de abuso em matrizes como fluido oral, busca-se contribuir para a rotina de controle realizada pela Segurança Pública.

Em um levantamento sobre o tamanho de mercado mundial para dispositivos de teste rápido de drogas em saliva, realizado pela empresa de *Polaris Market Research*, aponta-se que este mercado tem valor de US\$ 5,38 bilhões de dólares, com estimativa de crescimento de até 20,7% até 2027. A maior representatividade sobre as principais empresas fabricantes no mercado está na América do Norte, sendo a América Latina com uma porção muito baixa de representação como fabricante. [05]

Este crescimento projetado para a área deve-se a fatores como o crescimento de consumo de drogas de abuso associado à maior regulação para testagem de consumo de drogas e álcool pelas autoridades. Este controle tem foco no cuidado da saúde pública e no controle de usuários.

No cenário brasileiro, de acordo com o boletim intitulado “Diagnóstico dos laboratórios de química e toxicologia forense das polícias científicas do Brasil”, elaborado pelo Ministério da Justiça em 2022, um dos problemas enfrentados pelos laboratórios de análise biológicas no âmbito policial está no baixo número de equipamentos disponíveis, além da dificuldade na manutenção e nos utensílios necessários para a análise cotidiana. [06]

### *1.3 Contexto científico*

As pesquisas na área de química forense aliada à Voltametria vêm ganhando destaque nos últimos anos, em que o Brasil figura entre os principais países com mais publicações na área. O gráfico da Figura 2 evidencia este crescimento, cujos dados foram retirados através de um levantamento da base de dados *Web of Science*, em junho de 2023, com a busca com palavras chaves “forensic AND voltammetry”.

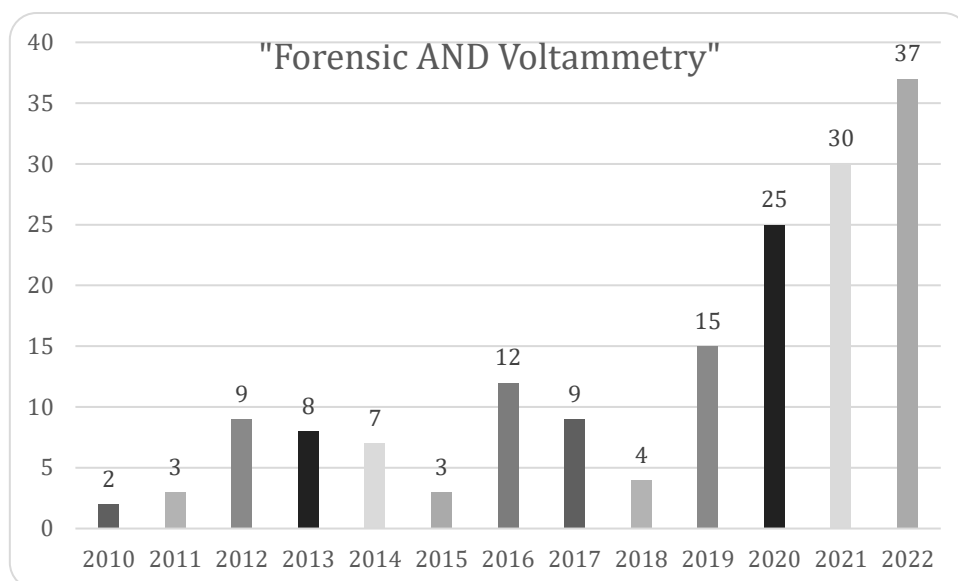


Figura 2: Estatística sobre o número de artigos publicados na plataforma Web of Science, com as palavras “Forensic AND Voltammetry”, em levantamento em junho de 2023.

Ao especificar a toxicologia com a voltametria, os resultados mostram que durante o período de 1975 a 2022, há menos de 200 artigos publicados, sendo estes, em sua maioria, focados na análise de metais. A ciência vem explorando a Eletroquímica como uma possibilidade de desenvolvimento de sensores específicos, especialmente com o surgimento de nanomateriais e a possibilidade de biomarcadores ou modificadores químicos aderidos à superfície eletródica. [07]

As patentes registradas em banco de dados sobre depósitos de documentos de propriedade intelectual - Espacenet e *United States Patent and Trademark Office* (USPTO) - mostram que a área de detecção de drogas ilícitas vem ganhando destaque, entretanto, grande parte das patentes encontradas são focadas em ensaios imunocromatográficos, já disponíveis no mercado.

O uso de sensores eletroquímicos, que permitem a quantificação e ainda com uma proposta de desenvolvimento de sensor (eletrodos impressos) com o *hardware* e toda a eletrônica embarcada envolvida, ainda é um campo que pode ser explorado, pela carência de inovações neste sentido.

#### 1.4 Aspectos químicos sobre MDMA

As anfetaminas são drogas sintéticas que atuam como estimulantes no sistema nervoso central, proporcionando o efeito das pessoas estarem com mais energia e euforia. O consumo mais comum ocorre em jovens que frequentam festivais de música e motoristas que percorrem longos percursos. [08 - 09]

Dentre as anfetaminas, destaca-se a 3,4 - metilendioxi metanfetamina (MDMA), também conhecida pelo nome de *ecstasy*, encontrada na forma de comprimidos, podendo por vezes ser encontrado em cápsulas ou em pó. Os comprimidos podem variar em seus formatos, desenhos e coloração e podem conter entre 50 e 150 mg da droga. [09]

O MDMA possui o grupo metilendioxi o qual se encontra ligado às posições 3 e 4 do anel aromático, semelhante a uma parte estrutural da mescalina, que apresenta propriedades alucinógenas. Seus efeitos psicotrópicos interferem em vários neurotransmissores, alterando os níveis de serotonina, dopamina e norepinefrina no sistema nervoso central, e conseqüentemente alteram humor, termorregulação e sono. [10 e 11]

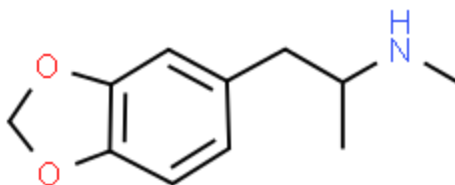


Figura 3 Estrutura química do MDMA (fonte: ChemSpider – Royal Society of Chemistry)

O consumo dos comprimidos pode ocorrer de forma concomitante com outras drogas, como maconha e/ou álcool, para potencializar o efeito dos estimulantes e aumentar a experiência psicoativa. [09]

De acordo com o documento elaborado pelo Observatório Interamericano sobre Drogas (OID), os adulterantes mais utilizados em amostras de MDMA apreendidas são

substâncias estimulantes (teobromina e cafeína) e/ou usadas como adulterantes em amostras de cocaína (procaína e lidocaína). [12]

Ao revisar a literatura, a análise de anfetaminas por voltametria cíclica apresentou um sinal de resposta à reação de oxidação em dois tipos de eletrodos - ouro e diamante dopado com boro - com solução tampão para detecção em amostras de urina [13-15]. Já para a determinação de MDMA e anfetaminas em soro, a análise ocorreu por voltametria de onda quadrada e apresentou um limite de detecção na ordem de  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com eletrodo de carbono vítreo.

Para o caso do MDA (3,4-Metilenodioxianfetamina), metabólito do MDMA, constata-se a presença de sinal anódico em sistemas que utilizam eletrodo de trabalho de grafite com modificação química, porém este sistema não foi explorado em amostras biológicas ou em sistemas portáteis [16]. Tais informações levantadas direcionaram as pesquisas no presente projeto, cujo foco está em outros materiais eletródicos.

Os efeitos do MDMA no organismo podem ser observados após 20 a 60 minutos do momento do seu consumo, podendo persistir por 2 a 4 horas. Observam-se os efeitos psicoestimulantes do MDMA em 20 a 60 minutos após a ingestão de ecstasy em doses de 75 a 100 mg, podendo persistir por 2 a 4 horas. O primeiro metabólito formado, MDA é ainda farmacologicamente ativo e sua formação ocorre pela reação de N-desmetilação no sistema hepático, pela enzima CYP450.[10, 11, 17]

Ambas as substâncias, MDMA e MDA passam por uma reação de O-desmetilação para formar o 3,4- metilenodiidroxianfetamina (HHA) e o 3,4-diidroxianfetamina (HHMA), respectivamente. Por sua vez, ambas são O-metiladas pela catecol O-metiltransferase e formam 4-hidroxi-3-metoxi-metanfetamina (HMMA) e 4-hidroxi-3-metoxi-anfetamina (HMA), respectivamente. Esses últimos metabólitos são excretados na urina, conjugados com ácido glicurônico ou sulfato, sendo o HMA encontrado em concentrações maiores. [17]

A Figura 4 mostra esquematicamente a formação de todas as substâncias envolvidas na metabolização do MDMA.

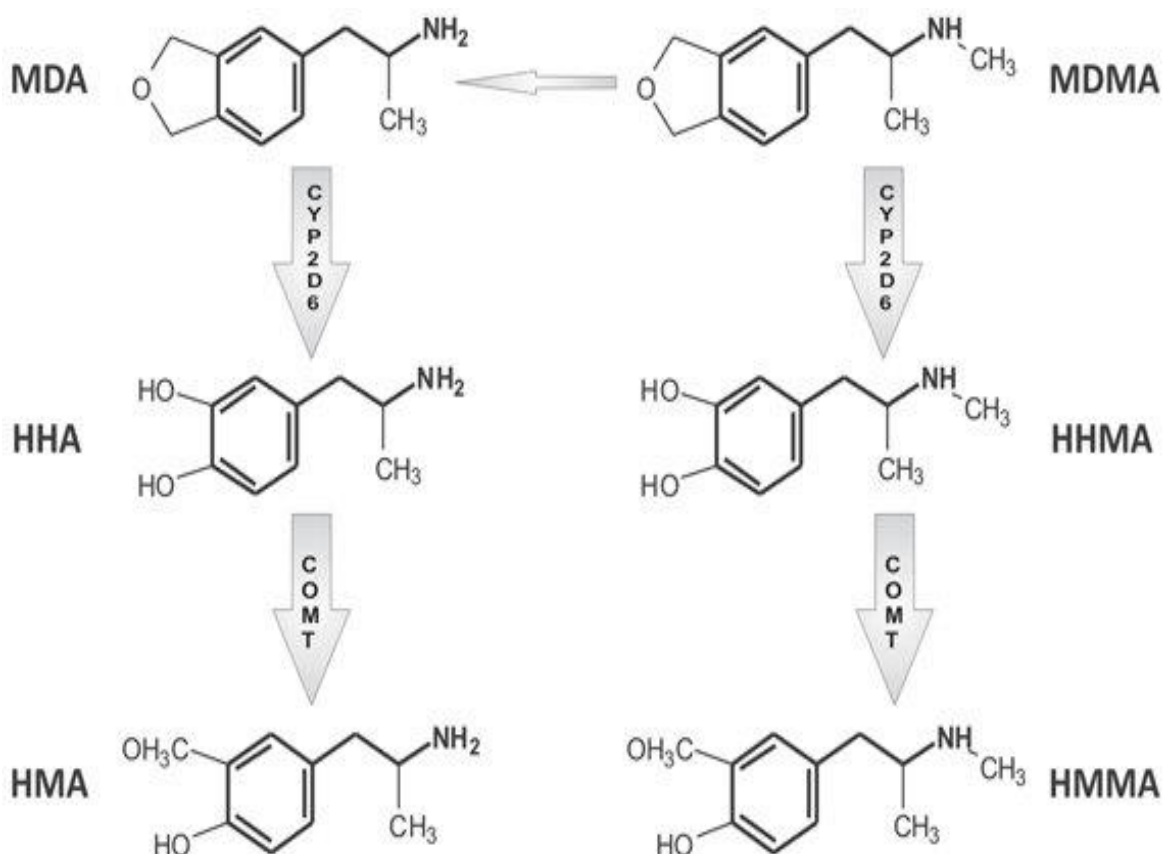


Figura 4: Reações de formação dos metabólitos de MDMA (fonte: referência [17])

Aponta-se que a concentração máxima de MDMA encontrada em fluido oral é encontrada após aproximadamente 2,5 horas do consumo. De um modo geral, neste tipo de matriz biológica, o MDMA é encontrado em maior proporção em relação aos metabólitos, até pelo fato de seu consumo ocorrer via oral. [18]

O MDA especificamente, além de ser um metabólito, pode ser encontrado também entre as substâncias psicoativas que compõem as pílulas de *ecstasy*. De acordo com as recomendações encontradas na documentação em *Substance Abuse and Mental Health Services Administration* (SAMHSA), o valor de *cutoff* para MDMA e MDA é de 50 ng mL<sup>-1</sup>. [19]

Entende-se por *cutoff* como o “valor de corte”, em que resultados abaixo do valor são considerados negativos, ou não detectado, o que acaba por minimizar a detecção em casos de contaminação externa ou consumo passivo, quando um indivíduo frequenta o mesmo ambiente em que as drogas são utilizadas. Tal cenário é mais comum em drogas fumadas, como a maconha. Conseqüentemente, minimizam-se os resultados decorrentes

de um consumo involuntária além de excluir a detecção de drogas que foram consumidas em períodos anteriores ao que se deseja saber.[19]

A definição do valor de corte ocorre com base no analito, técnica utilizada e matriz biológica coletada para análise.

Barnes et al (2011) [18] aponta que para a análise de MDMA, a presença de MDA sempre ocorre concomitantemente, menor proporção. Recomenda-se assim, o uso de MDMA como analito alvo para a determinação de indivíduos consumidores.

As concentrações de HMMA e HMA não são encontradas e a presença de MDA é constatada em concentrações 40 vezes mais baixas.

No caso da urina, o HMA é apontado como o metabólito que é detectado em uma janela de tempo maior após o consumo de MDMA. [20]

### 1.5 Aspectos químicos sobre $\Delta^9$ -THC

Canabinoides são os constituintes naturais encontrados na marijuana (conhecida também como as folhas secas provenientes da cannabis), sendo o mais popular o delta 9-tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC). Trata-se de um agente psicoativo, consumido através do seu fumo, cuja dosagem pode ter em torno de 500 mg. [21, 22]

A ação no sistema nervoso central ocorre nos receptores presentes nas regiões do cerebelo, hipocampo e córtex. A absorção pode ser via inalatória e digestiva, sendo o pico atingido em minutos pela via inalatória e de 1 a 4 horas pela via digestiva.

Os efeitos decorrentes do consumo de THC em curto prazo são: sensação de euforia, prejuízo sobre a noção de tempo e espaço, diminuição da coordenação motora, letargia nas funções intelectuais e cognitivas, aumento do apetite, secura na boca/garganta e irritação de vias aéreas superiores. [21]

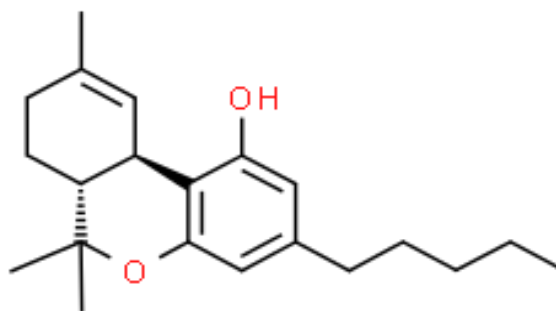


Figura 5: Estrutura química do  $\Delta^9$ -THC (fonte: ChemSpider – Royal Society of Chemistry)

O metabolismo do  $\Delta$ 9-THC ocorre de forma rápida, pelo sistema hepático, formando dentro do organismo a forma hidroxilada 11-hidroxi-delta-9-tetrahydrocannabinol (11-OH-THC) que ao oxidar-se forma o metabólito inativo 11-nor-9-carboxi-delta 9-tetrahydrocannabinol (THCCOOH, ou 11-nor-9carboxi-  $\Delta$ -9-THC ou 11-nor- $\Delta$ -9-THC), que é conjugado em ácido glucorônico, presente em urina. A Figura 6 mostra as reações envolvidas para a formação, do 11-nor- $\Delta$ -9-THC, que é comumente analisado em amostras biológicas. [21, 22]

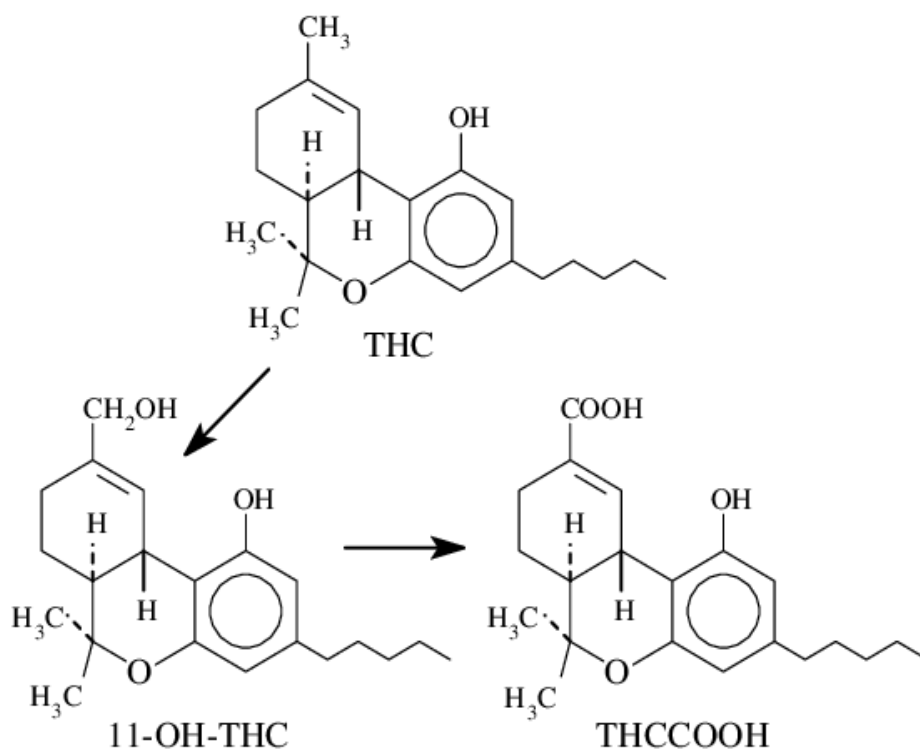


Figura 6: Reação de metabolização do  $\Delta$ -9-THC, formando 11-OH-THC e 11-nor- $\Delta$ -9-THC (fonte: referência [23])

O  $\Delta$ -9-THC, componente psicoativo primário, pela sua forma de consumo através do fumo, impregna-se na mucosa bucal, podendo ser detectado após 24 a 72 horas, a depender dos valores de *cutoffs* considerado. Decorridas 1 a 3 horas do fumo, observa-se que se diminui consideravelmente a sua concentração em fluido oral. [23]

O metabólito 11-OH-THC não é detectado ou está em concentrações muito baixas nas amostras de fluido oral, sendo o 11-nor-9-carboxi- $\Delta$ 9-THC presente em concentrações entre 134 a 760 ng L<sup>-1</sup>.



De acordo com o órgão SAMHSA propõe que o valor de *cutoff* para  $\Delta$ -9-THC e 11-nor-9-carboxi- $\Delta$ 9-THC seja o mesmo, em 4 ng mL<sup>-1</sup>. [19]

A literatura [24] apresenta as vantagens e desvantagens em utilizar o 11-nor-9-carboxi- $\Delta$ 9-THC como parâmetro de monitoramento de consumo de maconha em amostras de fluido oral. Ao ter o metabólito como analito, excluem-se os indivíduos que foram expostos passivamente. Porém, indivíduos que consomem a droga ocasionalmente, tendem a apresentar concentrações mais baixas, sendo até menores que o valor de *cutoff*, resultando em falsos negativos. Além disso, a análise em baixas concentrações em fluido oral é apontada como um desafio para a rotina. Desta forma, pontua-se a importância de utilizar-se de ambos 11-nor-9-carboxi- $\Delta$ 9-THC e  $\Delta$ 9-THC nesta matriz biológica.

Acerca da literatura científica que explora a determinação voltamétrica de  $\Delta$ 9-THC, contata-se o uso de eletrodos de carbono vítreo, em sistema convencional e em eletrodos impressos além do uso de modificadores químicos [25-27]. Há metodologias para a quantificação em eletrodos de grafite em amostras apreendidas e em solução de saliva artificial. Cabe ressaltar que, até o presente momento de conclusão deste projeto (novembro de 2023), apenas um trabalho com amostras reais de fluido oral explora a quantificação de  $\Delta$ 9-THC, através de eletrodos impressos de grafeno modificado com ftalocianina de cobre [28], cujos resultados se mostraram coerentes aos obtidos por técnicas cromatográficas.

