



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA

RAQUEL GOMES DA ROCHA

**PROCEDIMENTO DE DECONVOLUÇÃO DE PICOS E USO DE VOLTAMETRIA
DE ONDA QUADRADA PARA A DETERMINAÇÃO DE LEVAMISOL EM
AMOSTRAS DE COCAÍNA**

UBERLÂNDIA

2017

RAQUEL GOMES DA ROCHA

**PROCEDIMENTO DE DECONVOLUÇÃO DE PICOS E USO DE VOLTAMETRIA
DE ONDA QUADRADA PARA A DETERMINAÇÃO DE LEVAMISOL EM
AMOSTRAS DE COCAÍNA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Química da Universidade
Federal de Uberlândia como requisito parcial
para obtenção do título de Bacharel em
Química Industrial.

Orientadora: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro
Abarza Muñoz.

UBERLÂNDIA

2017

RAQUEL GOMES DA ROCHA

**PROCEDIMENTO DE DECONVOLUÇÃO DE PICOS E USO DE VOLTAMETRIA
DE ONDA QUADRADA PARA A DETERMINAÇÃO DE LEVAMISOL EM
AMOSTRAS DE COCAÍNA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Química da Universidade
Federal de Uberlândia como requisito parcial
para obtenção do título de Bacharel em
Química Industrial.

Uberlândia, ____ de Junho de 2017

Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz
(Orientador)

Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva
(Examinador)

Prof. Dr. Eduardo Santos Almeida
(Examinador)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me orientar e me dar forças para superar as dificuldades.

Aos meus pais, Vina e Agilson, pelo amor, dedicação, carinho e incentivo para que eu pudesse alcançar os meus sonhos, muitas vezes, abdicando dos seus. Obrigada pelo exemplo de caráter, honestidade e simplicidade, devo tudo isso a vocês.

Aos meus irmãos, Luiza e Eduardo, pelo carinho e incentivo e por entenderem a minha ausência. Quero que saibam que vocês sempre foram meu maior incentivo e que a irmã mais velha faria tudo por vocês.

À minha família que sempre torceu e me apoiou nessa jornada. Em especial, aos meus tios Israel, Elza, Antônio e Ruza, pelas orações e pelas mensagens de apoio.

A Sônia, “Seu Chico” e Dona Augusta pelo carinho e incentivo durante o curso.

Ao meu orientador Rodrigo Muñoz e co-orientador Eduardo Richter, pela confiança, paciência e por me incentivarem a melhorar profissionalmente. A banca examinadora, por ter aceitado o convite. A Polícia Federal por disponibilizar as amostras utilizadas no trabalho.

Às minhas amigas, Ana e Mônica, por me incentivarem desde o começo da minha graduação. Aos meus amigos, companheiros, Breno, Kindlly, Leandro, Luiza, e Yasmim pela dedicação, carinho e por se tornarem minha família de Uberlândia.

Ao Jorge e o Luis que sempre fizeram presente e por diversas vezes aguentaram minhas angustias durante a graduação.

À Quinta turma de Química Industrial, por todos os momentos proporcionados durante a graduação, em especial a Eduardo, Brenda, Letícia, Priscila, Clarice (filha) e Jamília (comadre). Viver cada momento ao lado de vocês foi essencial na minha formação. À Sexta turma de Química Industrial, por me acolherem tão bem. Obrigada pelo carinho, incentivo e por cada dia de estudo.

Aos amigos do NuPE, por toda ajuda no trabalho e companheirismo. Em especial ao Luiz André e a Jéssica, que me ajudaram durante a iniciação científica e se tornaram grandes amigos e ao Thiago, Jhonys e a Iana pelos momentos de descontração, além do incentivo.

Aos mestres, técnicos e funcionários do Instituto de Química, que sempre estiveram presentes e contribuíram para minha formação.

Enfim, a todos aqueles que estiveram presentes durante a minha jornada, o meu muito obrigada.

“ Se vi mais longe, foi por estar de pé sobre ombros de gigantes ” – Isaac Newton

RESUMO

O presente trabalho apresenta o uso de eletrodos impressos de carbono para a detecção e quantificação de levamisol (LEV) em amostra de cocaína (COC), utilizando como técnica eletroquímica a voltametria de onda quadrada e como ferramenta auxiliar, o procedimento matemático de deconvolução para a separação dos picos. A deconvolução foi necessária, pois ocorre uma sobreposição dos picos voltamétricos da cocaína e do levamisol, impossibilitando a detecção de LEV. Os estudos iniciais mostraram o comportamento eletroquímico da cocaína e levamisol utilizando este tipo de eletrodo e eletrólito suporte Britton- Robinson ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) em diferentes pHs, sendo o pH igual a 8,0 escolhido para as análises posteriores. Os picos de oxidação de COC e LEV neste meio foram em +0,85 e +0,96 V, respectivamente. Além disso, voltamogramas cíclicos indicaram que processos de oxidação irreversíveis neste tipo de eletrodo para COC e LEV. A otimização dos parâmetros da voltametria de onda quadrada mostrou que, ao se utilizar frequência (f) de 8 s^{-1} , amplitude (a) de 10 mV e incremento de potencial (ΔE_s) de 1 mV, foi possível obter a melhor separação do pico para posterior aplicação do procedimento de deconvolução. Verificou-se que as respostas voltamétricas individuais do LEV eram similares quando se utilizava o procedimento de deconvolução para a separação do pico COC e LEV. Assim, obteve-se resposta linear para a detecção de LEV no intervalo de concentração de $25 - 125 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,997$) com limite de detecção de $0,017 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. A análise de amostra apreendida pela Polícia Federal foi satisfatória e os resultados obtidos foram estatisticamente similares aos obtidos pelas análises prévias da Polícia Federal.

Palavras chave: Levamisol. Cocaína. Deconvolução. Voltametria de onda quadrada

ABSTRACT

This work presents the use of screen-printed carbon electrodes (SPEs) for the detection and quantification of levamisole (LEV) in cocaine sample (COC), using as electrochemical technique the square-wave voltammetry and as auxiliary tool the mathematical deconvolution procedure to improve the separation of the peaks. The deconvolution was necessary because overlap of the voltammetric peaks of levamisole and cocaine occurs, which makes impossible the detection of LEV. The initial studies showed the electrochemical behavior of COC and LEV using this type of electrode and Britton-Robinson (0.04 mol L^{-1}) supporting electrolytes in different pH values. The pH 8.0 was defined the best working pH for the further analysis. The oxidation peaks for COC and LEV were at +0.85 and +0.96V, respectively. In addition, cyclic voltammograms indicated irreversible oxidation processes of LEV and COC on this type of electrode. The optimization of the square wave voltammetry parameters shows that using a frequency of 8 s^{-1} , amplitude of 10 mV and potential step of 1 mV, it was possible to obtain the best separation of the peaks for subsequent application of the deconvolution procedure. The individual voltammetric responses of the LEV were found to be similar when using the deconvolution procedure for the separation of the COC and LEV peak. Thus, a linear response to LEV detection was obtained in the concentration range of 25 – 125 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,997$) with a detection limit of $0.017 \mu\text{mol L}^{-1}$. The analysis of sample seized by the Federal Police was satisfactory and the results obtained were statistically similar to those obtained by the Federal Police.

Keywords: Levamisole. Cocaine. Deconvolution. Square wave voltammetry

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura molecular da cocaína.	13
Figura 2	Processo de oxidação eletroquímica da cocaína.	15
Figura 3	Estrutura molecular do levamisol.	17
Figura 4	Mecanismo de oxidação para a molécula de levamisol em meio ácido.	18
Figura 5	Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.	20
Figura 6	Esquema ilustrativo de um eletrodo impresso de carbono típico com os três eletrodos: Trabalho (W.E.), Referência (R.E.) e Contra eletrodo (C.E.)	21
Figura 7	Voltamogramas cíclicos obtidos para 1,0 mmol L ⁻¹ de LEV em um eletrólito suporte de tampão BR 0,04 mol L ⁻¹ em pH (a) 2,0 ; (b) 4,0; (c) 6,0 e (d) 8,0, usando eletrodo impresso de carbono como eletrodo de trabalho. Os voltamogramas em linha tracejado são os brancos de cada análise. Velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹ ; Incremento de potencial: 5 mV.	27
Figura 8	Voltamogramas cíclicos obtidos para 1,0 mmol L ⁻¹ de COC em um eletrólito suporte de tampão BR 0,04 mol L ⁻¹ em pH (a) 2,0 ; (b) 4,0; (c) 6,0 e (d) 8,0, usando eletrodo impresso de carbono como eletrodo de trabalho. Os voltamogramas em linha tracejado são os brancos de cada análise. Velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹ ; Incremento de potencial: 5 mV.	28
Figura 9	Efeito do pH na resposta do LEV 50 µmol L ⁻¹ (-) e COC 100 µmol L ⁻¹ (-) e da mistura de LEV e COC em concentrações de 50 e 100 µmol L ⁻¹ , respectivamente (-), utilizando voltametria de onda quadrada em tampão BR 0,04 mol L ⁻¹ em pHs (a) 4,0; (b) 6,0; (c) 8,0; (d) 10,0. Os sinais dos brancos para cada meio são apresentados (-). Parâmetros da onda quadrada: ΔE _s = 1 mv, a = 10 mv e f = 8 s ⁻¹ .	30

Figura 10	Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma mistura de LEV $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e COC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, em diferentes frequências de aplicação de pulsos de potencial ($10 - 50 \text{ s}^{-1}$). Parâmetros da onda quadrada: $\Delta E_s = 2\text{mV}$ e $a = 50 \text{ mV}$, em tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, ($\text{pH} = 8,0$).	32
Figura 11	Voltamogramas de onda quadrada obtidos para LEV $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e COC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em função da variação nos valores de amplitude de pulso de potencial aplicados. $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2\text{mV}$, em solução tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 8,0$).	33
Figura 12	Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma mistura de LEV $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e COC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em função da variação no incremento de potencial. $f = 10 \text{ s}^{-1}$, $a = 50 \text{ mV}$, em solução tampão $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 8,0$).	34
Figura 13	Voltamograma de onda quadrada registrado em tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} 8,0$) para oxidação eletroquímica de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de LEV e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de COC e voltamogramas obtidos após deconvolução (pontilhado). Parâmetros da voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1\text{mV}$ e $a = 10 \text{ mV}$.	35
Figura 14	(a) Voltamogramas obtidos por deconvolução para injeções de soluções contendo concentrações crescentes de LEV, na presença de cocaína ($25 - 125 \mu\text{mol L}^{-1}$). (b) Curva de calibração obtida para o LEV entre $25 - 125 \mu\text{mol L}^{-1}$ a partir dos dados analíticos da Figura 14 (a) Eletrólito: BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 8,0$). Parâmetros da voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1\text{mV}$.	37
Figura 15	(a) Voltamogramas obtidos para injeções de soluções contendo concentrações crescentes de LEV ($25 - 100 \mu\text{mol L}^{-1}$	39

¹). (b) Curva de calibração obtida para o LEV entre 25 – 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a partir dos dados analíticos da Figura 15 (a) Eletrólito: BR 0,04 mol L^{-1} (pH = 8,0) . Parâmetros da voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $a = 10\text{mV}$ e $\Delta E_s = 1\text{mV}$.

