



UnB

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**COCAÍNA, METABÓLITOS E ADULTERANTES NO ESGOTO:
ESTRATÉGIA PARA ESTIMAR O POLIUSO DE DROGAS E O PERFIL
DE USUÁRIOS**

Katyeny Manuela da Silva

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fabríz Sodré

Brasília, DF

2018

FOLHA DE APROVAÇÃO

Comunicamos a aprovação da Defesa de Dissertação do (a) aluno (a) **Katyeny Manuela da Silva**, matrícula nº **16/0095638**, intitulada “**Cocaína, metabólitos e adulterantes no esgoto: Estratégias para estimar o poliuso de drogas e o perfil de usuários**”, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 9 de agosto de 2018.

Prof. Dr. Fernando Fabríz Sodré
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof.^a Dra. Angélica Amorim Amato
Membro Titular (FS/UnB)

Prof.^a Dra. Ingrid Távora Weber
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof.^a Dra. Andrea Donatti Gallassi
Membro Suplente (FCE/UnB)

Em 9 de agosto de 2018.

Agradecimentos

A Deus, pela vida e por tudo.

Aos meus pais, Neusa e Espedito, pelo incentivo e apoio em tudo.

À minha irmã caçula Bely, por aprender a mexer no excel para me ajudar a compilar os dados.

Ao João Pedro, vulgo *chouchou* (do francês, fofinho), *love of my life*, parceiro da vida, companheiro de aventuras, pelo amor, paciência e nunca me deixar desistir.

Ao laboratório do Professor Rafael Cela, *Institute of Research and Food Analyses*, em Santiago de Compostela na Espanha, que me fez sentir em casa durante a minha estadia.

Aos professores José Benito Quintana, Rosario Rodil e Iria González-Mariño pelo acolhimento e orientação na Espanha.

À minha chefe Cristina Brandão, por apoiar a minha capacitação e acreditar no meu potencial.

À Professora Andrea Gallassi, Coordenadora-geral do centro de referência sobre drogas e vulnerabilidades associadas (CRR/FCE/UnB), por fomentar as discussões sobre o perfil de usuário de drogas.

Ao Luciano Arantes, perito da Polícia Civil do DF, por fornecer os dados de apreensão de drogas e estar sempre trazendo novas ideias para o trabalho.

À CAESB, em especialmente, Carlos Eduardo, Ana Mota, Lucilene, por auxiliar na coleta de amostras.

À minha amiga-irmã Polye, por me ajudar com os gráficos do ArcGis.

Aos amigos do laboratório, Hadassa, Cíntia, Diogo, Guilherme, Gabriel, Felipe e muitos outros que tiveram sua contribuição nessa jornada.

Aos amigos da vida, Pri, Bela, Jacke-Tekila, Jean, Fabricio, Diego, Priscila.

Às colegas de trabalho, Sara, Carla P., Carla S. e Marci.

E finalmente, ao meu orientador, Fernando Fabríz Sodré, por toda a paciência, correções, ideias e por contribuir com a minha formação profissional e acadêmica.

Resumo

A análise do esgoto gerado por uma população, conhecida como epidemiologia do esgoto, tem fornecido informações complementares ao monitoramento do consumo de drogas. Essa ferramenta vem sendo empregada no Distrito Federal desde 2010 para estimar o consumo de cocaína. Dados anteriores mostraram que o consumo de cocaína é maior durante fins de semana, sugerindo que podem existir grupos distintos de usuários. Um dos grupos constituído por dependentes químicos que fazem uso constante da droga e outro formado por pessoas que fazem uso intermitente da droga e podem dobrar o consumo de cocaína no fim de semana. Para tentar diferenciar situações como esta, uma alternativa seria monitorar o cocaetileno (COE), um produto de metabolização da cocaína formado na presença de etanol, que pode indicar o consumo concomitante da droga com álcool. Neste contexto, o presente trabalho buscou quantificar cocaína, bem como seus metabólitos benzoilecgonina (BE) e cocaetileno, além dos adulterantes, fenacetina (FEN) e levamisol (LEV) em amostras de esgoto por SPE-LC/QTOF. Benzoilecgonina foi usada para estimar o consumo de cocaína usando um fator de correção adaptado que considera as taxas de excreção de BE para diferentes vias de administração, bem como a fração de usuários de crack no Brasil. Análises diárias indicam um maior uso de cocaína nos finais de semana, com picos no domingo nas áreas sul ($7385 \pm 121 \text{ mg dia}^{-1} 1000 \text{ hab}^{-1}$) e norte ($3566 \pm 171 \text{ mg dia}^{-1} 1000 \text{ hab}^{-1}$) de Brasília. Um alto consumo de cocaínicos também foi observado no dia do Carnaval de 2018 na região norte ($6229 \pm 219 \text{ mg dia}^{-1} 1000 \text{ hab}^{-1}$). A razão COE/BE foi usada para avaliar o consumo simultâneo de cocaína e álcool. Razões maiores também foram observados durante o final de semana. No entanto, razões mais elevadas aos sábados do que aos domingos podem ser explicadas pela diminuição da excreção de BE durante o poliúso, o que pode levar a estimativas subestimadas de uso de cocaína aos sábados, bem como por diferentes padrões de uso de pó e crack, sendo que os últimos geralmente bebem quantidades menores de álcool. Os dados de epidemiologia comparados com as apreensões sugerem que a Polícia Civil de Brasília apreendeu apenas 3% de cocaína durante o estudo. As quantidades de adulterantes de cocaína, fenacetina e levamisol no esgoto foram relacionadas às amostras de crack e cocaína apreendidas pela Polícia Federal para estimar uma prevalência numérica de consumo entre uma ou outra via de administração. Estima-se que os usuários de crack no DF sejam responsáveis por cerca de 50% dos usuários de cocaínicos. Os dados gerados contribuem para tornar a ferramenta mais robusta e completa, além de continuar fornecendo informações úteis às iniciativas de enfrentamento ao uso e ao tráfico de drogas.

Palavras-chave: consumo de cocaína, cocaetileno, epidemiologia do esgoto, drogas ilícitas, consumo recreativo de drogas.

Abstract

The analysis of target molecules in a wastewater generated by a population has provided complementary information to the monitoring of drug use. This tool, commonly known in the literature as wastewater-based epidemiology has been used in the Brazilian Federal District since 2010 to estimate the consumption of cocaine. Previously results showed that cocaine consumption doubles during weekends in Federal District suggesting the existence of different group users. One of the groups is composed of chemical dependents who constantly use drugs and the other one of intermittent users who may double cocaine consumption during the weekends. With the purpose of differentiating this kind of situation, an alternative would be monitoring the product of cocaine and alcohol metabolization called cocaethylene, which might indicate co-consumption of both substances. In this context, this work quantified cocaine, its metabolites benzoylecgonine and cocaethylene, plus its adulterants phenacetin and levamisole wastewater samples by SPE-LC/QTOF. Benzoylecgonine was used to estimate cocaine consumption using a country-tuned correction factor that considers BE excretion rates for different routes of administration as well as the fraction of crack users in Brazil. A day-to-day analysis indicates higher cocaine use in weekends with peaks on Sunday in both southern ($7385 \pm 121 \text{ mg day}^{-1} 1000 \text{ inhab}^{-1}$) and northern ($3566 \pm 171 \text{ mg day}^{-1} 1000 \text{ inhab}^{-1}$) areas of Brasilia. A significant high cocaine use was also observed in the Carnival Day of 2018 in the northern area ($6229 \pm 219 \text{ mg day}^{-1} 1000 \text{ inhab}^{-1}$). COE/BE ratios were used to assess cocaine and alcohol co-consumption since COE is produced during the polyuse of both substances. Higher ratios were also observed during the weekend. However, higher ratios on Saturdays rather than Sundays may be explained by the decrease of BE excretion during the polyuse, which may lead to an underestimation of the cocaine use estimates on Saturdays, as well as by different patterns of polyuse by powder and crack users, where the latter usually drink lower amounts of alcohol. The data compared to seized drugs suggests that the Brazilian Civil Police seized only 3% of cocaine during the study. The amounts of cocaine's adulterants, phenacetin and levamisole in the sewage were related to the crack and cocaine samples seized by the Federal Police to estimate a numerical prevalence of consumption between one or another route of administration. It has been estimated that crack cocaine users in the DF account for about 50% of cocaine users. The findings contribute to making the tool more robust and complete, as well as providing useful information for initiatives to combat drug use and trafficking.

Key-words: cocaine consumption, cocaethylene, wastewater-based epidemiology, recreational drug users, illicit drugs.

Sumário

1. Introdução	12
2. Revisão Bibliográfica	15
2.1 Drogas de abuso	15
2.1.1 Cocaína e metabólitos	16
2.1.2 Álcool e metabólitos.....	19
2.2 Adulterantes dos cocaínicos	19
2.3 Determinação de espécies de interesse no esgoto bruto.....	21
2.3.1 Amostragem	21
2.3.2 Preservação de amostras.....	22
2.3.3 Preparo de amostra	23
2.3.4 Quantificação de resíduos e metabólitos da cocaína no esgoto	24
2.4 Epidemiologia do esgoto	26
3. Parte Experimental	30
3.1 Padrões, solventes e sorventes	30
3.1.1. Utilizados no Brasil.....	30
3.1.2. Utilizados na Espanha	30
3.2 Coleta de amostras de esgoto bruto.....	30
3.3 Preparo de amostra	33
3.4 Determinação analítica	36
4. Resultados e discussões	37
4.1 Otimização de Parâmetros Instrumentais	37
4.2 Validação do método analítico	44
4.2.1 Exatidão.....	44
4.2.2 Detectabilidade.....	46
4.2.3 Seletividade	47
4.2.4 Linearidade.....	48
4.2.5 Estabilidade das espécies no esgoto	51
4.3 Quantificação dos compostos em amostras de esgoto bruto	51
4.3.1. Razão COC/BE e o consumo de cocaína	53
4.3.1.1 Estimativa de consumo por habitante e perfil semanal	55
4.3.2 Razão COE/BE e consumo concomitante de cocaína e álcool	58
4.3.3. Fenacetina e levamisol como adulterantes	59

4.4 Apreensões da polícia e epidemiologia do esgoto	64
4.5 Discussão sobre o perfil de usuário de cocaínicos no Distrito Federal	69
5. Conclusão e Perspectivas	71
6. Bibliografia.....	73

Lista de Tabelas

Tabela 1. Fatores de correção da Equação 1 a partir das rotas de administração preferenciais da região analisada.	28
Tabela 2. Características das Estações de Tratamento Sul e Norte, Caesb, 2017.....	31
Tabela 3. Volume coletado em função da vazão durante a amostragem, Caesb 2017.....	33
Tabela 4. Vazão do esgoto na entrada da estação de tratamento nos dias da coleta.	33
Tabela 5. Parâmetros de fonte do QTOF.....	38
Tabela 6. Parâmetros instrumentais do QTOF utilizados na determinação dos analitos.	39
Tabela 7. Parâmetros cromatográficos otimizados.	42
Tabela 8. Parâmetros da separação cromatográfica	43
Tabela 9. Recuperação, efeito de matriz e eficiência do método.	45
Tabela 10. Repetibilidade dada em termos de desvio padrão relativo (DPR) em três níveis de concentração.	46
Tabela 11. Limites de quantificação e detecção do método analítico.	47
Tabela 12. Razão entre as áreas geradas pelas transições MRM no solvente e nas amostras..	47
Tabela 13. Parâmetros das curvas analíticas.	50
Tabela 14. Estabilidade dos compostos estudados sob diferentes condições no esgoto bruto.	51
Tabela 15. Concentração dos analitos no esgoto bruto.	52
Tabela 16. Consumo de cocaína por habitante durante o ano fatores de correção 2,33, 3,59 e 4,19.	55
Tabela 17. Quantidade e prevalência dos adulterantes, fenacetina e levamisol, em drogas apreendidas nas capitais brasileiras.	61
Tabela 18. Concentração dos adulterantes no esgoto em 2014 (Sodré <i>et al.</i> , 2017), 2017 e dados necessários para os cálculos das Equações 6 e 7.....	62
Tabela 19. Prevalência de consumo de crack e cocaína em 2014 e 2017 por epidemiologia do esgoto e em 2012 pelo II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD).....	63
Tabela 20. Valores extremos encontrados nas apreensões individuais.	65
Tabela 21. Distribuição percentual da quantidade de droga apreendida.	65
Tabela 22. Parâmetros de Fonte do 3200 QTRAP.	86
Tabela 23. Parâmetros do equipamento otimizados para cada analito e suas respectivas transições MRM.	87
Tabela 24. Figuras de mérito do método no sistema LC-QTRAP	90

Lista de Figuras

Figura 1. Principais rotas do tráfico de cocaína no mundo entre 2011-2015. As setas de cor rosa indicam as rotas principais e de cor branca as rotas alternativas. Países de cor verde são aqueles onde o uso e tráfico de cocaína são mais relevantes (UNODC, 2017).	12
Figura 2. Tomografia por emissão de pósitrons mostrando um cérebro saudável à esquerda e cérebro de um usuário de cocaína à direita (NIDA, 2014).....	15
Figura 3. Etapas do processo de obtenção de cocaínicos (Ribeiro e Laranjeira, 2010; Toledo et al., 2017).....	17
Figura 4. Produtos de transformação e metabolização da cocaína (Adaptado de Silva, 2012).	18
Figura 5. Adulterantes encontrados em cocaínicos apreendidos em seis Estados do Brasil... 20	
Figura 6. Sorvente utilizado no cartucho de extração em fase sólida Strata-X (Torrance, CA, EUA) e seus diferentes tipos de interações com compostos polares e apolares.....	23
Figura 7. Fonte de Íons ESI-Dual (Adaptada de Agilent Technologies, 2015).	25
Figura 8. Sistema HPLC acoplado ao QTOF (Adaptada de Agilent Technologies, 2015).....	26
Figura 9. Consumo de cocaína em várias cidades por epidemiologia do esgoto.	27
Figura 10. Cobertura percentual do serviço de esgotamento sanitário por região administrativa do DF, Adasa, 2013.....	31
Figura 11. Localização das ETE Sul e Norte e suas áreas de atendimento.....	32
Figura 12. Amostrador automático (HACH, Colorado, USA) utilizado na coleta das amostras nas estações de tratamento de esgoto.	32
Figura 13. Sistema de extração dos analitos no esgoto.	34
Figura 14. Sistema de secagem de cartuchos com N ₂	35
Figura 15. Amostras sendo concentradas no aparelho TurboVap® à 40 °C e com fluxo de N ₂	35
Figura 16. Cromatograma total de íons (TIC) registrado da tela do software MassHunter (Agilent, USA).	37
Figura 17. Registro da tela do software MassHunter (Agilent, USA) de espectro de massas durante a corrida cromatográfica.....	38
Figura 18. Espectros de massas dos Cocaínicos e Adulterantes obtidos com o programa Qualitative Navigator B.08.00 (Agilent, USA).	40
Figura 19. Principal mecanismo de fragmentação dos cocaínicos em ESI. O grupo R corresponde a •COOCH ₃ para a cocaína, •COOCH ₂ CH ₃ para o cocaetileno e •COOH para a benzoilecgonina.....	41

Figura 20. Formação do fragmento 150 m/z a partir da cocaína ($\bullet\text{CH}_3$) e do cocaetileno ($\bullet\text{CH}_2\text{CH}_3$).....	41
Figura 21. Fragmentação da benzoilecgonina para a formação do fragmento 105 m/z.....	41
Figura 22. Formação do íon metilpiridínio 82 m/z a partir do fragmento 150 m/z formado a partir da cocaína e do cocaetileno, conforme Figura 19.	42
Figura 23. Cromatograma dos compostos gerados por LC-MS/MS.....	42
Figura 24. Curvas analíticas para os cocaínicos obtidas por LC-QTOF.....	49
Figura 25. Curvas analíticas para os adulterantes obtidas por LC-QTOF.	50
Figura 26. Razão COC/BE como indicador de consumo da droga nas ETE's Sul e Norte.	54
Figura 27. Estimativa de consumo de cocaína no Distrito Federal entre 2010 e 2018.	56
Figura 28. Perfil semanal do consumo de cocaína em Brasília nas duas ETE's.....	57
Figura 29. Perfil semanal de consumo de cocaína na ETE Norte em 2012 (Sodré et al., 2018) e 2017 (Este trabalho).	58
Figura 31. Razão COE/BE como indicador do consumo de cocaína com álcool.	59
Figura 32. Razões entre os adulterantes FEN e LEV encontrados no esgoto das regiões atendidas pelas ETE's Norte e Sul.	60
Figura 33. Pontos de consumo de crack no centro de Brasília (SSPDF, 2017).	61
Figura 33. Número de ocorrências mensais de uso de drogas no DF (SSP-DF,2017).....	64
Figura 34. Apreensões em quantidades que variam de 51,61 g a 2323,51 g por delegacia.	66
Figura 35. Apreensões em quantidades que variam de 0,25 g a 27,58 g por Delegacia.	67
Figura 36. Distribuição das quantidades de crack e cocaína (pó) em gramas apreendidas no Distrito Federal na semana de coleta de amostras para análise de esgoto.	68
Figura 37. Apreensão de crack e cocaína em relação à carga encontrada por epidemiologia do esgoto.	69
Figura 38. Sistema QTRAP (Adaptada de AB SCIEX, 2013).....	85
Figura 40. Curvas de calibração para os cocaínicos obtidas por LC-QTRAP.	89
Figura 41. Curvas de calibração para os adulterantes obtidas por LC-QTRAP.....	90
Figura 42. Cromatograma total de íons obtido por LC-QTRAP.....	88
Figura 43. Cromatograma de uma amostra de crack apreendida pela PCDF.	91
Figura 44. Confirmação da presença de fenacetina na amostra de crack usando NIST.	92
Figura 45. Fenacetina obtida por análise de amostras apreendidas de crack e de esgoto.	92
Figura 46. Cromatograma de uma amostra de cocaína apreendida pela PCDF.....	93
Figura 47. Confirmação da presença de levamisol na amostra de cocaína usando NIST.....	93
Figura 48. Levamisol obtido por análise de amostras apreendidas de cocaína e de esgoto.	94

Lista de símbolos, nomenclaturas e abreviações

SNC - Sistema nervoso central

LSD - Dietilamida do ácido lisérgico

MDMA - Metilenedioximetanfetamina

ADH - Hormônio Antidiurético

COC - Cocaína

BE - Benzoilecgonina

NorCOC - Norcocaína

AE – Anidroecgonina

EME – Ecgonina metil-éster

AEME - Anidroecgonina metil-éster

COE - Cocaetileno

EtS - Etil sulfato

EtG - Etil Glicuronídeo

FEN - Fenacetina

LEV - Levamisol

POCIS - *Polar Organic Chemical Integrative Samplers*

SPE - *Solid Phase Extraction* ou, em português, Extração em Fase Sólida

HPLC - *High performance Liquid Chromatography*, em português, Cromatografia líquida de alta eficiência

UPLC - *Ultra Performance Liquid Chromatography*, em português, Cromatografia líquida de ultra eficiência

HILIC - *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography*, em português, Cromatografia líquida de interações hidrofílicas

ITMS - *Ion trap mass spectrometry*, em português, Armadilha de íons

QqQ - *Triple quadrupole*, em português, Triplo quadrupolo

TOF - *Time-of-flight*, em português, Tempo de voo

EMCDDA - *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction*

DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO - Demanda Química de Oxigênio

1. Introdução

O Relatório Mundial sobre Drogas de 2017, publicado pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime estima que 1 em cada 20 adultos entre 15 e 64 anos fez uso de pelo menos uma droga ilícita em 2015 (UNODC, 2017). Ainda, sugere que 29 milhões de pessoas sofrem de algum problema de saúde relacionado ao uso de drogas, sendo que 190 mil morreram em 2015 em decorrência de algum problema relacionado às drogas (UNODC, 2017). Os dados são compilados no relatório UNODC a partir de questionários respondidos pelos países-membros sobre o quadro institucional de cada país, políticas sobre drogas, extensão e padrões de uso, cultivo e tráfico.

A maconha e as anfetaminas continuam sendo as drogas mais usadas no mundo. Entretanto, o uso de cocaína e derivados tem aumentado, de cerca de 14 milhões em 1998 para 18,8 milhões em 2014, devido principalmente ao uso na América do Sul. A Figura 1 mostra os países nos quais o consumo é mais relevante, bem como as principais rotas globais de tráfico de cocaína.

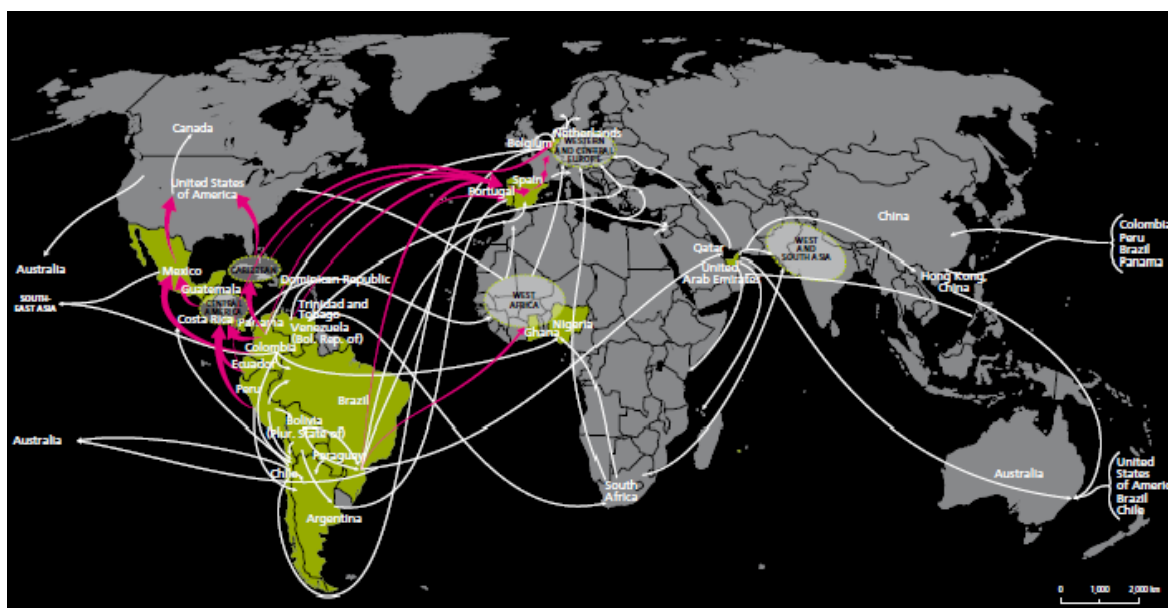


Figura 1. Principais rotas do tráfico de cocaína no mundo entre 2011-2015. As setas de cor rosa indicam as rotas principais e de cor branca as rotas alternativas. Países de cor verde são aqueles onde o uso e tráfico de cocaína são mais relevantes (UNODC, 2017).