### 1.6 Técnicas voltamétricas

A área da Eletroquímica inclui os métodos eletroanalíticos, os quais se baseiam na propriedade elétrica de alguma substância (corrente, quantidade de carga e potencial). Ao correlacionar a medida da corrente com a variação linear do potencial aplicado, temos os métodos voltamétricos. [29-31]

Na análise voltamétrica, para estabelecer a relação entre corrente e concentração de analito, utiliza-se de um sistema com três eletrodos submersos em solução (a chamada célula eletroquímica) conectada ao potenciostato, que aplicará o potencial e medirá as propriedades elétricas.

Nesta célula eletroquímica, tem-se a solução a ser analisada em eletrólito de suporte juntamente com os eletrodos de referência, de trabalho e auxiliar (também

conhecido como contra eletrodo). O primeiro caracteriza-se como uma semicélula, cujo potencial é constante, sendo uma referência para a variação de potencial aplicada no eletrodo de trabalho, e apesar de trabalhos mais antigos utilizarem o sistema Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, atualmente o mais comum é o Ag/AgCl. [30, 32]

O eletrodo auxiliar é composto de um material inerte (sendo a platina mais frequentemente utilizada), com uma área superficial maior, e é por onde a corrente gerada no sistema passará. Já o eletrodo de trabalho é objeto de estudo por permitir variações em seu material, podendo ser de grafite, metálico, nanomateriais etc. e é em sua superfície que ocorre a oxidação ou redução do analito. [33, 34]

A função do potenciostato está em aplicar a faixa de potencial e registrar a variação de corrente, que por sua vez está relacionada à concentração de analito e é registrada na forma de voltamograma. O eletrodo de referência mantém o potencial constante para os processos que ocorrem no eletrodo de trabalho. Entre os eletrodos auxiliar e de trabalho, há uma variação de corrente. No sistema há as correntes faradáica e capacitiva atuando, porém apenas a primeira é considerada na medição eletroquímica. [31]

Esta configuração de célula eletroquímica com potenciostato pode ser encontrada no sistema convencional ou na forma de eletrodos impressos (Figura 7), sendo o potenciostato acoplado do tipo de bancada ou portátil (Figura 8). O uso de eletrodos impressos vem se destacando por permitir trabalhar com pequenos volumes de solução, e possibilita que novos materiais sirvam de suporte, como papel, conhecidos como “paperrodos”.



Figura 7: Sistema montado para a célula eletroquímica contendo os 3 eletrodos (própria autora); Eletrodo impresso comercial (fonte: site da empresa comercializadora Metrohm) Desenhos realizados a mão com lápis 5B em papel sulfite. (própria autora)



Figura 8: Potenciostato de bancada, usado para medidas eletroquímicas e o potenciostato portátil, com um eletrodo impresso comercial conectado. (Fonte: site da empresa comercializadora Metrohm)

Atualmente, as empresas fabricantes comercializam equipamentos potenciostatos multicanais, os quais possibilitam o acoplamento de mais de um eletrodo, com análise simultânea. Considerando a rotina forense, pode-se explorar diferentes analitos em uma mesma amostra, sendo uma vantagem sobre o tempo para levantar mais informações químicas.

No eletrodo há dois tipos de processos, sendo esses os faradáicos e os não faradáicos. No primeiro caso, há a transferência de carga na interface entre eletrodo e solução, segundo a Lei de Faraday, levando a oxidação ou redução, estando envolvida na medida voltamétrica. Já no segundo caso, ocorre-se a adsorção, em que não há qualquer transferência de carga na camada eletródica. [33]

### *1.7 Voltametria cíclica*

A voltametria cíclica monitora a corrente elétrica em função de uma variação linear de potencial elétrico. Através do voltamograma, obtém-se informações sobre os processos de oxidação e redução, a ocorrência de processos de adsorção às superfícies e de mecanismos de transferência de elétrons em superfícies modificadas de eletrodos. A resposta voltamétrica é composta pelo potencial de pico (informação qualitativa do analito), e a corrente de pico correspondente ao processo redox, que pode quantificar o analito do analito. [29, 30]

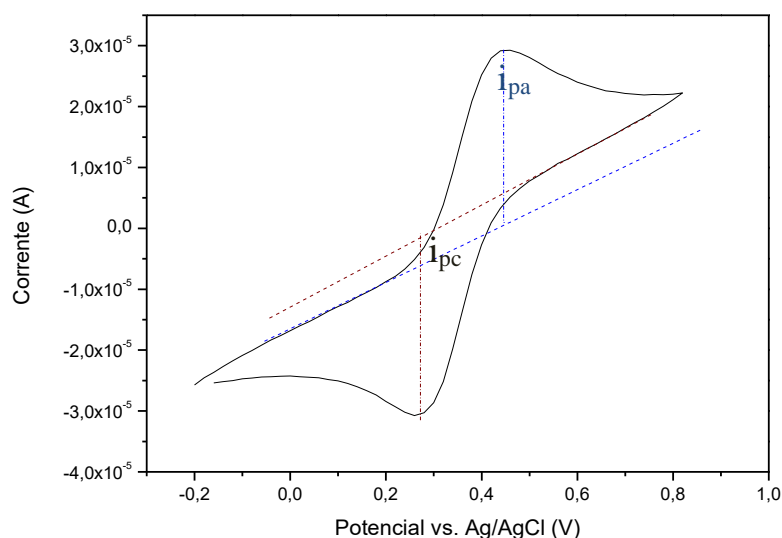


Figura 9: Voltamograma obtido como resposta e a determinação do valor de corrente de pico através da extrapolação da linha em um sistema de hexacianoferrato de potássio a  $3,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . (própria autora)

As respostas observadas no voltamograma correspondem aos picos anódicos, quando ocorre a oxidação do analito, e catódicos, quando há a redução [31]. Para medir a corrente de pico, extrapola-se a linha base antes do pico redox no voltamograma e mede-se a diferença entre o valor de corrente do pico e na linha base, conforme a Figura ilustra.

A corrente é uma medida quantitativa sobre a rapidez em que a espécie A está sendo conduzida à superfície do eletrodo; esta velocidade é dada por uma relação envolvendo a distância em centímetros da superfície do eletrodo (dado por  $x$ ). Para um eletrodo planar, pode-se mostrar que a corrente é dada pela expressão da Equação (01).

$$i = nFaD_A \left( \frac{\partial C_A}{\partial x} \right)$$

Em que  $i$  é a corrente em ampères,  $n$  é o número de mols de elétrons por mol de analito reduzido,  $F$  é a constante de Faraday,  $a$  é a área superficial do eletrodo em  $\text{cm}^2$ ,  $D_A$  é o coeficiente de difusão da espécie A em  $\text{cm}^2\text{s}^{-1}$  e  $C_A$  é a concentração de A.

### 1.8 Voltametria de onda quadrada

No caso da voltametria de onda quadrada, tem-se uma técnica de pulso, na qual a análise se procede pela aplicação de degraus de potencial, na forma de uma escada. Este

modo de varredura diferencia-se da voltametria cíclica, em que há uma variação de potencial linear, como uma rampa. As vantagens da voltametria de onda quadrada estão na maior velocidade de análise e na melhor sensibilidade na leitura, uma vez que os limites de detecção podem chegar a valores de concentração entre  $10^{-7}$  e  $10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>. [29-34]

A Figura 10 apresenta a geração de um sinal obtido pela superposição do sinal na forma de escada e uma onda quadrada simétrica. A largura de cada degrau da escada e o período dos pulsos ( $t$ ) são idênticos; o potencial de cada degrau da escada é dado por  $\Delta E_S$  e a grandeza do pulso é calculado por  $2 E_{OQ}$ . [34]

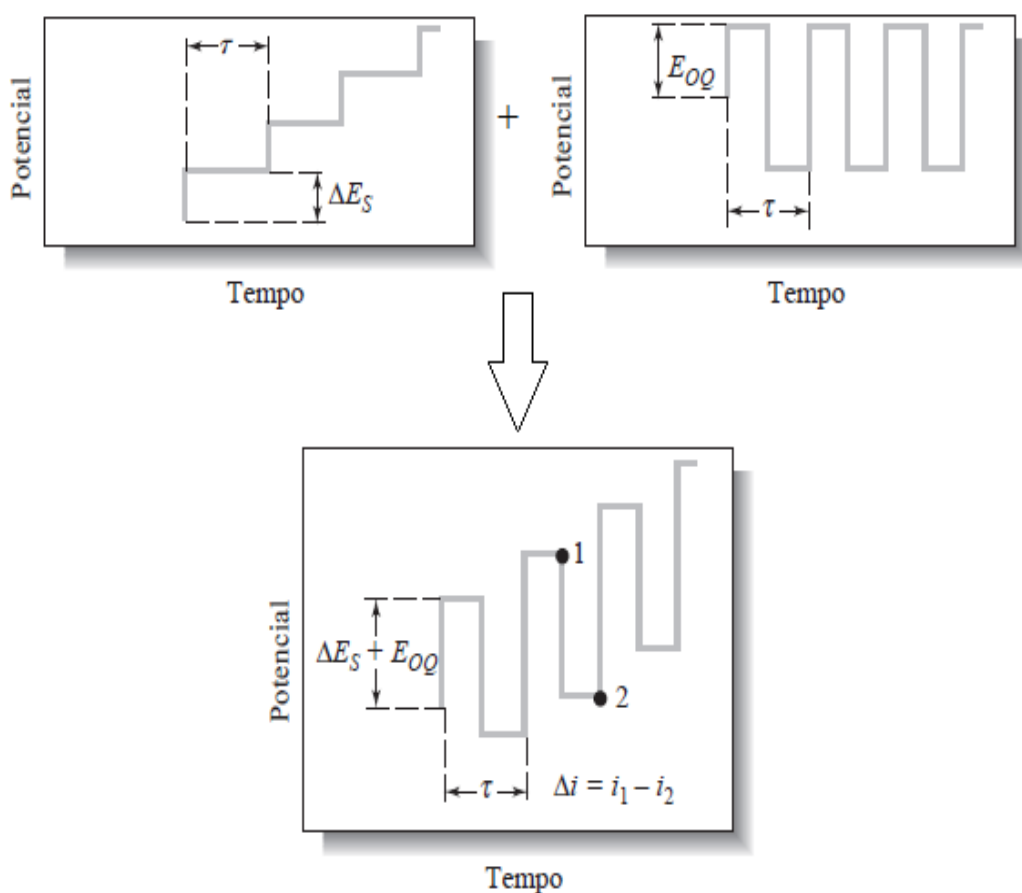


Figura 10: Representação gráfica sobre o processo de geração de um sinal de voltametria de onda quadrada. (fonte: Skoog et al. (2014), [28]).

Através da Figura 10, tem-se que a onda é resultante da medição do pulso direto (1), quando a direção do pulso é a mesma que da varredura, ao pulso inverso (2), quando a direção do pulso é contrária à da varredura. Desta forma, obtém-se o valor de corrente

– proporcional à concentração de analito – que ao ser plotado em relação ao potencial aplicado, resulta no voltamograma. [29-34]

Tendo esta dupla amostragem da corrente, há uma redução da contribuição da corrente capacitiva (que compõe a corrente de fundo, sendo uma corrente residual) sobre a corrente total medida. [35]

Um dos parâmetros envolvidos na voltametria de onda quadrada é a distância horizontal entre o começo do primeiro pulso e o final do segundo, denominada como frequência, e este relacionada ao intervalo de tempo da onda. Outro parâmetro é o *step*, referente ao incremento de potencial. A relação entre estes dois parâmetros resulta na velocidade de varredura; a variável da amplitude da onda é equivalente a altura da metade do pulso.

### 1.9 Análises forenses

Sobre as aplicações das técnicas voltamétricas em matrizes biológicas, especificamente com finalidade toxicológica, um levantamento sobre as publicações existentes nesta área mostra sua representação em pequena parcela de artigos na área de Eletroquímica.

Atualmente, as análises toxicológicas são realizadas em sua maioria através de técnicas cromatográficas acopladas com espectrometria de massas (CG-MS ou LC-MS), juntamente com testes de imuno ensaio para triagem, seguindo-se recomendações como os guias de órgãos do *The International Association of Forensic Toxicologists* (TIAFT) e da *Society of Toxicology* (SOT). [36, 37]

Em comparação às análises forenses sobre amostras apreendidas, as orientações que são seguidas constam em órgãos como o *Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs* (SWGDRUG). A rotina de análises engloba pelo menos 2 análises, sendo uma de classe A e outra de classe B/C ou 3 análises com 2 da classe B e outra de classe B/C. O Quadro 1 expõe a classificação das técnicas químicas.[38]

Quadro 1: Categorias de técnicas analíticas, de acordo com a SWGDRUG.

Categoria A	Categoria B	Categoria C
Infravermelho	Eletroforese Capilar	Testes colorimétricos
Espectrometria de Massas	Cromatografia Gasosa	Espectroscopia de Fluorescência
Ressonância Magnética Nuclear	Espectrometria de Mobilidade de íons	Imunoensaios
Espectroscopia Raman	Cromatografia Líquida	Ponto de Fusão
Difração de Raio-X	Testes microcristalinos	Espectroscopia Ultravioleta-Visível
	Marcadores Farmacológicos	
	Cromatografia de Camada Delgada	
	Cannabis: Exame macroscópico Exame microscópico	

Fonte: SWGDRUG (2019), [38]

Desta forma, verifica-se que em ambos os casos – constatação de drogas em amostras e em amostras biológicas - utiliza-se de duas técnicas analíticas para confirmação. Assim, há um vasto campo a ser explorado por técnicas eletroquímicas, a fim de fornecer mais opções como alternativas para as análises de rotina.

Ademais, as pesquisas sobre a eletroquímica buscam a viabilização de novos materiais a serem utilizados nos sensores, como o grafeno e materiais de baixo custo (papel e polímeros) e no procedimento experimental, com reagentes em grau PA, água deionizada e preparos simplificados de amostras.

As análises toxicológicas em sua maioria, ocorrem em amostras de sangue e urina, a fim de verificar o histórico de consumo de substância psicoativas. Entretanto, nas últimas décadas, outras matrizes biológicas vêm sendo exploradas, como o fluido oral, humor vítreo, suor, entre outras.[39]

No caso do fluido oral, explora-se o consumo recente da droga e como desvantagem, está sujeita a maior contaminação. Estudos sobre a interferência de coletores, adulterantes e exposição passiva estão sendo desenvolvidos, sendo uma área a ser explorada.

A escolha do tipo de matriz biológica a ser utilizada considera fatores como a integridade da amostra submetida à análise, se é uma análise em *post-mortem* ou *antemortem* e as condições de coleta. [39]

Ademais, a composição do fluido oral deve ser considerada, em que há 99% de água juntamente a eletrólitos, proteínas, DNA, células epiteliais, bactérias, restos de alimentos e traços de drogas consumidas. [40]

A análise voltamétrica de fluido oral tem como limitações os efeitos de difusão, a catálise que pode ocorrer na superfície porosa ao utilizar eletrodos modificados e uma possível interação de analito com outros componentes. Tais fatores elencados prejudicam a linearidade dos analitos nesta matriz [41]



## **2. OBJETIVOS**

Considerando a problemática social e a oportunidade comercial e inovativa sobre a análise de entorpecentes em fluidos biológicos, aliada à possibilidade de explorar a área de toxicologia aliada às técnicas eletroquímicas, este projeto tem como objetivo a determinação voltamétrica de  $\Delta^9$ -THC e MDMA em amostras de fluido oral, estendendo-se a viabilizar a análise de seus respectivos metabólitos em meio aquoso.

A partir do estudo do comportamento eletroquímico destes analitos, visa-se desenvolver um procedimento experimental cujo preparo de amostra seja simples e possibilite a análise em meio aquoso.

Propõe-se o uso de um sistema de medição, acessível, com eletrodos em pasta de carbono e eletrodos impressos. Ademais, busca-se pela confecção de dispositivos impressos em polímero PLA por impressora 3D para análise eletroquímica das espécies supracitadas, possibilitando a fabricação destes sensores.

Visa-se assim, propor metodologias para a determinação dessas substâncias após consumo recente, para fins de fiscalização a ser utilizado no âmbito forense.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Materiais e métodos

O fluxograma ilustrado na Figura 11 busca resumir o cronograma das análises realizadas, cujas condições são detalhadas nos subitens a seguir, para os dois analitos explorados nesta pesquisa.



Figura 11: Fluxograma de experimentos realizados para os analitos MDMA e Δ9-THC

Para o MDMA, as análises iniciaram-se em sistema convencional com eletrodos em pasta de carbono e eletrodo de referência Ag/AgCl, a fim de estabelecer os parâmetros experimentais, utilizando-se das modalidades de voltametria cíclica e onda quadrada.

Procurou-se desenvolver uma metodologia que possibilitasse a análise em solução preparada a partir de fluido oral, sendo este fortificado com adição de padrão.

Desta forma, conhecendo-se as condições experimentais, viabilizou-se a análise em solução de fluido oral em eletrodos impressos comerciais. Deste ponto em diante, explorou-se a análise por voltametria cíclica, inclusive em eletrodos fabricados em impressora 3D, dentro do laboratório.

Para o Δ9-THC, uma vez que as condições experimentais para eletrodos impressos comerciais já eram conhecidas, buscou-se explorar sua resposta em matriz de fluido oral e em eletrodos confeccionados pela impressora 3D.

A produção desses eletrodos envolveu outra frente de estudos e testes, com critérios visual, performance de impressão e em testes voltamétricos de forma a obter resposta amperométrica.

A pesquisa envolveu o desenvolvimento de metodologia para análise em fluido oral, através da coleta de amostras de saliva de voluntários do grupo de pesquisa, de acordo com as condições estabelecidas pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FFCLRP-USP, com aprovação registrada em documento CAAE nº 60079122.5.0000.5407, anexada ao final desta tese.

### *3.2 Soluções e padrões*

Para o preparo de solução simulando a saliva artificial, utilizou-se da composição proposta por Dronova et al. (2016) [42] para análise voltamétrica de canabinoides sintéticos, contendo: bicarbonato de sódio, cloreto de sódio, carbonato de potássio e nitrato de sódio em pH 4,5. O ajuste de pH ocorreu utilizando-se pHmetro Labmeter PHS-3B, com adição de ácido nítrico (grau PA, Merck) e hidróxido de sódio (grau PA, Synth) até atingir o valor esperado.

O perclorato de lítio,  $\text{LiClO}_4$ , (grau PA, Sigma Aldrich) foi dissolvido nesta solução aquosa em concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , enquanto a solução contendo cloreto de potássio,  $\text{KCl}$ , (grau PA, Synth) foi preparada de forma que sua concentração fosse  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

As análises de MDMA foram realizadas adicionando-se a solução de padrão ( $1,00 \text{ mg mL}^{-1}$  em metanol, Cerilliant) às soluções contendo os eletrólitos de suporte. A solução de branco foi preparada adicionando-se metanol (grau cromatográfico, Merck) em mesmo volume. Para as substâncias interferentes, utilizou-se de solução de padrão de cocaína ( $1,00 \text{ mg mL}^{-1}$  em metanol, Cerrilliant), além das seguintes substâncias na forma em pó: cafeína (Synth, 100%), lidocaína (Sigma Aldrich, grau de pureza analítico), teobromina (Sigma Aldrich, grau de pureza analítico) e procaína (Sigma Aldrich, grau de pureza analítico).

Para o caso de padrões em pó, preparou-se soluções de  $1,0 \text{ mg}$  do analito em  $1,0 \text{ mL}$  de metanol. Sobre o estudo de interferentes, comparou-se também a resposta do

analito em presença de etanol (grau HPLC, Merck), pela diluição do MDMA neste solvente.

No caso da análise de  $\Delta^9$ -THC (ampola 1,00 mg mL<sup>-1</sup> em metanol, Cerilliant), o eletrólito de suporte utilizado foi o nitrato de potássio – KNO<sub>3</sub> (grau PA, Synth) – em solução aquosa (água deionizada). Para este analito, utilizou-se apenas do sistema de eletrodos impressos para análise.