- Figura 16** Resultados obtidos por voltametria de onda quadrada para leituras sucessivas de (a) LEV 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (b) da mistura de LEV 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e COC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sendo cada medida resultado da deconvolução do pico do LEV ($n = 10$) em eletrólito tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH = 8,0). Parâmetros da voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1\text{mV}$. 40
- Figura 17** (a) Voltamograma de onda quadrada obtido para a oxidação eletroquímica de uma amostra real, contendo LEV e COC, utilizando eletrodos impressos de carbono, em tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH 8,0), com adição padrão de LEV (10-50 $\mu\text{mol L}^{-1}$). (b) Voltamogramas obtidos por deconvolução para injeções de soluções contendo concentrações crescentes de LEV (10 – 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$). O gráfico inserido refere-se a curva de adição de padrão para a amostra analisada. Parâmetros da voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$. 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Comparação de dados de medidas voltamétricas de LEV e COC (50 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente) analisadas individual e simultaneamente em tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH = 8,0). Parâmetros de voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$.	36
Tabela 2	Características analíticas do método de detecção por deconvolução.	38
Tabela 3	Características analíticas do método de detecção de LEV na ausência de cocaína.	39
Tabela 4	Resultados obtidos para a análise de amostra disponibilizada pelo Polícia Federal.	42

LISTA DE ABREVIACÃO

COC – Cocaína

LEV – Levamisol

f – Frequência

a – Amplitude

ΔE_s – Incremento de potencial

BR – Tampão Britton- Robinson

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

DP – Desvio padrão

r – Coeficiente de correlação linear

s_b – Desvio padrão do branco

b - sensibilidade do método

SQW – do inglês “*Square wave voltammetry*” que refere-se a voltametria de onda quadrada

SUMÁRIO

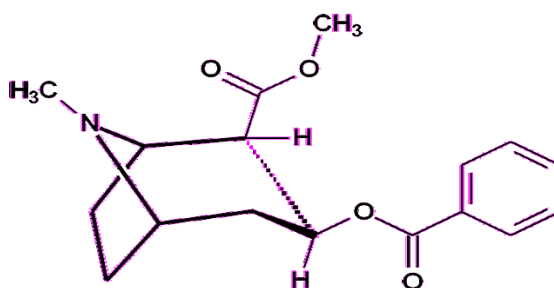
1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Cocaína	13
1.2	Levamisol	16
1.3	Técnicas eletroanalíticas	18
1.3.1	Voltametria de onda quadrada	19
1.4	Eletrodos impressos “screen-printed” (SPEs)	20
1.5	Processamento matemático: deconvolução	22
2	OBJETIVOS	23
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	24
3.1	Reagentes e soluções	24
3.2	Medidas eletroquímicas	24
3.3	Tratamento matemático	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1	Comportamento eletroquímico do LEV e COC por voltametria cíclica	26
4.2	Escolha do eletrólito suporte	29
4.3	Otimização dos parâmetros da técnica de voltametria de onda quadrada	31
4.3.1	Frequência de aplicação dos pulsos de potenciais	32
4.3.2	Amplitude de aplicação dos pulsos de potenciais.	33
4.3.3	Incremento de varredura	33
4.4	Processamento matemático: deconvolução	34
4.5	Curva analítica	36
4.5.1	Repetibilidade e reprodutibilidade do método	40
4.6	Aplicação da metodologia desenvolvida	41
5	CONCLUSÕES	43
	REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

1.1 Cocaína

A cocaína (COC) (Figura 1) é um alcaloide extraído da planta *Exthoxylum coca*, nativa dos países Peru, Bolívia e Colômbia. Em sua forma purificada, é comercializada como cloridrato de cocaína, um sólido branco, cristalino, de odor aromático, solúvel em água e, por isso, pode ser dissolvido em água para uso endovenoso, além de ser facilmente absorvido na corrente sanguínea (OLIVEIRA *et al*, 2009; OIYE *et al*, 2009).

Figura 1 – Estrutura molecular da cocaína.

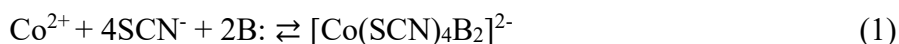


Fonte: A autora.

Inicialmente, a cocaína era utilizada como ingrediente de bebidas, tais como soda e águas tônica, no entanto, ela é considerada uma droga de abuso, por provocar efeitos de euforia, aceleração dos batimentos cardíacos, aumento da pressão arterial, anestesia e falta de ar, além de causar estado de depressão acentuado (JONG *et al*, 2016; OLIVEIRA *et al*, 2013; PAVLOVA *et al*, 2004). Segundo o relatório da ONU (2012) sobre o consumo de drogas ilícitas, foram produzidas cerca de 690 toneladas de cocaína de natureza desconhecida, destinada a 19,7 milhões das pessoas que consomem este tipo de droga. No Brasil, o número de apreensões deste tipo de droga foi de 27 toneladas no mesmo ano de pesquisa do relatório.

O Brasil é um país de fronteira com os principais produtores de cocaína e apresenta longa costa litorânea a qual facilita o acesso ao oceano Atlântico, favorecendo a distribuição de drogas para os demais continentes. Por isso, devem ser tomadas medidas para diminuir o consumo e combate ao tráfico de drogas, tendo como destaque, o incentivo à pesquisa em química forense para o desenvolvimento de técnicas analíticas para subsequente aplicação destes conhecimentos nos laboratórios de polícia científica (CONCEIÇÃO *et al*, 2014)

Atualmente, a técnica colorimétrica (teste de Scott) é a mais utilizada para a detecção da cocaína bruta (TSUMURA; MITOME; KIMOTO, 2005). O teste de Scott foi desenvolvido em 1973 e modificado por Fassanello e Higgins para detecção do crack e consiste em um teste de complexação com uma solução de tiocianato de cobalto em meio ácido, que na presença de cocaína (B), produz um complexo de cobalto (II) de coloração azul, como descrito na Equação 1 (OIYE *et al*, 2009; CONCEIÇÃO *et al*, 2014).



Este teste é realizado em três etapas: (1) Num primeiro instante, tiocianato de cobalto é adicionado e se observa uma cor azul; (2) Adiciona-se ácido clorídrico aos cristais azuis e a cor desaparece e (3) há a adição de clorofórmio e o azul reaparece (TSUMURA; MITOME; KIMOTO, 2005).

No entanto, este tipo de reação apresenta pouca seletividade, uma vez que outras substâncias podem apresentar resultados falso-positivos. PRALL (1975) descreveu que a clorpromazina e difenidramina apresentaram o mesmo resultado que a cocaína. O mesmo problema foi relatado para promazina, escopolamina (ISHIGURO, 1987) e para a mistura de prometazina e feniciclidina (LORCH, 1974). TSUJIKAWA e colaboradores (2017) em seus estudos em laboratório demonstraram que na segunda etapa, os cristais formados podem não desaparecer, gerando falsos-negativos. Além disso, aditivos químicos como adulterantes e diluentes podem ser misturados à cocaína e também podem fornecer resultados falso-positivos (CONCEIÇÃO *et al*, 2014).

Os adulterantes são usados para aumentar o efeito da droga sobre os indivíduos. Os mais reportados na literatura são: lidocaína, ácido bórico, procaína (anestésicos locais), cafeína e levamisol (estimulantes) e a hidroxizina (anti-histamínico), fenacetina e paracetamol (analgésicos). Diferente dos adulterantes, os diluentes não têm efeitos potencializadores e são usados para aumentar o volume da droga, dentre eles: amido, açúcares, carbonatos, bicarbonatos e talco. Dentre esses, a lidocaína, procaína, levamisol e derivados de alimentos podem fornecer falso-positivos no teste de Scott. (CONCEIÇÃO *et al*, 2014; JONG *et al*, 2016)

A identificação e a quantificação da cocaína e seus adulterantes não são só importantes para testes toxicológicos, mas também na análise forense para determinar tendências na produção de drogas e sua origem geográfica, uma vez que se pode identificar padrões de adulterações feitos pelos traficantes, podendo controlar origem das drogas. Por isso, para evitar problemas de detecção falso-positivo, são descritos na literatura diferentes métodos para a

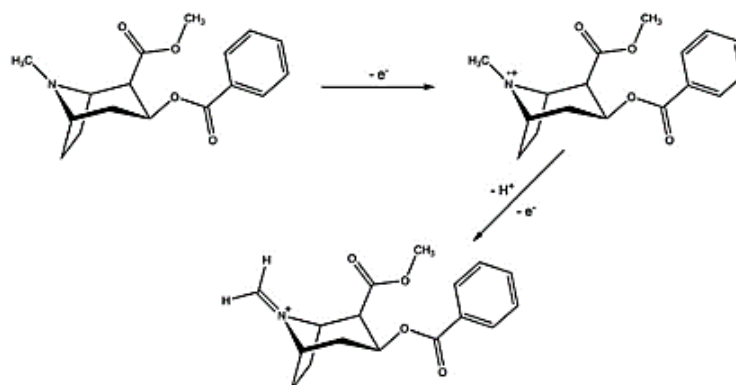
detecção de cocaína, tais como: técnicas de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG- MS), cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-vis (CLAE – UV-vis) (OLIVEIRA *et al*, 2009) e ensaio de fluorescência e quimiluminescência (LI; YANG; ZANG, 2007; STOJANOVIC; PRADA; LANDRY, 2001).

Porém, estes métodos possuem algumas desvantagens, tais como: tempos longos de preparo de amostra e de análise, baixas resoluções, utilização de instrumentos sofisticados e a necessidade de pessoas qualificadas (ROUSHANI; SHAHDOST-FARD 2015).

Desenvolver métodos eletroanalíticos para quantificação de diversas substâncias que respondam a espécies químicas que possam ser oxidadas, tal como a cocaína (JONG *et al*, 2016), e produzam um sinal elétrico direto ou inversamente proporcional à concentração de tais espécies, é de interesse para diversas áreas, como por exemplo: clínica, ambiental, industrial e estudos forenses. Os métodos eletroanalíticos são bastante utilizados, pois oferece vantagens, tais como: (i) alta sensibilidade; (ii) baixo custo; (iii) pode ser aplicada a materiais coloridos e a materiais contendo sólidos dispersos; (iv) resposta rápida; (v) alta seletividade (vi) ampla faixa linear de concentração e (vii) possibilidade de miniaturização e viabilidade de medições em campo. (OLIVEIRA *et al*, 2013; SILVA; SALLES; PAIXÃO, 2015).

Em 1991, ABEDUL e colaboradores (1991) descreveram a detecção de cocaína pela técnica de voltametria de onda quadrada, usando como eletrodo de trabalho pasta de carbono, em um potencial de + 0,950 V. KOMORSKY-LOVRIC, GALIC e PENOVSKI (1999) observaram que a oxidação deste analito depende do pH do meio, pois a transferência de um elétron envolve um próton no grupo amino da molécula de cocaína, de acordo com a Figura 2. Segundo JONG e colaboradores (2016), a formação do intermediário ocorre rapidamente, observando somente um pico de oxidação em voltametria de onda quadrada.

Figura 2 - Processo de oxidação eletroquímica da cocaína.



Fonte: JONG *et al*, (2016).

PAVLOVA *et al* (2004) mostraram a determinação de cocaína e diferentes metabólitos (benzoilecgonina e ecgonina) com a utilização de eletrodos de trabalho de mercúrio por voltametria de onda quadrada no potencial de -1,490 V, apresentando um limite de detecção de $1,9 \text{ nmol L}^{-1}$. Neste trabalho, os autores observaram que a partir de pH 8,5, ocorre a hidrólise da cocaína, formando a benzoilecgonina, na qual dá origem a um pico em -1,010 V.

OIYE *et al* (2009) determinaram a concentração de cocaína em meio de acetonitrila e perclorato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (NaClO_4), usando voltametria de onda quadrada e como eletrodo de trabalho o de disco de platina quimicamente modificado com filmes de hexacianoferrato de cobalto. A cocaína interage reversivelmente com o filme, produzindo uma diminuição proporcional da corrente de pico inicial, devido à formação de um complexo entre a cocaína e íons cobalto, com a passivação parcial da superfície do eletrodo, a qual diminui a intensidade da corrente utilizada como sinal analítico para a cocaína. O limite de detecção foi de $0,14 \text{ mmol L}^{-1}$.

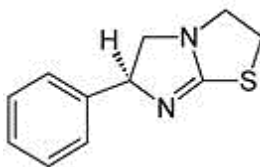
OLIVEIRA e colaboradores (2013) utilizaram eletrodos de carbono vítreo modificados com base de Schiff para determinação de cocaína na presença de lidocaína e procaína, empregando voltametria cíclica. Os autores obtiveram um limite de detecção de $0,15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

JONG e colaboradores (2016) desenvolveram um dispositivo de baixo custo para a determinação de cocaína e seus adulterantes de maneira qualitativa. Os autores mostraram que utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada e eletrodos impressos de carbono, foi possível identificar a presença de cocaína e determinados interferentes, tais como paracetamol e cafeína.

1.2 Levamisol

O levamisol (LEV) é um sólido branco, inodoro e solúvel em água e em meio ácido, é estável, mas se hidrolisa em soluções alcalinas (SADEGHI; FATHI e ABBASIFAR, 2007). Sua estrutura está representada na Figura 3. Ele é um anti-helmíntico utilizado na medicina veterinária como vermífugo para gado e até início do século XX, era empregado no tratamento de câncer de cólon em humanos, no entanto, seu uso foi proibido devido a efeitos colaterais, tais como: agranulocitose, vasculopatia e leucoencefalopatia cutânea (BERTUCCI *et al*, 2014).