Nota-se, na Figura 1, a importância da América Latina no tráfico e no uso de cocaína. No Brasil, segundo dados de apreensões da Polícia Federal, a maconha e a cocaína¹ foram

¹ Na forma de pasta base, crack (base livre) e cloridrato de cocaína

as drogas mais apreendidas em 2016, alcançando valores de 224,8 e 39,3 toneladas, respectivamente (Polícia Federal, 2017).

Ainda, segundo o relatório UNODC, o uso regular de cocaína *per capita* tem diminuído no mundo, enquanto o uso recreativo, ou seja, não regular, tem aumentado (UNODC, 2017). O uso recreativo de drogas, tanto ilícitas quanto lícitas, tem aumentado nos últimos anos. Esse aumento reflete também no poliuso de drogas, característico de usuários recreativos, podendo potencializar os efeitos de uma droga assim como seus danos (Karjalainen *et al.*, 2017).

O uso concomitante de cocaína com álcool, benzodiazepínicos com álcool e heroína com cocaína já são bem conhecidos (Karjalainen *et al.*, 2017). Os efeitos das drogas podem ser somados causando danos maiores tanto a curto quanto a longo prazos. A overdose e o enfarte do miocárdio estão entre as principais causas de mortes pelo uso de drogas combinadas (Caulkins and Reuter, 1996; EMCDDA, 2008; UNODC, 2017).

Os dados utilizados para a confecção de relatórios sobre drogas no mundo baseiam-se principalmente em questionários anuais e apreensões pela polícia (Botelho *et al.*, 2014; UNODC, 2017). Os questionários estão sujeitos ao viés da resposta e ao desconhecimento dos compostos realmente consumidos. Por outro lado, as apreensões só mostram parte do cenário envolvendo o uso de drogas, pois a polícia não é capaz de apreender toda a droga que circula no mercado. Uma novidade no Relatório UNODOC de 2017 foi a utilização de métodos alternativos e complementares aos tradicionais para se estimar o consumo de drogas. Dentre estes métodos, destaca-se a epidemiologia do esgoto que consiste na análise do esgoto gerado por uma população como forma de estimar o consumo de diferentes substâncias por meio de retrocálculos (UNODC, 2017). O desenvolvimento de métodos para a determinação de drogas no esgoto pode gerar estimativas empíricas, portanto mais realistas e capazes de elucidar tendências de consumo e tráfico de drogas em escalas temporais e espaciais diferenciadas em comparação aos métodos tradicionais (Baz-Lomba *et al.*, 2016; Castiglioni *et al.*, 2016; van Nuijs *et al.*, 2011).

Tendo-se em vista a necessidade de consolidar os estudos de epidemiologia do esgoto no DF e contribuir para o entendimento do perfil dos usuários de drogas, este trabalho busca quantificar cocaína, alguns de seus metabólitos e adulterantes em amostras de esgoto bruto provenientes de duas estações de tratamento de esgotos (ETE Brasília-Sul e ETE Brasília-Norte). Pela primeira vez, buscou-se quantificar o metabólito cocaetileno, produzido notadamente a partir do consumo concomitante de cocaína e álcool, de forma que seja possível, estimar o poliuso de drogas e, conseqüentemente, contribuir para identificação do

perfil de usuários. Além da cocaína e do cocaetileno, outros analitos investigados neste trabalho são a benzoilecgonina — principal metabólito dos cocaínicos e comumente empregada para se estimar o consumo da droga —, a fenacetina — fármaco adulterante predominante em amostras de crack — e levamisol — vermífugo utilizado como adulterante em amostras de cloridrato de cocaína (forma pó).

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Drogas de abuso

O conceito de drogas é bastante amplo. Podem ser diferenciadas em droga-substância e droga-produto. A droga substância é o composto ativo que se destina a fornecer atividade farmacológica, fornecer efeitos diretos no diagnóstico, cura, mitigação, tratamento e/ou prevenção de doenças ou afetar a estrutura/função do corpo humano. A droga produto é uma forma de dosagem terminada, por exemplo, comprimido, cápsula ou solução, que contém o composto ativo em associação com um ou mais ingredientes (FDA, 2017).

O termo droga de abuso é utilizado quando uma droga é consumida sem fins médicos para produzir efeitos psicológicos e/ou físicos que possam gerar vício (Will, 2005). O vício é caracterizado pela busca e uso compulsivo de drogas, apesar dos seus efeitos prejudiciais. Atualmente, o abuso de drogas é considerado uma doença mental, devido às mudanças de estrutura e funcionamento causadas no cérebro que, a longo prazo, podem levar a comportamentos prejudiciais (Volkow *et al.*, 2015). Na Figura 2 são mostradas duas imagens de tomografia por emissão de pósitrons típicas de indivíduos saudáveis e que fazem uso abusivo de cocaína.

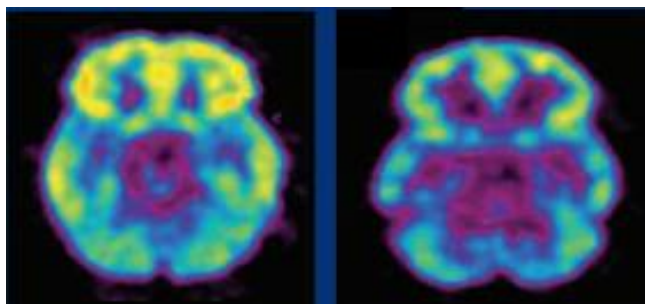


Figura 2. Tomografia por emissão de pósitrons mostrando um cérebro saudável à esquerda e cérebro de um usuário de cocaína à direita (NIDA, 2014).

Na Figura 2, o metabolismo normal é indicado pelas cores tendendo ao amarelo. Nota-se que o cérebro de um usuário de cocaína apresenta uma redução do metabolismo cerebral quando comparado ao funcionamento normal do órgão.

Outro efeito bastante comum do consumo de drogas é a dependência física. Esse efeito não é característico somente de drogas de ilícitas, mas também de drogas prescritas. A dependência física ocorre quando o corpo se adapta à droga, seja exigindo maiores quantidades para conseguir um certo efeito, também chamado tolerância, seja provocando

sintomas físicos ou mentais específicos se o uso for interrompido abruptamente (NIH, 2012). Algumas drogas, como a morfina, precisam de doses cada vez maiores para produzir seus efeitos. Nestes casos, a tolerância, muitas vezes, leva à superdosagem e, conseqüentemente, à morte (Nagi and Pineyro, 2011).

Quanto à sua ação neurológica, as drogas são classificadas em estimulantes do sistema nervoso central (SNC), depressores do SNC e perturbadores do SNC (Chalout, 1971). Como estimulantes temos, por exemplo, as anfetaminas e a cocaína. Como depressores, a heroína, o ópio, e alguns solventes e inalantes. O ácido lisérgico (LSD), o ecstasy (MDMA) e os derivados da maconha são alguns dos perturbadores do SNC (Katzung *et al.*, 2014; Nadeau and Sobolewski, 1960). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável pela publicação da Portaria SVS/MS 344/98 que estabelece a lista de substâncias entorpecentes, psicotrópicas, precursoras e outras sob controle especial.

2.1.1 Cocaína e metabólitos

A cocaína vem sendo comercializada desde o século XIX. A droga, antes permitida, foi muito comercializada na Europa e nos Estados Unidos em bebidas, chocolates e como anestésico local (Benowitz, 1993). Um dos primeiros entusiastas do uso da cocaína foi Sigmund Freud que defendia o uso de pequenas doses diárias da droga para dispepsia e depressão. Após mais de uma década defendendo o uso da cocaína, Freud desistiu da droga não somente pelos efeitos deletérios em si mesmo, mas também por ter tratado usuários de opioides, próximos a ele, que sofreram efeitos graves e morreram durante o tratamento (Cohen, 2011). Somente em 1914 o congresso americano aprovou o *Harinsson Narcostics Act* que proibia o comércio de cocaína sem fins médicos (Oliveira, 2013). Em 1921, o Brasil teve sua primeira lei de drogas que estabelecia penas para quem vender/exportar/ministrar substâncias “venenosas” sem legítima autorização ou prescrição. Entre essas substâncias, estavam a cocaína, o ópio e a morfina (Brasil, 1921). Desse momento em diante, o Brasil criou diversas leis de criminalizações de drogas, repressão ao tráfico, políticas de prevenção e recuperação de usuários (Boiteux, 2006; Oliveira, 2013).

A cocaína é extraída de duas espécies de coca chamadas *erytroxylum novogranatense* e *erytroxylum coca*. As espécies são cultivadas geralmente nos Andes e também em algumas regiões da floresta Amazônica (Negrete, 1992).

Pode-se dividir os cocaínicos em forma base, que são chamados de crack, merla e oxi e forma sal/pó que é quimicamente conhecida como cloridrato de cocaína. A cocaína é

normalmente obtida em laboratórios clandestinos (Polícia Federal, 2017). Um dos procedimentos utilizados para a extração e purificação da cocaína é apresentado na Figura 3.

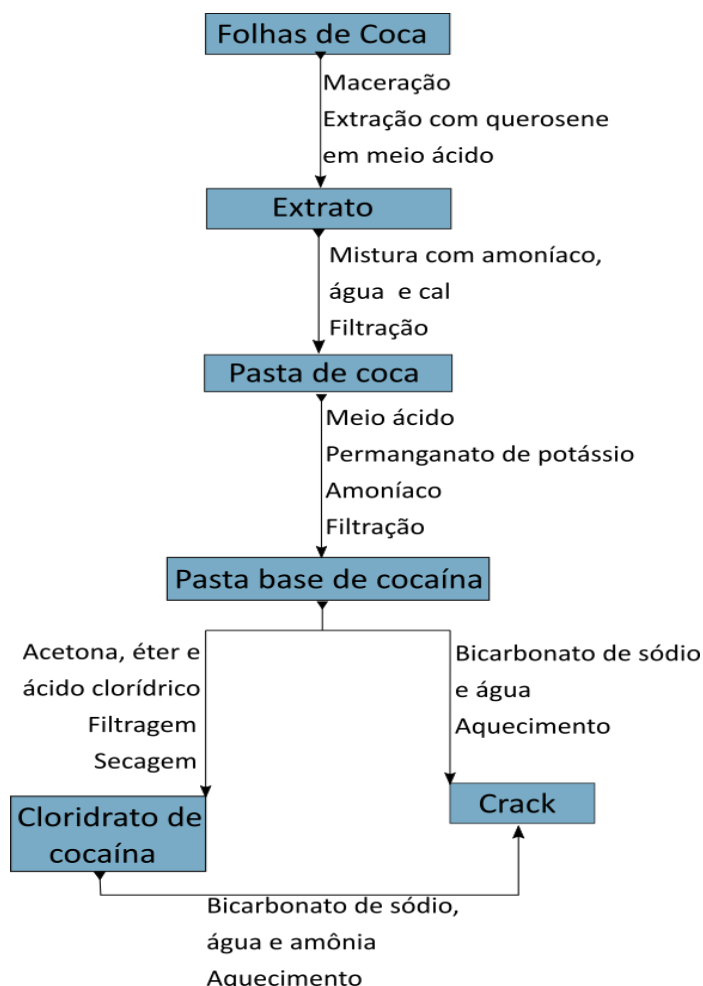


Figura 3. Etapas do processo de obtenção de cocaínicos (Ribeiro e Laranjeira, 2010; Toledo *et al.*, 2017).

As folhas de coca são secas ao sol, prensadas e pisoteadas. Em seguida, adiciona-se querosene e ácido sulfúrico, neste momento uma solução com baixa pureza de cocaína é formada (Extrato). A cocaína assume diferentes formas dependendo do procedimento aplicado ao extrato (Botelho *et al.*, 2014; Negrete, 1992).

A cocaína é normalmente administrada por via pulmonar na forma base, pois é mais volátil, vaporizando-se ao ser minimamente aquecida. Enquanto que na forma de sal, ela é administrada via intranasal, pois é muito bem absorvida pelas mucosas nasais (Ribeiro e Laranjeira, 2010). A Figura 4 mostra os diferentes metabólitos gerados pela administração de cocaína.

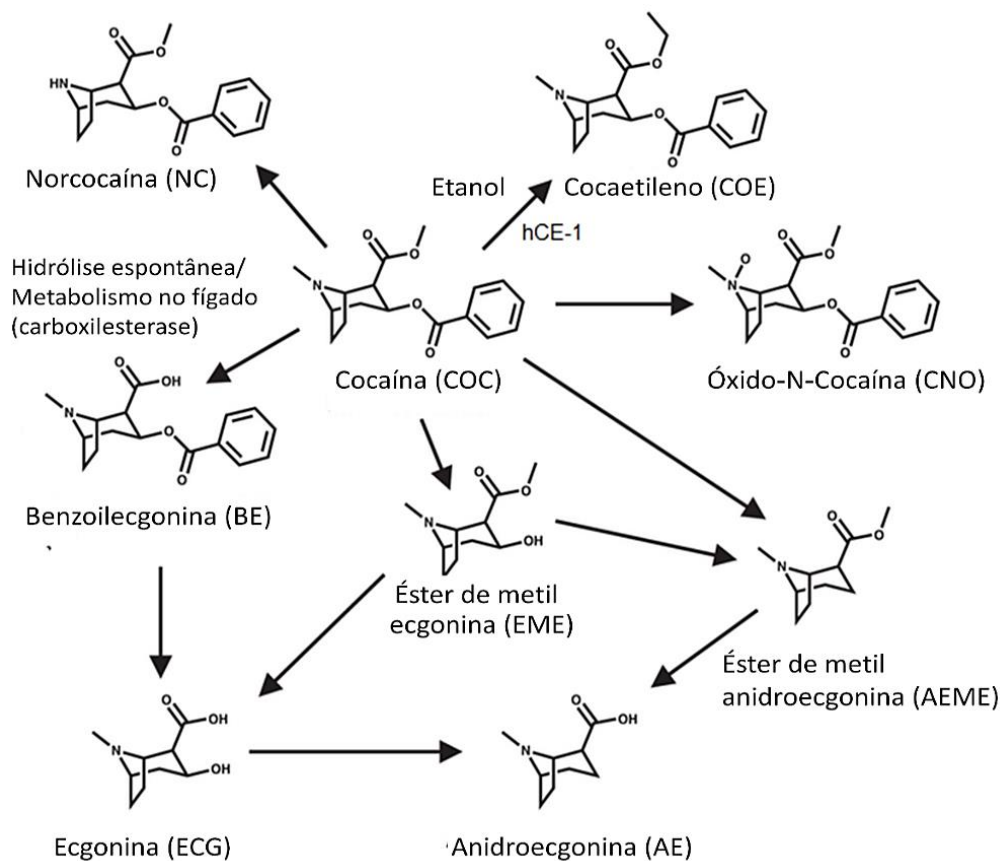


Figura 4. Produtos de transformação e metabolização da cocaína (Adaptado de Silva, 2012).

Ao entrar na corrente sanguínea, a cocaína sofre hidrólise mediada por colinesterase e no fígado por carboxilesterase. Os principais metabólitos gerados são o éster de metil ecgonina (EME) \cong 45%, e a benzoilecgonina (BE) \cong 29%. Há também formação de norcocaína (NC) \cong 5% por desmetilação da cocaína (Castiglioni *et al.*, 2006; Silveira *et al.*, 2016). Se a cocaína for administrada via aquecimento, há formação considerável do metabólito éster de metilanidroecgonina (AEME), que é em seguida metabolizado através da clivagem enzimática e da hidrólise química espontânea para formação da anidroecgonina (AE) (Sodré *et al.*, 2017). Esta é uma característica que permite, preliminarmente, diferenciar usuários de crack e de cocaína na forma inalada (Fiorentin *et al.*, 2017). Quando a cocaína é consumida conjuntamente com bebidas alcoólicas, os níveis plasmáticos de cocaína e norcocaína aumentam, a quantidade de benzoilecgonina diminui e um novo metabólito é formado; cocaetileno (COE), por um mecanismo de transesterificação mediado por ação enzimática de carboxilesterase (hCE1) (Bermejo *et al.*, 2006; Occupati *et al.*, 2017; Wilson and French, 2002).

2.1.2 Álcool e metabólitos

O álcool é uma função orgânica característica por possuir grupos hidroxila (-OH). O etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) é o álcool mais conhecido, justamente por ser usado como combustível, em perfumes e bebidas alcoólicas.

Pequenas quantidades diárias de álcool podem diminuir o risco de doenças cardiovasculares e a até a perda cognitiva em pessoas idosas (Ruitenbergh *et al.*, 2002; Stampfer *et al.*, 2005). Entretanto, o consumo de álcool deve ser visto com cautela por não se saber a quantidade ideal para que não seja prejudicial (Ferrieres, 2004). Trabalhos recentes têm mostrado a influência do álcool no desenvolvimento de cirrose, diabetes, câncer de mama e próstata (Scappaticcio *et al.*, 2017). Adicionalmente, estima-se que 30% das pessoas internadas em hospitais apresentam problemas coexistentes devido ao consumo de álcool (Cherpitel *et al.*, 2017; Donovan *et al.*, 2006).

O etanol é um depressor do sistema nervoso central que em baixas quantidades promove sensação de bem-estar e leve euforia (Donovan *et al.*, 2006). Após a ingestão, o etanol sofre rápida absorção pelo trato gastrointestinal. A maior parte do álcool é oxidado no fígado e uma menor parte é metabolizada por vias não-oxidativas no pâncreas. A principal via de metabolismo do álcool envolve as enzimas álcool desidrogenase e aldeído desidrogenase nos hepatócitos, que convertem o etanol a acetaldeído e posteriormente a ácido acético (Sandoval *et al.*, 2017). O etil glicuronídeo (EtG) e o etil sulfato (EtS) são metabólitos diretos da degradação não-oxidativa do álcool, no entanto sua excreção é limitada a menos de 0,1% (Andres-Costa *et al.*, 2016; Crunelle *et al.*, 2014; Mastroianni *et al.*, 2014).

2.2 Adulterantes dos cocaínicos

Há dois tipos de substâncias que são adicionadas à droga: os adulterantes e os diluentes. Os adulterantes são adicionados para imitar ou adicionar novos efeitos à droga, enquanto que os diluentes são adicionados para aumentar o volume da droga (Cole *et al.*, 2011). Os adulterantes mais comuns da cocaína no Brasil são: benzocaína, cafeína, fenacetina, lidocaína, levamisol e paracetamol (Botelho *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2017).

A benzocaína e a lidocaína são anestésicos locais, acredita-se que podem imitar os efeitos da cocaína. A cafeína é outro adulterante bastante comum, encontrado em vários fármacos e bebidas, presente no cotidiano das pessoas como diurético e estimulante

(Conceição *et al.*, 2014). A fenacetina (FEN) é um analgésico e antitérmico que foi retirado do mercado por apresentar nefrotoxicidade (Brasil, 2010). É bastante utilizada como adulterante por prolongar o efeito da cocaína. A fenacetina também é utilizada como diluente, conferindo um aspecto mais cristalino ao crack, que os usuários associam à pureza (Conceição *et al.*, 2014; de Souza *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2017). O paracetamol, analgésico amplamente usado no mundo, é um metabólito não tóxico da fenacetina (Brasil, 2010; Katzung *et al.*, 2014). O levamisol (LEV) é um anti-helmíntico de uso veterinário e apresenta grande toxicidade para humanos, incluindo a indução de leucoencefalopatia (Chang *et al.*, 2010; Graebner, 2012). O levamisol é metabolizado a aminorex no organismo, um medicamento anoréxico, que é classificado como uma substância semelhante às anfetaminas (Chang *et al.*, 2010). Segundo Hofmaier *et al.*, 2014, enquanto o levamisol em si tem apenas efeitos moderados sobre os transportadores de neurotransmissores, seu metabólito aminorex pode exercer efeitos psicoestimulantes tão potentes quanto os da cocaína, sendo esse, o motivo da adição de levamisol à cocaína. O levamisol, apesar da sua toxicidade, diferente de países como EUA e Canadá, ainda é permitido no Brasil para humanos e animais (ANVISA, 2012; Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda., 2013).

Na Figura 5 são vistos alguns dos estados do Brasil onde a cocaína já foi estudada e sua pureza determinada.