Os metabólitos analisados, HMA e 11-nor-9-carboxi- $\Delta^9$ -THC foram diluídos em metanol (grau HPLC, Merck) a partir das ampolas de padrão (1000 µg mL<sup>-1</sup> em metanol, Cerilliant).

### 3.3 Medidas voltamétricas

Primeiramente, as análises foram realizadas em sistema convencional com célula eletroquímica de 4,0 mL, e pasta de carbono em composição de carbono em pó: parafina em 50:50 e 60:40 para os eletrodos de trabalho e auxiliar, respectivamente. O eletrodo de referência foi composto pelo sistema Ag/AgCl.

Para o preparo das pastas de carbono, o pó de carbono (Fischer Scientific) e a parafina (Sigma Aldrich) foram misturados em um cadinho e aquecidos sob constante homogeneização manual até que a parafina mude seu aspecto sólido para pastoso. Um tubo cilíndrico de plástico, montado a partir de uma seringa para injeção de insulina, foi preenchido com a pasta e o contato elétrico foi realizado pela compressão de um bastão de cobre. Antes de cada medida, a área superficial foi polida em movimentos circulares sobre uma folha de papel sulfite.

Para as medidas com eletrodos impressos comerciais, utilizou-se como material de eletrodos de trabalho o carbono vítreo da marca Metrohm (modelo 6.1208.110). Todas as medidas foram realizadas em potenciostato µAutolab III com o software NOVA 1.11.

A otimização de parâmetros para a voltametria de onda quadrada foi realizada pelo ajuste de frequência, amplitude, intervalo de potencial, tempo e potencial de pré-concentração. Para a voltametria cíclica, observou-se a velocidade de varredura, tempo e potencial de pré-concentração. A partir da variação de velocidade de varredura foi possível conhecer o comportamento cinético.

As análises com os eletrodos impressos comerciais (conhecido pela sigla SPE, de *screen printed electrode*) foram realizadas com o modelo da Metrohm/Dropsens 110, em material de carbono.

Para a análise de  $\Delta^9$ -THC, utilizou-se dos parâmetros experimentais previamente conhecidos, a saber: velocidade de varredura de  $150 \text{ mV s}^{-1}$ , tempo de pré-concentração de 10 segundos em  $-0,1 \text{ V}$ , estabelecidos em trabalhos do grupo de pesquisa, e referenciados em Balbino et al. em [58].

### 3.4 Preparo de amostras reais de fluido oral

Para a análise do MDMA em solução real de fluido, 3 voluntários do grupo de pesquisa forneceram 3,0 mL de amostra, em tubo Falcon de 15 mL, para adição de padrão do analito em concentrações variadas. No caso da solução de branco de amostra, adicionou-se metanol (que é o solvente utilizado no preparo do padrão).

Primeiramente, testou-se a resposta da amostra de fluido oral sem o uso de qualquer tratamento, a fim de observar a interferência de matriz na resposta de analito. Posteriormente testou-se a adição de solvente orgânico e de sal para efeito de *salting out* sobre as proteínas presentes.

No caso da adição de solvente orgânico, testou-se a adição de acetonitrila na amostra, em volume de 500  $\mu\text{L}$ . Após a homogeneização da mistura, em vórtex por 60 segundos, seguiu-se com a retirada de 1,0 mL do sobrenadante e posterior adição de eletrólito de suporte de forma que a concentração final na solução ficasse em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

O teste com uso de ácido nítrico ocorreu pela adição de 300  $\mu\text{L}$  de uma solução de  $\text{HNO}_3$  diluído em água 1:1 na amostra real de fluido oral fortificada com padrão de MDMA. Posteriormente, adicionou-se o eletrólito de suporte de forma que a concentração final ficasse em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

Para o estudo sobre o efeito de *salting out*, testou-se duas possibilidades de sais, sendo o  $\text{NH}_4\text{SO}_4$  e  $\text{MgSO}_4$ , cada um adicionado em massa de 0,15 g na amostra de fluido oral. Como no procedimento para a adição de solvente orgânico, fechou-se o tubo Falcon e realizou-se a homogeneização em vórtex por 60 segundos. Retirou-se o sobrenadante

(volume aproximado de 1,0 mL) e adicionou-se o eletrólito de suporte de forma que a concentração final ficasse em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

A análise foi realizada imediatamente após o preparo de solução, depositando-se uma gota de  $50 \mu\text{L}$  sobre a superfície do eletrodo impresso.

Para a análise de interferentes seguiu-se o mesmo procedimento de preparo de amostra, sendo adicionado as soluções de padrão das substâncias interferentes junto ao MDMA.

Todos os estudos desenvolvidos usaram um branco de amostra, sendo este preparado sob o mesmo procedimento, mas com a adição de metanol, grau cromatográfico (sem o padrão do analito), a fim de observar o efeito de matriz sobre os resultados.

### 3.5 Impressão 3D

A impressão dos eletrodos requisitou uma impressora de dois bicos GTMax modelo A1, contendo em cada bico o polímero PLA sem modificação, e em outro, o mesmo polímero com a característica condutora.

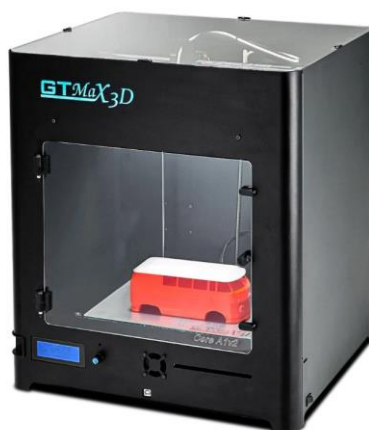


Figura 12: Foto da impressora 3D utilizada no projeto (fonte: site da empresa comercializadora GTMax)

Utilizou-se do software *Simplify* para ajustes das dimensões do protótipo e a confecção do desenho foi realizada por softwares para design em 3D, (*Inventor*).

Os parâmetros para impressão utilizados foram: bicos de extrusão de 0,45 mm, com temperatura de impressão de 190 °C. O filamento PLA não condutor, de cor marrom, foi utilizado como base para a construção do eletrodo, em que o PLA condutor, de cor preta, foi depositado sobre este. O desenho do eletrodo teve como base os eletrodos impressos comerciais, utilizados na pesquisa, da marca Metrohm.

A extrusão de ambos os polímeros se deu em uma mesma impressão a velocidade de retração de 3600 mm min<sup>-1</sup>, sendo depositados 18 camadas de polímero não condutor para formar o corpo do eletrodo e 23 camadas do PLA condutivo.

A plataforma de impressão foi condicionada a 110 °C, e com os eletrodos prontos, depositou - se a tinta de prata comercial (duas fabricantes testadas, sendo Sigma Aldrich e Mechanic MCN) sobre o desenho do eletrodo de referência, tornando-o um pseudo eletrodo de referência.

No design do eletrodo, confeccionou-se um pequeno desnível entre a parte do desenho do eletrodo e os contatos elétricos, a fim de evitar que a solução depositada se espalhe. Na Figura 13 há visualização do projeto de desenho de eletrodo, com uma vista frontal superior e com a vista lateral, em que o desnível (aproximadamente 1mm) fica evidente.

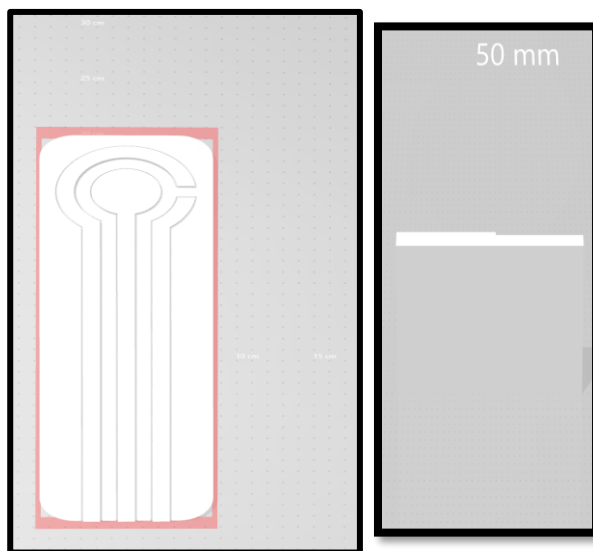


Figura 13: a) Vista frontal superior do projeto do eletrodo; b) Vista lateral do eletrodo, obtido pelo *software Inventor*.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Buscando simplificar a visualização dos resultados explorados no presente projeto, o Quadro 2 apresenta uma matriz de resultados, indicando as áreas trabalhadas e aquelas já exploradas anteriormente. Uma vez que há dois analitos de interesse e três sistemas de eletrodos, organizou-se os dados obtidos para o MDMA e  $\Delta$ 9-THC, cuja respectiva explicação seguirá nos próximos tópicos, finalizando com os resultados para seus respectivos metabólitos.

Quadro 2: Matriz de resultados obtidos em relação ao analito e ao tipo de eletrodo utilizado.

<b>Matriz trabalhada</b>	<b>Analito</b>	<b>Sistema convencional (Pasta de Carbono)</b>	<b>Eletrodo impresso comercial</b>	<b>Eletrodo da impressora 3D</b>
<b>Análise em fluido oral</b>	MDMA	Saliva artificial, análise quantitativa	Análise quantitativa	Sem resultados
	$\Delta$ 9-THC	Não explorado	Análise qualitativa	Análise qualitativa
<b>Análise de solução com padrão</b>	MDMA	Não explorado (resultados em literatura)	Não explorado (resultados em literatura)	Sem resultados
	$\Delta$ 9-THC	Não explorado	Não explorado (resultados em literatura)	Análise qualitativa
<b>Metabólito (padrão em solução aquosa)</b>	11-nor- $\Delta$ -9-THC	Não explorado	Análise quantitativa	Análise quantitativa
	HMA	Análise quantitativa	Não explorado	Sem resultados

O trabalho referente à análise de MDMA em sistema convencional e em eletrodos impressos serviram como base para o presente projeto, e está referenciado em [43] e [48], em que o grupo de pesquisa explorou os diferentes sais de eletrólito de suporte para o



MDMA em soluções aquosas e comparou o mecanismo de reação que ocorre. Além disso, os resultados em sistemas convencionais possibilitaram as análises em amostras apreendidas, com uma metodologia validada de forma inédita, incluindo o Teste de Youden para robustez, juntamente a resultados em solução de saliva artificial.

Primeiramente realizou-se os testes em eletrodos da impressora 3D para o padrão de MDMA, e devido ao fato de não obter sinal nessas condições, não se explorou sua análise em solução de fluido oral.

Para o  $\Delta^9$ -THC, conforme a literatura reporta resultados para análise de seu padrão em solução aquosa de  $\text{KNO}_3$  em eletrodos impressos comerciais de carbono, foi realizada a análise em solução de fluido oral, bem como de seu metabólito 11-nor- $\Delta^9$ -THC e verificou-se as respostas desses analitos nos eletrodos fabricados em impressora 3D.

#### *4.1 Saliva artificial em sistema convencional*

Estudos iniciais visaram comparar o comportamento voltamétrico com os dois eletrólitos de suporte –  $\text{KCl}$  e  $\text{LiClO}_4$  – em um sistema convencional, antes de analisar em eletrodos impressos comerciais. Buscou-se a otimização dos parâmetros de medidas, cujos resultados estão apresentados no Quadro 3.

A escolha desses sais como eletrólitos de suporte teve como base um trabalho realizado pelo grupo de pesquisa, publicado em 2020, [43] para a análise de MDMA em amostras apreendidas, em que um comparativo entre os sais perclorato ( $\text{LiClO}_4$ ,  $\text{NaClO}_4$ ,  $\text{KClO}_4$  e  $\text{NH}_4\text{ClO}_4$ ) apontou que o lítio como cátion teve uma resposta de corrente mais intensa.

No caso do  $\text{KCl}$ , a motivação para tal teste está em sua facilidade e custo de aquisição, uma vez que, em uma pesquisa de valores pela fornecedora Sigma Aldrich, em janeiro de 2023, seu custo era menos da metade em relação ao  $\text{LiClO}_4$ , considerando um grau PA para ambos.

Quadro 3: Parâmetros experimentais para voltametria de onda quadrada para cada eletrólito de suporte.

Parâmetros	KCl	LiClO <sub>4</sub>
Amplitude	0,04 V	0,07 V
Tempo de pré-concentração	10 s	30 s
Potencial de pré-concentração	1,2 V	0,7 V
Frequência	25 Hz	35 Hz
Variação de potencial	0,001 V	0,004 V
Faixa de potencial	0,3 a 1,5 V	-0,1 a 1,5 V

Uma vez estabelecidos esses parâmetros experimentais para a Voltametria de Onda Quadrada, obteve-se a curva analítica para cada eletrólito de suporte, apresentadas com seus respectivos voltamogramas nas Figuras 14 e 15.

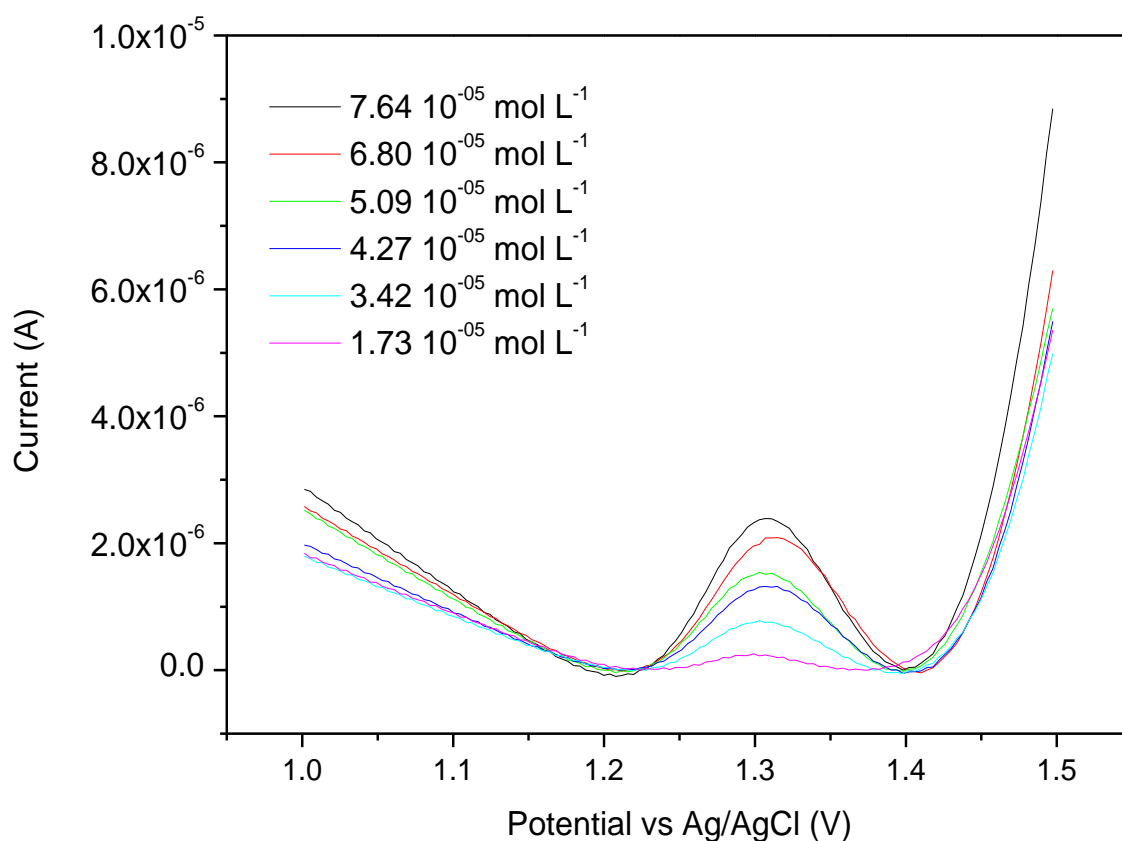


Figura 134: Resposta para Voltametria de Onda Quadrada para sucessivas concentrações de MDMA em solução de saliva artificial contendo KCl em sistema convencional formado por pasta de carbono como eletrodos de trabalho e auxiliar. Os parâmetros experimentais estão apresentados no Quadro 3.

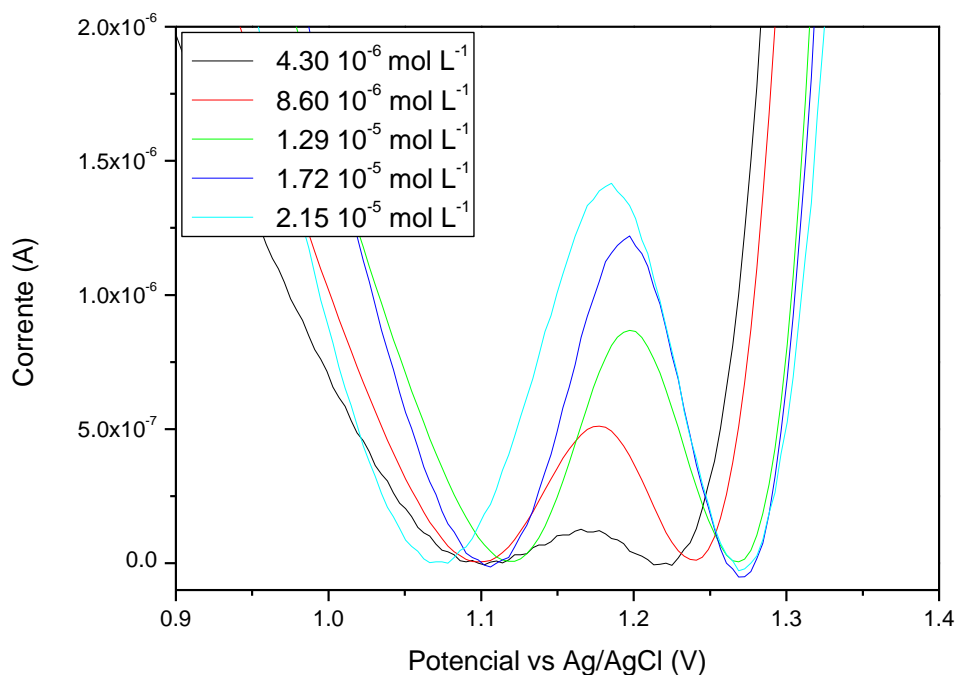


Figura 145: Resposta para Voltametria de Onda Quadrada para sucessivas concentrações de MDMA em solução de saliva artificial contendo  $\text{LiClO}_4$  em sistema convencional formado por pasta de carbono como eletrodos de trabalho e auxiliar. Os parâmetros experimentais estão apresentados no Quadro 3.

A comparação entre a performance de cada eletrólito de suporte considerou as figuras de mérito, apresentadas no Quadro 4. Os limites de detecção e quantificação (LD e LQ, respectivamente), foram determinados pelos cálculos:  $3 \text{ SD}/m$  e  $10 \text{ SD}/m$ , sendo SD o desvio padrão, obtidos pelo coeficiente linear e  $m$  é o coeficiente angular da curva analítica.

Quadro 4: Parâmetros obtidos a partir da curva analítica para cada eletrólito de suporte em análise por voltametria de onda quadrada.

<b>Parâmetro</b>	<b>KCl</b>	<b>LiClO<sub>4</sub></b>
<i>LD</i>	$7,17 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	$2,61 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
<i>LQ</i>	$2,39 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$8,71 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
<i>Sensibilidade</i>	$0,036 \text{ A L mol}^{-1}$	$0,077 \text{ A L mol}^{-1}$
<i>Linearidade (R)</i>	0,9889	0,9856

As medidas por Voltametria Cíclica foram realizadas com as mesmas condições de pré-concentração estabelecidas para Voltametria de Onda Quadrada, com a velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$  para as amostras reais de fluido oral, no intervalo entre -0,1 V a 1,5 V.

O Quadro 5 resume os parâmetros experimentais otimizados para a análise em Voltametria Cíclica, considerando-se os dois sais de eletrólito de suporte.

Quadro 5: Parâmetros experimentais para voltametria cíclica para cada eletrólito de suporte.

<b>Parâmetros</b>	<b>KCl</b>	<b>LiClO<sub>4</sub></b>
Velocidade de Varredura	$10 \text{ mV s}^{-1}$	$100 \text{ mV s}^{-1}$
Tempo de pré-concentração	10 s	30 s
Potencial de pré-concentração	1,2 V	0,7 V
Faixa de potencial	0,3 a 1,5 V	-0,1 a 1,5 V

A análise em sistema com KCl se mostrou mais demorada, demandando aproximadamente 4 minutos, enquanto o sistema com LiClO<sub>4</sub> levou um pouco menos de 2 minutos.