Figura 3 – Estrutura molecular do levamisol.



Fonte: A autora.

O interesse na detecção de LEV vem aumentando nos últimos anos, devido ao uso deste material como adulterante de COC para potencialização da droga, uma vez que ele tem efeito estimulante no sistema nervoso central (CZUCHLEWSKI *et al*, 2010). De acordo com o departamento de justiça dos Estados Unidos, no ano de 2005, cerca de 69% das amostras de COC apreendidas continham LEV como adulterante (BERTOL *et al*, 2011). Além disso, estudos no ano de 2006, mostraram que o uso de cocaína associada ao levamisol, nos Estados Unidos, foi a principal causa de agranulocitose, doença na qual provoca erupção cutânea purpúrica na pele, envolvendo os lóbulos da orelha ou face (GROSS *et al*, 2011).

No ano de 2012, estudos mostraram que amostras de COC apreendidas continham em torno de 12% (m/m) de LEV (JONG *et al*, 2016)

Na literatura, os principais métodos de detecção para LEV são cromatografia líquida de alta eficiência ou cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CHOLIFAH; KARTINASARI; INDRAYANTO, 2008; SHEA, 2013).

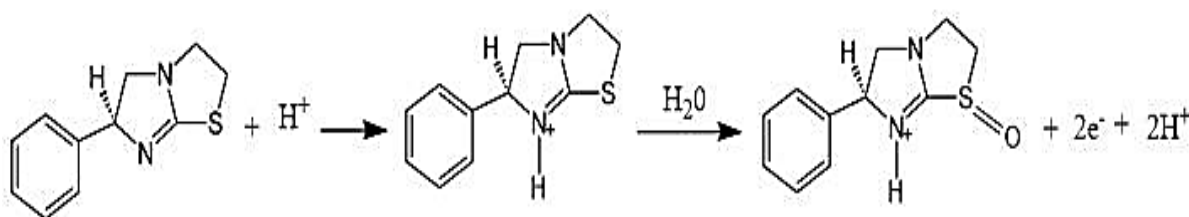
SADEGHI, FATHI e ABBASIFAR (2007) desenvolveram um sensor potenciométrico baseado em um polímero molecularmente impresso para a detecção deste analito, obtendo-se uma curva linear entre as concentrações de 2,5 a 100 μmol^{-1} e limite de detecção de 1,0 μmol^{-1} . Os autores ainda mostram que a oxidação deste analito depende do pH do meio. Em $\text{pH} > 9$, foi observada uma diminuição do sinal analítico, atribuído à formação de LEV em sua forma iônica, impedindo a oxidação e a formação de produto de hidrólise.

Em 2008, CHOLIFAH, KARTINASARI e INDRAYANTO (2008) determinaram e validaram um método simultâneo para a detecção de levamisol e niclosamida em amostras de medicamentos veterinários, utilizando CLAE com uma coluna cromatográfica C-18. Em 2011, BERTOL e colaboradores detectaram a presença de aminopirex, principal metabólito do levamisol no corpo, em amostras de urina, utilizando uma extração líquido-líquido e a análise por CG, obtendo um limite de quantificação de 0,15 ng mL^{-1} .

LOURENCAO *et al* (2016), utilizando o sistema de análise por injeção em fluxo com detector amperométrico e eletrodo de trabalho diamante dopado com boro, determinou a

presença de LEV e ivermectina (IVE) em amostras de medicamentos e urina. A detecção amperométrica ocorreu em um potencial de +1,40 V para o IVE e +1,90 V para o LEV, usando eletrodo de referência Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹ KCl). Os autores conseguiram uma faixa linear de detecção de 0,60 a 50 µmol L⁻¹ para o IVE e 0,010 a 5,0 µmol L⁻¹ para o LEV, com um limite de detecção de 0,30 µmol L⁻¹ e 1,0 nmol L⁻¹ para o IVE e LEV, respectivamente. Os autores ainda relatam que a oxidação de LEV ocorre pela perda de dois elétrons em meio ácido, de acordo com o mecanismo da Figura 4.

Figura 4 – Mecanismo de oxidação para a molécula de levamisol em meio ácido.



Fonte: LOURENCAO *et al*, 2016.

1.3 Técnicas eletroanalíticas

As técnicas eletroanalíticas de análise vêm sendo cada vez mais utilizada em áreas distintas para a determinação de diferentes analitos. SOUZA, MACHADO E AVACA (2003) destacaram que o estudo de processos de oxidação e redução e o uso de eletrodos modificados vem sendo explorados com aplicações atuais deste tipo de técnica. A principal característica desse tipo de técnica é que ela possibilita uma relação direta entre concentração e propriedades elétricas, tais como: corrente, potencial, resistência ou carga além de possibilitar medidas diretas nas amostras, já que muitas vezes, não é necessária etapa de purificação e separação, além de poder realizar análise de materiais coloridos ou suspensões coloidais (OSTERYONG e OSTERYONG, 1985).

O desenvolvimento da instrumentação eletroanalítica desencadeou o crescimento da utilização de técnicas de detecção eletroquímica, tais como: amperometria, a voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial, e a voltametria de onda quadrada, sendo esta a de maior destaque, pois é a técnica eletroanalítica mais rápida e sensível entre todas as outras. Além disso, seus modelos matemáticos possibilitam o diagnóstico de tipos de processos redox,

incluindo de espécies eletroativas adsorvidas na superfície eletródica e reações redox totalmente irreversíveis (SOUZA *et al*, 2004).

1.3.1 Voltametria de onda quadrada

Em 1953, Geoffrey Barker estudou uma maneira de compensar a corrente capacitiva obtida em análises polarográficas. Para tal, o eletrodo de trabalho era perturbado pela aplicação de uma programação de potenciais na forma de uma onda simétrica e sobreposta a uma rampa de potencial com variação lenta, aplicada a um eletrodo de mercúrio gotejante, onde a corrente capacitiva era medida ao final da vida de cada gota. Assim, o sinal era obtido entre a diferença das correntes obtidas entre cada semiciclo. Esta técnica foi então definida como polarografia de onda quadrada (OSTERYONG e OSTERYONG, 1985; SOUZA, MACHADO E AVACA 2003).

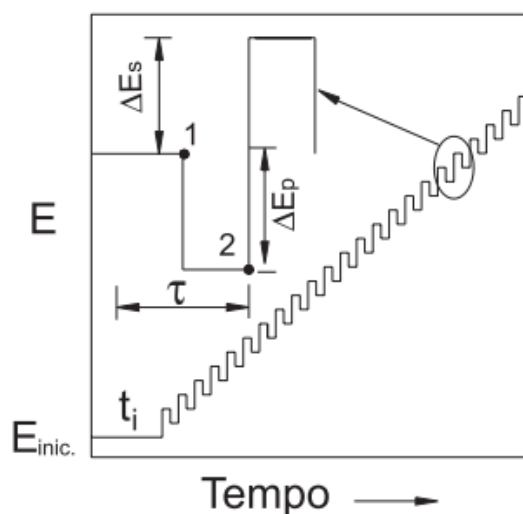
Posteriormente, Barker realizou uma modificação deste perfil, obtendo um pico simétrico na qual podia relacionar a intensidade de corrente de pico à concentração da espécie eletroativa, ou seja, ele observou que a intensidade do pico era diretamente proporcional à concentração de espécies eletroativas. Contudo, a técnica, como desenvolvida por ele, era limitada, devido a ruídos originários de várias fontes e que o capilar de mercúrio captava. A eliminação deste problema, só foi possível em 1969, quando Ramaley e Krauser substituíram os eletrodos de mercúrio por eletrodos estacionários e a rampa linear de potencial por uma variação na forma de escada. Desta maneira, surgiu a voltametria de onda quadrada, conhecida em inglês como “*Square-wave Voltammetry*” que utilizava uma variação de potencial na forma de onda, aliada a uma rampa de potencial na forma de escada, gerando um pico simétrico (OSTERYONG e OSTERYONG, 1985; SOUZA, MACHADO E AVACA, 2003)

No entanto, Ramaley e Krauser realizava as medidas de correntes ao centro do pulso e as varreduras de potenciais eram limitadas para pequenos valores de amplitude, na qual, limitava a sua aplicação devido a baixas velocidades de varredura e consequente perda de sensibilidade (SOUZA, MACHADO E AVACA, 2003).

CHRISTIE, TURNER e OSTERYOUNG (1977) verificaram estas limitações e propuseram o modelo atual de voltametria de onda quadrada. Neste caso, a medida de corrente é realizada com velocidades de varreduras maiores que as anteriores e as medidas de corrente realizadas apenas no final do pulso de potencial, onde há diminuição da corrente capacitiva.

A forma da curva de corrente-potencial (Figura 5) é originária da aplicação de potenciais de altura, ΔE_s , denominada amplitude do pulso de potencial, que podem variar com uma escada de potencial com duração τ (período). As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos e reversos e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante (ΔI) de forma diferencial. Esta medida precede um tempo inicial onde o eletrodo de trabalho é polarizado a um potencial onde a reação redox não ocorre (SOUZA, MACHADO E AVACA, 2003).

Figura 5 – Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.



Fonte: SOUZA, MACHADO E AVACA, 2003.

1.4 Eletrodos impressos “screen-printed” (SPEs)

Os eletrodos impressos, do inglês “Screen Printed Electrodes” (SPEs), são dispositivos planares descartáveis que são produzidos e planejados em grande escala em diferentes substratos de acordo com sua aplicação. A Figura 6 ilustra um eletrodo impresso típico, vendido comercialmente contendo três eletrodos em uma placa de cerâmica, o qual é empregado neste trabalho.

Figura 6 – Esquema ilustrativo de um eletrodo impresso de carbono típico com os três eletrodos: Trabalho (W.E.), Pseudo referência (R.E.) e Contra eletrodo (C.E.)



Fonte: Adaptado de DROPSSENS.

Este tipo de eletrodo é produzido por uma técnica chamada “screen-printing” ou impressão de tela. O processo de impressão usa um suporte para apoiar uma matriz de tinta e um rolo é movido através desta matriz para forçar ou bombar a tinta para a impressão pelos caminhos gerados pelo molde. Basicamente, os passos no processo são: (1) serigrafia de tintas adequadas sobre o substrato, (2) cura térmica e (3) revestimento de tinta de proteção para isolar o caminho condutor dos eletrodos (LI *et al*, 2012; WANG *et al*, 1998).

Diversos são os materiais que podem ser usados para produzir em massas este tipo de eletrodo, destacando-se carbono e metais como a platina e o ouro, para o eletrodo de trabalho e eletrodos de referência a base de tinta de prata. Outros aditivos para a dispersão, impressão e adesão para eletrodos comerciais variam de acordo com o fabricante. Os eletrodos a base de carbono são altamente atrativos porque são relativamente baratos e apresentam baixa corrente de fundo com janelas de trabalho de potencial adequados. É importante destacar que os materiais envolvidos na impressão (composição de tinta, tipo, tamanho e carga de partículas de grafite) podem afetar na reatividade de transferência de elétrons e no desempenho dos eletrodos, e por isso dificultam na reprodutibilidade da análise (WANG *et al*, 1998).

Com os avanços na produção dos SPEs, tem-se a oportunidade de aplicar estes eletrodos em análises *in situ*, devido ao baixo custo, baixo consumo de energia, resposta rápida, alta sensibilidade e capacidade de operar em temperaturas ambiente. Além disso, a superfície dos SPEs pode ser facilmente modificada, além de poder ser produzido de acordo com os requisitos do analito específico (LI *et al*, 2012).

O Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica (NuPe) do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (IQ – UFU) apresenta trabalhos com eletrodos impressos para a determinação de diferentes analitos, tais como em amostras farmacêuticas (STEFANO,

2016), ambientais e análise de metais (TORMIN *et al*, 2012), análise de antioxidantes (ALMEIDA *et al*, 2016).

1.5 Processamento matemático: deconvolução

A deconvolução consiste em um processamento matemático para a separação de picos sobrepostos e vem sendo aplicada em diversos ramos da Química Analítica, como em separação de picos cromatográficos, eletroanalíticos e espectroscópicos (TRUYOLS *et al*, 2005; BILIBIO, 2014).

Segundo BILIBIO (2014), em técnicas eletroquímicas, a deconvolução é eficiente quando a diferença entre os dois picos no potencial de oxidação dos analitos de pelo menos 60 mV.