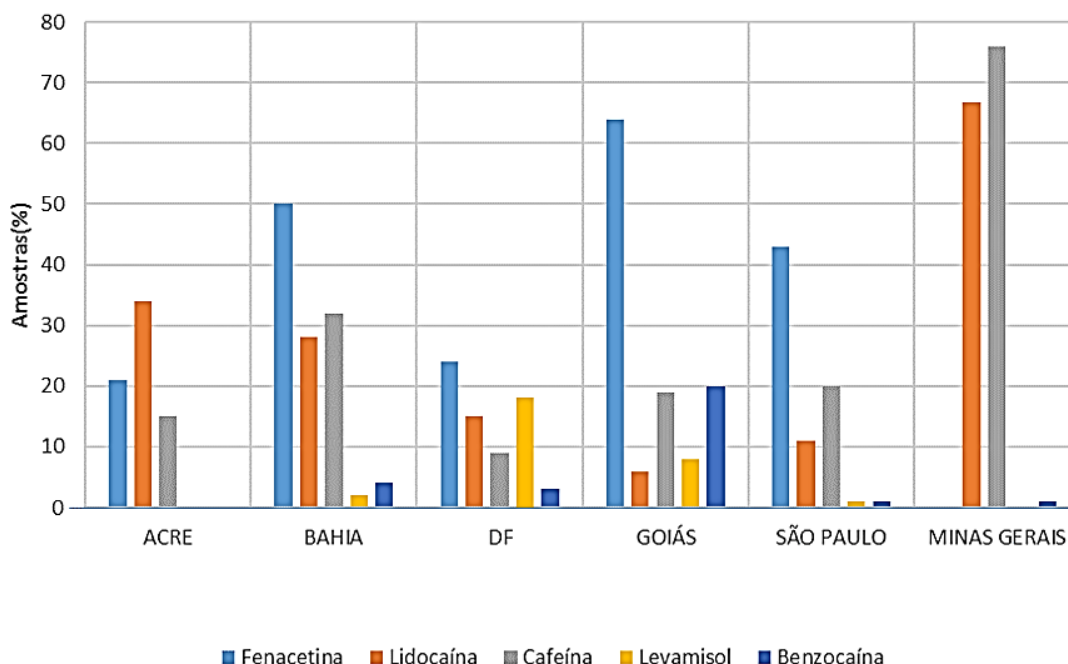


Figura 5. Adulterantes encontrados em cocaínicos apreendidos em seis Estados do Brasil.

No Distrito Federal, fenacetina, levamisol, cafeína e lidocaína são os adulterantes mais encontrados em amostras apreendidas pela Polícia Federal (Goulart Júnior, 2012). No Estado de São Paulo a maior parte das amostras de cocaína apreendidas estão na forma base, ou seja, crack, e seu principal adulterante é a fenacetina. No Distrito Federal, o principal adulterante do cloridrato de cocaína é o levamisol, enquanto que o do crack é a fenacetina, assim como em São Paulo (Duailibi *et al.*, 2008; Maldaner *et al.*, 2016).

2.3 Determinação de espécies de interesse no esgoto bruto

O esgoto é uma matriz extremamente complexa por conter diversos tipos de compostos orgânicos, inorgânicos e micro-organismos (Baker *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2015). Entretanto, os avanços na tecnologia instrumental levaram a uma condição na qual a análise de matrizes ambientais alcançou novos e mais altos patamares. Atualmente, é possível isolar espécies moleculares e atômicas em amostras de solo, ar, esgoto e rios em níveis de concentração na ordem de dezenas de nanogramas por litro e amostra (Castiglioni *et al.*, 2014, 2006; Rodayan *et al.*, 2016).

2.3.1 Amostragem

A amostragem é a primeira etapa da parte experimental, e por isso deve ser feita com bastante planejamento. Ela envolve o conhecimento da região onde a amostra será coletada e das suas redondezas. O objetivo principal é a coleta de uma amostra representativa do todo (Castiglioni *et al.*, 2013).

Existem basicamente três tipos de erros nesta etapa:

- 1) Erro de amostragem: ocorre porque não é possível analisar a totalidade da área, quantidade insuficiente de amostra;
- 2) Erro de seleção dos locais: derivam da retirada de amostras não representativas da região;
- 3) Erros analíticos: podem resultar da manipulação, do recipiente de coleta, da estocagem, do preparo e da técnica analítica.

Levando em consideração os três tipos de erros citados, pode-se fazer um planejamento adequado para a etapa de amostragem (Filizola, 2006).

A frequência de amostragem é essencial para análise do consumo de drogas, pois a vazão do esgoto apresenta variações durante o tempo. Para contornar esse fato, a maioria

dos trabalhos utiliza a frequência amostral acumulada durante 24 horas, 12 horas ou 6 horas, dependendo da finalidade do trabalho. A amostra também pode ser coletada durante diferentes dias da semana/mês/ano para verificar variações em curtos e longos períodos (van Nuijs *et al.*, 2011).

O EMCDDA, 2016 sugere um protocolo de amostragem para que haja concordância entre os trabalhos. A amostra deve ser coletada durante 24 horas, considerando a vazão do afluente e pode ser armazenada em garrafas PET ou de vidro. Sugere-se também que parâmetros adicionais sejam coletados, como pH, DBO, DQO, nutrientes (P, N) e temperatura. Os parâmetros de DBO, DQO e nutrientes podem ser utilizados para estimativas da população atendidas pela estação de tratamento de esgoto. O pH e a temperatura podem ser utilizados para estudos de estabilidade dos analitos nas condições da matriz (Been *et al.*, 2014; Castiglioni *et al.*, 2013).

2.3.2 Preservação de amostras

A preservação de amostras deve começar desde a coleta. A cocaína e seus metabólitos sofrem bastante degradação, por isso a amostragem é normalmente feita em até 24 horas (van Nuijs *et al.*, 2011). Castiglioni *et al.*, 2016 analisaram a estabilidade da cocaína, benzoilecgonina, morfina e outras drogas em esgoto durante 3 dias à 4°C. A concentração de cocaína, norcocaína e cocaetileno diminuíram de 36, 15 e 13%, respectivamente. Enquanto que a concentração de benzoilecgonina aumentou 14%.

Levando em consideração a degradação da cocaína, a maioria dos trabalhos mantém as amostras no escuro a 4°C e a determinação analítica é feita em até 3 dias. Enquanto que se a amostra não for analisada em 3 dias, elas devem ser mantidas a -20°C (Castiglioni *et al.*, 2013). Alguns trabalhos também têm mostrado que a acidificação da amostra ajuda na estabilização da cocaína e benzoilecgonina (Gheorghe *et al.*, 2008; Sodré *et al.*, 2018). Sodré *et al.*, 2018 fizeram alguns testes com as seguintes condições de preservação dos analitos na amostra:

- 1) Sem tratamento;
- 2) Filtração com membrana de 0,45 µm de poro;
- 3) Filtração com membrana de polietersulfona (PES) com 0,22 µm de poro;
- 4) Acidificação a pH 2 com ácido clorídrico 50%;
- 5) Filtração com membrana de acetato de celulose com 0,45 µm de poro seguida de acidificação a pH 2;

- 6) Adição de azida de sódio NaN_3 (0,2 % m/v);
- 7) Adição de formaldeído (5 % v/v) e
- 8) Extração em fase sólida e armazenamento do cartucho de extração antes da eluição das substâncias de interesse.

Os testes mostraram que a melhor condição para armazenar a amostra é a acidificação a pH 2,0 do esgoto bruto (4) (Sodré *et al.*, 2018). Gonzalez-Marino *et al.*, 2010, analisaram a estabilidade de várias drogas, incluindo BE e COC. Todas as espécies mostraram-se estáveis durante três meses quando armazenadas a -20°C em cartuchos de extração em fase sólida (SPE) com sorvente de equilíbrio hidrofílico-lipofílico (HLB) (Gonzalez-Marino *et al.*, 2010).

2.3.3 Preparo de amostra

A preparação da amostra é essencial, não somente por se tratar de uma amostra extremamente complexa, mas também pelo fato de os analitos encontram-se em nível traço, na faixa de ng L^{-1} .

O método mais empregado é a filtração preliminar da amostra com membranas de 1,2 μm e 0,45 μm , seguido de extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) que requer um volume de amostra entre 50 e 1000 mL. Os cartuchos mais utilizados são os formados com um copolímero contendo grupos funcionais hidrofílicos e lipofílicos, que garantem a extração de espécies com polaridades diferentes (Tang *et al.*, 2016). A Figura 6 mostra o sorvente utilizado no cartucho de SPE deste trabalho.

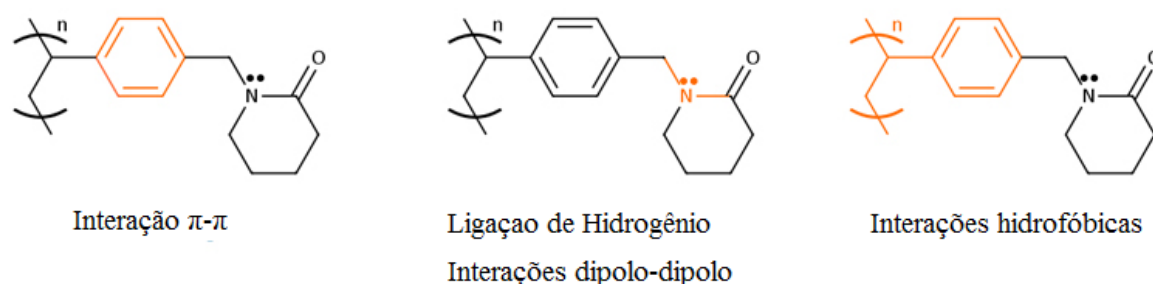


Figura 6. Sorvente utilizado no cartucho de extração em fase sólida Strata-X (Torrance, CA, EUA) e seus diferentes tipos de interações com compostos polares e apolares.

O método SPE pode também ser feito *on-line*, utilizando quantidades menores de amostra. Entretanto, a técnica *on-line* é mais cara e não apresentou boa reprodutibilidade (Castiglioni *et al.*, 2013; Yao *et al.*, 2016). Atualmente, tem-se usado também o amostrador

integrativo de compostos orgânicos polares (POCIS, do inglês *Polar Organic Integrative Samplers*). O POCIS utiliza os mesmos sorventes SPE entre duas membranas microporosas e são expostos durante um período no ambiente (Sánchez-gonzález *et al.*, 2016). O aspecto negativo é que a taxa de amostragem fica indefinida, além de dificultar o controle de saturação das membranas (van Nuijs *et al.*, 2011).

2.3.4 Quantificação de resíduos e metabólitos da cocaína no esgoto

Os analitos a serem determinados encontram-se em nível traço e dissolvidos em uma matriz bastante complexa que possui um número incontável de compostos com características semelhantes. Faz-se necessário o uso de técnica extremamente sensível e com limites de detecção e quantificação extremamente baixos. A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas é a técnica mais adequada para este tipo de análise por promover baixos limites de detecção e alta seletividade (Rees *et al.*, 2012; Tarcomnicu *et al.*, 2011).

A maioria dos trabalhos cita o uso de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*), seguida da cromatografia líquida de ultra performance (UPLC, do inglês *ultra performance liquid chromatography*). A cromatografia gasosa também é relatada, entretanto, uma etapa adicional torna-se necessária; a derivatização dos compostos para que eles se tornem mais voláteis (Alves *et al.*, 2017; Bermejo *et al.*, 2006; Heuett *et al.*, 2015).

A cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas necessita de uma técnica adicional para a transformação da amostra de fase líquida para fase gasosa, uma vez que a análise no espectrômetro de massas é à vácuo. Na Figura 7 é apresentado um sistema de ionização à pressão atmosférica chamado ESI-Dual, do inglês *electrospray dual ionization*, que é utilizado como interface entre o cromatógrafo líquido e o espectrômetro de massas deste trabalho.

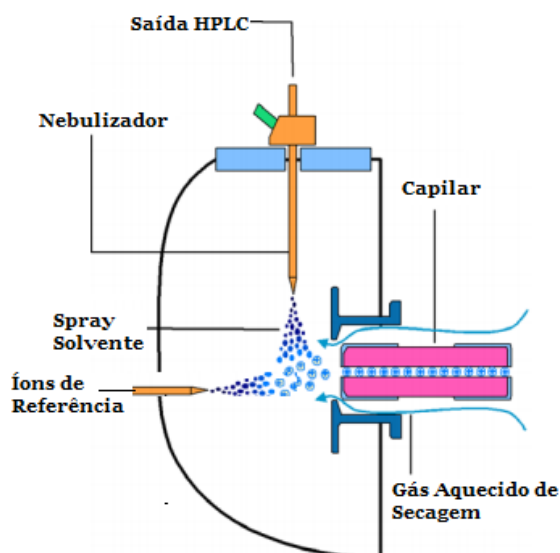


Figura 7. Fonte de íons ESI-Dual (Adaptada de Agilent Technologies, 2015).

Os compostos nebulizados na saída do HPLC entram em uma região de campo elétrico bastante forte e entram em contato com um gás neutro de secagem (GS) para que ocorra a ionização das moléculas. As moléculas carregadas entram no capilar e são direcionadas para o analisador de massas, assim como os íons de referência, que calibram o equipamento ao mesmo tempo em que a análise ocorre.

Os analisadores de massas mais utilizados para quantificação em nível traço são: o triplo quadrupolo (QqQ, do inglês *triple quadrupole*), a armadilha de íons (IT, do inglês *ion trap*) e o tempo de voo (TOF, do inglês *time of flight*). O QqQ é ainda o mais utilizado por sua grande sensibilidade, entretanto o TOF está ganhando espaço por permitir análises mais exatas (Bade *et al.*, 2015; Gonzalez-Marino *et al.*, 2016; Ibanez *et al.*, 2014). O analisador de massas QTOF, do inglês, *hybrid quadrupole-time of flight*, possui alta resolução e acurácia de massas, sendo capaz de identificar compostos com base em suas massas exatas e distribuições isotópicas, o que implica em uma melhor identificação (Gonzalez-Marino *et al.*, 2016; Rodríguez-Álvarez *et al.*, 2014). Na Figura 8 o sistema QTOF é apresentado.

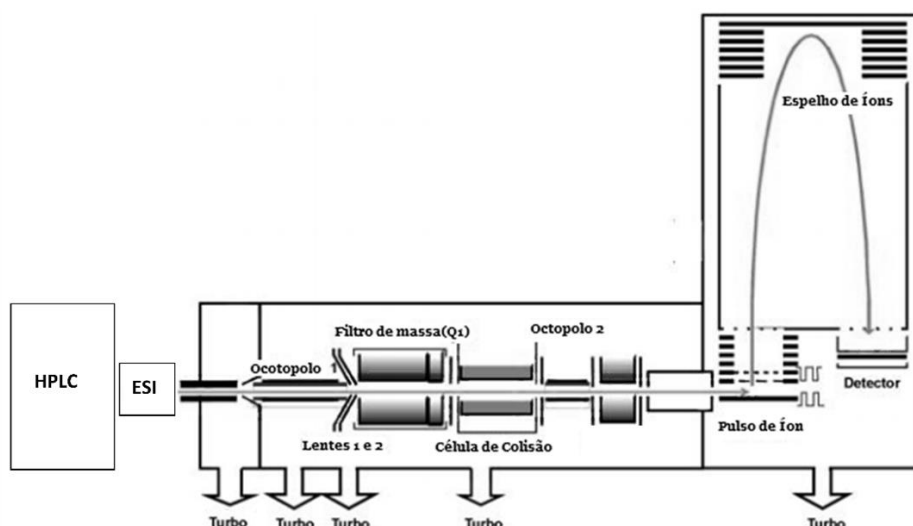


Figura 8. Sistema HPLC acoplado ao QTOF (Adaptada de Agilent Technologies, 2015).

O primeiro quadrupolo atua como filtro de massas, selecionando o íon precursor. Os octopolos são utilizados para focalizar os íons. O íon precursor segue para a célula de colisão, um hexapolo onde os fragmentos são gerados e finalmente seguem para o analisador de tempo de voo. No TOF, os íons são acelerados, refletidos (espelho de íons) e detectados em uma placa de microcanal onde há amplificação do sinal elétrico. A região de vácuo aumenta no sentido da esquerda para a direita da Figura 8, pois o fluxo de gás deve ser muito baixo para não haver colisão de íons e assim prejudicar a exatidão da análise.

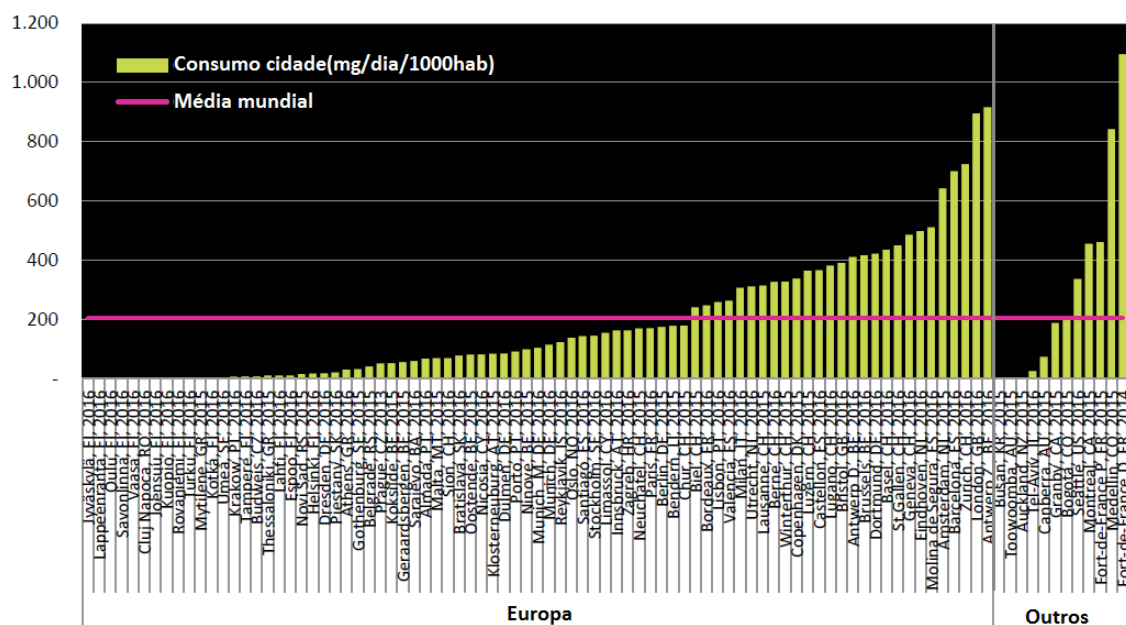
2.4 Epidemiologia do esgoto

Nos últimos anos, a análise de esgoto gerado por uma população tem fornecido informações complementares ao monitoramento do consumo de drogas, estilo de vida e saúde pública (Ryu *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2015). Desde o primeiro trabalho para a determinação do consumo de cocaína na Itália (Zuccato *et al.*, 2005), os estudos de epidemiologia do esgoto têm avançado significativamente. Atualmente, inúmeras outras drogas de abuso já foram quantificadas e muitas já estão bem estabelecidas, como: cocaína, ecstasy, metanfetamina e maconha (Gracia-Lor *et al.*, 2017). Mesmo as novas drogas psicoativas (NP's), que estão presentes em baixíssima concentração já foram detectadas no esgoto (Gonzalez-Marino *et al.*, 2016). Segundo definição do UNODC, 2017, as NP's são moléculas sintetizadas, principalmente com fins ilícitos, para não serem afetadas por medidas de controle nacional e internacionalmente aplicadas às substâncias já controladas,

das quais derivam ou mimetizam os efeitos, como as feniletilaminas, os canabinoides sintéticos e as catinonas sintéticas.

Álcool, cigarro e cafeína também estão incluídos na epidemiologia do esgoto, podendo trazer informações sobre o estilo de vida e hábitos de uma população (Andres-Costa *et al.*, 2016). Outros biomarcadores utilizados são os fármacos, adoçantes sintéticos, pesticidas, plastificantes, entre outros, que podem trazer informações sobre venda ilegal de fármacos, uso indiscriminado de antibióticos, exposição a compostos tóxicos, etc (A Causanilles *et al.*, 2017; Hernandez *et al.*, 2015; Rousis *et al.*, 2017).

Em trabalho pioneiro no país, conduzido pelo grupo de pesquisa AQQUA, da UnB, estimou-se o consumo de cocaína no Distrito Federal (DF) em cerca de $1080 \text{ mg dia}^{-1} 1000\text{hab}^{-1}$. Calculou-se, a partir da carga da droga no esgoto e o número de habitantes, que mais de uma tonelada da droga é consumida por ano na região (Maldaner *et al.*, 2012). Em 2012, foi estimada a cocaína consumida na região atendida pela ETE Norte de Brasília durante uma semana e foi identificado praticamente o dobro do consumo da droga aos finais de semana (Silva, 2012). Dois anos depois, durante a Copa do Mundo de 2014, foram feitas coletas nas regiões atendidas pelas estações de tratamento Sul e Norte de Brasília e foi estimado um consumo 25% maior de cocaína durante os eventos festivos em comparação aos dias normais (Sodré *et al.*, 2017). A Figura 9 mostra o consumo de cocaína em várias cidades da Europa, onde a epidemiologia do esgoto é bastante utilizada, e de outras cidades do mundo.



Fonte: Sewage Analysis CORE Group Europe (SCORE).

Figura 9. Consumo de cocaína em várias cidades por epidemiologia do esgoto.

O valor encontrado no DF de mais de 1000 mg dia⁻¹ 1000hab⁻¹ está na faixa do encontrado nas cidades da América Latina, representados na Figura 9 como Medellín, Colômbia e Fort de France, Martinica.