A partir das condições estabelecidas, as curvas de calibração para cada eletrólito de suporte foram confeccionadas, a fim de estabelecer os parâmetros de limites de detecção, de quantificação, linearidade e sensibilidade, a serem comparados no Quadro 6.

Quadro 6: Parâmetros obtidos a partir da curva analítica para cada eletrólito de suporte em análise por voltametria cíclica.

<i>Parâmetro</i>	<i>KCl</i>	<i>LiClO<sub>4</sub></i>
<i>LD</i>	$1,64 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$6,95 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$

<i>LQ</i>	$5,48 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$2,32 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$
<i>Sensibilidade</i>	$0,009 \text{ A L mol}^{-1}$	$0,029 \text{ A L mol}^{-1}$
<i>Linearidade (R)</i>	0,9704	0,9763

As Figuras 16 e 17 mostram, respectivamente, os perfis voltamétricos para sucessivas adições de MDMA em ambos os sistemas, KCl e LiClO<sub>4</sub>.

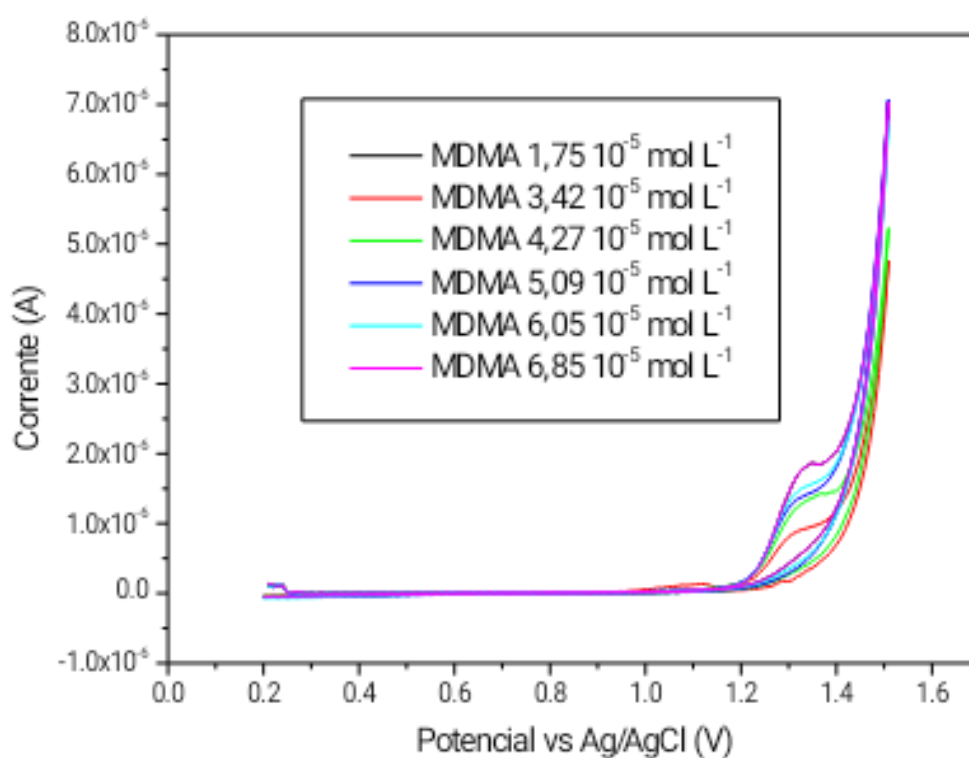


Figura 156: Resposta voltamétrica do MDMA em sucessivas adições. O eletrólito de suporte foi o KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em solução de saliva artificial; pré concentração em  $1,2 \text{ V}$  por  $10 \text{ s}$ , velocidade de varredura  $10 \text{ mV s}^{-1}$ .

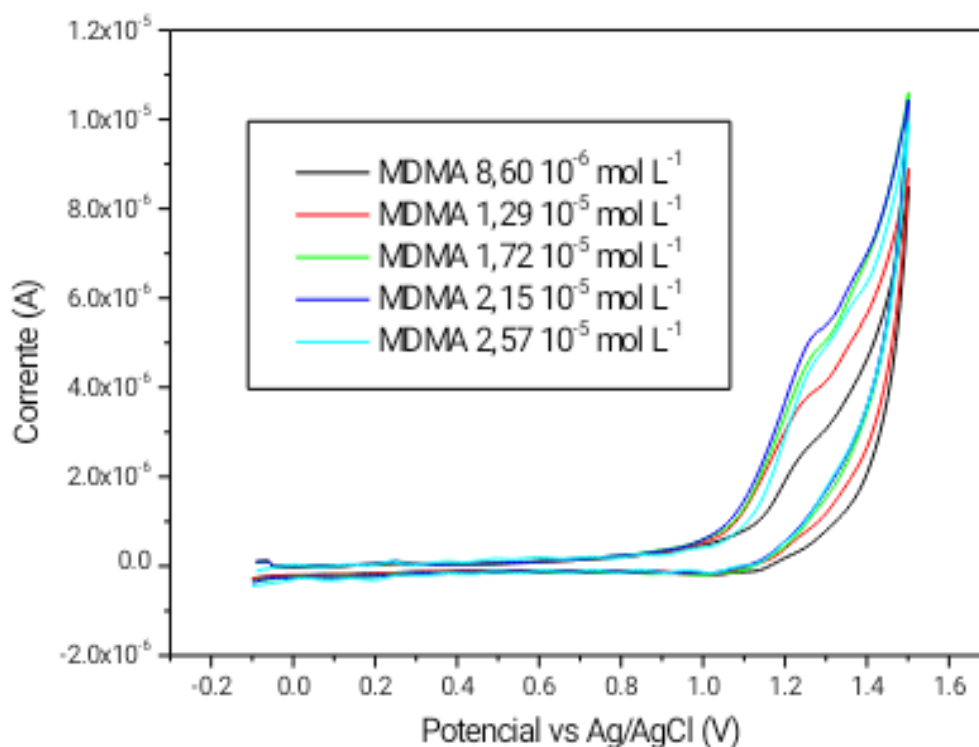


Figura 16: : Resposta voltamétrica do MDMA em sucessivas adições. O eletrólito de suporte foi o  $\text{LiClO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em solução de saliva artificial; pré concentração em  $0,7 \text{ V}$  por  $30 \text{ s}$ , velocidade de varredura  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Com base nos valores apresentados no Quadro 6, principalmente em uma comparação entre os valores mais baixos de LD e LQ, optou-se em prosseguir os estudos com o  $\text{LiClO}_4$  como eletrólito de suporte, para análise em amostras reais de fluido oral em SPE. Ressalta-se que o valor para a sensibilidade para este eletrólito de suporte foi mais que o dobro quando comparado ao uso de  $\text{KCl}$ . As linearidades em ambas as curvas apresentaram valores próximos.

Os valores obtidos para LD e LQ são similares aos observados em literatura, a qual utiliza de técnicas cromatográficas (Barnes et al., 2011; Navarro et al., 2001, [44 e 46]), o que mostra a viabilidade das técnicas eletroquímicas neste cenário de análise toxicológica.

O uso de sais de percloratos como eletrólito de suporte para análises eletroquímicas de drogas de abuso no cenário forense tem-se demonstrado como

promissor, conforme reporta a literatura, para determinação de dietilamida do ácido lisérgico (LSD), cocaína e fenetilaminas (NBOMe) (Oiyé et al., 2009, 2017; Ribeiro et al., 2017). [47-49]

A análise voltamétrica de MDMA já foi explorada em diversos tipos de eletrodos de trabalho, com modificação química sobre a superfície ou não. Os meios explorados englobam tampão fosfato, sais perclorato ou cloreto de potássio, em meio aquoso. [51-54]

Em um breve levantamento com os estudos eletroquímicos de MDMA em eletrodos modificados quimicamente, Couto et al. [51] utilizou de um sistema com impressão molecular com orto-fenilenodiamina, e obteve LD e LQ de 0,79 e 2,6  $10^{-6}$  mol  $L^{-1}$ , respectivamente. Narang et al. [52] propõe um sistema feito em papel modificado com nanobastões de óxido de zinco para detecção de MDMA e encontraram um LD de 0,019  $10^{-6}$  mol  $L^{-1}$ . Tadini et al. [53] utilizou-se da deposição de cucurbit[6]uril em eletrodo de carbono vítreo para uma metodologia com LD 2,7  $10^{-6}$  mol  $L^{-1}$  e LQ de 9,1  $10^{-6}$  mol  $L^{-1}$ .

Com base nos resultados apresentados, o valor de LQ obtido é próximo aos calculados em sistemas com modificação eletroquímica, e somado ao fato de sua proximidade com as concentrações de MDMA encontradas em amostras de fluido oral em literatura, prosseguiu-se a pesquisa com o uso de eletrodos sem modificações químicas.

Por fim, prosseguiu-se as análises para soluções vindas de fluido oral utilizando-se apenas o  $LiClO_4$ , uma vez que este sal mostrou melhor resposta. Como a análise em amostras biológicas utiliza-se de concentrações de MDMA mais baixas, o uso de condições analíticas que permitam maior sensibilidade de sinal se mostrou como fator importante, mesmo que seu custo de aquisição seja maior.

O uso de pasta de carbono como eletrodo auxiliar se mostrou eficiente, viabilizando o mesmo conceito sobre uso do mesmo material para os eletrodos auxiliar e trabalho.

Ambos os eletrodos foram confeccionados em uma mesma estrutura (o tubo cilíndrico adaptado de uma seringa de insulina), diferenciando-se sobre a composição de pasta de carbono. No caso do eletrodo auxiliar, houve um acréscimo de 20% do pó de carbono na composição da pasta em relação ao eletrodo de trabalho, sendo suficiente para obtenção dos voltamogramas apresentados. Com esta alteração, foi possível substituir a

necessidade de maior área eletródica observada nos eletrodos auxiliares para uma opção de menor custo e de fácil fabricação.

Desta forma, propõe-se um sistema convencional cuja composição dos três eletrodos é obtida de forma simples e de baixo custo. Frequentemente utiliza-se de platina como material do eletrodo auxiliar, mas a pasta de carbono, cumpre a função esperada. Sabe-se que a partir do eletrodo auxiliar há um circuito de corrente em relação ao eletrodo de trabalho, que é analisado na voltametria. [30, 50] O fato deste eletrodo possuir uma área maior contribui para balancear a corrente observada no eletrodo de trabalho.

Esta transferência de elétrons que ocorre entre estes dois eletrodos gera uma corrente controlada por difusão, e contribui à capacidade elétrica da dupla camada elétrica da superfície do eletrodo.

#### *4.2 Estudo sobre a cinética*

Conhecendo-se as condições de análise para MDMA em solução de saliva artificial, explorou-se a cinética da resposta voltamétrica, através do estudo de velocidade, a fim de obter mais informações acerca do mecanismo de reação que impera sobre o sinal observado. Fixou-se a concentração do analito em  $1,34 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e variaram-se as velocidades de varredura, conforme exposto na Figura 18.

A análise por voltametria cíclica permite conhecer a cinética envolvida na reação ao variar as velocidades de varredura. A relação linear estabelecida entre a corrente de pico e a velocidade de varredura indica que o processo redox é um processo controlado de adsorção.

Além disso, indica-se a ocorrência de um processo do tipo difusão, o qual é indicado pelo coeficiente angular igual a 0,41 na relação entre o logaritmo da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura, dada pela relação  $\log i_{pa} \text{ (A)} = 0.41 \log v \text{ (mV s}^{-1}) - 7.34$ , e esta constatação é reportada também na literatura científica.



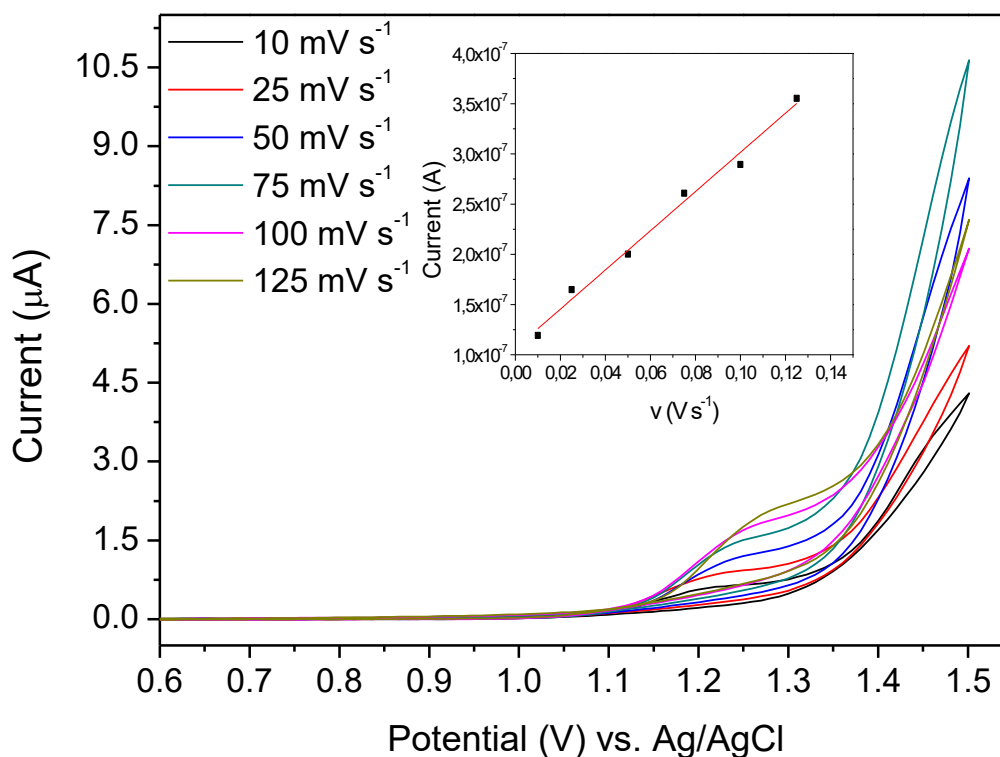


Figura 17: Resposta voltamétrica do MDMA ( $1,34 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em diferentes velocidades de varredura. O eletrólito de suporte foi o  $\text{LiClO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em solução de saliva artificial; pré-concentração em  $0,7 \text{ V}$  por  $30 \text{ s}$ .

Para tais apontamentos, teve-se como base as informações sintetizadas da literatura nos Quadros 7 e 8, obtidas pelas referências [50] e [55], em que através dos perfis gráficos e a relação entre os valores de correntes de pico, os potenciais de pico e as diferentes velocidades de varredura, pode-se estabelecer o mecanismo.

Quadro 2: Resumo sobre as características observadas para os mecanismos de reação a serem elucidados a partir de um voltamograma cíclico. (adaptado da referência [50])

Mecanismo	$E_p$ vs $v$	$\Delta E_p$ (mV)	$I_p$ oxid vs. $v^{1/2}$	$I_p$ red/ $I_p$ oxid	Observação
Transferência rápida de elétron	Não varia	$57/n$	Cte.	1	Difusão

<b>Transferência lenta de elétron</b>	Varia	5 $\gamma$ /n	Cte.	1	Transferência de elétron
<b>Transferência de elétron irreversível</b>	Varia	Sem pico de volta	Cte.		
<b>Transferência de carga seguida de etapa química reversível</b>	Varia	---	Cte.	1 a menor v. Diminui com maior v	Mecanismo EC
<b>Transferência de carga seguida de etapa química irreversível</b>	Varia para sentido mais catódico	Sem pico de volta em baixa v	Cte.	<1 a v baixa; tende a aumentar com v	Mecanismo EC
<b>Etapa química irreversível precede transferência de elétron</b>	Varia na direção oposta	---	Diminui com v	<1 a v baixa; aumenta com v	Mecanismo CE

$E_p$  = potencial de pico;  $v$  = velocidade de varredura;  $I_p$  oxi = corrente de pico de oxidação;  $I_p$  red = corrente de pico de redução;  $n$  = número de elétrons; cte = constante; EC = transferência de carga seguida de reação química; CE = reação química seguida por transferência de carga

Quadro 3: Relação entre os parâmetros da voltametria cíclica (potencial, corrente e velocidade) e o mecanismo da reação. [50, 55]

Relação	Perfil gráfico	Mecanismo
$i$ vs $v$	Linear	Adsorção
$i$ vs $\sqrt{v}$	Linear	Difusão
$\log i$ vs $\log v$	Linear (coeficiente angular = 0,5)	Difusão
	Linear (coeficiente angular = 0,5)	Adsorção
	Linear (coeficiente angular entre 0,5 e 1,0)	Adsorção e Difusão
$\frac{i}{\sqrt{v}}$ vs $\log v$	Linear	Difusão
	Aumenta com $v$	Adsorção

$E_p$ vs $\log v$	Linear, com deslocamento de E para potenciais mais positivos	Mecanismo EC
	Linear, com deslocamento de E para potenciais mais negativos	Mecanismo CE

Conforme verifica-se nos voltamogramas da Figura 18, há um deslocamento dos potenciais de pico, para valores cada vez mais positivos, a medida que a velocidade de varredura aumenta. Tal fato indica um processo de oxidação de natureza irreversível [30], o que está de acordo com o reportado em literatura. [15] A presença de um único pico anódico é atribuída à remoção do elétron do núcleo aromático presente na molécula de MDMA.

Para fins de comparação, no caso da análise do MDMA em solução aquosa de  $\text{LiClO}_4$ , foi reportado que na faixa de velocidade de varredura entre 10 e 200  $\text{mV s}^{-1}$ , observa-se uma linearidade entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura, o que caracteriza o processo de difusão ocorrendo na superfície eletródica. [43] Ao plotar o gráfico entre o logaritmo da corrente vs o logaritmo da velocidade, constatou-se que o coeficiente angular da curva foi de 0,36, o que comprova que se trata de um processo controlado por difusão, conforme pode ser conferido no Quadro 8.

Assim como observado para o MDMA em solução de saliva artificial, com o aumento da velocidade de varredura, há o deslocamento do pico de oxidação para potenciais mais positivos. A dependência entre a corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura foi verificada e indicou o mecanismo EC, em que o pico anódico é relacionado à oxidação no núcleo aromático da molécula de MDMA, formando um radical com característica de cátion.

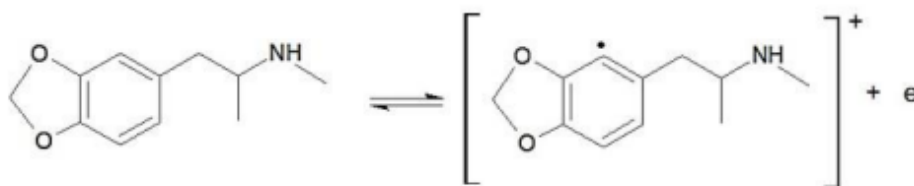


Figura 18: Reação de oxidação na molécula de MDMA. (fonte: [43])

A Figura 19 mostra de forma simplificada a oxidação observada na molécula de MDMA. A literatura reporta a ocorrência de outros processos oxidativos, mas que não são observados nas condições experimentais utilizadas. Os segundo e terceiro picos de oxidação referem-se ao processo de dimerização dos radicais, seguidos de oxidação da amina secundária na molécula de MDMA. [43, 44]

Detalhadamente, Garrido et al. [15] explora diversos sistemas de tampão e varia o pH das soluções, e através dos resultados obtidos por voltametrias cíclica, de pulso diferencial e de onda quadrada com eletrodo de carbono vítreo em amostras biológicas (soro humano), propõe um mecanismo mais detalhado, em que uma oxidação no núcleo aromático da molécula forma um radical com caráter de cátion, visto em um pico anódico em torno de 1,2 V a 1,0 V, caracterizando a primeira oxidação. A depender da faixa de pH, especificamente entre 4 e 12, pode-se observar um segundo pico de oxidação por volta de 1,3 V, que é decorrente da dimerização do radical formado no primeiro processo. Acima do pH 9 observa-se o terceiro sinal anódico, entre 0,8V a 0,9 V ocasionado pela oxidação da amina secundária presente na molécula de MDMA.

Para o sistema proposto por Cumba et al. [54], o MDMA apresentou um único pico de oxidação em 0,92 V, assim como neste trabalho, com solução aquosa contendo tampão fosfato como eletrólito de suporte e sistema de SPE com eletrodo de grafite.