Este tipo de técnica é bastante empregada em eletroanalítica quando a resolução obtida por meio da otimização dos parâmetros voltamétricos, da variação do pH ou escolha do eletrólito suporte não é suficiente para separar completamente os picos voltamétricos dos analitos de interesse. Neste caso, a deconvolução se torna atrativa, pois pode se separar os picos, sem a necessidade de adição de reagentes químicos, na qual, permite a determinação simultânea de maneira simples e baixo custo (OLIVEIRA *et al*, 2015).

GARBELLINI PEDROSA e SALAZAR-BANDA (2007) utilizaram a deconvolução para a determinação simultânea de dois tipos de herbicidas: atrazina e ametrina. Primeiramente, determinaram a quantidade de picos de redução e fixaram o potencial em -0.98 e -1.04V para a atrazina e ametrina, respectivamente. Após isso, construíram-se curvas de calibração com os picos deconvoluídos, obtendo limite de quantificação de $0,07 \mu\text{mol L}^{-1}$ para a atrazina na presença de $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ametrina.

OLIVEIRA *et al* (2015) também usaram este procedimento matemático para a determinação de fluoroquinolonas por determinação voltamétrica. Os autores destacam que a deconvolução foi realizada separando a região em duas gaussianas e determinaram com maior precisão e exatidão a área, a corrente e o potencial para as substâncias levofloxacin e norfloxacin. Desta maneira, o procedimento foi satisfatório para a determinação simultânea dos analitos de interesse.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método simples, rápido e de baixo custo, para a quantificação de levamisol em amostras de cocaína, utilizando tratamento matemático de deconvolução de picos da voltametria de onda quadrada e eletrodos impressos de carbono.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Para o preparo das soluções, utilizou-se água deionizada do sistema de purificação Milli-Q Plus da Millipore (resistividade $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) (Bedford, MA, EUA), sendo todas preparadas em grau analítico.

Para o tampão Britton-Robinson (BR) usado no experimento, usou-se ácido fosfórico da Impex (São Paulo, Brasil) de 85% m/v; Ácido bórico da QM (Cotia, Brasil); ácido acético glacial de Carlo Erba (Milan, Itália), e para correção de pH, hidróxido de sódio da Dinamica (Diadema, Brasil). O padrão de LEV (pureza HPLC 99,9%) foi obtido pela empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, Estados Unidos). Para os estudos de otimização, utilizou-se uma amostra de grau de pureza de 92,1% disponibilizada pela Polícia Federal (PF), além disso, a PF cedeu a amostra real para a análise de amostra real. Segundo análise da PF, os valores encontrados por CG para a amostra era de 19,2% de LEV e 80,8 de COC.

Preparou-se a solução estoque de LEV e COC antes da realização dos experimento por diluição no eletrólito estudado. Para os testes voltamétricos, o tampão BR é composto por uma mistura de ácido acético, ácido bórico e ácido fosfórico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e os diferentes pHs ajustados com hidróxido de sódio.

Preparou-se os padrões para a análise, preparando-se uma solução estoque de 1 mmol L^{-1} , solubilizando os padrões diretamente no eletrólito estudado. Para a análise da amostra real, pesou-se cerca de 0,001 g em uma solução do eletrólito escolhido em 10,0 mL (solução estoque). Após isso, uma alíquota de 4,5 mL foi diluída completando-se o volume até 9,0 mL com o eletrólito suporte utilizado, sendo esta solução utilizada para a construção da curva pelo método de adição de padrão.

3.2 Medidas eletroquímicas

Para as medidas voltamétricas, utilizou-se um potenciostato/galvanostato μ AUTOLAB tipo III (Eco Chemie, Utrecht, The Netherlands – Metrohm) conectado a um computador e controlado através do software NOVA 1.11.

Realizaram-se todos os experimentos usando eletrodos impressos comerciais, no qual consiste em um arranjo contendo os eletrodos de trabalho, referência e contra-eletrodo em uma

cerâmica de alumina (DRP-110, da DropSens). A placa (dimensões de 3,4 x 1,0 x 0,05 cm) apresenta um disco de 4 mm de diâmetro (área geométrica) de eletrodo de trabalho de carbono, um contra-eletrodo de mesmo material e um eletrodo pseudo-referência de prata. Como célula eletroquímica, utilizou-se um béquer de 10 mL.

3.3 Tratamento matemático

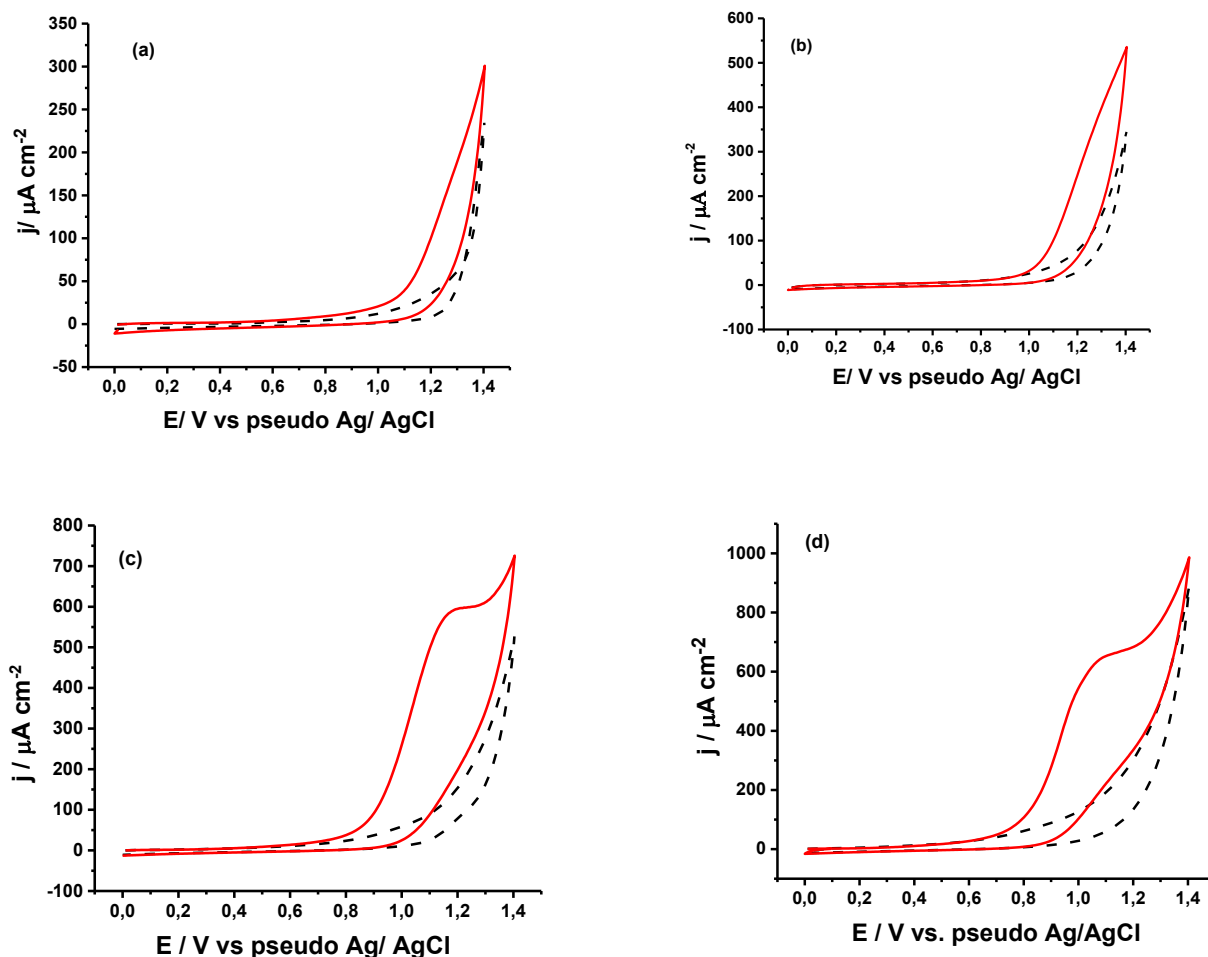
Trataram-se as curvas voltamétricas matematicamente pelos métodos de deconvolução, utilizando o software Microcal Origin® (versão 9.0), após a correção da linha base dos voltamogramas. Para o procedimento de deconvolução, consideraram-se os picos de forma gaussiana, sendo necessário definir como parâmetros iniciais o número de picos (número igual a quantidade de analitos com resposta analítica) e os valores de potencial de oxidação para a COC e o LEV, os quais foram fixados em +0,85 e +0,96 V, respectivamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Comportamento eletroquímico do LEV e COC por voltametria cíclica

Na literatura, não foram encontrados trabalhos que mostrem a detecção de LEV utilizando voltametria cíclica ou de onda quadrada usando eletrodos impressos de carbono. Por esta razão, estudos iniciais empregando voltametria cíclica foram realizados para a investigação do comportamento eletroquímico do LEV usando eletrodos impressos a base de carbono como eletrodo de trabalho. Na Figura 7, são apresentados os voltamogramas cíclicos para solução contendo LEV $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em diferentes meios de eletrólito suporte (tampão BR em pHs 2, 4, 6 e 8 em concentração de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$).

Figura 7 – Voltamogramas cíclicos obtidos para 1,0 mmol L⁻¹ de LEV em um eletrólito suporte de tampão BR 0,04 mol L⁻¹ em pH (a) 2,0 ; (b) 4,0; (c) 6,0 e (d) 8,0, usando eletrodo impresso de carbono como eletrodo de trabalho. Os voltamogramas em linha tracejada são os brancos de cada análise. Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹; Incremento de potencial: 5 mV.

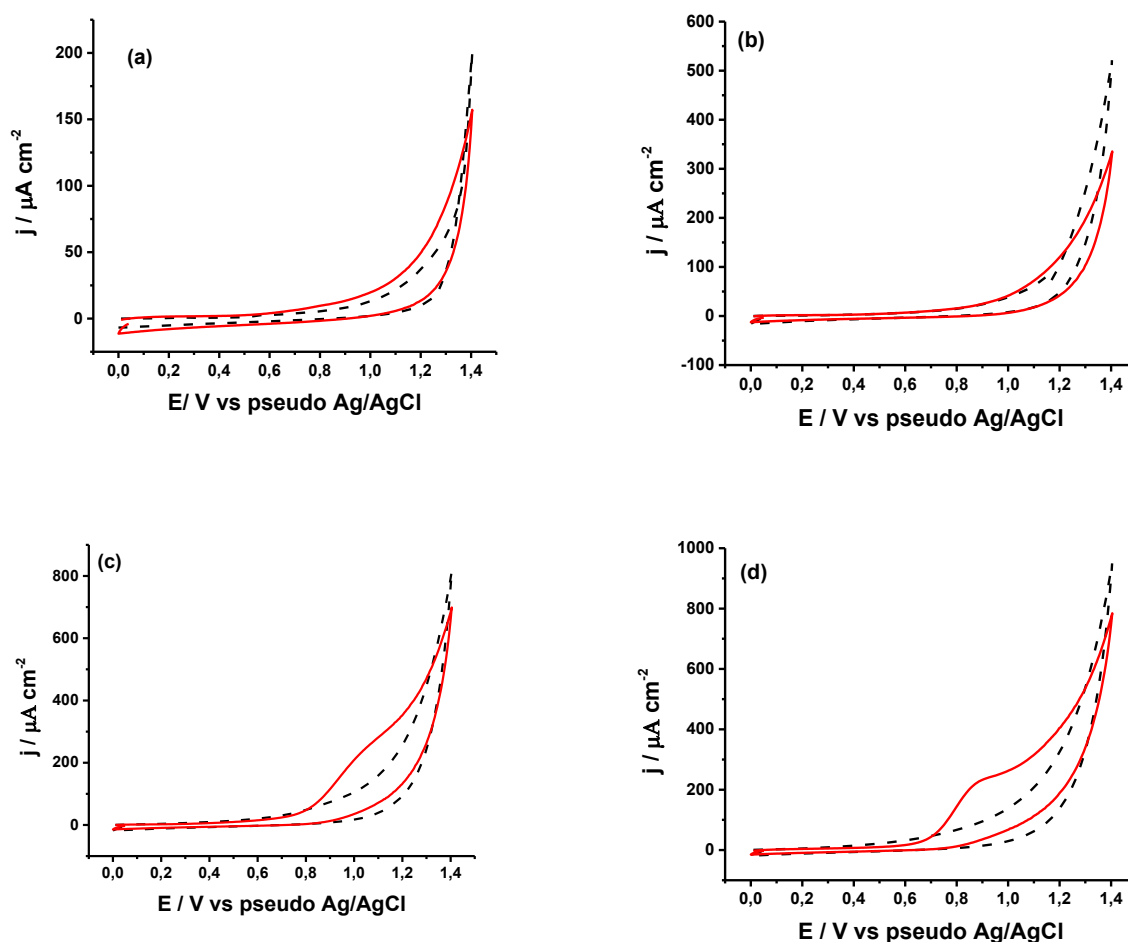


Fonte: A autora.