O cálculo empregado para se estimar o consumo de uma droga (C) é mostrado na Equação 1.

$$C = \frac{c \times Q_V \times f}{hab} \quad (1)$$

A Equação 1 baseia-se na concentração da substância alvo no esgoto (c , em mg L⁻¹), na vazão volumétrica do esgoto que aflui em uma estação de tratamento de esgoto (ETE) (Q_V , em L dia⁻¹), em um fator de correção (f) relativo à proporção da droga metabolizada e excretada após o uso e no número de habitantes (hab) atendidos pela ETE (Feitosa *et al.*, 2013).

A quantidade de cocaína (COC) consumida pode ser estimada multiplicando a massa de seu principal metabólito, a benzoilecgonina (BE) pelo fator f relativo à proporção da COC metabolizada à BE. O fator de correção f depende da rota de administração e pode ser diferente dependendo da preferência dos usuários de uma região. A Tabela 1 mostra os diferentes valores de fator de correção f encontrados e o proposto neste trabalho.

Tabela 1. Fatores de correção da Equação 1 a partir das rotas de administração preferenciais da região analisada.

Rota de administração preferencial (%)				Taxa de excreção* (%)	Razão Molar (COC/BE)	Fator de correção f	Referência
Intranasal	Fumada	Injetada	Oral				
100				45	1,05	2,33	Zuccato <i>et al.</i> , 2005
100				35	1,05	3,00	EMCDDA, 2008
95	4	2		29,2	1,05	3,59	Castiglioni <i>et al.</i> , 2013
25	75			18,5	1,05	5,67	Devault <i>et al.</i> , 2014
70	30			25	1,05	4,19	Sodré <i>et al.</i> , 2018

* Taxa de excreção ponderada na urina pelas rotas de administração.

O primeiro valor proposto considera a cocaína consumida por via intranasal, em que 45% de toda COC é excretada na urina na forma de BE. Dividindo a razão das massas moleculares de COC/BE (303/289) por 0,45 chegamos ao valor de f aproximadamente 2,33, que relaciona o metabólito com o composto originalmente consumido (van Nuijs *et al.*, 2011). Mais recentemente, o fator f foi reformulado para 3,59, uma vez que foi desenvolvido considerando uma grande quantidade de dados farmacocinéticos para ingestão da cocaína,

seja por forma intranasal (29,4%), intravenosa (37,4%), oral (55%) ou fumada (14,8%). Os valores foram ponderados por dados epidemiológicos de questionários sobre a preferência de forma de consumo na Europa (95% cocaína intranasal), chegando ao valor de 29,2% de BE na urina (Castiglioni *et al.*, 2013). Devault *et al.*, 2014, proporam o fator de excreção na urina de 18,5% ponderado para a região de Martinica, território francês no Caribe, onde acredita-se haver consumo preferencial de crack (75%). O fator de 4,19 proposto nesse trabalho utiliza os fatores de excreção na urina de Castiglioni *et al.*, 2013 e é ponderada pela prevalência de consumo no Brasil por pesquisas à partir de questionários domiciliares, sendo 70% inalada e 30% fumada (Abdalla *et al.*, 2014).

Para a determinação do álcool, os biomarcadores utilizados são o Etil Glucoronídeo (EtG) e o Etil Sulfato (EtS), provenientes da metabolização não-oxidativa do etanol. O EtG não tem se mostrado estável no esgoto, entretanto o EtS é bastante estável e tem sido utilizado em inúmeros estudos para determinar o consumo de álcool de uma população. Em relação ao políuso de drogas, o cocaetileno já foi utilizado em estudos de epidemiologia do esgoto para comparar o uso de cocaína com álcool em duas cidades europeias. Os estudos mostraram uma maior quantidade de cocaetileno durante os finais de semana e em cidades mais urbanizadas (Rodríguez-Álvarez *et al.*, 2015).

A determinação de adulterantes de drogas no esgoto pode ser uma alternativa para estimar o padrão de consumo de cocaínicos, pois parte dos adulterantes, como fenacetina e levamisol não são amplamente utilizados em ambiente urbano e sua grande quantidade no esgoto pode estar relacionada ao consumo de drogas. Adicionalmente, utilizar as relações entre os adulterantes encontrados no esgoto (FEN e LEV) podem nos dar informações sobre as os diferentes padrões de uso de cocaína, seja através da forma base ou cloridrato (Sodré *et al.*, 2017).

3. Parte Experimental

Este trabalho foi colaborativo e envolveu a coleta e preparo de amostras no Brasil e parte das análises dos extratos na Espanha. As análises foram feitas no *Institute of Food Analysis and Research* da Universidade de Santiago de Compostela sob a supervisão do Professor Pesquisador José B. Quintana e da Pesquisadora Iria González-Mariño.

3.1 Padrões, solventes e sorventes

3.1.1. Utilizados no Brasil

Ácido clorídrico (37%) adquirido da Dinâmica Química (Diadema, SP, BR). Metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN) grau HPLC foram adquiridos da Tedia (Fairfield, OH, EUA). Água ultrapura foi obtida purificando-se água destilada em um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). Cartuchos de extração em fase sólida StrataX®, contendo como sorvente uma fase polimérica com grupos hidrofílicos e lipofílicos de 200 mg, adquiridos da Phenomenex (Torrance, CA, EUA).

3.1.2. Utilizados na Espanha

Cocaína (COC), cocaetileno (COE), benzoilecgonina (BE) e seus análogos deuterados foram adquiridos da empresa Cerilliant (Round Rock, EUA) em soluções de acetonitrila (ACN) ou metanol (MeOH) 1,0 mg mL⁻¹ para os padrões e 0,1 mg mL⁻¹ para os padrões deuterados. Levamisol (LEV) foi adquirido de Sigma (St. Louis, USA) e a fenacetina (FEN) da empresa TCI Chemical (Tóquio, Japão). MeOH e ACN grau HPLC, ácido fórmico 98-100%, ácido clorídrico (37%) foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Água ultrapura também foi obtida em um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA).

3.2 Coleta de amostras de esgoto bruto

O DF possui uma das maiores coberturas de saneamento do Brasil, quase 90% das residências possuem redes de esgotamento adequadas que chegam até a estação de tratamento (IBGE, 2010), conforme visto na Figura 10. Pode-se assim, considerar que a

amostras de esgoto coletadas estão diretamente ligadas com a população atendida pela estação.

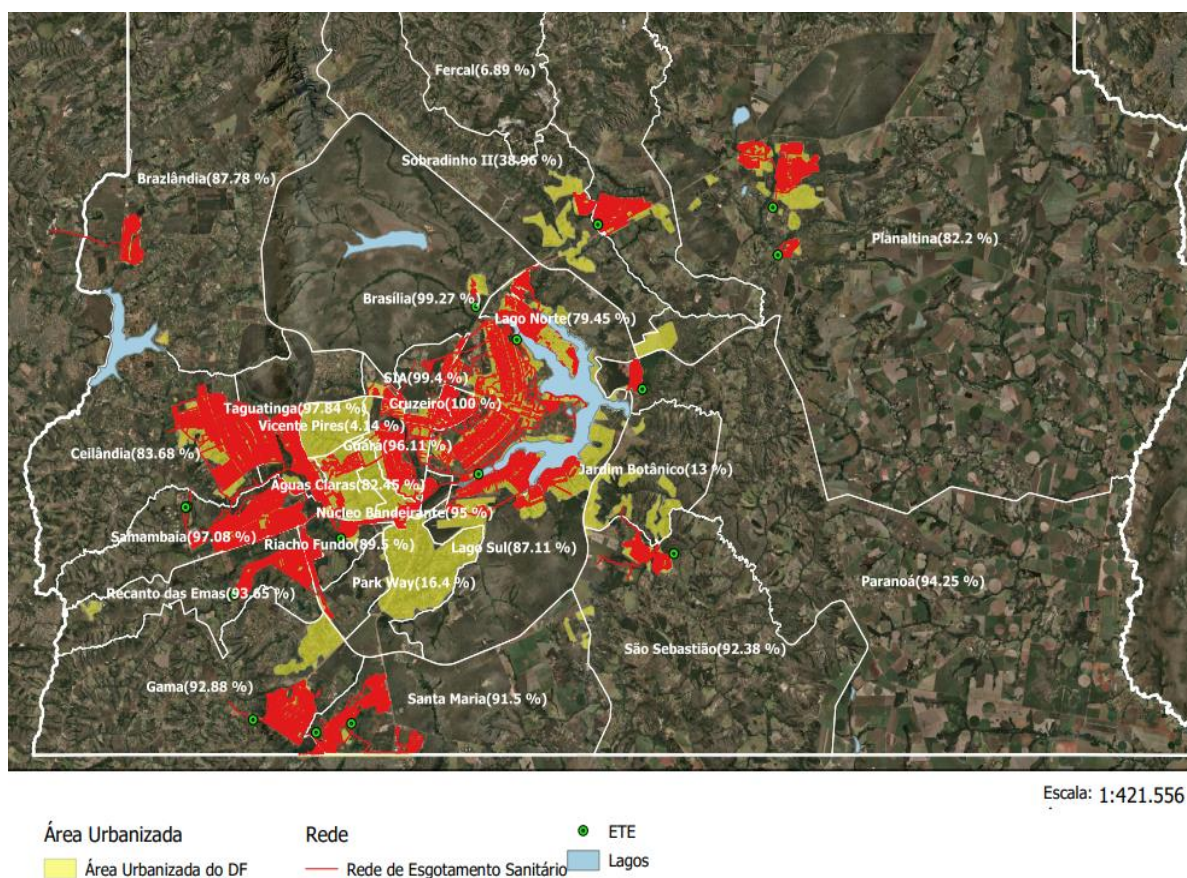


Figura 10. Cobertura percentual do serviço de esgotamento sanitário por região administrativa do DF, Adasa, 2013.

A Tabela 2 mostra as cidades atendidas pelas estações de tratamento Norte e Sul, onde as coletas foram realizadas.

Tabela 2. Características das Estações de Tratamento Sul e Norte (CAESB, 2018).

ETE	Vazão Média (L s ⁻¹)	Área de atendimento (cidades)	População atendida
Sul	1319	Asa Sul, Parte do centro de Brasília, Núcleo Bandeirante, Guará I e II, Cruzeiro, Octogonal, Sudoeste, Lago Sul (parte), Riacho Fundo (QN1), SIA, Águas Claras (parte), Candangolândia, cidade do Automóvel e setor de inflamáveis.	525.055
Norte	450	Asa Norte, Vila Planalto, Parte do centro de Brasília, Lago Norte, Taquari, Estrutural, Varjão e Torto.	144.287

A Figura 11 mostra a localização das cidades atendidas pelas ETE Sul e Norte no mapa do Distrito Federal, Brasil.

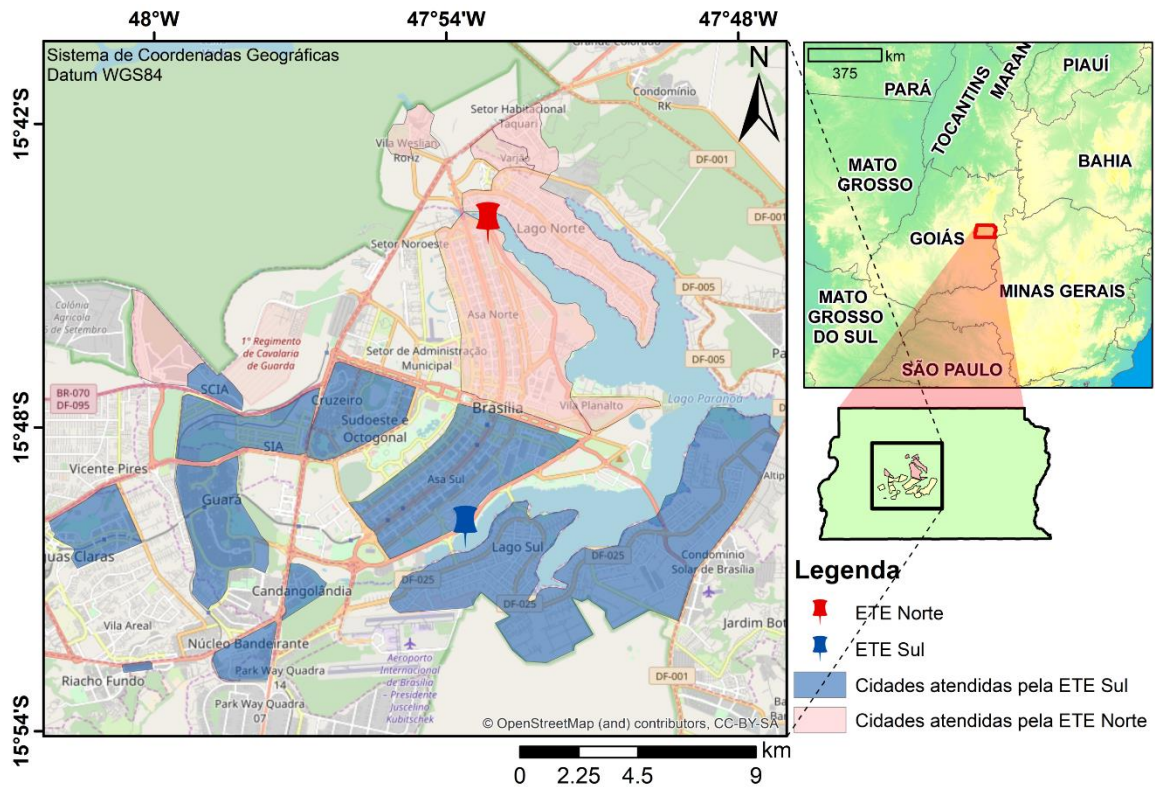


Figura 11. Localização das ETE Sul e Norte e suas áreas de atendimento.

A coleta das amostras foi feita com o auxílio de um amostrador automático refrigerado AUTO REFR AS950 HACH 115VAC (HACH, Colorado, USA) mostrado na Figura 12.



Figura 12. Amostrador automático (HACH, Colorado, USA) utilizado na coleta das amostras nas estações de tratamento de esgoto.

A frequência amostral foi acumulada, em que a vazão do esgoto para cada alíquota coletada foi considerada, como mostra a Tabela 3 abaixo. A coleta foi feita a cada 60 minutos, obtendo-se uma amostra composta de 24 horas.

Tabela 3. Volume coletado em função da vazão durante a amostragem, Caesb 2017.

Faixa de vazão ($L s^{-1}$)	Volume coletado (mL)
<576	55
577 – 704	85
705 – 980	110
981 – 1211	145
1212 – 1437	170
1438 – 1645	200
1646 – 1696	220
>1696	240

A vazão média do esgoto no dia da coleta é necessária para o cálculo de consumo da Equação 1. Os dados de vazão de entrada do esgoto encontram-se na Tabela 4 abaixo.

Tabela 4. Vazão do esgoto na entrada da estação de tratamento nos dias da coleta.

Data de coleta	Vazão ETE Sul ($m^3 dia^{-1}$)	Vazão ETE Norte ($m^3 dia^{-1}$)
30/05/2017	109117	NC
31/05/2017	118197	42742
01/06/2017	110107	42352
02/06/2017	115274	NC
03/06/2017	99705	32534
04/06/2017	108127	29558
05/06/2017	115748	39184
06/06/2017	111652	44142
13/02/2018	NC	36232
07/06/2018	95457	47436
08/06/2018	92640	47436
09/06/2018	89607	36052
10/06/2018	89390	38280

NC= Não houve coleta.

3.3 Preparo de amostra

As amostras de esgoto bruto foram acidificadas a pH 2,0 com uma solução de HCl 2,0 mol L^{-1} . Alíquotas de 50 mL da amostra acidificada foram transferidas para tubos individuais de seringas de 60 mL, conectados em linha aos cartuchos de extração em fase sólida. Para evitar entupimento na parte superior dos cartuchos, uma porção de lã de vidro de laboratório foi colocada dentro de cada um, conforme observado na Figura 13.



Figura 13. Sistema de extração dos analitos no esgoto.

Primeiramente, o cartucho foi condicionado com 6 mL de uma mistura de MeOH:ACN (60:40 v/v) seguido de 6 mL de água ultrapura a pH 2,0. As amostras foram passadas através dos cartuchos a um fluxo de 3-4 mL min⁻¹ de modo a proporcionar um contato adequado entre os analitos e a fase sorvente. Os cartuchos foram empacotados e refrigerados a -10°C. Posteriormente foram levados para a Universidade de Santiago de Compostela, Espanha. Os cartuchos foram descongelados e secados com gás de nitrogênio para retirar o excesso de umidade (Figura 14).

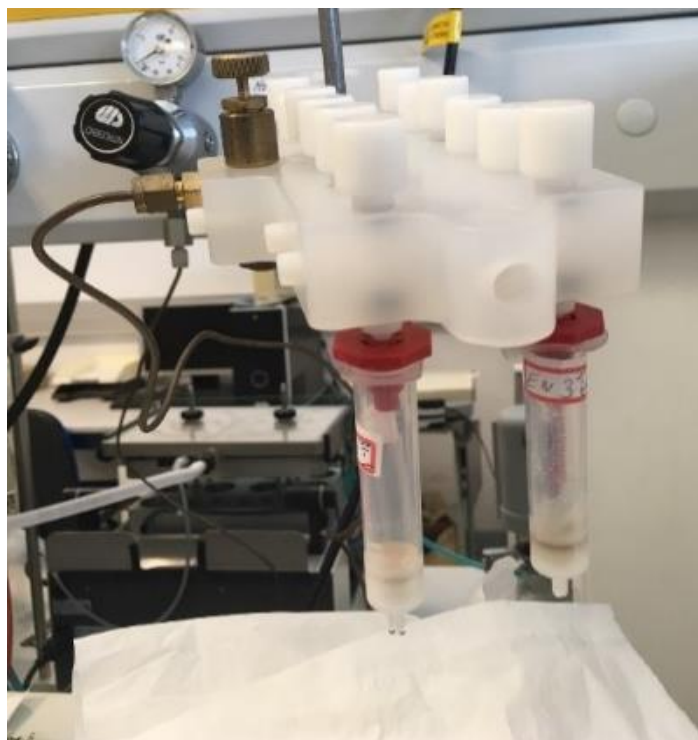


Figura 14. Sistema de secagem de cartuchos com N₂.

Os analitos foram recuperados com 6 mL de metanol em tubos de vidro previamente limpos e adicionou-se os padrões internos deuterados a 4,0 ng mL⁻¹. O eluato foi evaporado com fluxo gás nitrogênio a 40°C com o equipamento TurboVap® II (Biotage, SE) visto na Figura 15, e concentrados a um volume final de 0,2 mL.



Figura 15. Amostras sendo concentradas no aparelho TurboVap® à 40 °C e com fluxo de N₂.

3.4 Determinação analítica

A técnica utilizada para determinação dos analitos foi a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução, também chamada de LC-QTOF. O equipamento utilizado consistiu de um sistema cromatográfico Agilent 1200 Series HPLC com bomba binária, amostrador automático e forno para coluna acoplado a um sistema QTOF (Agilent, USA). A coluna cromatográfica utilizada foi uma Zorbax SB-Aq (Agilent, USA) com 4.6 mm de diâmetro interno, 15 cm de comprimento e 5 µm de partícula. A fase móvel consistiu em água com 0,1% de ácido fórmico como fase aquosa e metanol com 0,1% de ácido fórmico como fase orgânica. A interface entre os equipamentos cromatográfico e de espectrometria de massas foi estabelecida por meio de um módulo de ionização dual por eletronebulização com voltagem capilar de 4kV.

4. Resultados e discussões

4.1 Otimização de Parâmetros Instrumentais

Os cocaínicos (BE, COC, COE) e adulterantes (FEN e LEV) foram quantificados em modo MS, onde é feita seleção dos íons no quadrupolo seguido da análise da massa exata no TOF, e modo MRM (Monitoramento de Reações Múltiplas) no qual ocorre o monitoramento das transições entre os íons precursores e os íons produtos. O modo MS apresenta alta resolução e um ganho de cerca de 100 vezes no sinal sem perda de sensibilidade. Ressalta-se que a análise em modo MS e MRM é feita ao mesmo tempo e o cromatograma total de íons (TIC) tem a aparência típica do cromatograma mostrado na Figura 16.

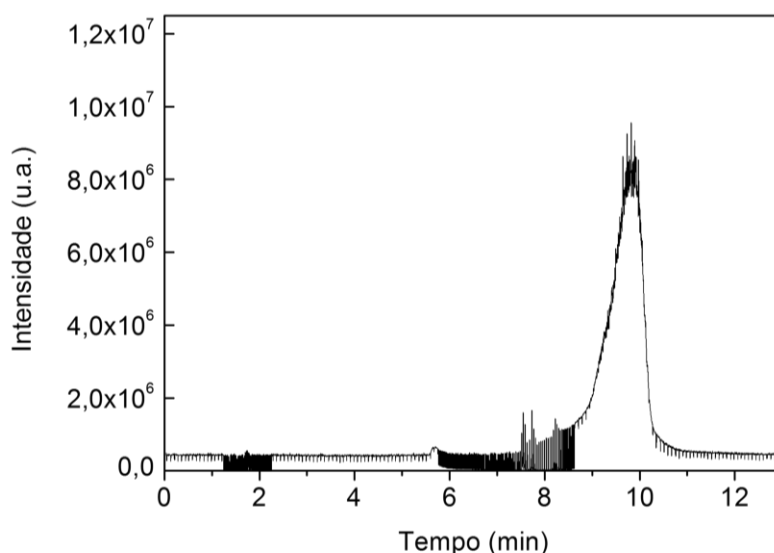


Figura 16. Cromatograma total de íons (TIC) registrado da tela do software MassHunter (Agilent, USA).

Na Figura 16, a região mais escura entre 6 e 9 minutos indica onde ocorre o modo MS e MRM intermitentemente. Nessa região os íons são selecionados e fragmentados.