Faria et al [45], observa que para um sistema confeccionado em impressora 3D, mas com PLA tendo o carbon black como material condutor em sua composição, o MDMA apresenta dois sinais anódicos por volta de 1,1 V e 1,3 V. Utilizou-se da solução de eletrólito de suporte em tampão fosfato, com variação de pH e análise concomitante ao MDA, evidenciando os processos cinéticos que ocorrem na molécula de MDMA.

A diferença entre os perfis cinéticos da reação é explicada pelos fatores que influenciam os mecanismos de processos redox: pela transferência por difusão de massa do analito em solução sobre a superfície eletródica, pela transferência de carga entre o analito e o eletrodo, e pelas reações químicas acopladas a algum destes processos que podem ocorrer.

### 4.3 Análise de MDMA em SPE

Um aspecto de grande relevância sobre o uso de fluido oral é o volume de amostra coletado, e que ao realizar as medidas em sistema eletroquímico convencional, resulta em um fator de diluição, a fim de preencher o volume da célula eletroquímica com a solução contendo o eletrólito de suporte e o analito. Ao coletar 500  $\mu\text{L}$  de fluido oral, por exemplo, ocorre uma diluição em torno de 7 vezes para preencher o sistema convencional com 3,5 mL de solução.

Desta forma, o uso de eletrodos impressos comerciais (SPE) foi apropriado por requerer menor volume de amostra e facilitar a aplicação em sistemas portáteis, uma vez que uma gota de 50  $\mu\text{L}$  podem ser suficientes para análise e não requer a montagem de toda a célula eletroquímica em campo.

Após estabelecer os melhores parâmetros experimentais em sistema convencional com pasta de carbono e saliva artificial, migrou-se para os SPE, aplicando-se as mesmas condições. Uma vez conhecido o procedimento para o preparo de amostra a partir de fluido oral coletado e fortificado com padrão, foi possível investigar a aplicabilidade desses eletrodos.

Uma mesma solução de concentração de  $6,15 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de MDMA apresentou uma corrente de pico de  $1,96 \cdot 10^{-6} \text{ A}$  por Voltametria de Onda Quadrada em SPE em comparação à intensidade de  $3,68 \cdot 10^{-6} \text{ A}$  por Voltametria Cíclica. Desta forma, os estudos em fluido oral aplicados neste tipo de eletrodo foram realizados apenas através da técnica de Voltametria Cíclica.

A Figura 20 compara o perfil eletroquímico de soluções de saliva artificial e de amostra real de fluido oral fortificadas com padrão de MDMA em SPE.

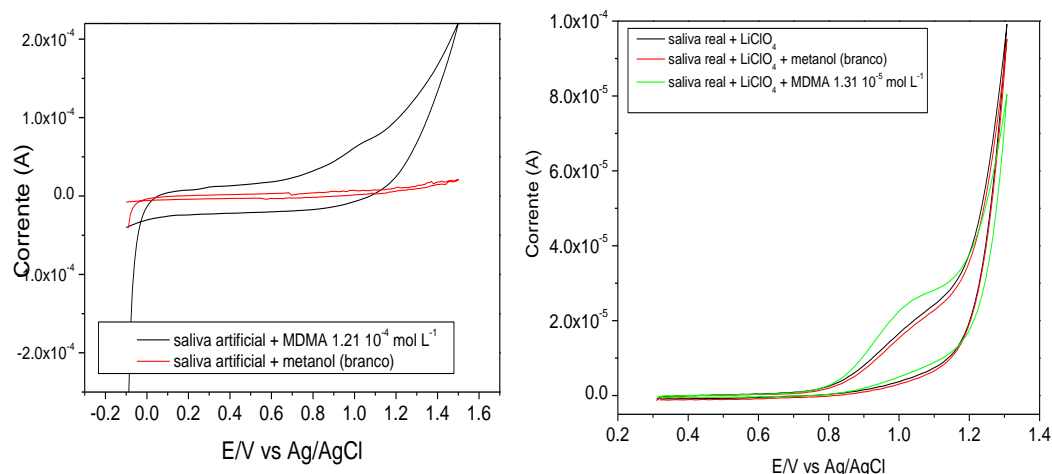


Figura 19: Comparação da resposta voltamétrica obtida para eletrodos impressos entre o MDMA em saliva artificial (a) e em fluido oral (b). Condições experimentais: pré-concentração em 0,7 V por 30 s e velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

A análise de soluções de saliva artificial contendo sucessivas adições do padrão de MDMA não mostrou um comportamento linear, de modo que impossibilitou a confecção de uma curva analítica. Desta forma, tem-se uma análise de caráter qualitativo, através da presença do sinal de oxidação observado em torno de 1,0 V.

A partir deste ponto, as pesquisas sobre MDMA focaram-se na análise por Voltametria Cíclica em eletrodos impressos comerciais a partir de solução de fluido oral.

#### 4.4 Preparo de amostra (fluido oral)

Conhecidas as condições de análise, a pesquisa passou a explorar a análise de MDMA em fluido oral. Para esta etapa, primeiro verificou-se a interferência da matriz na solução e posteriormente, qual o procedimento para preparo de amostra seria mais adequado.

Ao misturar-se a amostra de fluido oral, fortificada ao padrão em solução contendo o eletrólito de suporte de  $\text{LiClO}_4$ , não houve a resposta voltamétrica do analito. Sobre os aspectos físicos da solução, não apresentava viscosidade que pudesse interferir na leitura, e partiu-se para a investigação sobre possível interferência das proteínas presentes na matriz biológica.

Para a desnaturação das proteínas, explorou-se o efeito sobre a acidificação de solução, adição de solvente orgânico e adição de sais.

A acidificação da fluido oral ocorreu pela adição de ácido nítrico em diluição com água na ordem de 1:1 e homogeneização posterior da solução, atingindo pH 2,0 e ao analisar, constatou-se que ainda permanecia a perda significativa da intensidade do sinal voltamétrico.

Através da adição de solvente orgânico (acetonitrila) à solução de fluido oral com o eletrólito de suporte, esperava-se que pela afinidade do solvente com o analito, ocorresse sua detecção. Entretanto ainda não foi suficiente para que possibilitasse o sinal analítico na matriz.

Desta forma, optou-se pela adição de sais que promovam o efeito *salting out*, o qual pelo aumento da força iônica, favorece-se a interação entre as moléculas de proteínas, ocorrendo sua precipitação. Deste modo, a partir da solução de sobrenadante, coleta-se a fração a ser depositada no eletrodo. [56]

Os primeiros testes ocorreram com adição de sulfato de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  na amostra real de fluido oral fortificada com padrão. Adicionou-se o sal e prosseguiu-se com o preparo de solução de forma que a concentração final, adicionando-se o eletrólito de suporte.

Observou-se que a intensidade de sinal para Voltametria Cíclica foi muito baixa, e ao analisar por Voltametria de Onda Quadrada, a baixa intensidade ainda era um problema que inviabilizaria o desenvolvimento de metodologia.

Em seguida, adicionou-se sulfato de magnésio  $\text{MgSO}_4$  e prosseguiu-se com as análises tendo este sal no procedimento de preparo de amostra, uma vez que sua adição se mostrou como efetiva para obtenção de sinal analítico para o MDMA.

Assim, como as bioanálises também utilizam de sulfato magnésio, realizou-se um estudo sobre o uso deste sal para a aplicação em fluido oral.

#### *4.5 Análise voltamétrica com fluido oral*

A vantagem do uso de fluido oral como matriz biológica é explicada pela sua disponibilidade fácil e conveniência como técnica não invasiva para coleta. Na literatura, Desrosiers et al. (2013), [57], expõe-se inclusive as altas concentrações de MDMA em fluido oral em comparação com seus metabólitos, os quais são normalmente quantificados em amostras como urina e sangue.

A análise preliminar em sistema convencional com saliva artificial indicou a possibilidade promissora na detecção de MDMA em fluido oral. A etapa de otimização nessas condições foi importante para que os testes com fluido oral coletado de voluntários fossem mais assertivos.

Uma vez conhecido qual o melhor eletrólito de suporte, as análises com fluido oral foram realizadas com  $\text{LiClO}_4$ . Apesar de se ter um custo de aquisição mais alto que o  $\text{KCl}$ , cerca de 5 vezes a mais em consulta com a fabricante Merck, a maior sensibilidade e menores valores de LD e LQ acabam por justificar esta escolha. A análise em matrizes biológicas engloba valores de concentração mais baixos, e obter uma metodologia quantitativa para MDMA por técnicas voltamétricas abrangendo uma faixa de trabalho em valores baixos, requer este investimento.

A pesquisa sobre o tratamento de amostra a ser realizado levou em consideração premissas como facilidade e rapidez no preparo. O custo, ainda se comparado ao tratamento e análise cromatográfica, mostra-se com valores baixos, uma vez que não há necessidade de filtragem e exigência de maior grau de pureza dos reagentes.

A análise por SPE das soluções de fluido oral coletado foram fortificadas com o padrão de MDMA, com a posterior adição de  $\text{LiClO}_4$  indica a presença de um sinal anódico em 1,05 V, conforme expõe a Figura 21. Apesar da maior viscosidade do fluido oral, ao misturar com a solução aquosa contendo o eletrólito de suporte, o potencial de pico não se deslocou significativamente, resultando em uma variação aproximada de 10%.



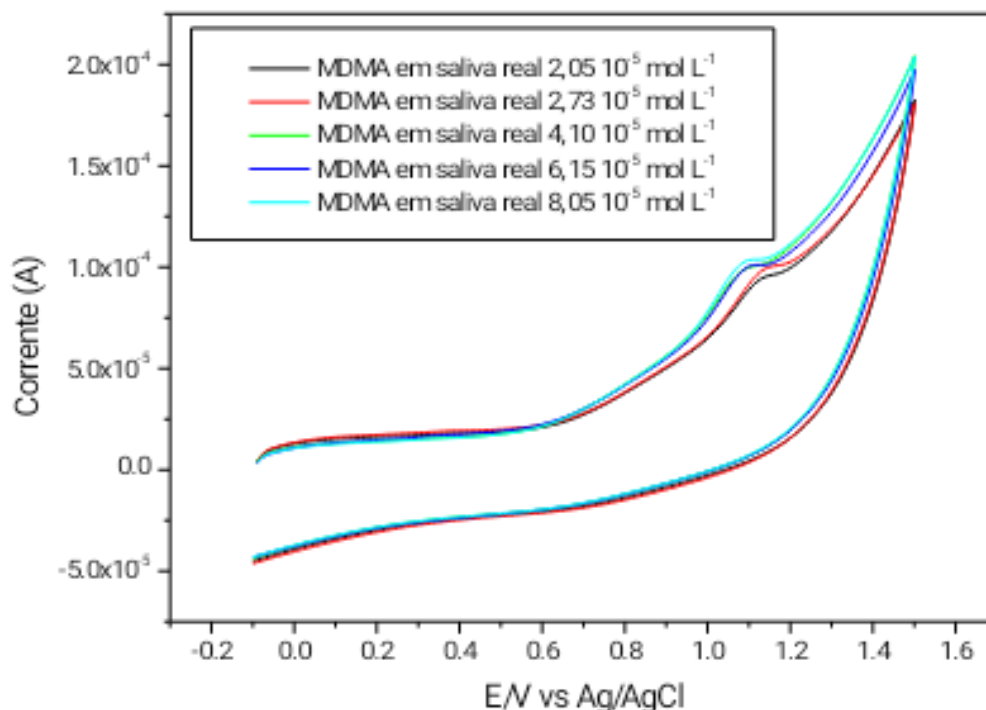


Figura 20: Resposta para Voltametria Cíclica para sucessivas concentrações de MDMA em solução a partir de amostra real de fluido oral com  $\text{LiClO}_4$  como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: pré-concentração em 0,7 V por 30s e velocidade de varredura  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

A partir da curva analítica, estabeleceu-se a relação linear em que a sensibilidade é dada por  $0,12 \text{ A L mol}^{-1}$  e o coeficiente linear por  $5,18 \cdot 10^{-6}$ . O coeficiente de correlação linear foi de 0,9759. O LD e LQ foram calculados pela mesma forma que no caso da saliva artificial, sendo seus valores, respectivamente,  $5,35 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  e  $1,78 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Ao converter esses valores em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , tem-se  $1,03 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $3,45 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

Desrosiers et al. (2013) [57] reporta uma faixa de concentração entre  $8,49 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  ( $1,65 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e  $2,46 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  ( $4,75 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) de MDMA em fluido oral, em um cenário em que as análises realizadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas foram feitas em amostras coletadas de voluntários após 2 horas do consumo da droga. Barnes et al. (2011) [18] apresenta uma concentração máxima de  $1,5 \mu\text{g mL}^{-1}$  como valor máximo observado em fluido oral de amostras coletadas de usuários da droga expostos a uma dosagem mais baixa, 2 horas antes da coleta.

Com base nessas informações, constata-se que os LD e LQ obtidos atendem o intervalo de concentração de MDMA já trabalhados em literatura, podendo constatar o uso recente da droga em usuários.

Em relação aos resultados obtidos usando-se de um sistema convencional de pasta de carbono com maior área eletródica (pasta de carbono: parafina em 90:10) com o eletrólito de suporte  $\text{LiClO}_4$  em solução aquosa, os valores de LD e LQ foram  $0,33 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $1,11 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. Tais dados estão registrados na referência de Katayama, et al (2020) [43] e mostram que em tais condições há uma melhora na capacidade de detecção em níveis 3 vezes menores. Esta diferença é justificada pela maior área de eletrodo de trabalho em contato com a solução contendo o MDMA.

Já para a análise em SPE com solução aquosa de  $\text{LiClO}_4$ , os valores de LD e LQ foram, respectivamente,  $1,75 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $5,81 \mu\text{g mL}^{-1}$ , o que mostram valores bem próximos aos obtidos em análise com a matriz de fluido oral.

#### 4.6 Análise de interferentes

Partindo-se do mesmo procedimento de preparo de amostras, verificou-se a resposta para algumas substâncias interferentes da análise de MDMA. Comumente pílulas de *ecstasy* tem em sua composição cafeína, procaína, teobromina e lidocaína. A escolha de tais substâncias foi com base em análises realizadas para amostras apreendidas, citadas anteriormente.

A partir da Figura 22 constata-se que nenhuma das substâncias influenciou no comportamento do MDMA, seja em deslocamento de potencial de pico ou na intensidade de sinal. A Figura 22 a) mostra o comportamento voltamétrico na ausência de MDMA enquanto na Figura 22 b) tem-se o perfil com a droga adicionada. Ou seja, os picos observados na lidocaína e teobromina isoladas surgem em torno de 1,0 V, e o MDMA tem seu potencial de pico em 1,1 V. na presença de MDMA, as intensidades dos picos das substâncias interferentes foram muito mais baixas também.

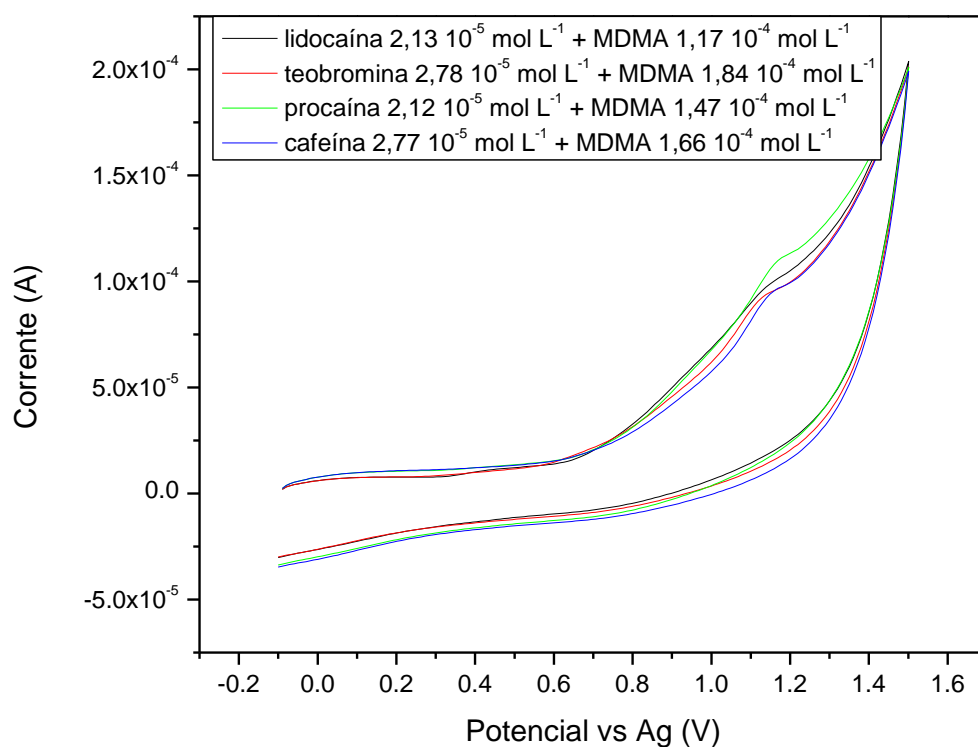
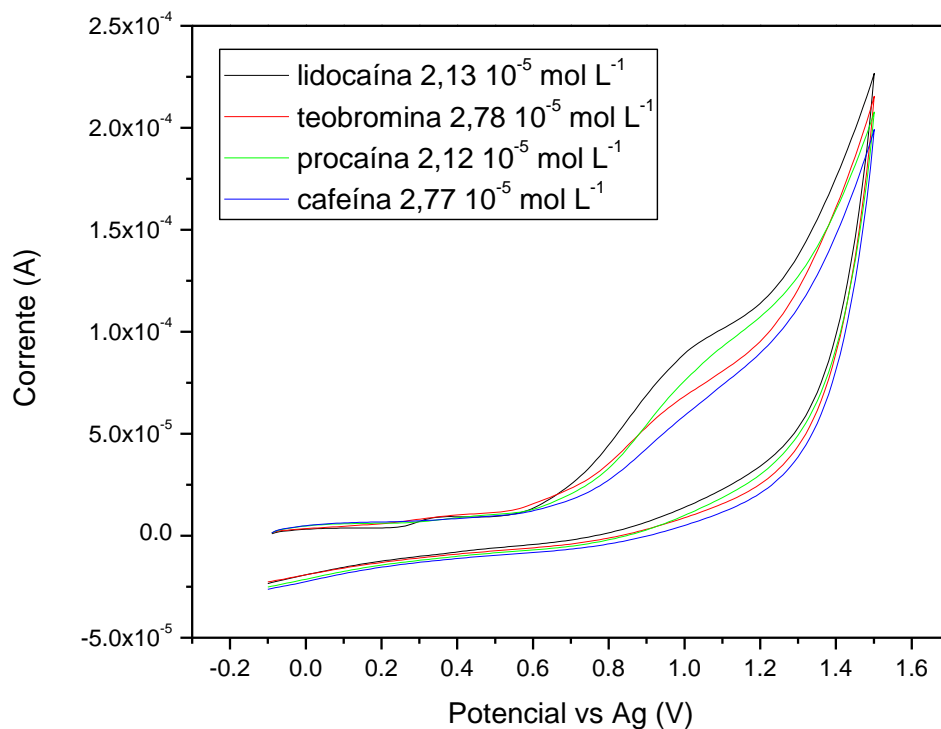


Figura 22: Resposta para Voltametria Cíclica para substâncias interferentes na ausência (a) e com presença de MDMA (b) em solução a partir de amostra real de fluido oral com  $\text{LiClO}_4$  como

eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: pré-concentração em 0,7 V por 30 s e velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>.

Partindo-se de um cenário em que o consumo de MDMA muitas vezes está associado a ingestão de bebidas alcoólicas, verificou-se a resposta com a presença de etanol, registrado na Figura 23.

A solução com o padrão de MDMA foi preparada em etanol e depois adicionada à amostra de fluido oral coletada, na mesma maneira que o preparo das amostras foi realizado. Desta forma, simula-se o cenário em que o MDMA foi consumido concomitantemente a ingestão de bebida alcoólica.