Como observado na Figura 7, as respostas voltamétricas demonstraram a presença de um pico de oxidação entre +0,96 e +1,1 V para os diferentes pHs avaliados. Não foram observados picos de redução na varredura reversa, o que pode indicar a irreversibilidade do processo de oxidação, nas condições efetuadas o experimento.

Na Figura 8, são apresentados os voltamogramas cíclicos para a cocaína em tampão BR numa faixa de pH de 2-8. De acordo com a literatura, a cocaína é uma molécula que apresenta comportamento irreversível, o que também foi observado nos estudos apresentados na literatura (FREITAS *et al*, 2017).

Figura 8 - Voltamogramas cíclicos obtidos para 1,0 mmol L⁻¹ de COC em um eletrólito suporte de tampão BR 0,04 mol L⁻¹ em pH (a) 2,0 ; (b) 4,0; (c) 6,0 e (d) 8,0, usando eletrodo impresso de carbono como eletrodo de trabalho. Os voltamogramas em linha tracejado são os brancos de cada análise. Velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹; Incremento de potencial: 5 mV.



Fonte: A autora.

Como é observado na Figura 8, em meio ácido não há pico de oxidação para a cocaína porque, de acordo com a literatura, a oxidação da cocaína ocorre pela amina terciária, que neste meio está protonada, sendo somente observado pico de oxidação em pH próximo à neutralidade (ASTURIAS-ARRIBAS; ALONSO-LOMILLO; DOMINGUEZ-RENEDO, 2014). Freitas e colaboradores observaram a oxidação da cocaína em meio fortemente ácido somente utilizando eletrodos de diamante dopado com boro em potencial superior a +2,0 V.

Não foram realizados estudos em pHs superiores a 8, pois, segundo a literatura, a cocaína (pKa = 8,6) é ligeiramente solúvel (0,17g/100 mL) em soluções aquosas com valores superiores ao seu pKa, já que se apresenta na sua forma neutra, abaixo deste valor, a

solubilidade da cocaína (forma protonada) aumenta consideravelmente (250 g/100 mL) (ZUO *et al*, 2008) e, além disso, em pH 8,5, ocorre a hidrólise da cocaína, formando a benzoilecgonina, diminuindo seu pico de oxidação (PAVLOVA *et al*, 2004).

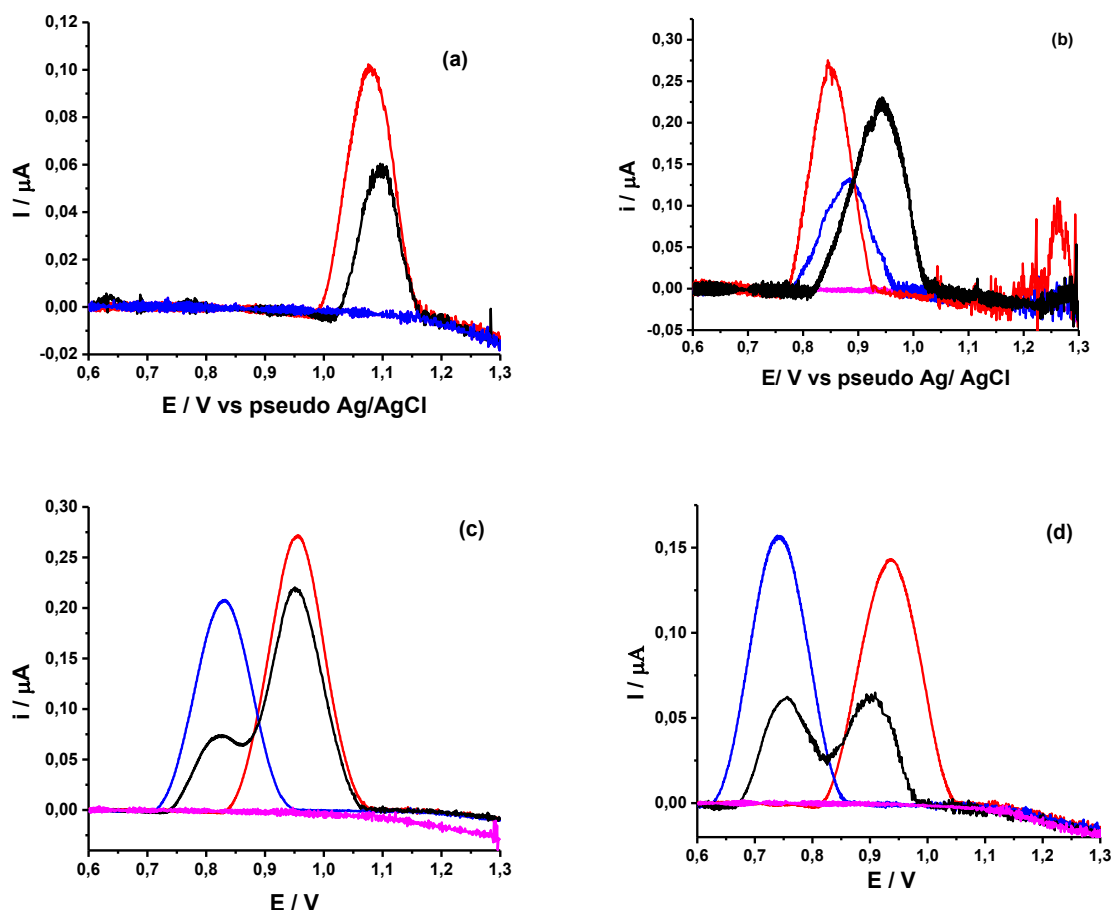
4.2 Escolha do eletrólito suporte

Um eletrólito suporte é uma solução preparada em maiores concentrações, geralmente cerca de cem vezes maior que a da espécie eletroativa presentes na célula eletroquímica. Ele é importante, pois pode conferir à solução estudo das propriedades do analito de interesse, tais como: manter a força iônica da solução alta e constante, os coeficientes de atividade das espécies eletroativas constante, diminuir a espessura da dupla camada elétrica e minimizar a migração das espécies, sendo somente observado movimento por difusão. O eletrólito suporte deve ter as seguintes características: alta solubilidade, alto grau de ionização e ser estável química e eletroquimicamente (AGOSTINHO *et al*, 2004).

Desta maneira, o objetivo desta parte do experimento foi determinar o melhor eletrólito suporte, que mostrasse melhor sinal eletroquímico para o LEV e a COC. Para isso, estabeleceu-se como condição para a escolha do eletrólito suporte aquele que apresentasse maior intensidade e estabilidade de corrente faradaica.

Para a escolha do melhor eletrólito suporte, utilizou um tampão Britton-Robinson (BR) 0,04 mol L⁻¹, variando o pH de 2 a 10. A Figura 9 mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos para o estudo dessa variação de pH para a COC, LEV e a mistura dos analitos estudados.

Figura 9 - Efeito do pH na resposta do LEV 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (-) e COC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (-) e da mistura de LEV e COC em concentrações de 50 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente (-), utilizando voltametria de onda quadrada em tampão BR 0,04 mol L^{-1} em pHs (a) 4,0; (b) 6,0; (c) 8,0; e (d) 10,0. Os sinais dos brancos para cada meio são apresentados (-). Parâmetros da onda quadrada: $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $f = 8 \text{ s}^{-1}$.



Fonte: A autora.

Observando a Figura 9, verifica-se que o pico de oxidação do LEV depende fortemente do pH do meio, uma vez que há um deslocamento dos picos de oxidação. LOURENCAO *et al* (2016) destacaram que essa dependência existe, pois a transferência de elétrons envolve transferência de prótons.

Verificou-se que em pH igual a 2,0, não houve resposta analítica de nenhum dos analitos de interesse, por isso os resultados não foram mostrados na Figura 9. Observou-se que em pH igual a 4,0, não há sinal analítico para a detecção de COC e uma diminuição considerável do sinal analítico do LEV na presença de cocaína. É importante destacar que o objetivo deste

trabalho é quantificar o LEV e determinar qualitativamente a presença de COC, e, portanto, não se escolheu este meio para as análises posteriores.

Já em pH igual a 6,0, verificou-se que a definição dos picos de oxidação de LEV e COC analisados simultaneamente é comprometida devido à sobreposição dos potenciais de oxidação e, conseqüentemente, baixa resolução voltamétrica, além de uma alta quantidade de ruído na linha base.

Nas soluções tampão em pH 8,0 e 10,0, mesmo não havendo separação satisfatória, é possível detectar a ocorrência de dois picos com diferença de potencial de aproximadamente 0,09 V, o qual indica que o tratamento matemático por deconvolução pode ser uma alternativa para obter informações analíticas de cada resposta, uma vez que a diferença entre os dois picos foi maior que 0,06 V (BILIBIO, 2004). No entanto, em pH igual a 10,0, a intensidade da corrente de pico foi menor quando comparado em pH 8,0. Além disso, a molécula de levamisol é estável somente em pH abaixo do seu pK_a ($= 9,0$), uma vez que sofre hidrólise acima deste valor, de tal maneira que se verifica melhor resposta analítica em pHs inferiores a 9,0 (SADEGHI; FATHI; ABBASIFAR, 2007). Durante a execução do experimento, verificou-se que a análise de amostras acima de $pH = 9,0$, dificultavam o experimento, pois as análises realizadas posteriormente, apresentavam pouca repetibilidade, diminuindo o sinal analítico dos analitos estudados.

Por isso, escolheu-se para as análises posteriores, a utilização do tampão BR 0,04 mol L^{-1} em pH 8,0.

4.3 Otimização dos parâmetros da técnica de voltametria de onda quadrada

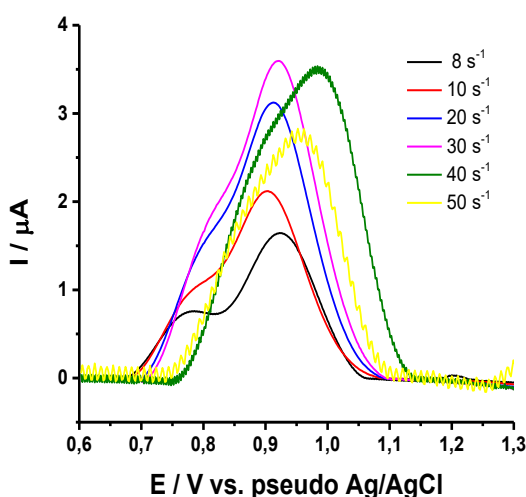
Para o desenvolvimento de um método de análise empregando voltametria de onda quadrada, os seguintes parâmetros instrumentais necessitam ser otimizados: amplitude de pulsos de potencial (a), frequência de aplicação dos pulsos de potenciais (f) e incremento de varredura de potencial (ΔE_s), onde é possível obter a melhor resposta, em termos de intensidade de corrente e perfil voltamétrico.

Para otimização dos parâmetros de voltametria de onda quadrada, em amostras contendo COC e LEV, buscou-se a melhor separação dos picos no eletrólito estudado.

4.3.1 Frequência de aplicação dos pulsos de potenciais.

No processo de oxidação do LEV e COC, o aumento da frequência de aplicação de pulsos de potencial provocou um aumento na corrente de pico dos compostos e sobreposição de sinais. A Figura 10 mostra os voltamogramas de onda quadrada registrados para o LEV 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com frequência de aplicação de pulso variando entre 10 a 50 s^{-1} , mantendo-se constante a a em 50 mV e ΔE_s em 2 mV.

Figura 10 - Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma mistura de LEV 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e COC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, em diferentes frequências de aplicação de pulsos de potencial (10 – 50 s^{-1}). Parâmetros da onda quadrada: $\Delta E_s = 2\text{mV}$ e $a = 50\text{ mV}$, em tampão BR 0,04 mol L^{-1} , (pH = 8,0).