O modo ESI-dual permite a infusão constante de uma solução de referência com massa/carga de 121,050873 e 922,009798, referente à compostos adquiridos do próprio fabricante do equipamento QTOF (Agilent, USA). As massas de referência aparecem em todo o espectro e durante toda a corrida cromatográfica, permitindo a calibração constante do equipamento, conforme observado na Figura 17.

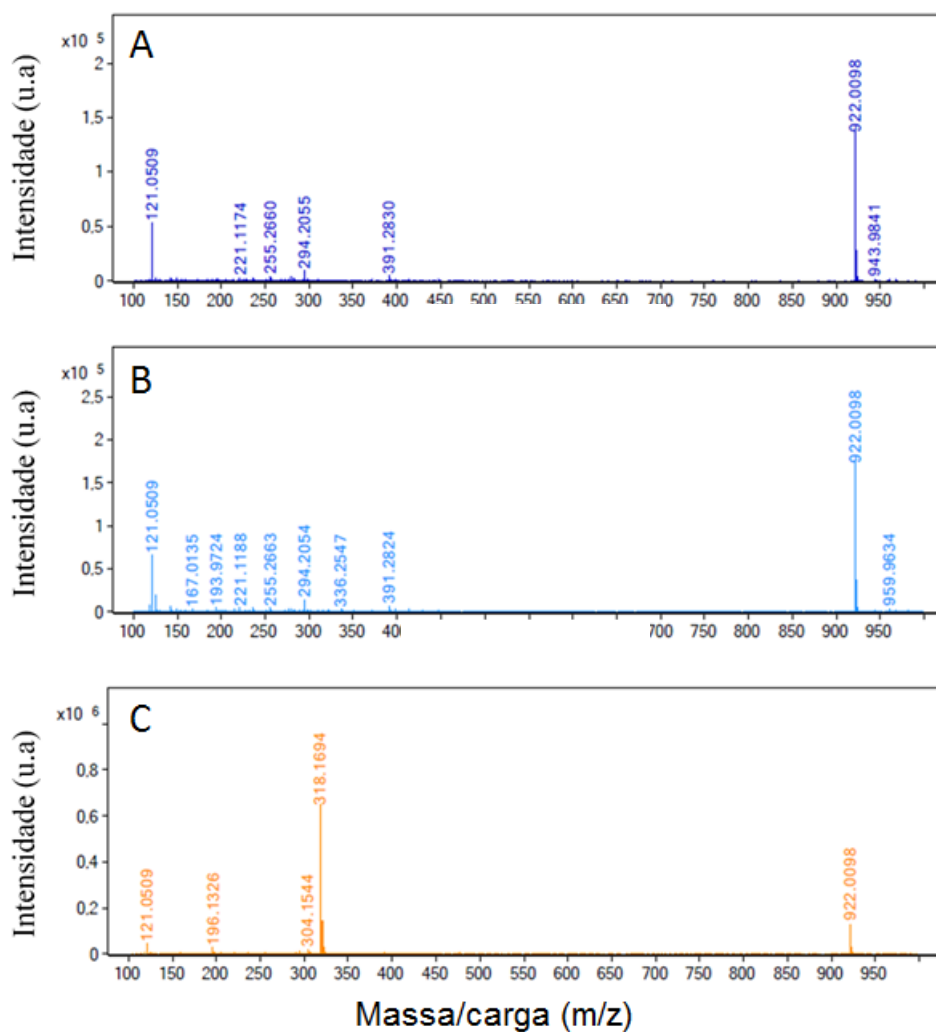


Figura 17. Registro da tela do software MassHunter (Agilent, USA) de espectro de massas durante a corrida cromatográfica.

Na Figura 17 observa-se um registro na forma de espectro de massas durante 4,879 min (A), 10,444 min (B) e 7,733 min (C). Os compostos de referência, 121,050873 m/z e 922,009798 m/z , estão presentes durante toda a análise.

Os íons $[M+H]^+$ foram extraídos com uma janela de massas de ± 10 ppm no modo MS e ± 20 ppm no modo MRM. Os espectros foram registrados a cinco espectros por segundo. Os parâmetros de fonte foram obtidos por análise multivariada e encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros de fonte do QTOF

Temperatura (°C)	350
Fluxo de gás (L/min)	6
GS (psig)	45
IS (V)	4000

Os parâmetros da Tabela 6 foram obtidos por sucessivas injeções dos analitos no sistema LC-QTOF e otimizados de forma manual de modo a obter o melhor sinal instrumental.

Tabela 6. Parâmetros instrumentais do QTOF utilizados na determinação dos analitos.

Compostos	Fragmentor (V)	EP (V)	Transição MRM (m/z)	CE (V)
COC	140	65	304,1531→182,1169 304,1531→82,0658	20
BE	140	65	290,1368→168,1008 290,1368→105,0335	20
COE	140	65	318,1687→196,1325 318,1687→150,0907	20
FEN	140	65	180,1009→110,0600 180,1009→138,0914	20
LEV	140	65	205,0746→178,0692 205,0746→91,0533	30
COC-D ₃	140	65	307,1732→185,1354	20
BE-D ₃	140	65	293,1575→171,1196	20
COE-D ₃	140	65	321,1888→199,1513	20

EP: Potencial de Entrada; CE: Energia de colisão.

A quebra do íon precursor e sua transformação em íon produto ocorre de forma bastante específica (Hernandez *et al.*, 2015; Rodríguez-Álvarez *et al.*, 2014). Os espectros de massas que resultaram na escolha dos produtos de fragmentação dos compostos encontram-se na Figura 18.

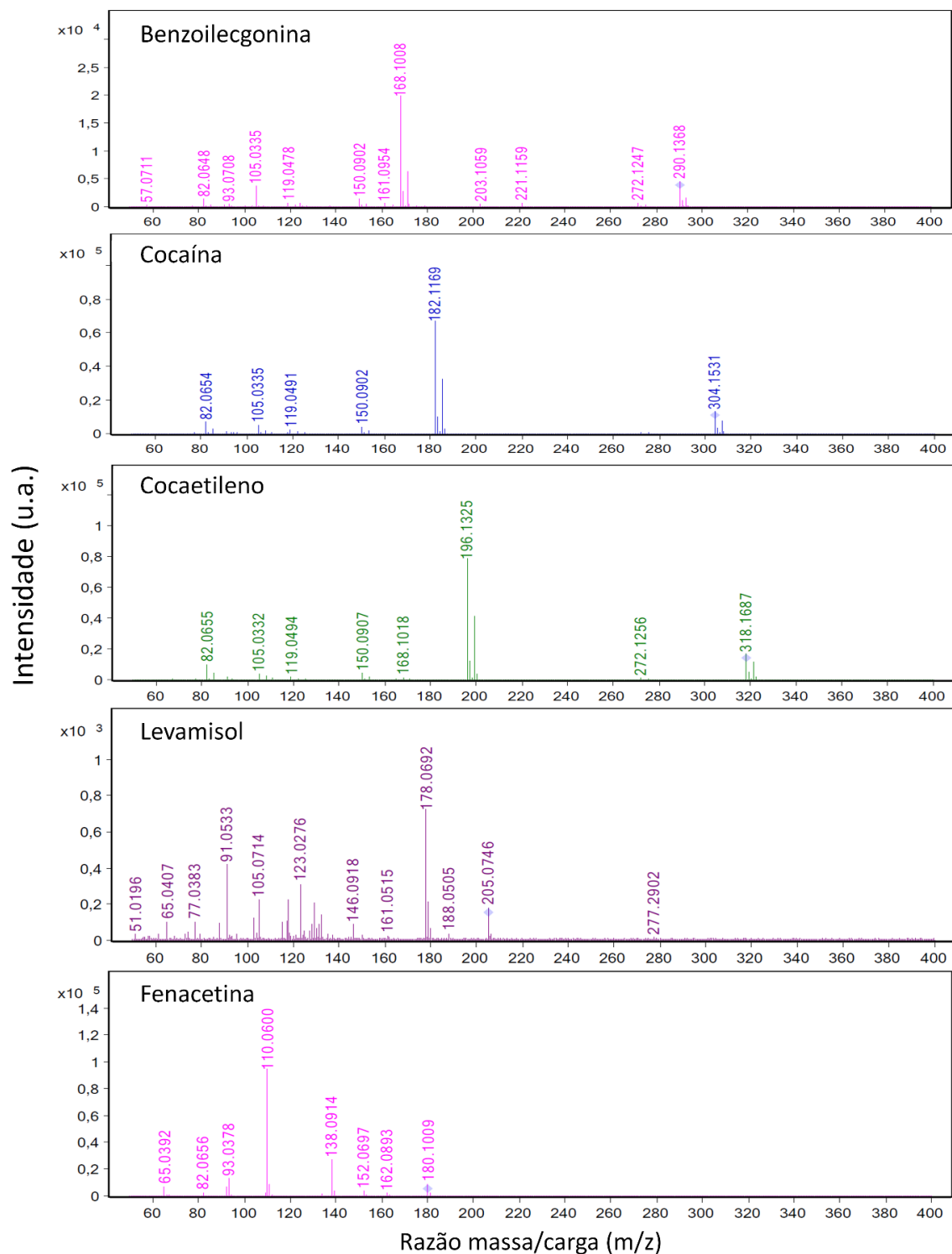


Figura 18. Espectros de massas dos Cocaínicos e Adulterantes obtidos com o programa Qualitative Navigator B.08.00 (Agient, USA).

Escolheu-se íons produtos com razão massa/carga próximas aos dos precursores para garantir que as transições analisadas sejam do íon precursor para o íon produto e não de outros rearranjos moleculares que resultam na mesma transição, como podem ocorrer quando se utiliza m/z baixas.

A cocaína e seus metabólitos, cocaetileno e benzoilecgonina, apresentam como fragmentos principais os íons $182\ m/z$, $196\ m/z$ e $168\ m/z$ respectivamente, resultante da perda de ácido benzoico (Figura 19). O mesmo ocorre com seus compostos deuterados com a diferença de aproximadamente 3 Da. Esta perda ocorre por um mecanismo de fragmentação com retenção de carga que ocorre a baixas energias de colisão e nesse caso é chamado de reação retro-hetero-eno com rearranjo do tipo McLafferty. A partir desse fragmento, outras fragmentações podem ocorrer em seguida ou de modo concertado, como exemplos temos a perda de álcoois na cocaína e no cocaetileno gerando o fragmento $150\ m/z$ (Figura 20), do grupo benzoil na benzoilecgonina para gerar o $105\ m/z$ (Figura 21) os rearranjos envolvendo perda de carbonila para gerar o fragmento $82\ m/z$ (Figura 22).

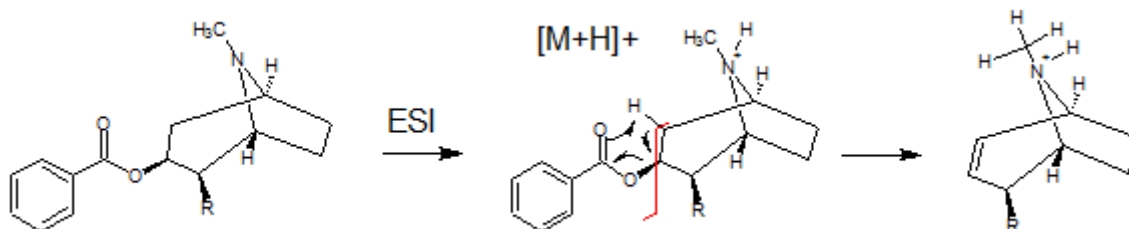


Figura 19. Principal mecanismo de fragmentação dos cocaínicos em ESI. O grupo R corresponde a $\bullet\text{COOCH}_3$ para a cocaína, $\bullet\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ para o cocaetileno e $\bullet\text{COOH}$ para a benzoilecgonina.

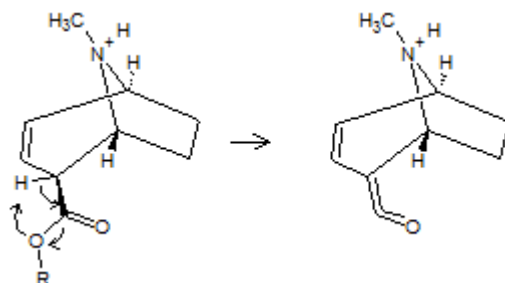


Figura 20. Formação do fragmento $150\ m/z$ a partir da cocaína ($\bullet\text{CH}_3$) e do cocaetileno ($\bullet\text{CH}_2\text{CH}_3$).

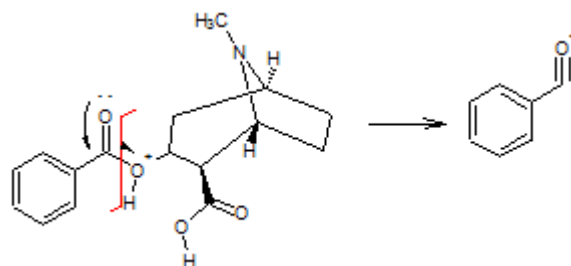


Figura 21. Fragmentação da benzoilecgonina para a formação do fragmento $105\ m/z$.

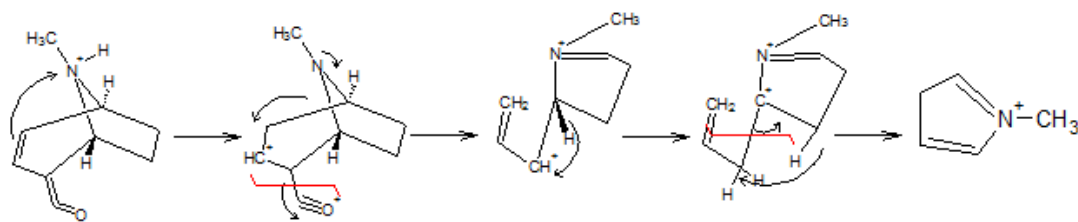


Figura 22. Formação do íon metilpiridínio 82 m/z a partir do fragmento 150 m/z formado a partir da cocaína e do cocaetileno, conforme Figura 20.

Os parâmetros cromatográficos foram escolhidos variando-se a vazão da fase móvel, a porcentagem de fase orgânica, a temperatura da coluna e o volume de injeção. O ácido fórmico, escolhido como modificador da fase móvel, proporcionou uma melhora na ionização das moléculas e na intensidade do sinal cromatográfico. Os parâmetros cromatográficos utilizados encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7. Parâmetros cromatográficos otimizados.

Vazão da fase móvel ($\mu\text{L}/\text{min}$)	300
Temperatura da coluna ($^{\circ}\text{C}$)	40
Volume de injeção (μL)	2
Gradiente de fase móvel*	0-3 min: 20-50% B; 3.1-6 min: 100% B; 6.1-13min: 100-10% B
Pressão Máxima (bar)	400

*Fase móvel: A (água ultrapura 0.01% de ácido fórmico) e B (metanol com .01% de ácido fórmico).

A Figura 23 apresenta o cromatograma total de íons obtido nas condições da Tabela 7.

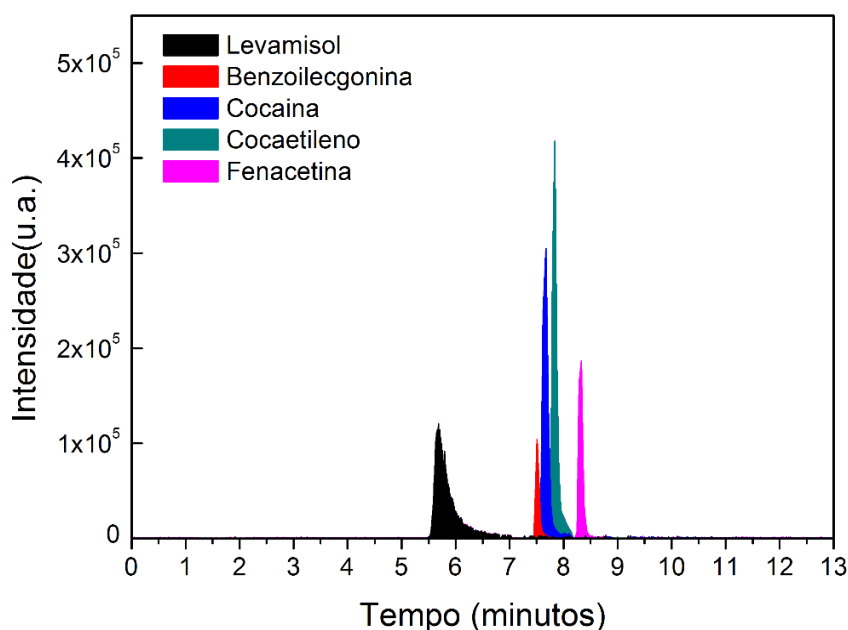


Figura 23. Cromatograma dos compostos gerados por LC-MS/MS.

Tendo em vista que a principal separação ocorre no espectrômetro de massas, a cromatografia não exige um trabalho minucioso. Entretanto, os parâmetros cromatográficos de separação foram calculados para se ter uma estimativa da eficiência da separação, dado que os cocaínicos saem em tempos de retenção muito próximos. Os parâmetros calculados para a separação cromatográfica encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8. Parâmetros da separação cromatográfica

	Pratos Teóricos (N)	HEPT (N/cm)
COC	15749,5	0,000952411
BE	19155,75	0,000783055
COE	5714,25	0,002625016
FEN	7666,5	0,001956564
LEV	1070,5	0,014012144
	Seletividade (α)	Resolução (Rs)
COC-COE	1,031	7,123310167
BE-COC	1,005	1,287018117
COE-BE	1,018	2,484692884

O número de pratos teóricos (N) refere-se a dispersão do pico cromatográfico em relação ao centro, que no caso é o tempo de retenção da espécie. N é um parâmetro que pode variar com o tempo e o desgaste da coluna. Assume-se que quanto maior N, mais finos são os picos, pois ocorrem mais equilíbrios entre o analito e a fase estacionária durante a separação. O cálculo de número de pratos teóricos é feito com a Equação 2, onde t_r é o tempo de retenção e w é a largura do pico na base.

$$N = 16 \times \left(\frac{t_r}{w} \right)^2 \quad (2)$$

Utilizando a Equação 2, nota-se que o LEV é o pico mais largo o que corrobora com a Figura 23. O pico de LEV pode ser melhorado, futuramente, por ajustes no gradiente de fase orgânica ou aumentando o fluxo da fase móvel, para que seja obtido um pico mais fino. O parâmetro HEPT é referente à altura equivalente a um prato teórico, ou seja, divide-se o valor de N pelo tamanho da coluna, nesse trabalho de 15 cm. O valor de HEPT é muito utilizado em cromatografia gasosa, onde colunas de cerca de 30 m são utilizadas para aumentar a eficiência da separação. Os valores de HEPT não são referentes ao tamanho da coluna, são alcançados devido ao tamanho das partículas (5 μ m) na coluna. Menores

partículas e alta pressão são equivalente aos resultados de uma coluna de maior comprimento em relação à eficiência da separação.

A seletividade α relaciona a separação de um pico em relação ao outro, usando a razão entre seus tempos de retenção. Quando os valores são iguais a 1 não há separação. Os valores da Tabela 8 são levemente maiores que 1, o que indica pouca separação dos picos. Quando combinamos os dois fatores, N e α , temos a resolução R_s , expressa na Equação 3.

$$R_s = \left(\frac{\sqrt{N}}{4} \right) \times \left(\frac{k}{k+1} \right) \times \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \quad (3)$$

O parâmetro k descreve a velocidade com que dado composto migra ao longo da coluna, relacionando o tempo de retenção com o tempo morto. Foram observados valores de pratos teóricos altos, portanto, a resolução não foi afetada. Houve separação considerável entre COE e os outros cocaínicos (valores >2) e separação parcial entre COC e BE ($1 < R_s < 2$).

4.2 Validação do método analítico

4.2.1 Exatidão

A incerteza relacionada à exatidão do método é um erro sistemático que reporta a concordância entre os valores encontrados e o valor verdadeiro. A recuperação expressa o erro relacionado à perda do analito durante a preparação da amostra, enquanto que o efeito de matriz é relacionado aos possíveis efeitos de supressão ou aumento de sinal durante a ionização dos compostos na fonte do espectrômetro de massas. Neste trabalho, exatidão foi calculada em termos de recuperação e efeito de matriz e expressa como eficiência do método para posterior correção durante a quantificação dos compostos (Eurachem, 2014).

As amostras coletadas passaram pelo processo de extração descrito no item 3.3, foram congeladas e levadas para a Espanha. Durante o armazenamento no freezer não são esperadas grandes perdas, com possibilidade de armazenamento durante 3 meses (Gonzalez-Marino *et al.*, 2010). Entretanto, o transporte não pôde ser feito com os cartuchos congelados, haja vista o período de 24h referente ao deslocamento para a Espanha onde os cartuchos permaneceram à temperatura ambiente. Por este motivo, foi realizado um teste para determinar a estabilidade dos analitos nos cartuchos durante o período de viagem. Assim, amostras de esgoto foram enriquecidas com os analitos e submetidas à extração em

triplicata. Após a extração, os cartuchos foram deixados à temperatura ambiente durante o mesmo período de viagem e, em seguida, os analitos foram eluídos e analisados, esse extrato foi chamado de R₂.

Ao mesmo tempo em que ensaio de R₂ estava sendo feito, aproveitou-se para a realização de teste de efeito de matriz para cálculo da eficiência do método. Três extratos pós-SPE e três alíquotas de solvente (MeOH) foram fortificados com um *mix* de padrões analíticos.

Foram obtidos diferentes sinais: um do padrão em solvente (R₁), um da amostra fortificada antes da SPE (R₂) e um da amostra fortificada após a SPE (R₃). O efeito da matriz (% ME) é calculado como $\frac{R_3}{R_1} \times 100$ e o de recuperação do método (% R) $\frac{R_2}{R_3} \times 100$. A eficiência do método é definida como (E%) $\frac{ME \times R}{100}$ (Matuszewski *et al.*, 2003). Os resultados são mostrados na Tabela 9.