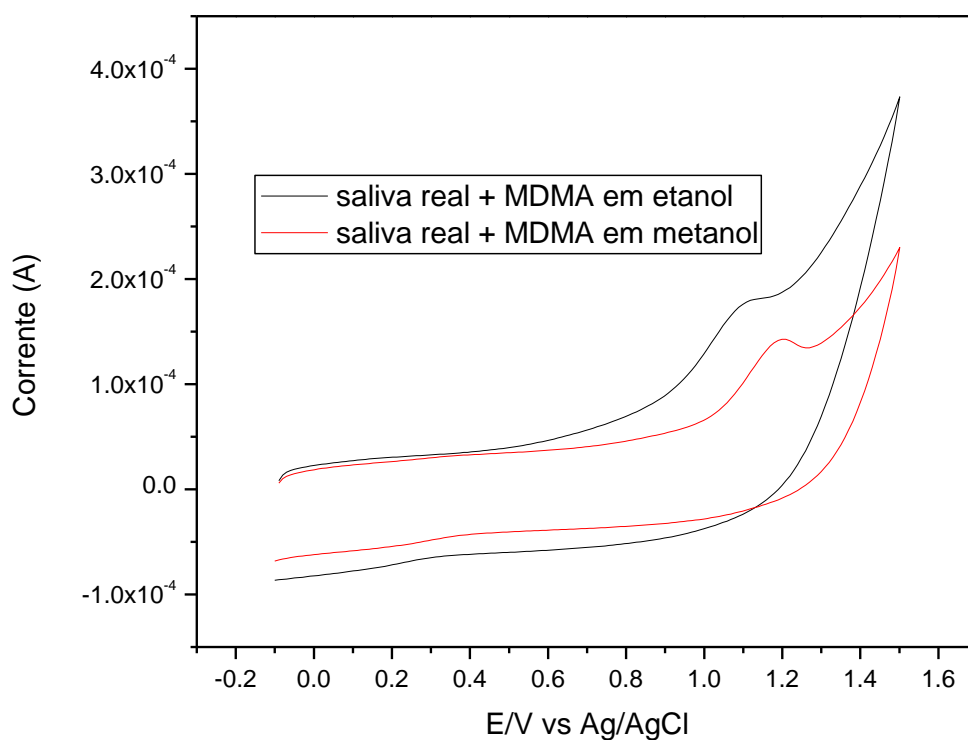


Figura 21: Resposta para Voltametria Cíclica para MDMA em soluções de metanol e etanol a partir de amostra real de fluido oral com LiClO<sub>4</sub> como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: pré-concentração em 0,7 V por 30 s e velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>.

Constatou-se que não houve alteração na intensidade de corrente de pico com a troca de solvente. Ambas as leituras foram realizadas com a mesma concentração de MDMA, em  $1,28 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Indica-se assim que a quantificação de MDMA não é prejudicada com a presença de etanol na solução.

#### *4.7 Análise de $\Delta 9$ -THC*

Para o analito em questão, partiu-se das condições experimentais previamente exploradas pelo grupo de pesquisa e reportadas em literatura por Balbino et al. [58]. Primeiramente, verificou-se a resposta em solução de saliva artificial e posteriormente utilizou-se a amostra real de fluido oral, preparada em mesmo protocolo para a análise de MDMA, para análise em SPE comercial.

Sucessivas leituras de diferentes concentrações de  $\Delta 9$ -THC, cuja adição de padrão foi realizada em solução de saliva artificial, não mostraram resposta em SPE comercial e nem em sistema convencional, com pasta de carbono.

No caso da solução de fluido oral fortificada com a adição de padrão, observa-se seu sinal sem uma relação linear entre o pico do analito e a intensidade de corrente. Para fins de teste qualitativo sobre a presença de  $\Delta 9$ -THC em fluido oral, como indicativo de uso recente, verificou-se a estabilidade do analito na solução. Duas leituras foram feitas, sendo a primeira imediatamente após o preparo da solução e outra após um intervalo de 4 horas, expostos na Figura 24.

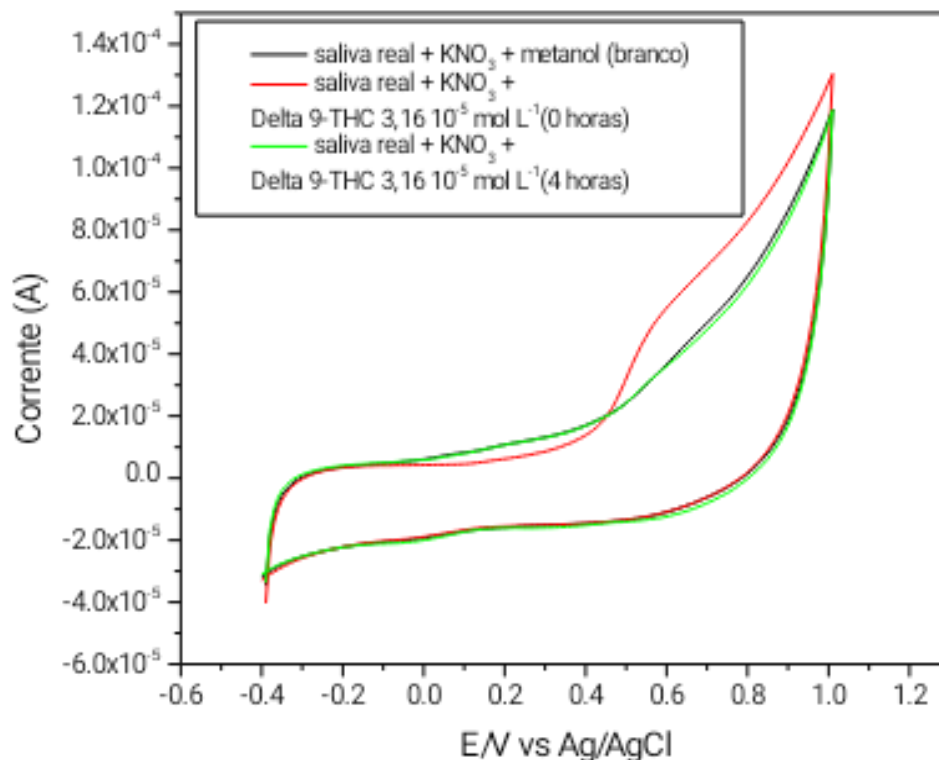


Figura 22: Resposta para Voltametria Cíclica em dois momentos (logo após preparo de solução e decorridas 4 horas) para  $\Delta 9$ -THC a partir de amostra real de fluido oral com KNO<sub>3</sub> como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>, tempo de pré-concentração de 60 segundos em - 0,5 V

O armazenamento da solução ocorreu em temperatura ambiente e para o presente procedimento de preparo de solução de fluido oral, não é possível obter uma estabilidade do analito. Em termos práticos, a coleta de amostra, preparo e análise teriam que ocorrer de modo sucessivo e imediato, sendo este um ponto a ser pesquisado a fim de melhorar a metodologia para fins de aplicação na rotina forense.

Não foi possível estabelecer uma resposta linear sobre a resposta voltamétrica frente à diferentes concentrações de  $\Delta 9$ -THC, o que impossibilitou a confecção de curva analítica e quantificação deste analito em amostras reais de fluido oral.

Verificou-se a resposta do metabólito 11-nor-9-carboxi-THC, encontrado em indivíduos que consumiram  $\Delta 9$ -THC e cuja detecção na rotina toxicológica forense exclui os casos de indivíduos expostos de forma passiva ao uso de cannabis. Através da Figura 25, em uma adição à solução contendo  $\Delta 9$ -THC, em solução de fluido oral, observa-se que seu sinal possui o mesmo potencial de pico.

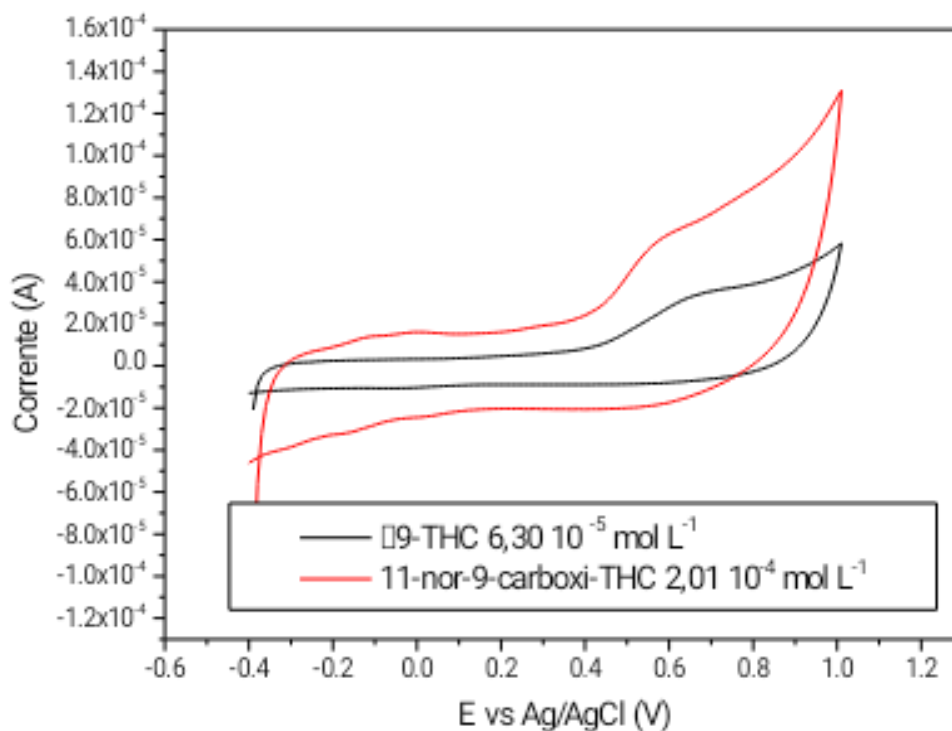


Figura 23: Resposta para Voltametria Cíclica para  $\Delta^9$ -THC e 11-nor-9-carboxi-THC a partir de amostra real de fluido oral com  $\text{KNO}_3$  como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ , tempo de pré-concentração de 60 segundos em  $-0,5 \text{ V}$ .

As concentrações 11-nor-9-carboxi-THC encontradas em amostras reais de fluido oral de usuários, de acordo com a literatura (Milman et al, 2012) [59], são em torno de  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ , o que equivale a valores mil vezes mais diluídos que a concentração analisada por voltametria.

A presença do pico oxidativo no mesmo potencial (em torno de  $0,5 \text{ V}$ ) para  $\Delta^9$ -THC e 11-nor-9-carboxi- $\Delta^9$ -THC pode ser explicado pela presença do grupo fenólico, comum em ambas as estruturas, responsável pela resposta anódica, conforme a Figura 26. [25, 26, 60]

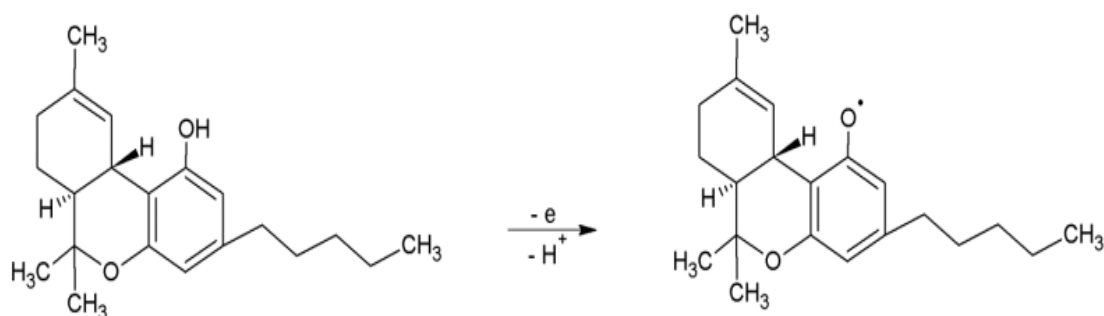


Figura 24: Reação de oxidação na molécula de  $\Delta^9$ -THC. (referência [26])

#### 4.8 Impressão 3D de eletrodos

Para a produção de eletrodos em impressora 3D, alguns aspectos foram necessários a fim de viabilizar seu uso para fins como eletrodos. Além do desenho, os parâmetros de impressão foram verificados visando uma produção com menos falhas e que garanta que a superfície eletródica seja mais uniforme e com menor rugosidade.

##### A) Variação de temperatura no bico de extrusão

Avaliação sem análise voltamétrica, verificando a rugosidade do eletrodo de forma visual, sobre os polímeros condutor e não condutor, sendo o primeiro caso mais crítico, por influenciar na área de trabalho para a medida amperométrica. Para o segundo polímero a rugosidade na superfície influencia no encaixe do eletrodo ao conector para eletrodos impressos.

Uma vez conhecida a faixa de temperatura que o polímero PLA pode atuar, realizou-se a impressão de teste em forma de rampa de temperatura, variando-se de 180 °C a 220 °C, a fim de verificar quais valores não seriam indicados. Por fim, estabeleceu-se como temperatura de extrusão ideal a 190 °C para ambos os polímeros.

##### B) Variação no sentido de impressão

Novamente a avaliação foi feita sem análise voltamétrica, verificando a rugosidade do eletrodo de forma visual. Comparou-se a impressão realizada de forma que a superfície eletródica fosse impressa em dois sentidos: a primeira opção com a área de base menor e a segunda opção com a área de base maior, ampliando a superfícies de



impressão. A Figura 27 esquematiza os dois modos de impressão testados para a confecção dos eletrodos.

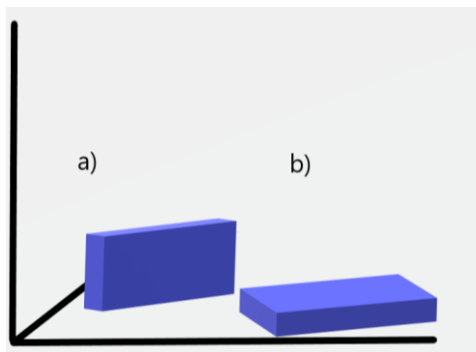


Figura 25: Maneiras de realizar a impressão dos eletrodos em impressora 3D, a partir da modificação da base do produto, sendo em a) menor área de contato e b) maior área de contato.

Na primeira opção, verificou-se maior falha nas bordas, o que comprometeu o encaixe ao conector de eletrodos, além de ter danificado um número maior de unidades impressas. Para a deposição do polímero condutor, observou-se a falta de alinhamento no depósito de impressão, ocasionando falhas que podem afetar no desempenho dos eletrodos. Desta forma, a impressão foi realizada conforme ilustra a Figura 27b.

#### C) Variação no bico de extrusão

A impressão foi realizada primeiramente em bicos de 0,45 mm, mas visando maior precisão sobre a área impressa, testou-se a troca por bicos menores, de 0,30 mm e utilizando-se maior temperatura (200 °C), a fim de favorecer o derretimento do polímero para a passagem pelo bico de saída. Não foi possível concluir este teste, uma vez que houve grande recorrência de entupimento nos bicos de extrusão ao longo do processo de impressão.

#### D) Variação na composição de tinta de prata

A avaliação com análise voltamétrica, feita com sistema  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ , comparou o uso da tinta de prata da Sigma Aldrich, e a tinta comercial de

prata para fins eletrônicos como eletrodos de referência. Após a impressão de eletrodos, uma camada de tinta foi depositada sobre o filamento de referência, aguardando aproximadamente 2 horas para secagem. O uso de tinta comercial se mostrou satisfatório, o que implica na diminuição de custo de produção do eletrodo.

#### E) Eletroativação

A eletroativação ocorreu pela aplicação de 10 ciclos consecutivos de voltametria cíclica com eletrólito de suporte. A aplicação desta etapa mostrou melhora no sinal voltamétrico obtido em relação a uma análise direta da solução com analito.

#### F) Lixamento de superfície antes da análise

Utilizou-se de lixa em granulometria 100, cuja superfície foi umidificada com algumas gotas de água MilliQ antes de lixar a superfície do eletrodo. Este procedimento visou garantir maior uniformidade e reparar eventuais ressalvas ocasionadas da falha de impressão. Constatou-se que houve melhoras no perfil voltamétrico, com picos em maior intensidade.

Após os testes realizados, foi possível estabelecer um procedimento de fabricação de eletrodos a serem utilizados na pesquisa.

A Figura 28 apresenta o eletrodo produzido antes do depósito de tinta de prata, com as respectivas indicações de eletrodos no desenho, em que o polímero marrom corresponde a composição não condutiva, enquanto o material preto é condutivo.

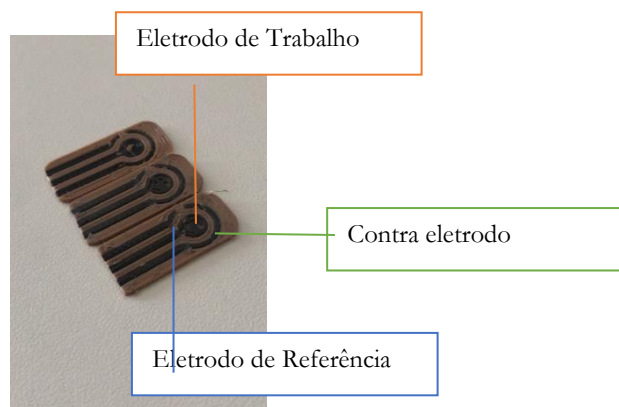


Figura 26: Modelo de eletrodo impresso confeccionado em impressora 3D.

Ao realizar sucessivas medidas no eletrodo, constata-se que os eletrodos recém-preparados em impressora 3D passam a ter a resposta comprometida após aproximadamente 30 ciclos, sendo este número sua vida útil.

Na Figura 29 compara-se o perfil voltamétrico para a mesma solução de  $K_3Fe(CN)_6$   $4,96 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em  $KCl$   $1 \text{ mol L}^{-1}$  em sistema de eletrodos com pasta de carbono, eletrodo impresso comercial e eletrodo confeccionado em impressora 3D.

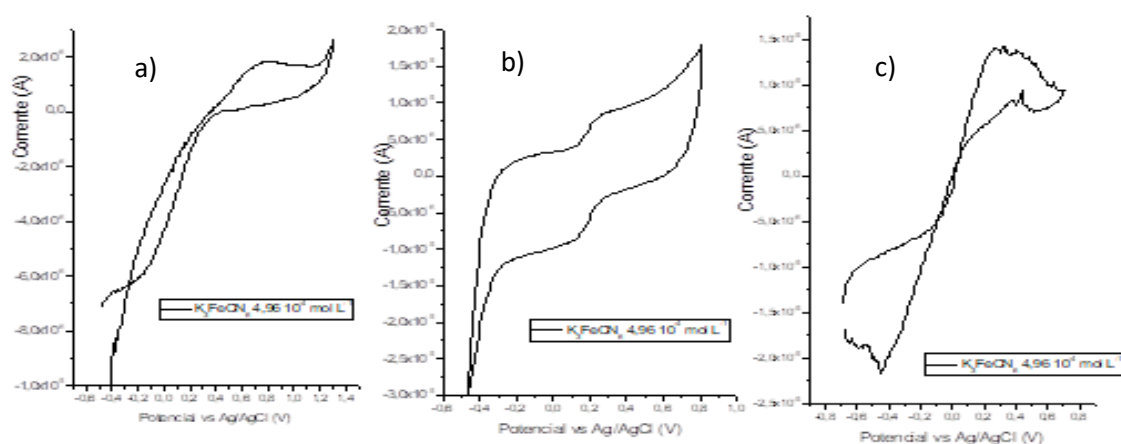


Figura 27: Voltamogramas cíclicos para análise de  $K_3[Fe(CN)_6]$   $4,96 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em  $KCl$   $1 \text{ mol L}^{-1}$ , a  $100 \text{ mV s}^{-1}$ : a) sistema convencional com pasta de carbono; b) eletrodo impresso comercial; c) eletrodo de impressora 3D

A partir dos voltamogramas obtidos, é possível determinar os potenciais dos picos de oxidação e redução, além de calcular as intensidades de cada sinal, e reportam-se todas essas informações no Quadro 9.

Quadro 4: Relação de potenciais e intensidade para os sinais anódicos e catódicos obtidos por voltametria cíclica para cada sistema de eletrodo distinto.