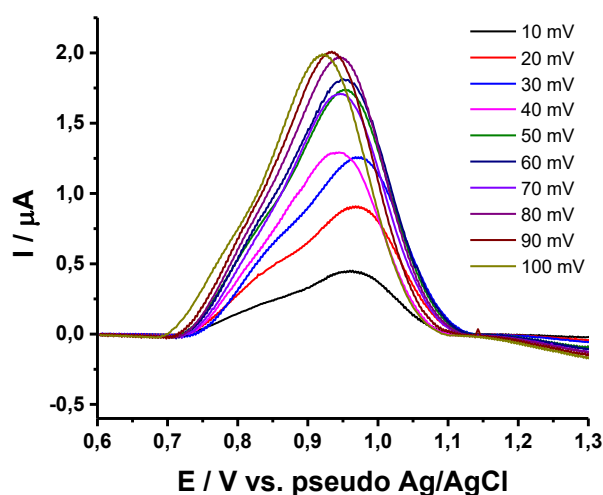
Fonte: A autora.

A frequência de 8,0 s^{-1} foi selecionada para ser usada nos estudos seguintes, pois conferiu melhor separação entre os picos de LEV e COC com perfil voltamétrico mais gaussiano para a oxidação dos analitos de interesse. Observa-se que ao aumentar a frequência, há maior ruído na análise e não são observados sinais analíticos em frequência superior a 50 s^{-1} , o que pode estar associado à baixa velocidade de transferência de carga de certos compostos orgânicos contendo anéis aromáticos heterocíclicos. Isto é uma característica comum a reações de redox irreversíveis (LOVRIC, 1988).

4.3.2 Amplitude de aplicação dos pulsos de potenciais.

Outro parâmetro estudado foi a influência da amplitude de aplicação dos pulsos de potenciais na separação de pico de oxidação do LEV e COC. A Figura 11 mostra os voltamogramas obtidos mediante a variação deste parâmetro entre 10 a 100 mV, mantendo-se constante f em 10 s^{-1} e o ΔE_s em 2 mV.

Figura 11 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos para LEV $50\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ e COC $100\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em função da variação nos valores de amplitude de pulso de potencial aplicados. $f = 10\text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 2\text{ mV}$, em solução tampão BR (pH = 8,0) $0,04\text{ mol L}^{-1}$.



Fonte: A autora.

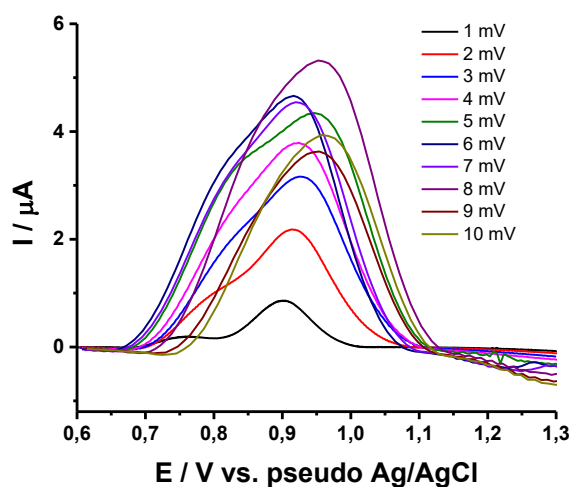
Analisando a Figura 11, observou-se que com o aumento da amplitude de pulso, há um aumento da corrente de oxidação, no entanto, um acréscimo da amplitude provoca uma diminuição da resolução, devido ao alargamento do pico. Desta maneira, escolheu-se para análises posteriores, uma amplitude de 10 mV.

4.3.3 Incremento de varredura

O incremento de varredura de potencial (ΔE_s) mostra o modo pelo qual o potencial é aplicado e é considerado como sendo a diferença de altura entre um degrau de potencial e o degrau seguinte.

O ΔE_s foi avaliado no intervalo entre 1 e 10 mV, mantendo-se constante a frequência e amplitude de aplicação de pulso em 10 s^{-1} e 50 mV, respectivamente. Os voltamogramas de onda quadrada registrados neste estudo são apresentados na Figura 12.

Figura 12 - Voltamogramas de onda quadrada obtidos para uma mistura de LEV $50\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ e COC $100\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em função da variação no incremento de potencial. $f = 10\text{ s}^{-1}$, $a = 50\text{ mV}$, em solução tampão $0,04\text{ mol L}^{-1}$ (pH = 8,0).



Fonte: A autora.

Um aumento no incremento de potencial provocou um aumento na intensidade da corrente, porém uma diminuição na resolução dos picos, ou seja, alargamento destes. Por isso, para os estudos seguintes, escolheu-se ΔE_s o valor de 1 mV.

Em voltametria de onda quadrada, a velocidade de varredura é definida em função da frequência de aplicação dos pulsos de potenciais e do incremento de varredura de potencial ($v = f \Delta E_s$). Dessa forma, verifica-se que a melhor resolução entre os picos de oxidação de LEV e COC ocorre em baixas velocidades de varredura.

4.4 Processamento matemático: deconvolução

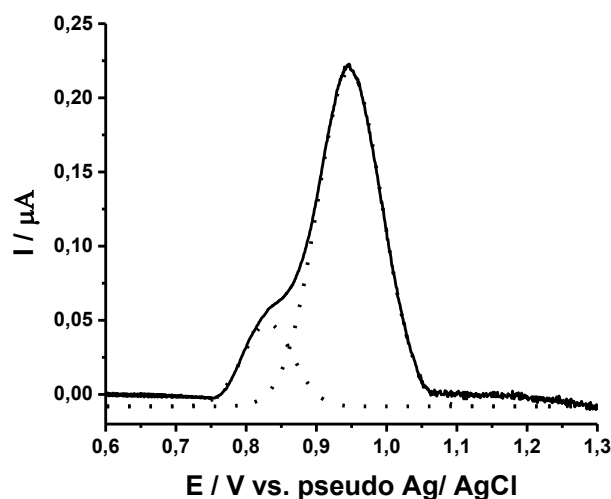
A otimização dos parâmetros de onda quadrada e avaliação de eletrólito suporte não foi suficiente para promover a separação dos picos de oxidação do LEV e COC. Assim, devido à sobreposição dos picos de oxidação dos dois analitos de interesse, foi necessário um

procedimento matemático de deconvolução, para a separação satisfatória dos picos, o qual foi realizado usando o software Microcal Origin® (versão 9.0).

Para o processamento matemático de deconvolução dos picos, determinou-se a quantidade de picos que se espera encontrar, neste caso dois picos de oxidação, referentes a COC e LEV. Após esta etapa, é fixado o potencial de pico a cada composto separadamente (0,85 e 0,94 V, para a COC e LEV, respectivamente) e aplica-se análise gaussiana para o tratamento matemático, tendo como resultante os picos deconvoluídos.

A Figura 13 apresenta o voltamograma de onda quadrada obtido para a mistura da COC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LEV 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, os picos deconvoluídos para cada composto e o voltamograma referente à soma das correntes dos picos deconvoluídos.

Figura 13 – Voltamograma de onda quadrada registrado em tampão BR 0,04 mol L⁻¹ (pH 8,0) para oxidação eletroquímica de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de LEV e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de COC e voltamogramas obtidos após deconvolução (pontilhado). Parâmetros da voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$ e $a = 10 \text{ mV}$.



Fonte: A autora.

Na Figura 13, verifica-se que sem o procedimento de deconvolução, os sinais não são completamente resolvidos e a corrente de pico não pode ser medida com precisão e exatidão aceitável. No entanto, após a aplicação do procedimento de deconvolução, houve uma melhora significativa na resolução, sendo possível obter voltamogramas com picos bem definidos.

Para verificar a eficiência do método de deconvolução na separação de dois picos voltamétricos, bem como verificar possíveis interferentes relativos à sobreposição de sinais,

realizaram-se medidas voltamétricas, individuais e simultâneas, com os padrões de concentração conhecida de LEV e COC. Os dados de comparação deste método estão disponíveis na Tabela 1.

Tabela 1 – Comparação de dados de medidas voltamétricas de LEV e COC (50 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente) analisadas individual e simultaneamente em tampão BR 0,04 mol L^{-1} (pH = 8,0). Parâmetros de voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$.

Analito	Analito	Corrente $\pm$ DP/ μA	Erro relativo / %
LEV	Individual	$0,23 \pm 0,03$	8,7 %
	Simultânea	$0,21 \pm 0,01$	
COC	Individual	$0,18 \pm 0,02$	72,2%
	Simultânea	$0,05 \pm 0,01$	

Fonte: A autora.

Como se pode verificar pela análise da Tabela 1, a intensidade da corrente para o LEV a partir do procedimento de deconvolução (análise simultânea) permitiu a obtenção de dados similares quando comparados com aqueles medidos individualmente. Desta maneira, a análise comparativa da intensidade de corrente, realizada para análise individual e simultânea para o LEV indica que não houve erros significativos e que o método de deconvolução pode ser uma alternativa satisfatória na separação de picos sobrepostos na determinação de LEV em amostras de cocaína.

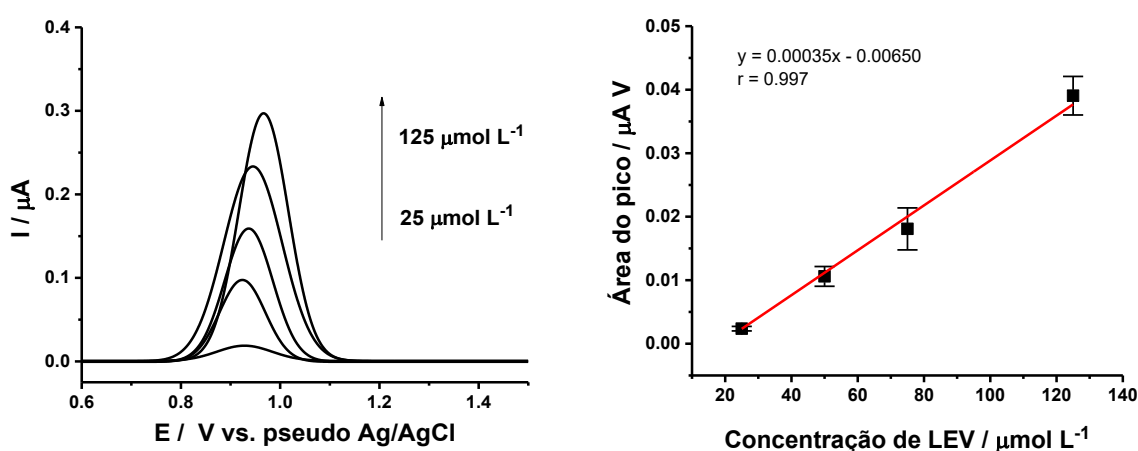
No entanto, ao se realizar a mesma análise para a COC, verificou-se que os resultados da análise individual e simultânea não apresentaram a mesma resposta voltamétrica, na qual provavelmente não esteja relacionada a problemas no tratamento matemático, mas sim a efeitos de matriz provocados pela presença do LEV, como também observado por Jong *et al* (2016), que ao utilizar eletrodos de carbono impressos em luvas, verificou uma diminuição no sinal da cocaína na presença de LEV.

4.5 Curva analítica

Após a determinação da melhor condição para a determinação de LEV em amostras de cocaína, construíram-se curvas analíticas utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada.

A partir dos valores da área do pico foi construída a curva analítica, em que cada ponto representou a média de três medidas experimentais ($n=3$) (Figura 14).

Figura 14 – (a) Voltamogramas obtidos por deconvolução para injeções de soluções contendo concentrações crescentes de LEV, na presença de cocaína ($25 - 125 \mu\text{mol L}^{-1}$). (b) Curva de calibração obtida para o LEV entre $25 - 125 \mu\text{mol L}^{-1}$ a partir dos dados analíticos da Figura 14 (a) Eletrólito: BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 8,0$). Parâmetros da voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$.



Fonte: A autora.

A curva de calibração obtidas para o LEV apresentou a equação $y = 0,00035x - 0,0065$, com um bom coeficiente de correlação linear ($r = 0,997$). Os dados apresentados na Tabela 2 resumem os parâmetros do método analítico proposto.