Tabela 9. Recuperação, efeito de matriz e eficiência do método.

Analitos	Cocaetileno	Benzoilecgonina	Cocaína	Fenacetina	Levamisol
Recuperação	88±6%	90±5%	98±3%	85±5%	90±8%
Efeito de Matriz	80±7%	85±9%	81±7%	82±10%	75±11%
Eficiência	71±9%	77±10%	80±8%	69±11%	67±12%

A Tabela 9 mostra que a recuperação dos analitos mostrou-se suficiente e dentro dos valores encontrados na maioria dos trabalhos (Castiglioni *et al.*, 2014; Gracia-Lor *et al.*, 2017, 2016; McCall *et al.*, 2016). O efeito da temperatura ambiente e do período por um dia não foi consideravelmente alto, variando de -8% para cocaetileno e +9% para benzoilecgonina (Castiglioni *et al.*, 2011; Feitosa *et al.*, 2013; Gonzalez-Marino *et al.*, 2012). Finalmente, a eficiência do método ficou entre 67-80 %, sugerindo que houve supressão considerável do sinal para a fenacetina e o levamisol. Esse comportamento já era esperado, justamente pela matriz de esgoto ser bastante complexa. Mesmo separando grande parte dos interferentes por cromatografia, muitos ainda coeluem com os analitos, podendo competir com os analitos-alvo pelas mesmas condições de ionização levando a uma supressão do sinal dos analitos-alvo. Esse processo é chamado de efeito de matriz, bastante comum em análises por LC-ESI-MS (Matuszewski *et al.*, 2003; Tang *et al.*, 2016). Um bom tratamento de amostra, uma boa separação cromatográfica e o uso de padrões surrogados podem diminuir esse efeito, mas não suprimí-lo completamente (Bijlsma *et al.*, 2014).

4.2.2 Precisão

A precisão instrumental é o componente aleatório da incerteza do método e é caracterizada pela concordância entre os valores obtidos a partir de várias replicatas do mesmo composto sob a mesmas condições e em diferentes níveis (Eurachem, 2014). Na Tabela 10 são mostrados os compostos analisados em três níveis de concentração e o desvio padrão relativo de três medidas.

Tabela 10. Repetibilidade dada em termos de desvio padrão relativo (DPR) em três níveis de concentração.

Compostos	DPR (%)		
	25 ng mL ⁻¹	100 ng mL ⁻¹	1000 ng mL ⁻¹
COC	5,26	3,91	5,43
BE	7,12	8,98	7,05
COE	5,31	3,98	4,02
FEN	8,33	6,55	5,05
LEV	9,36	9,20	3,84

Os DPR's ficaram todos menores que 10%, mostrando-se aceitáveis para medidas em nível de traço (CGCRE, 2010).

4.2.3 Detectabilidade

Neste trabalho, a sensibilidade do método é calculada em termos de limites de quantificação (LOQ) e limites de detecção (LOD). O limite de quantificação é o mais importante para o objetivo desse trabalho, pois é definido pela menor concentração do analito que pode ser determinada na amostra com aceitável repetibilidade e exatidão. O limite de detecção é a menor quantidade que pode ser distinguida do sinal do ruído.

O LOQ instrumental foi calculado experimentalmente, considerando a área do analito sendo 10 vezes superior ao sinal do ruído do cromatograma, enquanto LOD sendo 3 vezes superior ao sinal do ruído com até 10% de incerteza. O ruído é a região do cromatograma onde não se consegue distinguir o sinal do analito do sinal da linha de base do equipamento. O LOQ e LOD do método foram calculados a partir do fator de concentração da amostra e da eficiência do método, sendo $LOQ = \frac{LOQ_{instrumental} \times 1000}{250} \times E$,

e $LOD = \frac{LOD_{instrumental} \times 1000}{250} \times E$. Os valores obtidos encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11. Limites de quantificação e detecção do método analítico.

Compostos	LOQ Instrumental	LOD Instrumental	LOQ Método	LOD Método
	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹
COC	15	5	48	14
BE	15	8	46	13
COE	15	5	42	12
FEN	15	5	41	12
LEV	20	6	53	16

A detectabilidade para os compostos estudados estão entre 12-16 ng L⁻¹, condizente com os reportados para LC-QTOF-MS/MS (10-100 ng L⁻¹) (Gonzalez-Marino *et al.*, 2010, 2012).

4.2.4 Seletividade

A seletividade é um parâmetro muito importante para garantir que a espécie de interesse está sendo detectada sem interferência de outras espécies. O método de LC-MS de alta resolução é bastante seletivo, pois permite a identificação da massa exata com quatro casas decimais depois da vírgula, além de fragmentar os compostos que apresentam padrões diferentes dependendo da sua estrutura química. O equipamento LC-QTOF também realiza a fragmentação das moléculas, analisando as transições de forma semelhante à uma análise em triplo quadrupolo. A análise da razão das áreas encontradas a partir das transições da Tabela 6, traz uma garantia adicional da presença do composto de interesse. A Tabela 12 mostra a razão entre as áreas geradas pelas transições das espécies no solvente e nas amostras.

Tabela 12. Razão entre as áreas geradas pelas transições MRM no solvente e nas amostras.

Compostos	Solvente*	Amostras	Zeta-Score
COC	2,88±0,39	2,75±0,27	0,274064
BE	2,37±0,37	2,30±0,36	0,135597
COE	6,85±0,49	6,82±0,68	0,035793
FEN	6,45±1,82	5,68±0,98	0,372507
LEV	2,17±0,72	1,86±0,32	0,393447

*Metanol

O *Zeta-Score* é um teste estatístico capaz de inferir se há concordância entre dois valores comparando suas médias e incertezas. Pode ser calculado pela Equação 4.

$$Zeta-Score = \frac{\bar{X}_{amostra} - \bar{X}_{solvente}}{\sqrt{S_{amostra}^2 + S_{solvente}^2}} \quad (4)$$

A Equação 4 mostra o *Zeta-Score* obtido pela razão média das duas áreas geradas por transições MRM dos analitos ($\bar{X}_{amostra}, \bar{X}_{solvente}$) e pelo desvio padrão nas duas matrizes ($S_{amostra}^2, S_{solvente}^2$). Para testar a hipótese nula ($\bar{X}_{amostra} = \bar{X}_{solvente}$) o módulo de *zeta-score* precisa ser menor ou igual a 2. Todos os valores da Tabela 12 ficaram menores que 2, sendo assim, assume-se a igualdade entre os resultados. Em termos de seletividade da análise, os compostos apresentam a mesma relação de áreas no solvente e na amostra de esgoto.

4.2.5 Linearidade

A quantificação dos compostos foi feita por curva analítica com correção de padrão interno deuterado. A correção ajuda a compensar o efeito de matriz causado na fonte ESI (Brito *et al.*, 2003). Este método baseia-se na adição de uma quantidade fixa de padrão interno aos brancos, soluções-padrão e amostras. Os íons de cada substância e seus compostos deuterados são quimicamente equivalentes e os tempos de retenção são praticamente os mesmos. Efeitos de supressão ou aumento do sinal afetarão ambas as espécies igualmente (Gonzalez-Marino *et al.*, 2012). Os analitos são quantificados a partir da divisão do sinal do padrão pelo sinal do padrão interno durante toda a curva de calibração. Na Figura 24 e 25 estão expostas as curvas analíticas de cada analito no sistema LC-QTOF, assim como a plotagem dos resíduos do ajuste linear à direita.

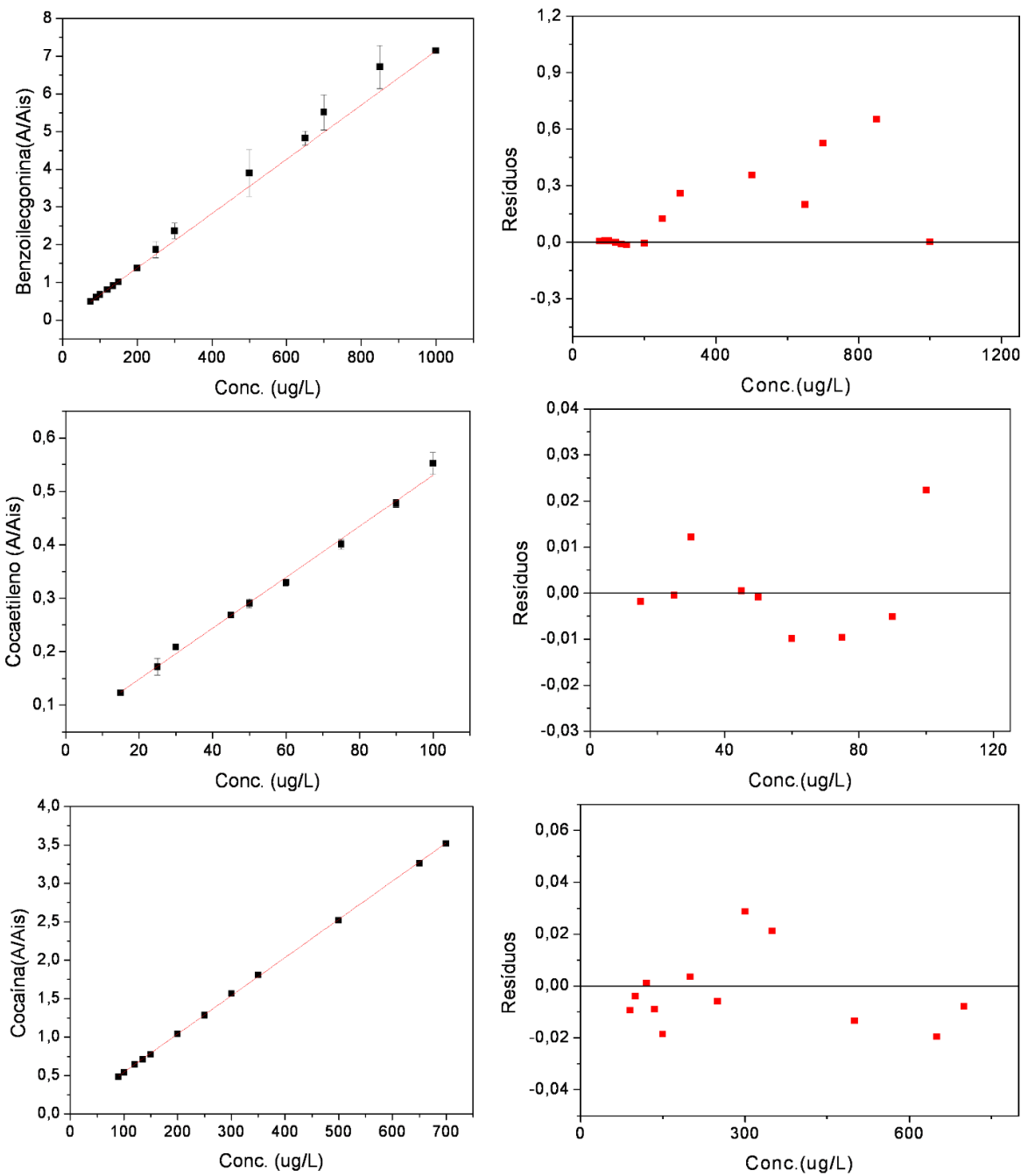


Figura 24. Curvas analíticas para os cocaínicos obtidas por LC-QTOF.

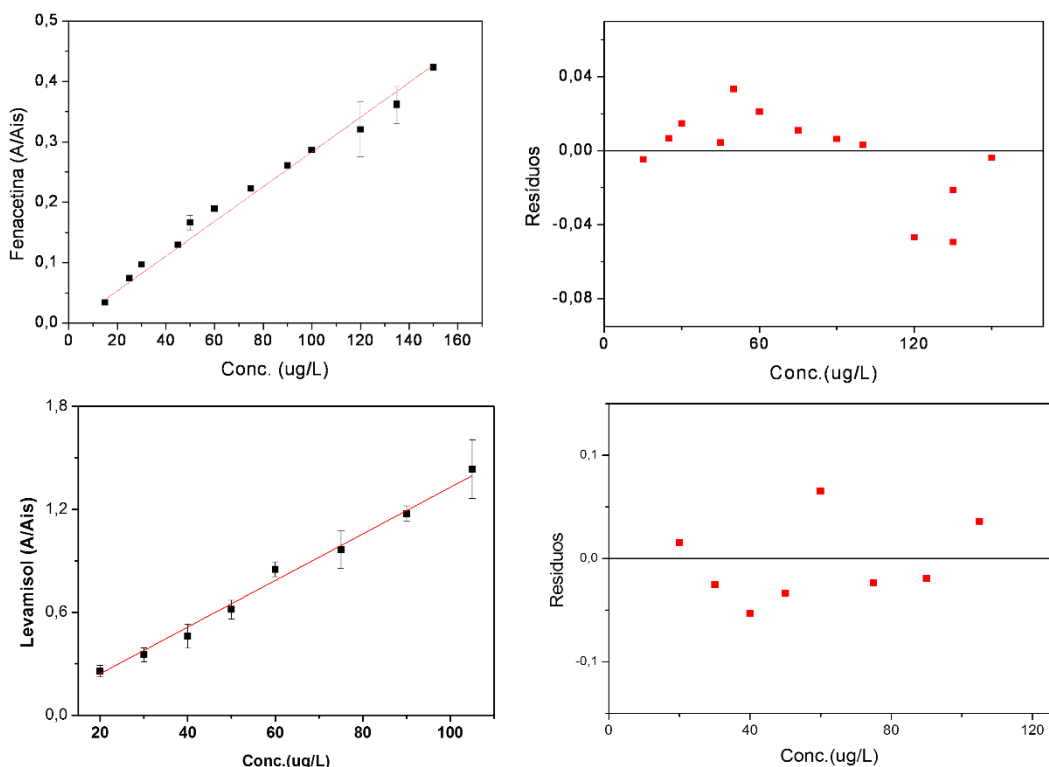


Figura 25. Curvas analíticas para os adulterantes obtidas por LC-QTOF.

Os resíduos apresentados em função da concentração apresentam um comportamento homocedástico, ou seja, apresentam homogeneidade na variância dos resíduos da regressão na faixa linear de trabalho. Na Tabela 13 os parâmetros obtidos a partir das curvas de calibração das Figuras 24 e 25 são apresentados.

Tabela 13. Parâmetros das curvas analíticas.

Compostos	Padrão Interno	Curva Analítica	R^2	Faixa Linear
		$y=a+bx$		$ng mL^{-1}$
COC	COC-d3	$y=0,0448+0,005x$	0,996	90-700
BE	BE-d3	$y=-0,0465+0,0071x$	0,999	70-1000
COE	COE-d3	$y=0,0048+0,0510x$	0,991	15-100
FEN	COE-d3	$y=0,0237+0,0026x$	0,990	15-160
LEV	BE-d3	$y=-0,0304+0,0136x$	0,989	20-150

a Coeficiente linear da equação b Coeficiente angular da equação

Observa-se que o grau de ajuste dos dados à curva, dado pelo coeficiente de determinação (R^2), apresentou valores de 0,989-0,999.

4.2.6 Estabilidade das espécies no esgoto

O esgoto é uma matriz bastante complexa. Micro-organismos, compostos orgânicos, inorgânico, bastante material particulado compõem a amostra e podem afetar a concentração dos analitos na amostra por mecanismos que auxiliam na transformação dessas espécies. Na Tabela 14 encontram-se dados de preservação dos compostos na amostra de trabalhos anteriores e deste trabalho.

Tabela 14. Estabilidade dos compostos estudados sob diferentes condições no esgoto bruto.

Referência	van Nuijs <i>et al.</i> , 2012	Baker <i>et al.</i> , 2014	Thai <i>et al.</i> , 2014	Sodré <i>et al.</i> , 2018	Este trabalho, 2018 (n=3)*
Condições experimentais	20°C, 12h pH=7,5	19°C, 12h ^a , 24h ^b pH=7,4	20°C 12h pH=7,5	±24°C 72h pH=7	23°C 24h pH=7,5
COC	-40%	-7,7% ^a , -12,3% ^b	-20%	-29,4%	-14,6±1,6%
BE	+6%	+5,5% ^a , +7,4% ^b	+28%	+11,3%	+9,0±4,0%
COE	–	-6,8% ^a	–	–	-2,0±0,1%
LEV	–	–	–	–	-14,1±4,4%
FEN	–	–	–	–	-19,1±5,9%

* Três replicatas autênticas de cartuchos SPE.

Os valores de estabilidade encontrados neste trabalho para COC, BE e COE mostraram-se de acordo com os trabalhos anteriores no sentido de mostrar a degradação de cocaína/cocaetileno, e aumento de benzoilecgonina. Não foram encontrados valores de estabilidade no esgoto para FEN e LEV em trabalhos publicados anteriormente. Sodré *et al.*, 2018 realizaram estudos de estabilidade dos analitos em amostras de esgoto do DF durante 72 h. Comparando com o estudo de estabilidade dos compostos durante 24 h, realizado neste trabalho, os dados concordam entre si ao mostrar que quanto mais tempo o analito está na matriz de esgoto, se não houver nenhum tratamento de preservação, vai haver transformação e/ou degradação. Por essa razão, a amostra deve ser refrigerada e após a coleta, acidificada e levada imediatamente para extração no laboratório.

4.3 Quantificação dos compostos em amostras de esgoto bruto

As amostras foram coletadas em duas estações de tratamento de esgoto de Brasília durante 24 horas de dias distintos. O modelo utilizado para calcular a concentração dos compostos e seus erros é apresentado na Equação 5 ($k=2$, IC=95%).

$$C_{analito} = \frac{(A_{analito} - a)}{b \times f_c} \times E_s \times E_f \pm \left[\left(\sqrt{s_r^2 + s_b^2 + s_a^2 + s_{E_s}^2 + s_{E_f}^2} \right) \times 2 \right] \quad (5)$$

Na Equação 5, a concentração do analito na amostra ($C_{analito}$, em ng L^{-1}) foi calculada a partir da área do sinal instrumental ($A_{analito}$), dos coeficientes linear e angular da regressão (a e b , respectivamente), do fator de concentração da amostra ($f_c = 250$ vezes neste trabalho), da eficiência do método (E_f) e do fator de estabilidade da espécie no esgoto durante 12 horas (E_s). O erro é estimado com base no componente de incerteza de repetibilidade (s_r^2), no componente de incerteza dos coeficientes da regressão da curva de calibração (s_a^2 e s_b^2), no componente de incerteza dos testes de estabilidade das espécies no esgoto ($s_{E_s}^2$) e no componente de incerteza da eficiência do método ($s_{E_f}^2$).

As quantidades dos compostos em ng L^{-1} , encontrados no esgoto bruto, encontram-se na Tabela 15. Algumas amostras foram analisadas no Brasil com o sistema de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas triplo quadrupolo-armadilha de íons LC-QTRAP apresentado no Anexo 1.

Tabela 15. Concentração dos analitos no esgoto bruto.

Dia da Semana	Data	BE (ng L^{-1})	COE (ng L^{-1})	COC (ng L^{-1})	FEN (ng L^{-1})	LEV (ng L^{-1})
ETE Norte						
Terça-feira	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Quarta-feira	31/05/2017	1598±127	59±13	865±63	381±44	168±34
Sexta-feira	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Quinta-feira	01/06/2017	1746±150	78±15	835±58	334±39	196±45
Sábado	03/06/2017	2788±168	188±34	1376 ±111	464±29	181±28
Domingo	04/06/2017	4155±199	104±29	1502±144	747±101	178±27
Segunda-feira	05/06/2017	2338±148	103± 28	1256±70	591±91	165±25
Terça-feira	06/06/2017	1866±151	89±19	1066±130	449±35	181±48
Carnaval*	13/02/2018	5920± 208	422 ±44	1153±143	499±139	620±60
Quinta-feira*	07/06/2018	2794±277	19±3	603±150	720±67	93±5
Sexta-feira*	08/06/2018	3677±368	24±4	757±112	514±75	128±4
Sábado*	09/06/2018	3862±431	77±12	1593±217	766±149	147±16
Domingo*	10/06/2018	4951±457	96±10	1639±153	544±82	188±21
ETE Sul						
Terça-feira	30/05/2017	2115±162	<LOD	944±77	306±19	486±110
Quarta-feira	31/05/2017	2000 ±150	<LOD	787±50	189±14	289±33
Quinta-feira	01/06/2017	2374 ±94	<LOD	1175±125	212 ±49	480±75
Sexta-feira	02/06/2017	1659±146	<LOD	635±79	229±81	294±30
Sábado	03/06/2017	2745±152	101±16	977±73	316±25	166±29
Domingo	04/06/2017	8559±141	155±14	1983±40	395±32	179±75
Segunda-feira	05/06/2017	1636±93	19±12	743±51	267±42	163±40
Terça-feira	06/06/2017	1599±106	25±11	837±47	336±43	169±67
Quinta-feira*	07/06/2018	2822±418	32±6	745±171	485±72	99±11
Sexta-feira*	08/06/2018	3451±631	24±3	711±198	663±116	94±14
Sábado*	09/06/2018	4197±360	73±7	1941±364	1058±252	175±14
Domingo*	10/06/2018	4495±486	138±11	1775±253	988±159	411±36

NC = amostra não coletada

* Determinado no sistema LC-QTRAP (Anexo 1).

A coleta na ETE Norte não foi contínua devido à problema técnico na estação de tratamento. Logo, não foi possível a realização de coleta no dia 30/05/2016 e no dia 02/06/2017. Observa-se também que há uma amostra do dia 13/02/2018 correspondente à terça-feira de Carnaval. Essa amostra foi coletada para a realização de testes de estabilidade e recuperação, aproveitando a amostra, também foi realizada a quantificação dos analitos.