	$E_{\text{oxi}}$ (V)	$I_{p_{\text{oxi}}}$ (A)	$E_{\text{red}}$ (V)	$I_{p_{\text{red}}}$ (A)
Pasta de carbono	0,73	$1,03 \cdot 10^{-6}$	-0,12	$5,25 \cdot 10^{-6}$
Eletrodo impresso comercial	0,25	$2,24 \cdot 10^{-6}$	0,09	$3,30 \cdot 10^{-6}$
Eletrodo de impressora 3D	0,30	$1,03 \cdot 10^{-5}$	-0,09	$2,85 \cdot 10^{-6}$

Através do Quadro 9, é possível observar que o uso de tinta de prata no eletrodo de referência em sistemas de impressora 3D não implicou em um deslocamento de pico significativa, com intensidades de corrente próximas às observadas em eletrodos impressos comerciais.

#### 4.9 Análise em eletrodos fabricados por impressora 3D

Para as análises de MDMA, primeiramente verificou-se a possibilidade de detecção em solução aquosa, para que posteriormente trabalhasse o preparo de amostra. Além disso, o resultado positivo em solução aquosa, implica em uma nova aplicação para amostras apreendidas.

Nas Figuras 30 e 31, é possível observar que em uma concentração de MDMA a  $8,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  não há sinal voltamétrico para as duas possibilidades de eletrólito de suporte exploradas no projeto. Em sistema convencional ou em eletrodos impressos comerciais, constata-se sinal em concentrações até mais baixas que a utilizada para teste.

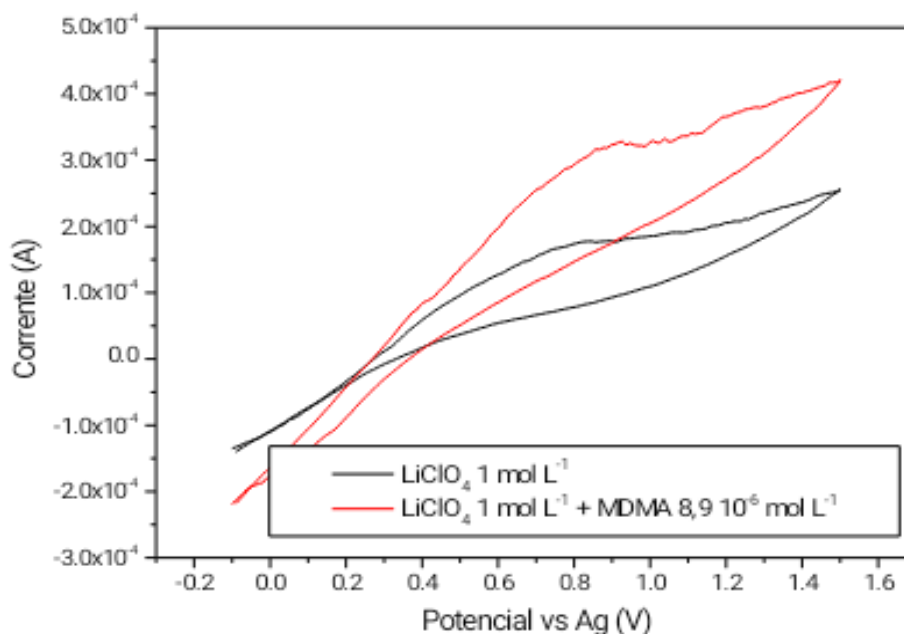


Figura 28: Resposta para voltametria cíclica para sucessivas concentrações de MDMA em solução a partir de amostra de real de fluido oral com  $\text{LiClO}_4$   $1 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: pré concentração em  $0,7 \text{ V}$  por  $30 \text{ s}$  e velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

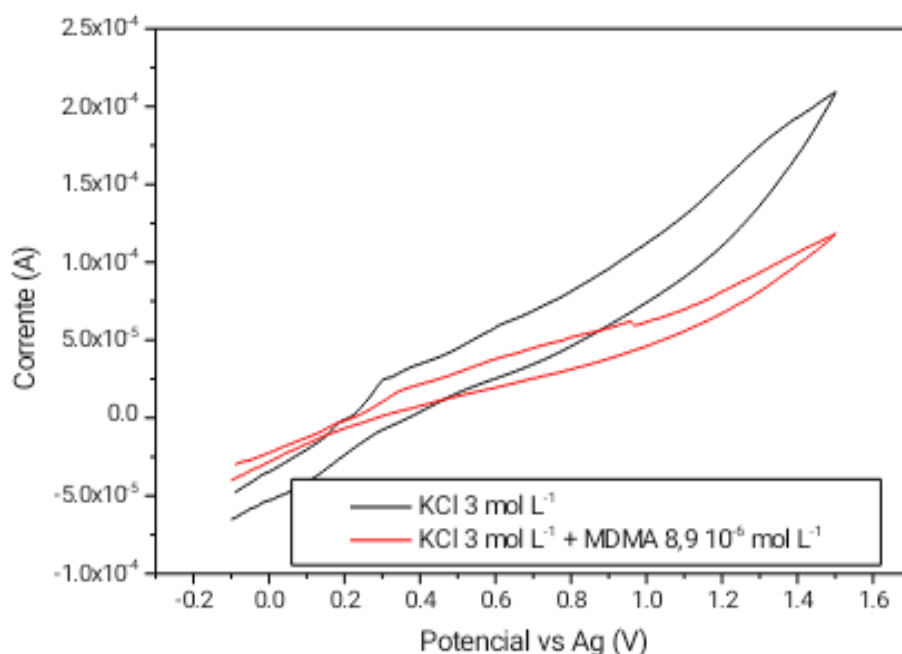


Figura 29: Resposta para voltametria cíclica para sucessivas concentrações de MDMA em solução a partir de amostra real de fluido oral com KCl 3 mol L<sup>-1</sup> como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: pré-concentração em 1,2 V por 10 s e velocidade de varredura de 10 mV s<sup>-1</sup>

Conforme apresentado, não houve sinal voltamétrico nas soluções aquosas dos eletrólitos de suporte trabalhados (LiClO<sub>4</sub> e KCl), desta forma, optou-se em não prosseguir com a tentativa de análise em fluido oral.

Para o Δ9-THC em solução aquosa de KNO<sub>3</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, é possível realizar testes de caráter qualitativos, sendo a quantificação até o presente momento inviável para estes eletrodos, uma vez que a resposta amperométrica não se mostrou linearmente proporcional à presença de analito.

A Figura 32 mostra os resultados obtidos em duas concentrações distintas de Δ9-THC, após o tratamento de baseline no voltamograma cíclico, e alguns aspectos podem ainda ser investigados, como a impressão dos eletrodos ou o ajuste de parâmetros experimentais para este analito.

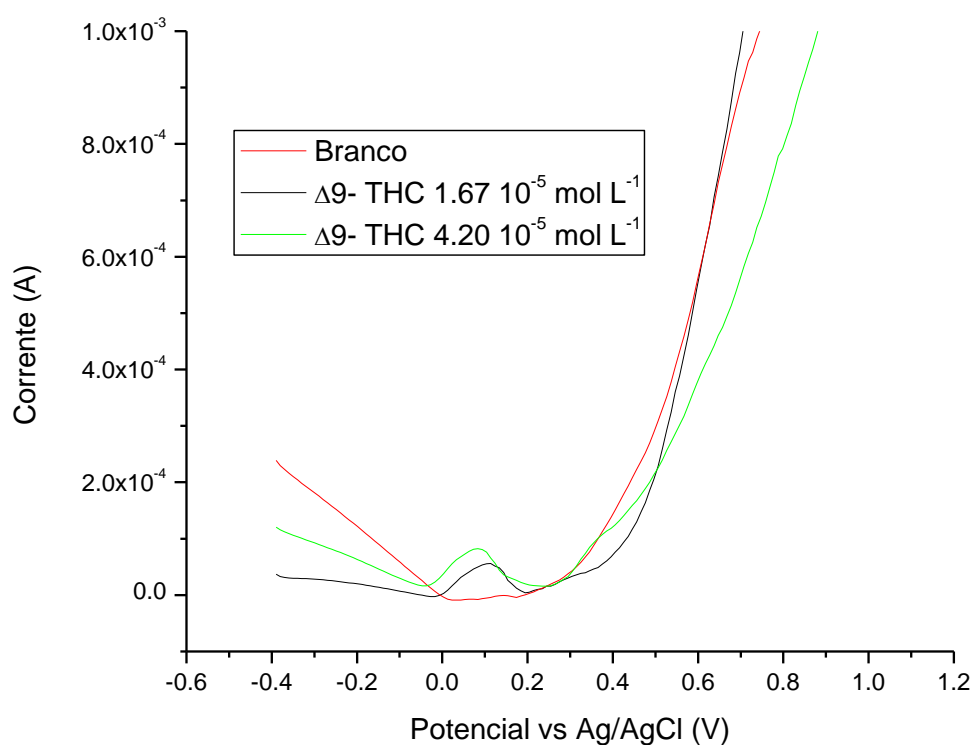


Figura 30: Resposta para voltametria cíclica após tratamento de dados sobre a linha base, para diferentes concentrações de  $\Delta 9$ -THC em solução de  $\text{KNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito de suporte em análise com eletrodo confeccionado em impressora 3D. Condições experimentais: pré-concentração em  $-0,1 \text{ V}$  por  $10 \text{ s}$  e velocidade de varredura de  $150 \text{ mV s}^{-1}$ .

Como não foi possível estabelecer uma relação quantitativa para o  $\Delta 9$ -THC nesses eletrodos, não se prosseguiu com a análise de amostras apreendidas.

#### 4.10 Análise de metabólito ( $\Delta 9$ -THC)

Expandiu-se a pesquisa para verificar se os metabólitos das respectivas drogas de abuso possuem sinal voltamétrico nas mesmas condições estabelecidas. Desta forma, é possível aprofundar os estudos para a detecção dos principais metabólitos, de forma que a análise seja específica ao constatar usuários das drogas.

No caso do  $\Delta 9$ -THC, através do mesmo procedimento de preparo de solução, analisou-se a solução em SPE comercial, obtendo uma resposta de corrente proporcional à concentração de analito presente.

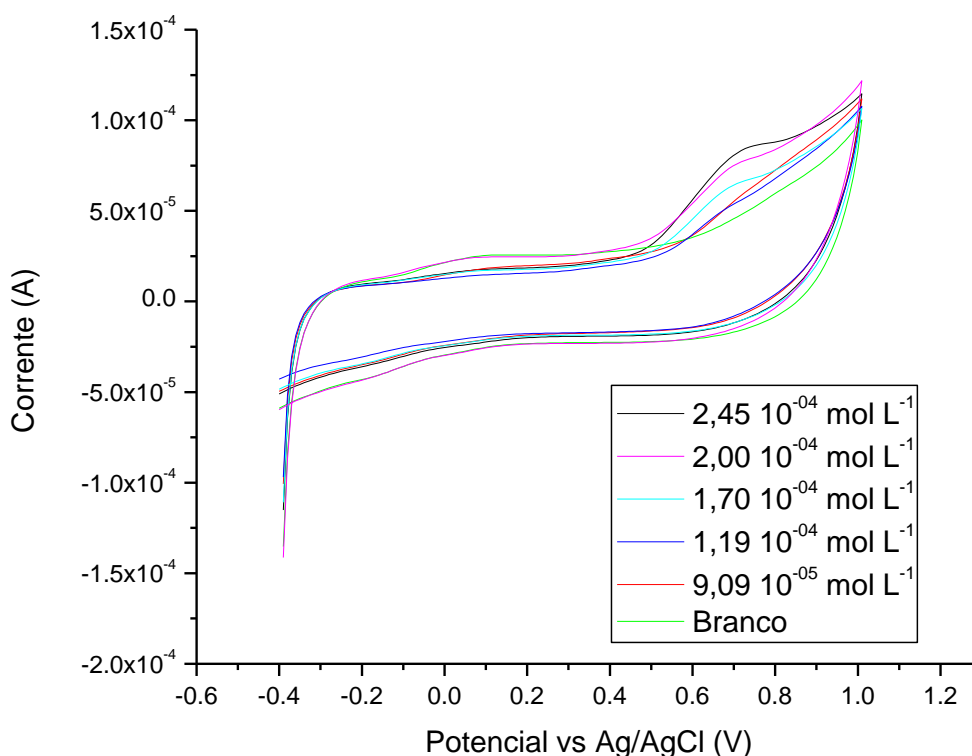


Figura 31: Resposta para voltametria cíclica para sucessivas concentrações de 11-nor- $\Delta$ 9-THC a partir de solução de fluido oral com  $\text{KNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: pré-concentração em  $-0,1 \text{ V}$  por  $10 \text{ s}$  e velocidade de varredura de  $150 \text{ mV s}^{-1}$ .

Através da curva analítica estabelecida, tem-se a equação  $i_p = 0,1001 \text{ A L mol}^{-1} [11\text{-nor-}\Delta 9\text{-THC}] - 8,12 \cdot 10^{-6} \text{ A}$ , sendo a linearidade em  $0,9662$ . O LD e LQ foram, respectivamente,  $8,01 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e  $2,67 \text{ mol L}^{-1}$ .

Para fins de comparação com os valores reportados em literatura, ao converter os valores de concentração encontrados, tem-se  $27 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $91 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Tais valores mostram-se muito acima da concentração reportadas em literatura para a matriz de fluido oral, necessitando que a metodologia seja adaptada a fim de obter uma sensibilidade 1000 vezes menor. [61]

A vantagem da análise de metabólitos está na maior especificidade sobre o usuário, podendo detectar o uso de drogas de abuso decorridas horas e dias, de acordo

com a matriz biológica selecionada. O 11-nor- $\Delta^9$ -THC tem grande relevância por minimizar a possibilidade de exposição passiva nos testes de drogas.

Os testes em impressora 3D mostram que, após o devido tratamento de dados sobre o sinal obtido, é possível observar um sinal proporcional com a concentração do metabólito, conforme expõe a Figura 34.

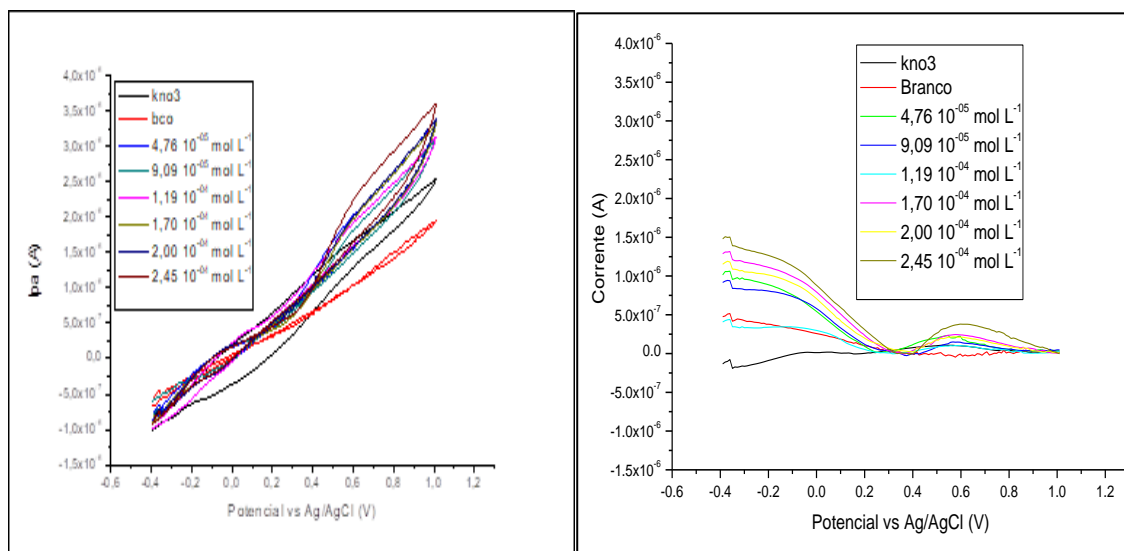


Figura 32: Resposta para voltametria cíclica antes e após tratamento de dados sobre a linha base, para sucessivas concentrações de 11-nor- $\Delta^9$ -THC a partir de solução de fluido oral com  $\text{KNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  como eletrólito de suporte em análise com eletrodo impresso comercial. Condições experimentais: pré concentração em  $-0,1 \text{ V}$  por  $10 \text{ s}$  e velocidade de varredura de  $150 \text{ mV s}^{-1}$

A curva analítica apresentou linearidade de  $0,9283$ , com equação  $i_p = 1,30 \cdot 10^{-3} \text{ A L mol}^{-1} [11\text{-nor-9-carboxi-}\Delta^9\text{-THC}] + 2,36 \cdot 10^{-8} \text{ A}$ , o LD  $3,70 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e LQ  $1,23 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Novamente, a conversão de unidades, apontam os respectivos valores de LD e LQ:  $12,7 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $42,3 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

As concentrações trabalhadas estão muito acima dos valores reportados na literatura científica. Entretanto, a partir desses resultados, possibilita-se explorar um novo campo, buscando otimizar o sinal observado e estendendo as aplicações da técnica voltamétrica para a toxicologia.



#### 4.11 Análise de metabólito (MDMA)

A fim de verificar a possibilidade de estender os estudos para outros metabólitos, verificou-se a resposta para o metabólito HMA e MDA em sistema aquoso, com célula eletroquímica convencional (pasta de trabalho para os eletrodos de trabalho e auxiliar, eletrodo de referência de Ag/AgCl), utilizando-se de KCl como eletrólito de suporte. A Figura 35 mostra o resultado obtido para o HMA.

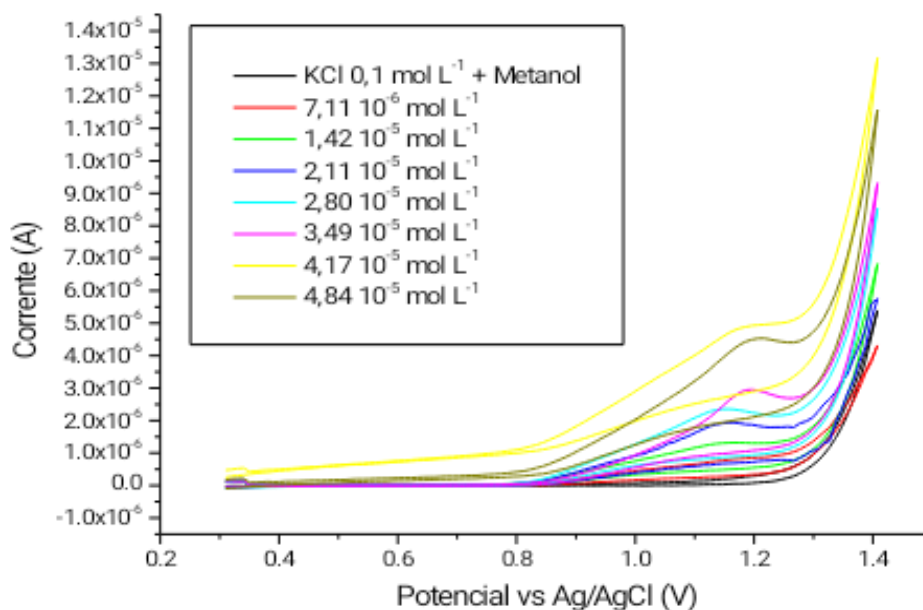


Figura 33: Resposta voltamétrica do HMA com eletrólito de suporte KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>; Eletrodo de trabalho pasta de carbono: parafina 50:50, eletrodo auxiliar pasta de carbono: parafina 60:40 e eletrodo de referência Ag/AgCl; pré-concentração em 1,2 V por 10 s, velocidade de varredura 10 mV s<sup>-1</sup>.

O MDA para as condições experimentais propostas não mostrou sinal voltamétrico, indicando-o como uma substância não interferente para a análise de MDMA no sistema convencional com KCl, mas ao buscar o seu sinal para diferenciação, é necessário realizar mais testes. A literatura científica mostra que ao variar as condições analíticas, como o eletrólito de suporte e eletrodo de trabalho, há a possibilidade da análise concomitante dessas duas substâncias.[45]

O HMA mostrou resposta linear após sucessivas adições, possibilitando a sua quantificação, o que possibilita a extensão desta pesquisa para análise de outras matrizes biológicas em sistema eletroquímico de baixo custo.

Os valores de LD e LQ obtidos foram, respectivamente, de  $1,31 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e  $4,36 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , ao serem convertidos em  $\mu\text{g mL}^{-1}$  equivalem a respectivamente, 2,84 e 9,48. Há a necessidade de que tais valores sejam 1000 vezes menores a fim de atender a demanda real, o que será explorado futuramente, seguindo-se as mesmas propostas para o metabólito de  $\Delta^9\text{-THC}$ .