Com base nos parâmetros da Tabela 2, calculou-se o limite de detecção (LD), como sendo a menor concentração de um analito que dará um sinal igual a três vezes o nível do ruído da linha base (SKOOG, 2001), ou seja:

$$\text{LD} = \frac{3s_b}{b} \quad (1)$$

Onde s_b , refere-se ao desvio padrão do branco ($n = 20$) e b a inclinação da reta de trabalho. Nestas condições, a confiabilidade do LD é de 95%. Para o cálculo do desvio padrão do branco, efetuou-se a leitura do eletrólito utilizado no experimento. Além do limite de detecção, avaliou-se o limite de quantificação (LQ) que é definido como sendo o menor valor determinado para a metodologia proposta em um nível aceitável de precisão e exatidão, que pode ser calculado como: (MOCÁK *et al*, 1997).

$$LQ = \frac{10s_b}{b} \quad (2)$$

Assim, avaliando os resultados, os valores de LQ e LD encontrado para a curva de calibração (Figura 14) foi de 0,017 e 0,055 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente ou 3,47 e 1,12 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os valores de LD e LQ encontrados revelam que o sistema analítico de detecção proposto apresenta valores adequados para o propósito do trabalho, de tal maneira que o método por voltametria de onda quadrada pode ser empregado satisfatoriamente para detecção de LEV em amostras contendo COC, uma vez que amostras apreendidas no ano de 2014 e 2015 analisadas pelo Instituto Nacional de Criminalística e Criminologia da Bélgica apresentaram teores de LEV entre 14 a 19 % em massa em amostras de COC (JONG *et al*, 2016).

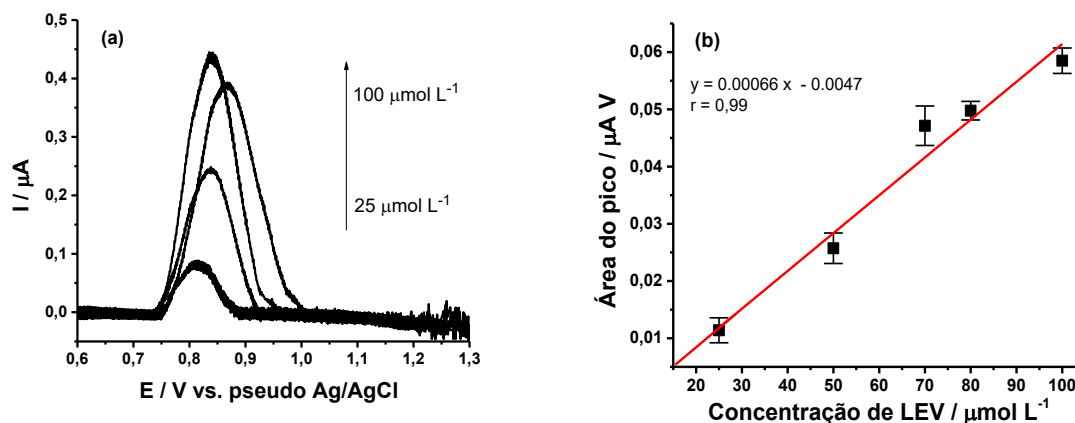
Tabela 2 - Características analíticas do método de detecção por deconvolução.

Parâmetros	Valores obtidos
Intervalo linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	25 – 125
r	0,997
Inclinação ($\mu\text{A V L } \mu\text{mol}^{-1}$)	$0,00035 \pm 0,00002$
Intercepto ($\mu\text{A V}$)	$0,0065 \pm 0,0005$
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,017
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,055

Fonte: A autora.

Para verificar a influência da COC na sensibilidade de detecção do método analítico, fez-se uma curva de calibração para o LEV nas mesmas condições experimentais na ausência de cocaína a partir da área do pico em que cada ponto da curva representa a média obtida de três medidas (Figura 15).

Figura 15 – (a) Voltamogramas obtidos para injeções de soluções contendo concentrações crescentes de LEV (25 – 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$). (b) Curva de calibração obtida para o LEV entre 25 – 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a partir dos dados analíticos da Figura 15 (a) Eletrólito: BR (pH 8,0) 0,04 mol L^{-1} . Parâmetros da voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$.



Fonte: A autora.

A curva de calibração obtida para o LEV apresentou a equação $y = 0,00066x - 0,0047$, com um bom coeficiente de correlação linear ($r = 0,990$). Os dados mostrados na Tabela 3 resumem os parâmetros do método analítico proposto.

Tabela 3 - Características analíticas do método de detecção de LEV na ausência de cocaína.

Parâmetros	Valores obtidos
Intervalo linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	25 – 100
R	0,990
Inclinação ($\mu\text{A V L } \mu\text{mol}^{-1}$)	$0,00066 \pm 0,00006$
Intercepto ($\mu\text{A V}$)	$0,0047 \pm 0,0003$
LD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,009
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,84
LQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,029
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5,92

Fonte: A autora

A inclinação da curva representa a sensibilidade do método, ou seja, a capacidade em discriminar pequenas diferenças entre as concentrações de um analito.

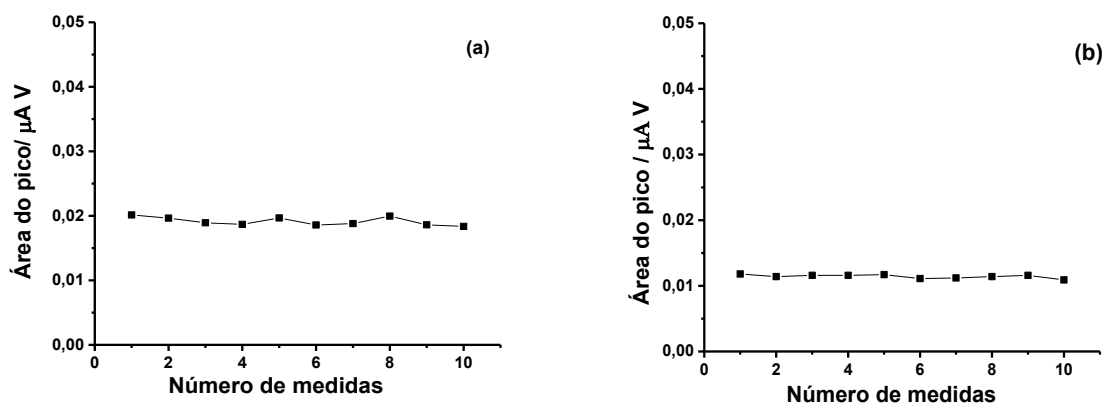
Comparando os resultados da Tabela 2 e 3, verificou-se que a presença de cocaína diminui a sensibilidade do método, provavelmente relacionada a efeito de matriz. Geralmente, a complexidade da matriz interfere na sensibilidade do método e para avaliar este efeito, utiliza-se o método de adição de padrão que consiste na adição de quantidades conhecidas do analito de interesse na amostra, de tal maneira, que se corrige interferência (SKOOG, 2001).

4.5.1 Repetibilidade e reprodutibilidade do método

A repetibilidade do método indica o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas, efetuadas sob as mesmas condições de trabalho, ou seja, mesmo observador, instrumento, local e repetições em curto espaço de tempo. Ela pode ser verificada considerando um ponto da curva analítica e é expressa como o desvio padrão relativo de uma série de medidas. (SKOOG, 2001)

Desta maneira, para se verificar a repetibilidade do método estudado, efetuou-se a leitura ($n = 10$) de uma amostra de LEV $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e de uma mistura de LEV e COC 50 e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente (Figura 16).

Figura 16 – Resultados obtidos por voltametria de onda quadrada para leituras sucessivas de (a) LEV $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e (b) da mistura de LEV $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e COC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo cada medida resultado da deconvolução do pico do LEV ($n = 10$) em eletrólito tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 8,0$). Parâmetros da voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$.



Fonte: A autora.

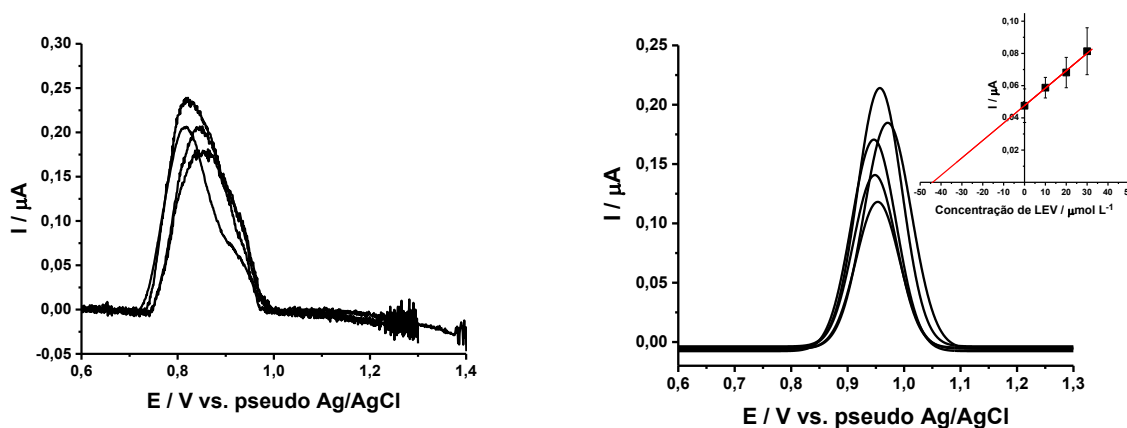
Os resultados apresentados na Figura 16 demonstram flutuações aleatórias nas áreas de picos registradas ao longo das medidas, não havendo decaimento da área dos picos registrados. O desvio padrão relativo calculado para LEV foi de 3,4% (Figura 16(a)) e para o LEV em amostras contendo COC foi de 2,5% (Figura 16(b)).

Para avaliar a reprodutibilidade dos eletrodos para estas medidas, fizeram-se medidas sucessivas em diferentes eletrodos para as mesmas soluções de LEV $50 \mu\text{mol L}^{-1}$, COC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ e uma mistura de LEV e COC $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O coeficiente de variação para a solução de LEV foi de 4,9%, para a solução de COC de 5,7% e da mistura de COC e LEV 5,3% ($n=5$).

4.6 Aplicação da metodologia desenvolvida

Para a aplicação do procedimento desenvolvido, utilizou-se uma amostra disponibilizada pela Polícia Federal da cidade de Uberlândia. A Figura 17 mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos para a determinação de LEV em amostras de cocaína.

Figura 17 – (a) Voltamograma de onda quadrada obtido para a oxidação eletroquímica de uma amostra real, contendo LEV e COC, utilizando eletrodos impressos de carbono, em tampão BR $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0), com adição padrão de LEV ($10\text{-}50 \mu\text{mol L}^{-1}$). (b) Voltamogramas obtidos por deconvolução para injeções de soluções contendo concentrações crescentes de LEV ($10\text{--}50 \mu\text{mol L}^{-1}$). O gráfico inserido refere-se a curva de adição de padrão para a amostra analisada. Parâmetros da voltametria de onda quadrada: $f = 8 \text{ s}^{-1}$, $a = 10 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$.



Fonte: A autora.

Como pode ser observado, há uma diminuição do pico de COC, com o aumento da concentração de LEV, relacionado a um efeito de matriz, já descrito anteriormente. Após a aplicação de procedimento de deconvolução, verificou-se a separação satisfatória dos picos, sendo possível obter pelo método de adição de padrão a concentração de LEV neste tipo de amostra. A curva de adição de padrão mostrada na Figura 17 (inserção), representa a média aritmética de três determinações analíticas, cujos dados obtidos para a amostra analisada forneceram linearidade satisfatória. A equação de reta obtida para esta análise foi igual a $y = 0,001082x + 0,04762$, com um bom coeficiente de correlação linear ($r = 0,991$), como observado no gráfico inserido na Figura 17.

Segundo análise por cromatografia gasosa feita pela Polícia Federal, a amostra apresentou 19,2 % (m/m) de levamisol. A Tabela 4 resume os valores encontrados para a amostra analisada, assim como a recuperação do método proposto, com análises realizadas em triplicatas.

Tabela 4 - Resultados obtidos para a análise de amostra disponibilizada pelo Polícia Federal.

Valor disponibilizado pela Polícia Federal / % (m/m)	Valor encontrado pelo método proposto $\pm$ DP / % (m/m)	Erro relativo / %
19,2	18,2 $\pm$ 1,9	5,2%

Fonte: A autora.