A Tabela 16 mostra a carga dos analitos no esgoto.

Tabela 16. Carga diária dos analitos no esgoto bruto.

ETE Norte						
Dia da semana	Vazão (L/dia)	BE (g/dia)	COE (g/dia)	COC (g/dia)	FEN (g/dia)	LEV (g/dia)
Quarta (31/05/2017)	42742000	68,3	2,5	37,0	16,3	7,1
Quinta (01/06/2017)	42352000	73,9	3,3	35,4	14,1	8,3
Sábado (03/06/2017)	32534000	90,7	6,1	44,8	15,1	5,8
Domingo 04/06/2017	29558000	122,8	3,1	44,4	22,1	5,2
Segunda (05/06/2017)	39184000	91,6	4,0	49,2	23,2	6,4
Terça (06/06/2017)	44142000	82,4	3,9	47,1	19,8	7,9
Carnaval (13/02/2018)	36232000	214,5	15,3	41,8	18,1	22,4
Quinta (07/06/2018)	47436000	132,5	0,9	28,6	34,2	4,4
Sexta (08/06/2018)	47436000	174,4	1,1	35,9	24,4	6,0
Sábado (09/06/2018)	36052000	139,2	2,8	57,4	27,6	5,3
Domingo (10/06/2018)	38280000	189,5	3,7	62,7	20,8	7,2
ETE Sul						
Dia da semana	Vazão (L/dia)	BE (g/dia)	COE (g/dia)	COC (g/dia)	FEN (g/dia)	LEV (g/dia)
Terça (30/05/2017)	109117000	230,8	0,0	103,0	33,4	53,0
Quarta (31/05/2017)	118197000	236,4	0,0	93,0	22,3	34,1
Quinta (01/06/2017)	110107000	261,4	0,0	129,4	23,3	52,8
Sexta (02/06/2017)	115274000	191,2	0,0	73,2	26,4	33,8
Sábado (03/06/2017)	99705000	273,7	10,1	97,4	31,5	16,5
Domingo (04/06/2017)	108127000	925,5	16,8	214,4	42,7	19,3
Segunda (05/06/2017)	115748000	189,4	2,2	86,0	30,9	18,8
Terça (06/06/2017)	111652000	178,5	2,8	93,5	37,5	18,5
Quinta (07/06/2018)	95457000	269,4	3,1	71,1	46,3	9,4
Sexta (08/06/2018)	92640000	319,7	2,2	65,9	61,4	8,7
Sábado (09/06/2018)	89607000	376,1	6,5	173,9	94,8	15,6
Domingo (10/06/2018)	89390000	401,8	12,3	158,7	88,3	36,7

Foi observado um aumento significativo na carga dos analitos durante o Carnaval. Isso mostra a influência dos eventos festivos no consumo de drogas na cidade. A região atendida pela ETE Sul é bem maior, por isso a carga dos analitos também é maior.

4.3.1. Razão COC/BE e o consumo de cocaína

Previamente à estimativa de consumo é necessário saber se a cocaína presente no esgoto tem como principal fonte a metabolização humana. Desse modo, uma estratégia é utilizar a razão entre as concentrações de cocaína e benzoilecgonina como indicador de consumo. Van Nuijs *et al.*, 2009 proporam um valor de corte para indicar o consumo da

droga, considerou-se os limites de excreção na urina da COC e BE (máximo de 15% para COC e mínimo de 20% para BE). Dividindo 15% por 20%, eles chegaram ao valor de 0,75. Sugeriram, então, que todos os valores abaixo de 0,75 provêm do consumo e metabolização humana de cocaína. Valores acima de 0,75 poderiam sugerir que a cocaína tem como fonte primária o lançamento no esgoto proveniente de laboratórios clandestinos, pois a maior parte da cocaína não foi metabolizada. Como visto na Figura 26, todos os valores de COC/BE obtidos neste trabalho ficaram abaixo de 0,75.

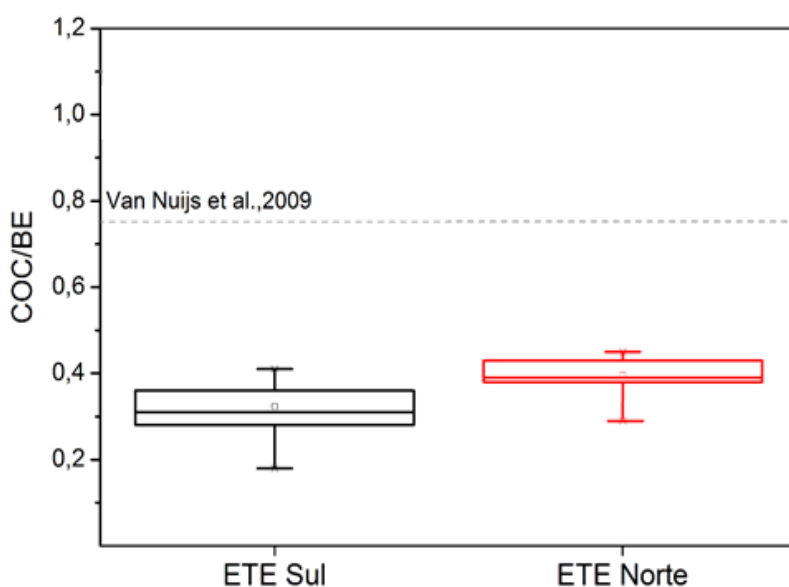


Figura 26. Razão COC/BE como indicador de consumo da droga nas ETE's Sul e Norte.

As razões COC/BE observadas na Figura 26, abaixo de 0,75, indicam que a cocaína encontrada no esgoto provém do consumo humano nas duas regiões analisadas. A maioria dos trabalhos encontrados mostram valores entre 0,1 e 0,4 (van Nuijs et al., 2009b). Apesar de a estratégia de utilização da razão COC/BE como indicador consumo ser bastante limitada, e estar entrando em desuso, por questões de metabolização e estabilidade no esgoto dos dois compostos, ela ainda pode indicar situações não-usuais de consumo. Acredita-se que valores acima de 0,75 ou até próximos de 1,0 podem sugerir que algo diferente de consumo pode estar ocorrendo, como o descarte direto de resíduos da droga por laboratórios clandestinos que trabalham com a adulteração e distribuição de grandes quantidades da droga.

4.3.1.1 Estimativa de consumo por habitante e perfil semanal

A estimativa de consumo de cocaína é feita com um dos seus principais metabólitos e mais estável encontrado no esgoto, benzoilecgonina, utilizando a Equação 1 (Gracia-Lor *et al.*, 2017; Reid *et al.*, 2014). A cocaína não é utilizada porque é minimamente liberada em sua forma não alterada COC (1-15%), adicionalmente, ela não é estável no esgoto. Além da concentração de BE detectada no esgoto, a vazão, a estimativa da população e o fator de correção são muito importantes. O consumo em mg/dia/1000habitantes estimado utilizando os valores obtidos com a Equação 1 durante a semana e o fim de semana encontram-se na Tabela 17. O fator de correção utilizado foi o 4,19, pois considera a realidade brasileira.

Tabela 17. Consumo de cocaína por 1000 habitantes em 2017, 2018 e Carnaval.

ETE		Consumo (mg/dia/1000hab)	
		2017	2018
Norte	Dias da Semana	2174±533	4352±537
	Fim de Semana	3100±745	4661±561
	Carnaval	-	6228±709
Sul	Dias da Semana	1707±390	2295±271
	Fim de Semana	3319±641	3031±643

Na Tabela 17, os valores apresentados mostram um leve aumento no consumo de cocaínicos no fim de semana na área atendida pela ETE Norte, enquanto que na região atendida pela ETE Sul esse aumento é mais considerável. Na Tabela 18, os valores de consumo no DF são comparados com os valores de consumo reportados em outras regiões do mundo.

Tabela 18. Consumo de cocaínicos (mg/dia/1000hab) em vários países utilizando epidemiologia do esgoto.

Amostragem	País	Ano	Consumo (mg/dia/1000hab)	Referência
Brasília 2 ETE's	Brasil	2017-2018	1770 – 4661*	Este trabalho
2 ETE's	África do Sul	2017	100,6 – 589,6	Archer <i>et al.</i> , 2018
49 cidades	Europa	2016	0,9 – 914,8	EMCDDA, 2016
Medellin	Colômbia	2015	2747,0 – 3465,0	Bijlsma <i>et al.</i> , 2016
Bogotá	Colômbia	2015	703,0 – 871,0	Bijlsma <i>et al.</i> , 2016
Auckland	Austrália	2014	24,3 – 37,1	Lai <i>et al.</i> , 2017
Liberia	Costa Rica	2014	1880,0 – 2550,0	Causanilles <i>et al.</i> , 2017
El Roble	Costa Rica	2014	2390	Causanilles <i>et al.</i> , 2017
1 ETE	Canadá	2014	12	Palardy <i>et al.</i> , 2015
1 ETE	Reino Unido	2011	1023,0 – 1767,0	Baker <i>et al.</i> , 2014
1 ETE	República Tcheca	2011	115,9 – 329,2	Baker <i>et al.</i> , 2012
2 ETE's	Canadá	2010	390,0 – 3750,0	Yargeau <i>et al.</i> , 2014

* Valores desconsiderando o dia de Carnaval.

Observa-se, na Tabela 18, que o consumo de cocaínicos em Brasília é similar ao de cidades como Medellin e Liberia, localizadas na América Latina, onde o consumo mínimo está na faixa dos 1000 mg/dia/1000hab. Por questões de comparação, o consumo no Carnaval não foi utilizado por se tratar de um evento festivo, o que pode levar a um consumo maior do que o normal (Sodré et al., 2018; Thomas et al., 2012)..

Somando a carga de cocaína/crack consumida nas duas estações temos em torno de 1210 g.dia⁻¹ para 669.342 pessoas. A população do DF estimada pelo IBGE em 2017 é de 3.013.000 pessoas, equivalente a 5446 g.dia⁻¹, o que corresponde a mais de 2,13 toneladas de cocaínicos por ano. Adicionando a pureza média da cocaína no Brasil que é em torno de 49,8%, este valor sobe para 3,19 toneladas por ano (Maldaner *et al.*, 2016). Estimativas anteriores chegaram ao valor de aproximadamente 2 toneladas de cocaínicos consumidos por ano (Sodré *et al.*, 2018).

A Figura 27 mostra a evolução na estimativa de consumo de cocaínicos no DF entre 2010-2018 por epidemiologia do esgoto durante os dias da semana e finais de semana.

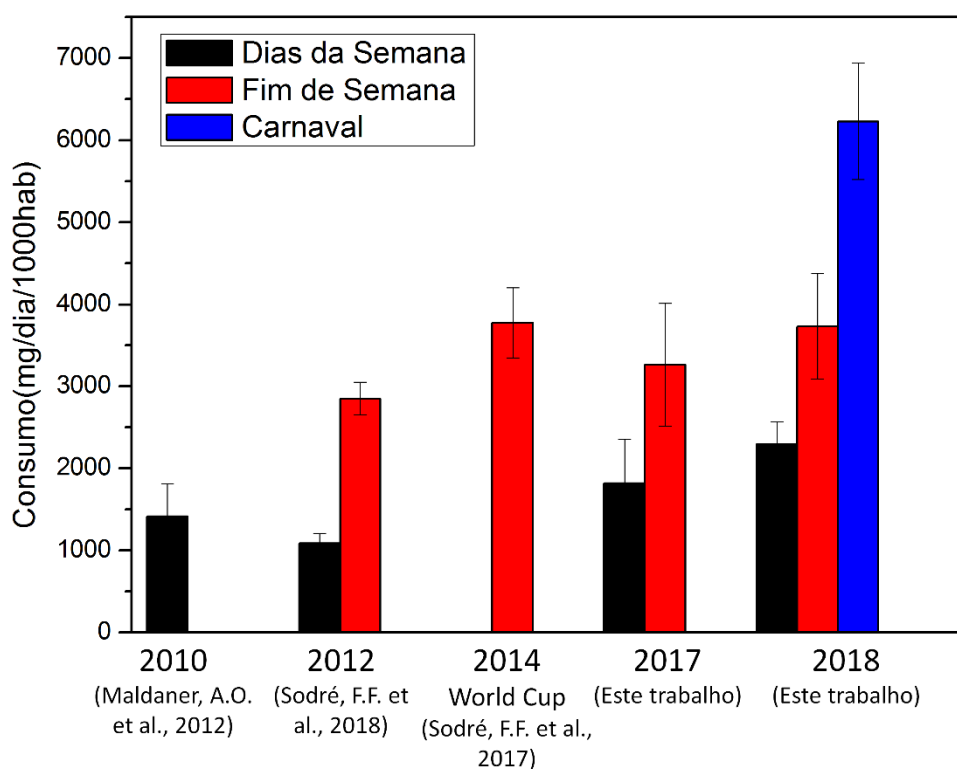


Figura 27. Estimativa de consumo de cocaína no Distrito Federal entre 2010 e 2018.

Observa-se que de 2012 a 2018 o consumo estimado durante os fins de semana tem mantido-se constante, enquanto que de 2010 a 2017, durante os dias de semana, nota-se um

leve aumento. A Figura 28 mostra a estimativa de consumo diário nas regiões atendidas pelas duas ETE's durante uma semana em 2017.

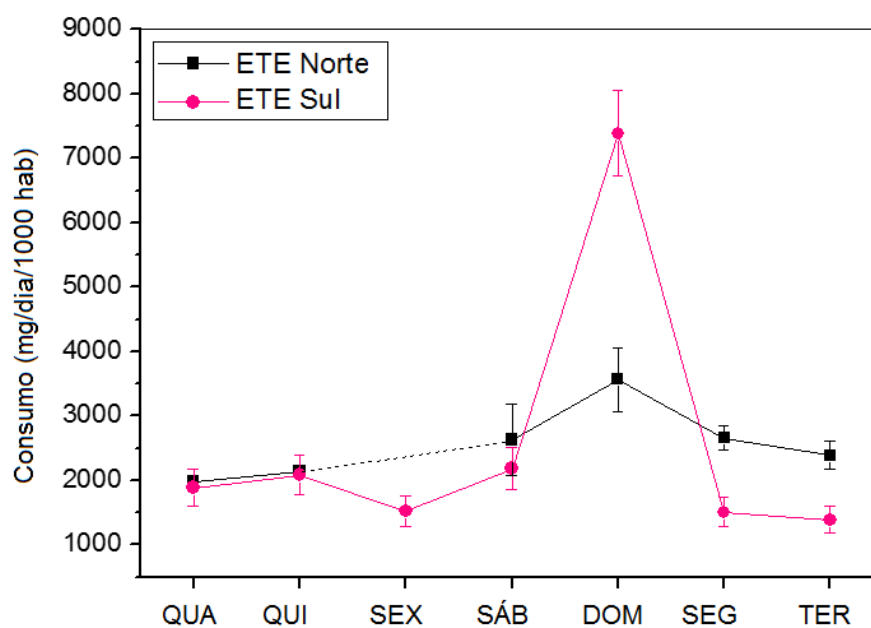


Figura 28. Perfil semanal do consumo de cocaína em Brasília nas duas ETE's.

Para as duas ETE's o pico de consumo concentra-se no domingo, o que pode estar relacionado ao consumo recreativo da droga durante o período do final de sábado e dia de domingo, pois a coleta é feita durante 24 horas.

Sodré *et al.*, 2018 fizeram o perfil semanal de consumo de cocaínicos em 2012 na região atendida pela ETE Norte. A Figura 29 mostra a comparação dos resultados encontrados, onde observa-se uma mudança no pico de consumo do sábado para o domingo.

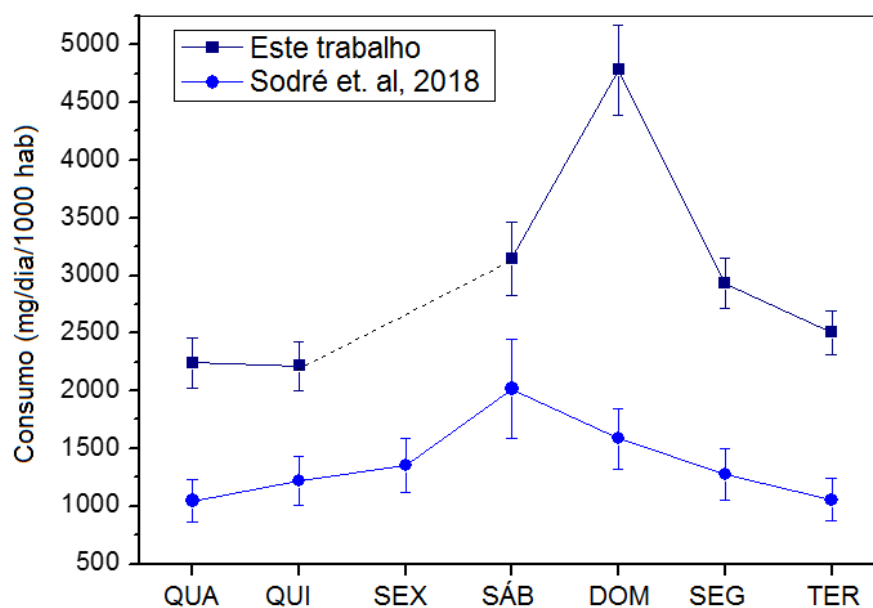


Figura 29. Perfil semanal de consumo de cocaína na ETE Norte em 2012 (Sodré *et al.*, 2018) e 2017 (Este trabalho).

Nota-se que o aumento de consumo de cocaína muda do sábado para o domingo, mas continua no final de semana. Trabalhos na área reportam os dois resultados, com dados de pico de consumo tanto no sábado quanto no domingo (Been *et al.*, 2016; Gracia-Lor *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2016).

4.3.2 Razão COE/BE e consumo concomitante de cocaína e álcool

O consumo concomitante de álcool com drogas é bastante comum e em alguns casos muito mais prejudicial do que o uso de uma só substância (Harris *et al.*, 2003). Um bom indicador do uso concomitante é o cocaetileno, gerado quando há uso simultâneo de cocaína e álcool, afetando drasticamente o sistema nervoso e circulatório (Wilson and French, 2002).

Ao ser metabolizada com álcool, a cocaína diminui a produção de benzoilecgonina de 20 a 40%. O valor de cocaetileno excretado na urina varia de 0,1 a 0,7% e é bastante dependente da quantidade de álcool e cocaína ingeridos, por este motivo a razão COE/BE foi usado para estimar o consumo de cocaína com álcool (Rodríguez-Álvarez *et al.*, 2015). Utilizando a razão COE/BE pode-se sugerir se houve um consumo preferencial da droga sozinha ou com álcool. Na Figura 30 é mostrado a razão COE/BE de alguns dias da semana onde cocaetileno foi encontrado no esgoto.

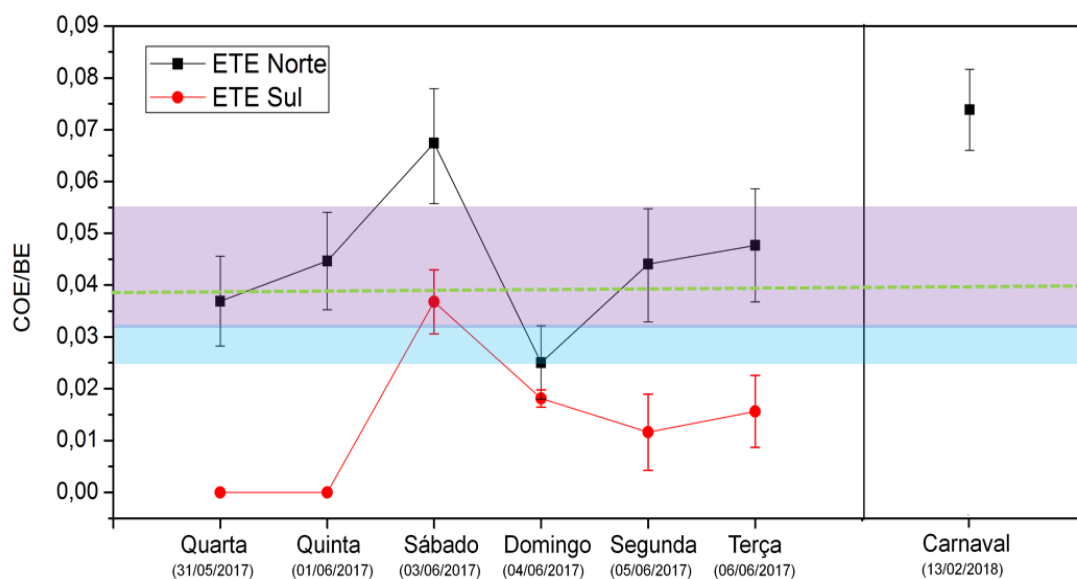


Figura 30. Razão COE/BE como indicador do consumo de cocaína com álcool.

A região na cor azul e outra na cor roxa mostram os valores de COE/BE provenientes de dados farmacológicos de usuários que fizeram uso de cocaína com álcool e variam de 0,025 a 0,033 (Cami *et al.*, 1998) e 0,031 a 0,055 (Harris *et al.*, 2003). Rodríguez-Álvarez *et al.*, 2015 proporam o valor ponderado de 0,039 indicado na linha verde tracejada para indicar o consumo preferencial de cocaína com álcool. Os valores de COE/BE encontrados no DF mostraram-se maiores durante o sábado e no dia de carnaval. Esse fato pode estar associado ao poliuso mais frequente no começo do fim de semana e em eventos festivos.