Comparando-se com o sinal obtido em MDMA, cujo pico anódico ocorre por volta de 1,3 V, para o HMA tem-se o sinal em potenciais mais baixos, em torno de 1,2 V. O coeficiente de correlação linear foi obtido em 0,9768, com uma sensibilidade de  $0,0225 \text{ A L mol}^{-1}$ , ou seja, quase o triplo do observado para o MDMA, que foi em  $0,009 \text{ A L mol}^{-1}$ .

Para as análises em eletrodo preparado em impressora 3D, não houve resposta voltamétrica para o HMA até o momento.

## 5. CONCLUSÕES

Os resultados indicam que as técnicas voltamétricas possuem grande potencial para análise de fluido oral, viabilizando um sistema de medição com os eletrodos impressos, sem a necessidade de modificação química na superfície.

O uso de pasta de carbono como eletrodo de trabalho e auxiliar no sistema convencional se mostra como uma alternativa viável de baixo custo para medições eletroquímicas em sistema convencional, podendo inclusive ser aplicado nas análises de interesse forense.

Para a determinação de MDMA em saliva artificial e real, o uso de  $\text{LiClO}_4$  como eletrólito de suporte mostrou-se como melhor reagente. A metodologia proposta não utiliza solvente orgânico, e requer um simples preparo de amostra, a partir apenas de adição de  $\text{MgSO}_4$ , sendo uma vantagem para a análise. Além disso, os resultados mostram que a metodologia proposta é específica, frente a presença de diversas substâncias interferentes.

Considerando-se os valores observados como limite de detecção, próximos aos reportados em metodologias cromatográficas, é possível aplicar a presente metodologia para análise de rotina na área forense, focando-se no consumo recente da droga.

Para a determinação de  $\Delta 9$ -THC, os mesmos parâmetros experimentais aplicados previamente para análise de amostras apreendidas mostram-se viáveis para análise em amostra real de fluido oral.

Além disso, o mesmo procedimento de preparo de amostra a partir de fluido oral para MDMA pode ser aplicado para o  $\Delta 9$ -THC, mas há uma delimitação sobre o intervalo de tempo entre a leitura voltamétrica e a coleta de amostra. A quantificação de 11-nor- $\Delta 9$ -THC se mostrou viável, mas necessita de estudos posteriores que viabilizem tal análise adequada à rotina forense.

A produção de eletrodos em impressora 3D se mostrou promissora, cuja resposta voltamétrica para sistema de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  se mostrou coerente e a aplicabilidade no campo da análise forense, promissora, permitindo a análise qualitativa de  $\Delta 9$ -THC.

Os resultados apresentados indicam a possibilidade de uso em análises toxicológicas para análise de metabólitos, necessitando para tal, ajustes que possibilitem detectar concentrações mais baixas.

## 6. PERSPECTIVAS

A partir dos resultados obtidos com a confecção dos eletrodos em impressora 3D, constata-se que aspectos sobre seu formato podem ser aperfeiçoados. De acordo com a Equação (01), apresentada anteriormente na Seção 1.7 (Introdução), tem-se a relação direta entre intensidade de corrente com a área eletródica. É possível então que através de um novo desenho de eletrodo, com maior área do eletrodo de trabalho, haverá uma melhora na sensibilidade, permitindo a detecção em concentrações mais baixas.

Outro ponto a ser considerado é o uso de outros materiais condutores aderidos no polímero PLA, tal como o Grafeno e Carbon Black, para a fabricação dos eletrodos em impressora 3D. A literatura científica vem mostrando a viabilidade desses materiais para a análise voltamétrica de diversos analitos, tais como explosivos e entorpecentes. [45, 62, 63].

Para futuros projetos de pesquisas, os resultados mostram a exploração de condições experimentais que permitam a pré concentração de analito podem viabilizar a análise de metabólitos, sendo necessários seus testes nas matrizes biológicas.

Além disso, sabendo da maior abundância desses metabólitos de MDMA e  $\Delta^9$ -THC em matriz de urina, possibilita-se a exploração do sinal voltamétrico a partir deste tipo de amostra, em pesquisas posteriores, que englobem também o tratamento de amostras.

Considerando-se o contexto comercial apresentado, somada à crescente demanda pela inovação, é possível indicar que a fabricação de eletrodos em impressora 3D com foco nas análises voltamétricas focadas na toxicologia como um promissor campo de pesquisa. Espera-se que com base nos resultados apresentados, impulsione-se trabalhos que aliem a demanda da sociedade com empresas que tenham viés de desenvolvimento com a pesquisa nacional.

## 7. REFERÊNCIAS

[01] UNODC. **World Drug Report 2022**. Disponível em: <<https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/world-drug-report-2022.html>>

Acesso em: 18 Set 2023.

[02] The European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA). **European Drug Report 2022: Trends and Developments**. Disponível em: <[https://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2022\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2022_en)>

Acesso em 18 Set 2023

[03] BRASIL. Ministério da Justiça e Segurança Pública. Portaria nº 384, de 10/04/2019. Institui Grupo de Trabalho para realizar estudos e elaborar documentos técnicos visando a implementação da utilização de tecnologias de screening para detecção de substâncias psicoativas em condutores no trânsito brasileiro. Disponível em: <[https://dspace.mj.gov.br/bitstream/1/2069/1/PRT\\_GM\\_2019\\_384.pdf](https://dspace.mj.gov.br/bitstream/1/2069/1/PRT_GM_2019_384.pdf)>

Acesso em 18 Set 2023.

[04] ANIZAN S., HUESTIS, M.A. The potential role of oral fluid in antidoping testing. **Clin Chem**. 2014 Feb;60(2):307-22.

[05] POLARIS MARKET RESEARCH. Rapid Oral Fluid Screening Device Market Share, Size, Trends, Industry Analysis Report, By Drug Type (Alcohol, Marijuana, Opioids, Cocaine, Amphetamine, Methamphetamine, Benzodiazepines). Disponível em: <https://www.polarismarketresearch.com/industry-analysis/rapid-oral-fluid-screening-device-market>

Acesso em 18 Set 2023.

[06] BRASIL. Ministério da Justiça, Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD) 2022. **DIAGNÓSTICO DOS LABORATÓRIOS DE QUÍMICA E TOXICOLOGIA FORENSE DAS POLÍCIAS CIENTÍFICAS DO BRASIL** <<https://www.gov.br/mj/pt-br/assuntos/sua-protecao/politicas-sobre-drogas/subcapas-senad/diagnostico-dos-laboratorios-de-quimica-e-toxicologia-forense-das-policias-cientificas-do-brasil-3-nov.pdf>>

Acesso em 18 Set 2023.

[07] ALIZADEH M, et al. Recent advantages in electrochemical monitoring for the analysis of amaranth and carminic acid as food color. **Food Chem Toxicol**, 163, p 112929, 2022.

[08] NATIONAL INSTITUTE ON DRUG ABUSE. MDMA (Ecstasy) Abuse Research Report. 2017. Disponível em: < <https://nida.nih.gov/download/1763/mdma-ecstasy-abuse-research-report.pdf?v=841ad18273f37a278f164eb491d196db>>

Acesso em 18 Set 2023.

[09] DRUG ENFORCEMENT ADMINISTRATION. Drugs of Abuse. U.S. Department of Justice, 2017. 94 p

[10] KALANT, H. The pharmacology and toxicology of "ecstasy" (MDMA) and related drugs, **C.M.A.J.**, n.165, v.7, p. 917-928, 2001.

[11] XAVIER, C.A.C. *et al.* Êxtase (MDMA): efeitos farmacológicos e tóxicos, mecanismo de ação e abordagem clínica. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 35, n. 3, p. 96-103, 2008.

[12] INTER-AMERICAN DRUG ABUSE CONTROL COMMISSION. INTER-AMERICAN OBSERVATORY ON DRUGS. 2019. Drug adulterants and their effects on the health of users: a critical review. Disponível em: < <http://www.cicad.oas.org/oid/pubs/Final%20ENG%20Drug%20adulterants%20and%20their%20effects%20on%20the%20health%20of%20users%20-%20a%20..pdf>>

Acesso em 18 Set 2023.

[13] MACEDO, C. et al. Synthesis and Cyclic Voltammetry Studies of 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) Human Metabolites **J Health Sci**, v. 53, n.1: p. 31, 2007.

- [14] ŠVORC, L.. et al Electrochemical behavior of methamphetamine and its voltammetric determination in biological samples using self-assembled boron-doped diamond electrode .**J. Electroanal. Chem**, v. 34, p. 717, 2014.
- [15] GARRIDO E.M., et al. Electrochemical oxidation of amphetamine-like drugs and application to electroanalysis of ecstasy in human sérum. **Bioelectrochemistry**, v. 79, n. 1, p.77, 2010.
- [16] DOMÉNECH, A, et al. Electrocatalysis of the oxidation of methylenedioxyamphetamines at electrodes modified with cerium-doped zirconias. **Electrochem commun**, v. 6, n. 7, p. 719, 2004.
- [17] DE LA TORRE R, YUBERO-LAHOZ S, PARDO-LOZANO R, FARRÉ M. MDMA, methamphetamine, and CYP2D6 pharmacogenetics: what is clinically relevant? **Front Genet**. 2012 Nov 12;3:235.
- [18] BARNES A.J., et al. MDMA and metabolite disposition in expectorated oral fluid after controlled oral MDMA administration. **Ther Drug Monit**, v. 35, n. 5, p. 602, 2011.
- [19] Dept. of Health and Human Services, Substance Abuse and Mental Health Administration (SAMHSA). Federal Register, v. 87, n. 67, April, 2022.
- [20] PIZARRO N, et al. Determination of MDMA and its metabolites in blood and urine by gas chromatography-mass spectrometry and analysis of enantiomers by capillary electrophoresis. **J Anal Toxicol**. v. 26, n. 3, p. 157, 2002.
- [21] NATIONAL INSTITUTE ON DRUG ABUSE. Cannabis (Marijuana) Research Report. 2020. Disponível em: < <https://nida.nih.gov/download/1380/cannabis-marijuana-research-report.pdf?v=7fc7d24c3dc120a03cf26348876bc1e4>>  
Acesso em 18 Set 2023.
- [22] KOCHANOWSKI M, KAŁA M. Tetrahydrocannabinols in clinical and forensic toxicology. **Przegl Lek.** , v. 62, n. 6, p. 576, 2005.



- [23] HUESTIS M.A. Cannabis (Marijuana) - Effects on Human Performance and Behavior. **Forensic Sci Rev**, v. 14, n. 1-2, p. 15, 2002.
- [24] SWORTWOOD M.J., et al. Cannabinoid disposition in oral fluid after controlled smoked, vaporized, and oral cannabis administration. **Drug Testing and Analysis**, v. 9, n. 6, p. 905, 2017.
- [25] BALBINO M.A., et al. Comparative study between two different conventional working electrodes for detection of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol using square-wave voltammetry: a new sensitive method for forensic analysis. **J Brazil Chem Soc.**, v. 25, n. 3, p. 589, 2014.
- [26] NOVAK, I.; MLAKAR, M.; KOMORSKY-LOVRIC', S. Voltammetry of Immobilized Particles of Cannabinoids. **Electroanalysis** v. 25, p. 2631, 2013.
- [27] MOORE, R.R.; BANKS, C.E.; COMPTON, R.G. Basal plane pyrolytic graphite modified electrodes: comparison of carbon nanotubes and graphite powder as electrocatalysts.. **Anal. Chem.**, v. 76, n. 10, p. 2677, 2004.
- [28] Paper-based electrochemical sensor for simultaneous detection of salivary  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and thiocyanate to differentiate illegal cannabis smokers
- [29] SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R.. Fundamentos de química analítica. Tradução de Robson Mendes Matos, 9ª ed., São Paulo: Cengage Learning. 2014.
- [30] BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. Electrochemical methods: fundamentals and applications. 2ª ed., New York: Wiley, 2001
- [31] HARRIS, D. C.. Análise Química Quantitativa. Tradução de José Alberto Portela Bonapace e Oswaldo Esteves Barcia. 6ª Ed. Rio de Janeiro: LTC Editora. 2003.
- [32] WANG, J. Analytical electrochemistry. 3ª ed., New Jersey: Wiley, 2006.

[33] COMPTON, R. G.; BANKS, C. E. Understanding voltammetry. 2a ed., London: Imperial College Press, 2011

[34] SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Quim Nova**, v. 26, p. 81-89, 2003.

[35] ALEIXO, L.M. Voltametria: conceitos e técnicas. **Rev. Chemkeys**, v. 3, p. 1, 2018

[36] SOCIEDADE BRASILEIRA DE TOXICOLOGIA. Diretrizes sobre o Exame de Substâncias Psicoativas em Cabelos e Pelos: Coleta e Análise, 2015.

[37] TIAFT – The International Association of Forensic Toxicologists. Laboratory Guidelines. TIAFT-Bulletin XXXI Number 4 p. 23-26

[38] Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs. Recommendations Revision 8.0. SWGDRUG, 2019. Disponível em: <[http://swgdrug.org/Documents/SWGDRUG%20Recommendations%20Version%208\\_FINAL\\_ForPosting\\_092919.pdf](http://swgdrug.org/Documents/SWGDRUG%20Recommendations%20Version%208_FINAL_ForPosting_092919.pdf)>.

Acesso em: 18 Set 2023.

[39] BORDIN, D.C.M. et al. Técnicas de preparo de amostras biológicas com interesse forense. **Scientia Chromatographica**, v. 7, n. 2, p. 125, 2015 .

[40] CASATI, S. et al. Recent advances of drugs monitoring in oral fluid and comparison with blood. **Clin Chem Lab Med**, v. 61, n.11, p. 1978, 2023.

[41] DOMÉNECH-CARBO, A. DOMÉNECH-CASASÚS, C., RAMOS, D. Voltammetric analysis of biological fluids: quantification of species in urine accounting for non-linear concentration effects. **J Solid State Electr**, 2023.

[42] DRONOVA M, SMOLIANITSKI E, LEV O. Electrooxidation of New Synthetic Cannabinoids: Voltammetric Determination of Drugs in Seized Street Samples and Artificial Saliva. **Anal Chem.**, v. 88, n. 8, p. 4487, 2016.

- [43] KATAYAMA, J. M. T., et al. MDMA electrochemical determination in aqueous media containing illicit drugs and validation of a voltammetric methodology. **Drug Analytical Research**, v. 4, n. 1, p. 3, 2020.
- [44] BARNES, A.J., et al. MDMA and metabolite disposition in expectorated oral fluid after controlled oral MDMA administration. **Ther. Drug. Monit.**, v. 33, n. 5, p. 602, 2011.
- [45] FARIA, L.V. et al. Cyclic square-wave voltammetric discrimination of the amphetamine-type stimulants MDA and MDMA in real-world forensic samples by 3D-printed carbon electrodes. **Electrochimica Acta** , v. 429, p. 10, 2022.
- [46] NAVARRO, M., et. al. Usefulness of saliva for measurement of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and its metabolites: correlation with plasma drug concentrations and effect of salivary pH. **Clin. Chem.**, v. 47, n. 10, p. 1788, 2001.
- [47] OIYE, E.N., et al. Electrochemical analysis of 25H-NBOMe by Square Wave Voltammetry. **Forensic Chem.**, v. 5, p. 96, 2017.
- [48] OIYE, E.N. Voltammetric detection of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (mdma) in saliva in low cost systems. **Forensic Chem.**, v. 5, p 86, 2017.
- [49] RIBEIRO, M.F.M., Voltammetric Determination of Cocaine Using Carbon Screen Printed Electrodes Chemically Modified with Uranyl Schiff Base Films. **Electroanal.**, v. 28, p. 320, 2016.
- [50] HAMANN, C. H.; HAMNETT, A.; VIELSTICH, W. *Electrochemistry*. 2a ed., Weinheim: Wiley, 2007.

- [51] COUTO, R.A.S., LIMA, J.L.F.C., QUINAZ, M.B. Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis, **Talanta**, v. 146, p.801, 2016.
- [52] NARANG, J.J. Hydrothermally synthesized zinc oxide nanorods incorporated on lab-on-paper device for electro-chemical detection of recreational drug. **Artificial Cells, Nanomed. Biotechnol.**, v. 46, p. 1586, 2018.
- [53] TADINI, M.C. Developing electrodes chemically modified with cucurbit[6]uril to detect 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) by voltammetry. **Electrochim. Acta**, v. 121, p. 188, 2014.
- [54] CUMBA, L.R., et al. Forensic electrochemistry: simultaneous voltammetric detection of MDMA and its fatal counterpart “Dr Death” (PMA), **Anal. Methods**, v. 8, p. 142, 2016.
- [55] GOSSER, D. K. Cyclic Voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms. 1a ed., New York: VCH Publishers, Inc. 1994.
- [56] GRECCO, C.F. et al. Extração líquido-líquido assistida pelo efeito salting out para análise de amostras biológicas. **Scientia Chromatographica**, v. 10, n. 2, p. 99, 2018.
- [57] DESROSIERS, N.A., et al. Oral fluid and plasma 3,4 methylenedioxyamphetamine (MDMA) and metabolite correlation after controlled oral MDMA administration. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 405, n. 12, p. 4067, 2013.
- [58] BALBINO, M.A., et al. Electrochemical Study of Delta-9-Tetrahydrocannabinol by Cyclic Voltammetry Using Screen Printed Electrode, Improvements in Forensic Analysis. **Sensors and Transducers.**, v. 207, p. 73, 2016.
- [59] MILMAN G., et al. Cannabinoids and Metabolites in Expecterated Oral Fluid Following Controlled Smoked Cannabis. **Clin Chim Acta.**, v. 413, n. 7-8, p. 765, 2012.

[60] BALBINO M.A. et al. Use of screen-printed electrodes for quantification of cocaine and  $\Delta^9$ -THC: adaptations to portable systems for forensic purposes. **J Solid State Electr**, v. 20, p. 2435, 2016.

[61] MOORE C, et al. Detection of the marijuana metabolite 11-nor-Delta9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in oral fluid specimens and its contribution to positive results in screening assays. **J Anal Toxicol.**, v. 30, n. 7, p. 413, 2006.

[62] VELOSO, W.B., PAIXAO, T.R.L.C., MELONI, G.N. 3D printed electrodes design and voltammetric response. **Electrochimica Acta**, v.6, 2023.

[63] CARDOSO, R.M., et al. 3D-printed flexible device combining sampling and detection of explosives. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 292, p.308, 2019.

<https://worktraining.com/faq/samhsa-cut-off-levels-drug-testing>

## **8. ANEXO**

Segue abaixo o Ofício 114 da Comissão de Ética e Pesquisa da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, encaminhado ao Prof. Dr. Marcelo Firmino de Oliveira autorizando o uso de coleta de fluido oral para as pesquisas relacionadas ao projeto coordenado pelo docente, intitulado “Desenvolvimento de sensores voltamétricos descartáveis para a determinação de substâncias entorpecentes em amostras de interesse farmacêutico forense.”



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto**  
**Comitê de Ética em Pesquisa**

OF.114/CEP/FFCLRP/USP/26.09.2022

Prezado Pesquisador,

Comunicamos a V. Sa. que o projeto de pesquisa intitulado **"Desenvolvimento de sensores voltamétricos descartáveis para a determinação de substâncias entorpecentes em amostras de interesse farmacêutico e forense"** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FFCLRP-USP em sua 231ª Reunião Ordinária, realizada em 22.09.2022, e enquadrado na categoria: **APROVADO** (CAAE nº 60079122.5.0000.5407).

Solicitamos que eventuais modificações ou emendas ao projeto de pesquisa sejam apresentadas ao CEP, de forma sucinta, identificando a parte do projeto a ser modificada e suas justificativas. De acordo com a Resolução nº 466 de 12.12.2012, devem ser entregues relatórios semestrais e, ao término do estudo, um relatório final, sempre via Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

**Prof. Dra. Carmen Lúcia Cardoso**  
Vice coordenadora

Ilmo. Sr.  
Marcelo F Oliveira  
Departamento de Química da FFCLRP - USP

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa da FFCLRP USP  
Av. Bandeirantes, 3900 - Bloco 01 da Administração - Sala 07.  
14040-901 - Ribeirão Preto - SP - Brasil. Fone: (16) 3315-4811.  
Homepage: <http://www.ffclrp.usp.br>. E-mail: [coetp@listas.ffclrp.usp.br](mailto:coetp@listas.ffclrp.usp.br).