O resultado obtido pelo método proposto está de acordo com aquele disponível pelo método da Polícia Federal com 95% de confiança (os valores de t calculado para o teste t de *Student* pareado foram menor que o valor crítico, 2,733 para $n = 3$) atestando que não há diferença significativa entre os resultados, na qual indica que o desempenho de ambos os métodos é similar. O erro relativo calculado para a análise foi de 5,2%, que está dentro os limites aceitados pela literatura (MOCAK *et al*, 2013).

5 CONCLUSÕES

Foi possível demonstrar o potencial uso da técnica de voltametria de onda quadrada usando eletrodos impressos de carbono e o processamento matemático de deconvolução para a determinação de levamisol em amostras de cocaína. É destacado que os eletrodos impressos apresentam baixo custo, possibilidade de análise *in situ*, alta sensibilidade e resposta rápida, possibilitando análises rápidas em amostras de cocaínas apreendidas em diversos locais pela Polícia Federal.

Ao se utilizar o processamento matemático de deconvolução, foi possível mostrar de maneira qualitativa a presença da cocaína e determinar quantitativamente a presença de levamisol na amostra. Verificou-se que a cocaína na presença de levamisol gera efeito de matriz na cocaína, impossibilitando sua quantificação na amostra.

O procedimento de deconvolução apresentou resultados satisfatórios e similares quando comparados com o LEV em análises individuais e simultâneas, apresentando desvios e erros pequenos.

O método proposto apresentou limite de detecção, boa precisão e exatidão adequada para a determinação de levamisol em amostras de cocaína (LD e LQ igual a 3,47 e 1,12 $\mu\text{g L}^{-1}$), sendo possível a aplicação destes métodos nas amostras de interesse, uma vez que os valores esperados estão de acordo com o LD e LQ. Além disso, apresentou boa repetibilidade e reprodutibilidade, com coeficiente de variação de 4,3 e 5,3%, respectivamente.

A determinação de LEV na ausência de COC forneceu maior sensibilidade, provavelmente devido ao efeito de matriz da presença de COC.

Os resultados encontrados pela Polícia Federal e pelo método proposto apresentaram médias estatisticamente iguais, verificadas pelo método *t* de *Student* de médias pareadas.

REFERÊNCIAS

- ABEDUL, M T F; RODRIGUEZ, J R B; GARCIA, A C, BLANCO, P T. Voltammetric determination of cocaine in confiscated samples. **Electroanalysis**. 3, 409-412, 1991.
- AGOSTINHO, S M L; VILLAMIL, R F V; NETO, A A; ARANHA, H. O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. **Química Nova**. 27, 813-817, 2004.
- ALMEIDA, E S; SILVA, L A J; SOUSA, R M F; RICHTER, E M; FOSTER, C W; BANKS, C E, MUNOZ, R A A. Organic-resistant screen-printed graphitic electrode: Application to on-site monitoring of liquid fuels. **Analytica Chimica Acta**. 934, 1-8, 2016.
- ASTURIAS-ARRIBAS, L; ALONSO-LOMILLO, A M; DOMINGUEZ-RENEDO, O; Sensitive and selective cocaine electrochemical detection using disposable sensors. **Analytica Chimica Acta**. 834, 30-36, 2014.
- BERTOL, E; MARI, F; MILIA, M G; POLITI, L; FURLANETTO, S; KARCH S B. Determination of aminorex in human urine samples by GC-MS after use of levamisole. **Journal of Pharmaceutical and biomedical Analysis**. 55, 1186-1189, 2011.
- BERTUCCI, C; TEDESCO, D; FABINI, E; PIETRA A M D; ROSSI, F; GARAGNANI, M. BORELLO, E; ANDRISANO, V. Determination of levamisole and tetramisole in seized cocaine samples by enantioselective high-performance liquid chromatography and circular dichroism detection. **Journal of chromatography A**. 1363, 150-154, 2014.
- BILIBIO, U. **Determinação eletroanalítica individual e simultânea das fluoroquinolonas, levofloxacina e norfloxacina, empregando meio micelar e procedimento de deconvolução**. 2014. 79 fl. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Grandes Dourados, Dourados, 2014.
- CHOLIFAH, S; KARTINASARI, W, F; INDRAYANTO, G. Simultaneous HPLC determination of levamisole hydrochloride and anhydrous niclosamide in veterinary powders, and its validation. **Journal of liquid chromatography and related Technologies**. 31, 281-291, 2008.
- CHRISTIE, J H; TURNER, J A; OSTERYOUNG, R A. Square wave voltammetry **Analytical Chemistry**. 49, 1899, 1977.
- CONCEICAO, V N; SOUZA, L M; MERLO, B B; FIGUEIRAS, P R; POPPI, R J; ROMAO, W. Estudo do teste de Scott via técnicas espectroscópicas: um método alternativo para diferenciar cloridrato de cocaína e seus adulterantes. **Química Nova**. 37, 1538-1544, 2014.
- CZUCHLEWSKI, D R; BRACKNEY, M; EWERS, C; MANNA, J; FEKRAZAD, M H; NOLTE, K B; RABINOWITZ, I; CURTIS, B R; MCFARLAND J G; BAUMBACH J; FOUCAR K. Clinicopathologic features of agranulocytosis in the setting of levamisole-tainted cocaine. **American Journal Clinical Pathology**. 133, 466-472, 2010.
- DROPSSENS. Disponível em: <
http://www.dropsens.com/en/screen_printed_electrodes_pag.html> - Acesso em: 02/05/2017.

FREITAS, J M; RAMOS, D L O; SOUSA, R M F; PAIXÃO, T R L C; SANTANA, M H P; MUNOZ, R A A; RICHTER, E M. A portable electrochemical method for cocaine quantification and rapid screening of common adulterants in seized samples. **Sensors and Actuators B**. 243, 557-565, 2017.

GARBELLINI, G S; PEDROSA, V A; SALAZAR-BANDA, G R. Metodologias eletroanalíticas para a determinação de herbicidas triazínicos por voltametria de onda quadrada e técnicas de deconvolução. **Química Nova**, 30, 2025-2034, 2007.

GROSS, R L; BRUCKER, J; BAHCE-ALTUNTAS, A; ABADI, M A; LIPOFF, J; KOTLYAR, D. BARLAND, P. PUTTERMAN, C. A novel cutaneous vasculitis syndrome induced by levamisole-contaminated cocaine. **Clinical Rheumatology**. 30, 1385-1392, 2011.

ISHIGURO, M; OCHIAI, S I M; NANBA, S. Screening of cocaine by colour test. **Report Central Customs Laboratory**. 27, 135-145, 1987.

JONG, M; SLEEGERS, N; KIM, J; DURME, F. V; SAMYN, N; WANG, J; WAEL, K. Electrochemical fingerprint of street samples for fast on-site screening of cocaine in seized drug powders. **Chemical Science**, 7, 2364-2370, 2016.

LI, M; LI, Y T; LI, D W; LONG, Y T. Recent development and applications os screen-printed electrodes in environmental assays – A review. **Analytica Chimica Acta**. 734, 31-44, 2012.

LI, Y; QI, Y. P; YANG, J; ZHANG, C. Electrogenated chemiluminescence aptamer-based biosensor for the determination of cocaine. **Electrochim. Commun**. 9, 2571-2575, 2007.

LORCH, S K. Specificity problem with the cocaine specific field test, and its solution. **Microgram**. 7, 100-101, 1974

LOURENCAO, B C; MEDEIROS, R A; THOMASIA, S S; FERREIRA, A G; ROCHA-FILHO, R C, FATIBELLO-FILHO O. Amperometric flow-injection determination of the anthelmintic drugs ivermectin and levamisole using electrochemically pretreated boron-doped diamond electrodes. **Sensors and Actuators B: Chemical Journal**. 222, 181-189, 2016.

OIYE, E N; FIGUEIREDO, N B; ANDRADE, J F; TRISTAO H M; OLIVEIRA, M F. Voltammetric determination of cocaine in confiscated samples using a cobalto hexacyanoferrate film-modified electrode. **Forensic Science International**, 192, 94-97, 2009.

OLIVEIRA, L H; PRADELA-FILHO, L A; TAKEUCHI, R M; TRINDADE, M A G. Comparação de processamentos matemáticos de dados voltamétricos: aplicação na determinação simultânea de fluoroquinolonas. **Química Nova**. 38, 1300-1306, 2015.

OLIVEIRA, L. S; POLES, A. P. S; BALBINO, M. A; MENEZES, M. M. T; ANDRADE, J. F; DOCKAL, E. R; TRISTÃO, H. M.; OLIVEIRA, M. F. Voltametric determination of cocaine in confiscated samples using a carbono paste electrode modified with diferente $[UO_2(X-MeOsalen)(H_2O)] \cdot H_2O$ complexes. **Sensors**, 13, 7668-7679, 2013.

OLIVEIRA, M. F; ALVES, J. Q; ANDRADE, J. F; SACZK, A. A; OKUMURA, L. L. Análise do teor de cocaína em amostras apreendidas pela polícia utilizando-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-Vis. **Eclét Quím**, 34, 77-83, 2009.

ONU: WORLD DRUG REPORT, 2012. Disponível em: <
http://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR2012/WDR_2012_web_small.pdf.
 > - Acesso em: 20 Mar 2016.

OSTERYOUNG, J G; OSTERYOUNG R A. Square Wave Voltammetry. **Analytical Chemistry**. 57, 101-111, 1985.

PAVLOVA, V; MIRCESKI, V; LOVRIC-KOMORSKY, S; PETROVSKA-JOVANOVIC, S; MITREVISKI, B. Studying electrode mechanism and analytical determination of cocaine and its metabolites at the Mercury electrode using square-wave voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, 512, 49-56, 2004.

PRALL J D. An additional screening test for cocaine. **Microgram**. 8, 130-135, 1975.

ROUSHANI, M; SHAHDOST-FARD, F. A novel ultrasensitive aptasensor based on silver nanoparticles measured via enhanced voltammetric response of electrochemical reduction of riboflavina as redox probe for cocaine detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**. 207, 764-771, 2015.

SADEGHI, S; FATHI, F; ABBASIFAR, J. Potentiometric sensing of levamisole hydrochloride based on molecularly imprinted polymer. **Sensors and Actuators** 122,158-164, 2007.

SHEA, J. Bioanalytical methods for quantitation of levamisole, a widespread cocaine adulterant. **Clinical Chemical Laboratory Medicine** (Review), 51, 205-212, 2013.

SILVA, T G; SALLES, M O; PAIXÃO, T R L C. Investigação do uso de eletrodo de carbono vítreo modificado com hexacianoferrato de rutênio para detecção de procaína. **Química Nova**. 38, 85-90, 2015.

SKOOG, D A; HOLLER, F J; NIEMAN, T A. **Princípios de Análises Instrumental**. Mc Graw- Hill, São Paulo, 2001.

SOUZA, D; CODOGNOTO, L; MALAGUTTI, A R; TOLEDO, R A; PEDROSA, V A, OLIVEIRA R T S, MAZO, L H; AVACA L A; MACHADO S A S. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. **Química Nova**. 27, 790-797, 2004.

SOUZA, D; MACHADO, S A S; AVACA, L A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. **Química Nova**. 26, 81-89, 2003.

STOJANOVIC, M. N; PRADA, P. D; LANDRY, D. W. Aptamer-based folding fluorescent sensor for cocaine. **Journal of the American Chemical Society**, 123, 4928-4931, 2001.

TSUJIKAWA, K; IWATA, Y T; SEGAWA, T. YAMAMURO, T; KANAMORO, T; INOUE H. Development of a new field-test procedure for cocaine. **Forensic Science International**. 260, 267-274, 2017.

TSUMURA, Y; MITOME, T; KIMOTO S. False positives and false negatives with a cocaine-specific field test and modification of test protocol to reduce false decision. **Forensic Science International**, 155, 158-164, 2005.

VIVÓ-TRUYOLS, G; TORRES-LAPASIÓ, J R; NEDERKASSEL, AM; VANDER, H Y; MASSART, D L. Automatic program for peak detection and deconvolution of multi-overlapped chromatographic signal part II: peak model and deconvolution algorithms. **Journal of Chromatography A**. 1096, 146–155, 2005.

WANG, J; TIAN, B; NASCIMENTO, V B; ANGNES, L. Performance of screen-printed carbon electrodes fabricated from different carbon inks. **Electrochimica Acta**. 43, 3459-3465, 1998.

ZUO, Y; ZHANG, K; WU, J; REGO, C; FRITZ, J. An accurate and nondestructive GC method for determination of cocaine on US paper currency. **Journal of separation Science**. 31, 2444-2450, 2008.