Em termo farmacológicos, sabendo que a quantidade de benzoilecgonina diminui quando cocaetileno é formado, o perfil semanal da Figura 28 pode ter sido influenciado pela quantidade de cocaetileno durante o sábado, que pode ter valores maiores do que o estimado. Ou seja, quando há bastante poliuso, a estimativa de consumo de cocaína sozinha pode ser influenciada, mostrando-se necessário levar em consideração o poliuso para estimativas mais realistas.

4.3.3. Fenacetina e levamisol como adulterantes

Dados gerados por peritos da Polícia Federal em cinco capitais brasileiras mostraram que a fenacetina é o principal adulterante do crack, enquanto que o levamisol aparece somente nas amostras de cloridrato de cocaína (Botelho *et al.*, 2014; Maldaner *et al.*, 2016).

Em 2014, FEN e LEV foram determinados nas ETE's Sul e Norte durante a Copa do Mundo de Futebol e foi encontrada uma razão duas vezes maior de FEN/LEV na região da

ETE Sul. A razão FEN/LEV foi utilizada para indicar o consumo predominante de crack ou cocaína em uma determinada região em comparação à outra. Sabendo que as amostras de crack contém mais fenacetina que as de cocaína, foi sugerido que quanto maior a razão FEN/LEV, maior seria o consumo de crack na região (Sodré *et al.*, 2017). Na Figura 31 a razão FEN/LEV é mostrada para as duas ETE's.

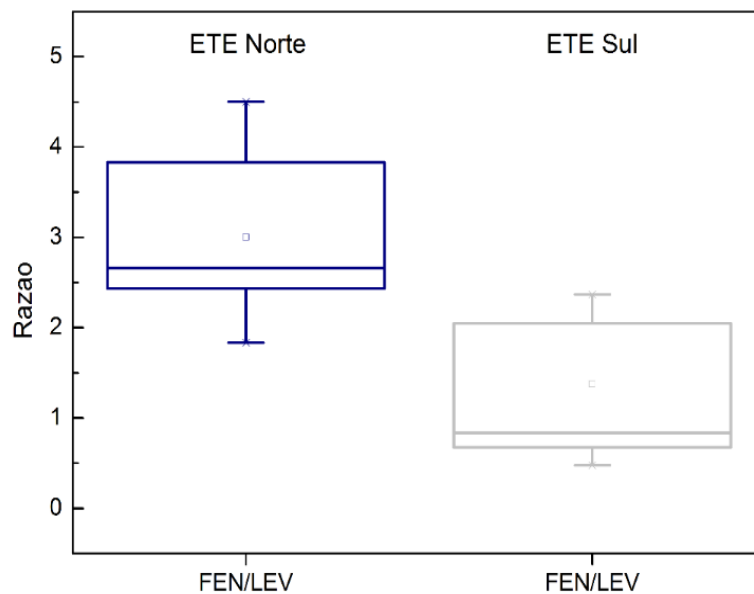


Figura 31. Razões entre os adulterantes FEN e LEV encontrados no esgoto das regiões atendidas pelas ETE's Norte e Sul.

Os dados da Secretaria de Segurança Pública que mapeiam os consumos de droga no DF corroboram com os resultados da Figura 31. Os pontos de consumo de crack no Plano Piloto encontram-se na Figura 32.

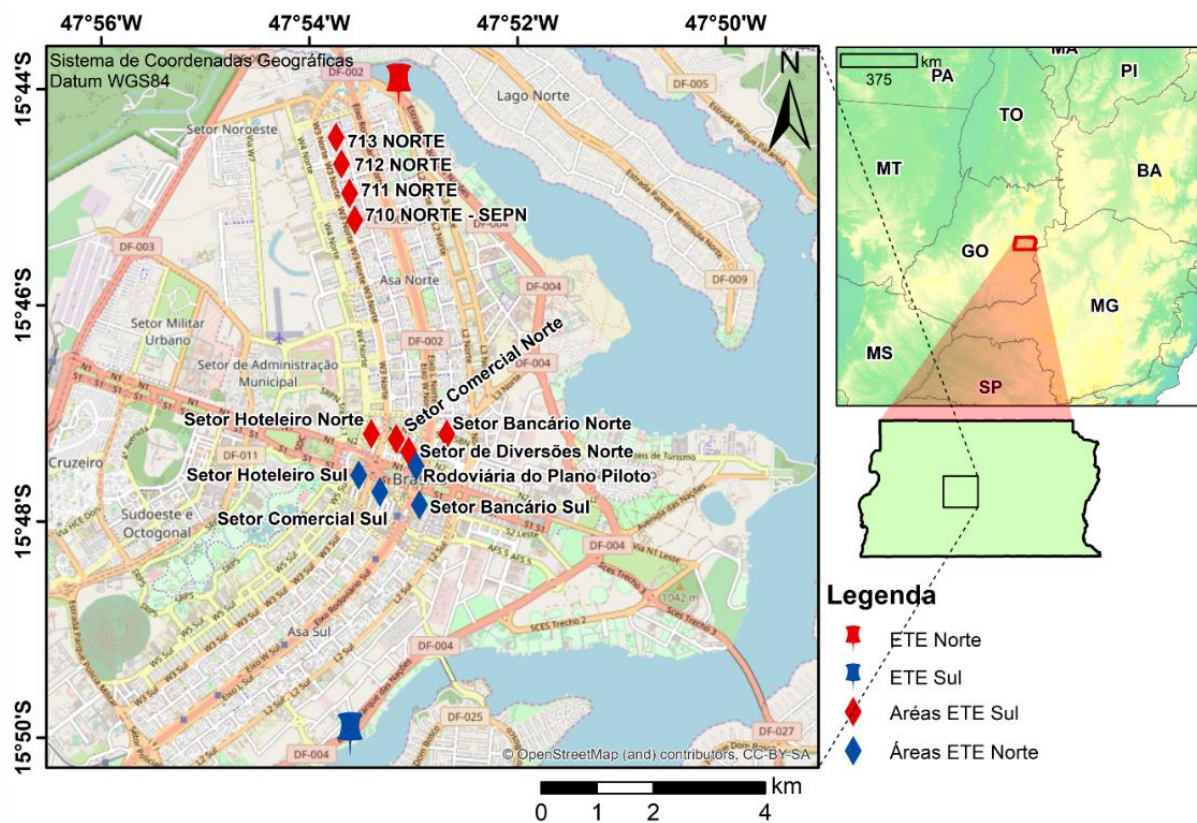


Figura 32. Pontos de consumo de crack no centro de Brasília (SSPDF, 2017).

Uma análise preliminar da Figura 32 mostra que os pontos de consumo de crack estão distribuídos principalmente entre o centro do Plano Piloto e algumas quadras da W3 Norte. A razão FEN/LEV foi cerca de duas vezes maior na ETE Norte, o que pode indicar uma mudança da região onde o crack é consumido de 2014 para 2017.

Maldaner *et al.*, 2016 quantificaram a fenacetina e o levamisol e determinaram a prevalência nas amostras apreendidas. A quantidade e a prevalência dos adulterantes nos cocaínicos encontram-se na Tabela 19.

Tabela 19. Quantidade e prevalência dos adulterantes, fenacetina e levamisol, em drogas apreendidas nas capitais brasileiras.

Droga	Número de amostras	Fenacetina				Levamisol			
		P (%)	Qtd. média (%)	Qtd. corrigida (%)	D (%)	P (%)	Qtd. média (%)	Qtd. corrigida (%)	D (%)
Crack	411	54	15,2	10,3	89,7	0	0	0	0
Cloridrato de cocaína	65	18	2,4	0,3	99,7	23	13,2	11,9	88,1
Outros	166	44	4,8	-	-	2	1,5	-	-
-	-	Qtd. total	22,4	-	-	Qtd. total	14,7	-	-

Na Tabela 19, a quantidade total de fenacetina, incluindo crack, cloridrato e outros foi de 22,4% e de levamisol 14,7%. Sendo assim, a quantidade de fenacetina encontrada no esgoto que vem do crack é 10,3% e da cocaína 0,3% e o levamisol da cocaína é de 11,9%. A quantidade da droga apreendida, crack ou cocaína, menos a quantidade correspondente aos adulterantes ($100 - Q_{td. corrigida}$) encontra-se na Tabela 18 na coluna D (%).

Na Tabela 20 encontram-se os valores dos adulterantes no esgoto em 2014, 2017, 2018 e no Carnaval.

Tabela 20. Concentração dos adulterantes no esgoto em 2014 (Sodré *et al.*, 2017), 2017 e dados necessários para os cálculos das Equações 6 e 7.

Adulterante	Excreção na urina		Ano	Carga no esgoto (g dia ⁻¹)	
	E_x (%)	Referência		ETE Norte	ETE Sul
FEN	1	NIH, 2007	2014	31±4	66±15
			2017	19±4	32±7
			Carnaval	18±6	-
			2018	27±6	72±10
LEV	0,5	Hess <i>et al.</i> , 2013	2014	47±12	52±11
			2017	7±2	26±10
			Carnaval	22±5	-
			2018	5±2	17±10

A quantidade de levamisol e fenacetina excretada na urina é limitada a poucos estudos de ingestão oral. A quantidade excretada é muito baixa, limitada a menos de 1 % para ambos os compostos. Sugere-se, então, que a alta quantidade de fenacetina e levamisol encontrados no esgoto, não tem como fonte primária o consumo com fins terapêuticos. A fenacetina é um analgésico que não é utilizado atualmente por sua alta toxicidade e o levamisol é um vermífugo mais utilizado para animais. Os valores encontrados no esgoto possuem a mesma ordem de grandeza de medicamentos muito utilizados pela população, como ibuprofeno 7.39-137.9 g dia⁻¹, diclofenaco 17.3-43.8 g dia⁻¹ e carbamazepina 1.44-6.71 g dia⁻¹ (Radjenovic *et al.*, 2007).

Neste trabalho, inferiu-se quantidade relativa de crack e cocaína a partir dos adulterantes com base nas Equações 6 e 7.

$$Q_{Crack} = \frac{C_{FEN} \times P \times D}{100 \times E_x} \quad (6)$$

$$Q_{Cocaina} = \frac{C_{FEN} \times P \times D}{100 \times E_x} + \frac{C_{LEV} \times P \times D}{100 \times E_x} \quad (7)$$

Nas Equações 6 e 7, a quantidade da drogas-alvo a partir dos adulterantes (Q) foi calculada a partir da carga do adulterante no esgoto (C em $g \text{ dia}^{-1}$), do fator de correlação de concentração na droga-alvo (D), que considera a quantidade de adulterante presente na droga, relacionando-o com a quantidade total da droga, prevalência nas amostras (P), conforme mostrada na Tabela 18. Finalmente, após obter os dois valores de Q , pode-se obter o valor de prevalência da droga PD , conforme mostra a Equação 8.

$$PD = \frac{Q_{Droga-alvo}}{Q_{Cocaina} + Q_{Crack}} \quad (8)$$

Na Tabela 21 encontram-se os valores de prevalência da droga (PD), encontrados a partir da Equação 8, e uma coluna com o valor sugerido pelo último levantamento sobre álcool e drogas (Laranjeira *et al.*, 2012).

Tabela 21. Prevalência de crack e cocaína por epidemiologia do esgoto pelo II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD).

Droga	Prevalência (PD)							
	II LENAD	ETE Norte Copa do Mundo 2014*	ETE Sul Copa do Mundo 2014*	ETE Norte 2017	ETE Sul 2017	ETE Norte Carnaval 2018	ETE Norte 2018	ETE Sul 2018
Crack	30 %	38 %	49 %	60 %	49 %	42 %	66 %	64 %
Cocaína	70 %	62 %	51 %	40 %	51 %	58 %	34 %	34 %

*Calculado com base nos dados levantados por Sodré *et al.*, 2017.

Observa-se que o perfil de consumo de 2014 era praticamente o mesmo mostrado pelo II LENAD. Em 2017 este perfil muda, mostrando que o consumo de crack já é maior que o de cocaína nas regiões analisadas. A presença de crack foi bem maior do que o esperado. A prevalência do crack na região atendida pela ETE Norte mostrou-se menor que a da ETE Sul em 2014 durante a Copa, levemente maior em 2017, e praticamente a mesma em 2018. Os dados levam a crer que a prevalência de usuários durante o tempo é dinâmica e não um número estático. Pode depender de eventos, como a Copa do Mundo e Carnaval. Observou-se um aumento na preferência de consumo de cocaína durante estes eventos, enquanto que em períodos normais o crack predomina. Em relação ao crack, os usuários

estão espalhados por toda a cidade, mesmo que haja alguns pontos de distribuição, como mostra a Figura 32, a maioria das pessoas com uso problemático de crack não tem uma residência fixa (Bertoni *et al.*, 2013).

Os resultados apresentados sobre prevalência de consumo a partir dos adulterantes são parte de uma ideia nunca explorada antes, sujeita a aprimoramentos em trabalhos futuros.

4.5 Apreensões da polícia e epidemiologia do esgoto

As apreensões de drogas em pequenas quantidades, ou seja, caracterizados por serem de usuários finais variam dependendo de vários fatores, entre eles o número de ações policiais, eventos especiais na cidade e a disponibilidade da droga (Lima *et al.*, 2017). A Figura 33 mostra o número de ocorrências registradas durante o ano de 2017, e ao lado, a distribuição de frequências de ocorrências, que variam de 50 a 100 por mês.

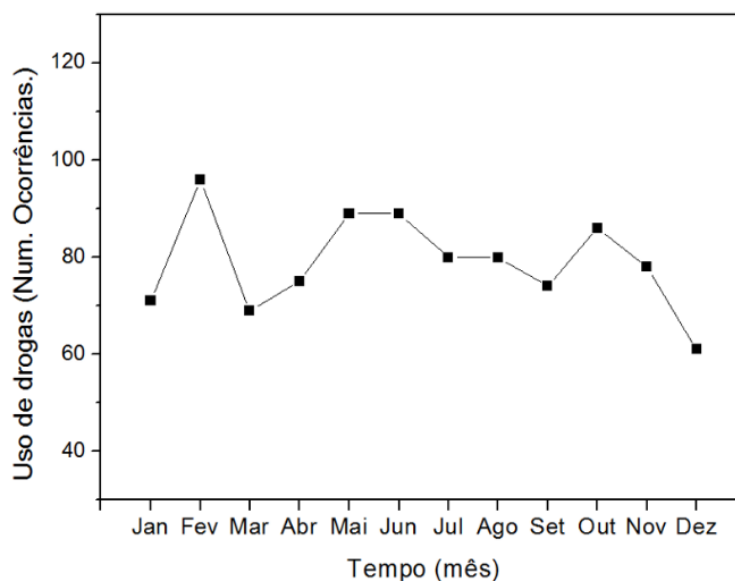


Figura 33. Número de ocorrências mensais de uso de drogas no DF (SSP-DF,2017).

A informação de que as apreensões de drogas com usuários “finais” variam em um intervalo conhecido é importante para analisar as apreensões diárias com relação à quantidade encontrada no esgoto. Pode-se, então, ter uma estimativa anual de quanto é apreendido e quanto está no mercado.

Os laudos gerados pela Polícia Civil do DF fornecem informações sobre a composição da droga apreendida, a quantidade de porções, a massa e a localização da apreensão. Os valores encontrados durante o período selecionado (30/05-06/06/2017)

variam bastante e são melhor apresentados por tabelas onde mostram os valores máximos e mínimos encontrados (Tabela 22) e sua distribuição percentual (Tabela 23).

Tabela 22. Valores extremos encontrados nas apreensões individuais.

		Quantidade (g)	
Cocaína	Maior	1	2323,50
		2	871,00
		3	265,00
		4	121,24
		5	43,80
	Menor	1	0,01
		2	0,05
		3	0,05
		4	0,10
		5	0,20
Crack	Maior	1	956,49
		2	95,60
		3	13,60
		4	11,81
		5	8,00
	Menor	1	0,01
		2	0,10
		3	0,11
		4	0,14
		5	0,15

Tabela 23. Distribuição percentual da quantidade de droga apreendida.

Massa (g)	Percentis (%)						
	5	10	25	50	75	90	95
Cocaína	0,05	0,11	0,41	1,77	15,71	113,49	840,70
Crack	0,10	0,14	0,40	0,96	2,69	11,43	91,50

A Tabela 23 mostra que 90% das apreensões de crack encontram-se em quantidades menores que 11,43 g, ou seja, em menores quantidades do que é encontrado de cocaína. A massa de cocaína e crack apreendidas durante esse período foi somada e separada entre

grandes quantidades (Figura 34) e pequenas quantidades (Figura 35) por delegacia para melhor visualização nos mapas.

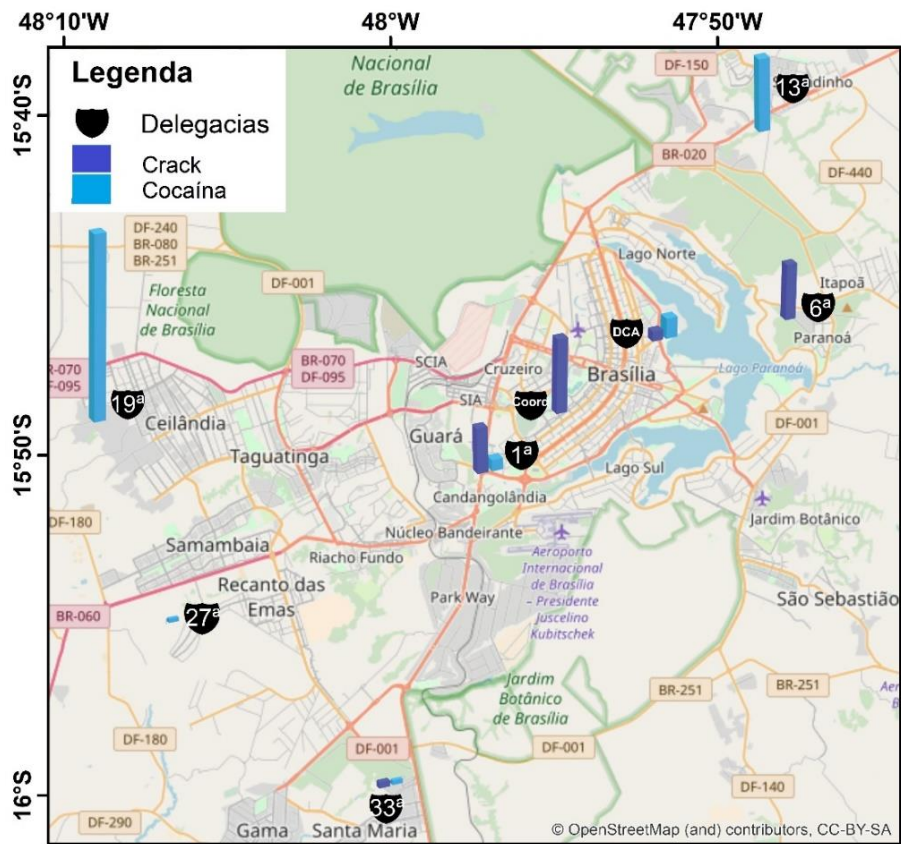


Figura 34. Apreensões em quantidades que variam de 51,61 g a 2323,51 g por delegacia.

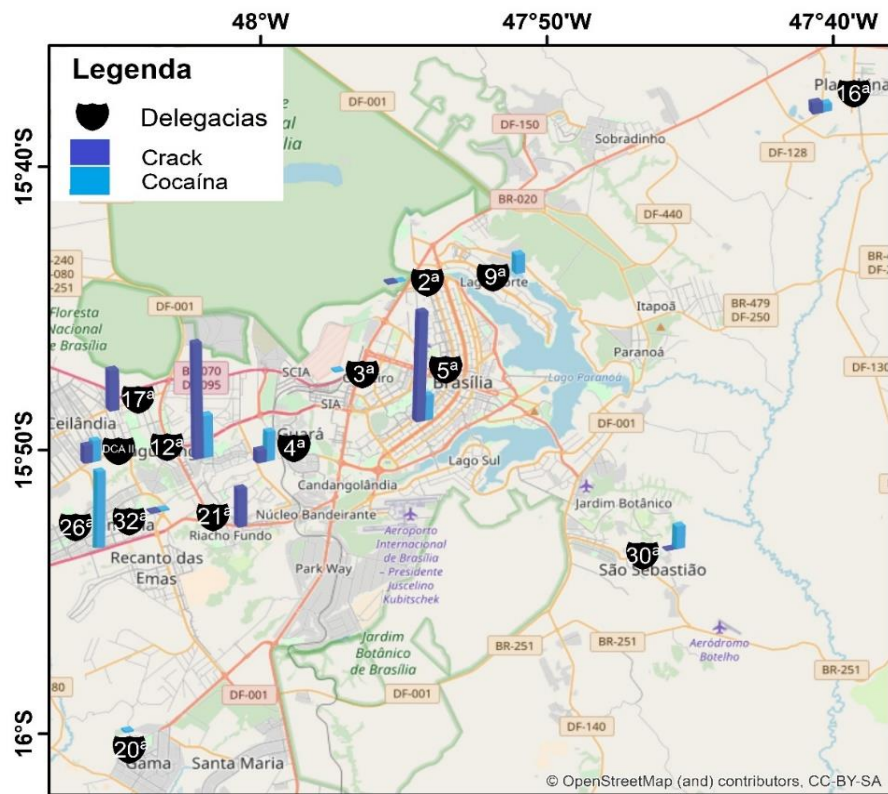


Figura 35. Apreensões em quantidades que variam de 0,25 g a 27,58 g por Delegacia.

Na Figura 34 observou-se uma maior quantidade de cocaína apreendida pelas delegacias das cidades satélites, enquanto que na Figura 35, observou-se uma maior distribuição de crack no centro da cidade. A distribuição por local de apreensão é apresentada na Figura 36.

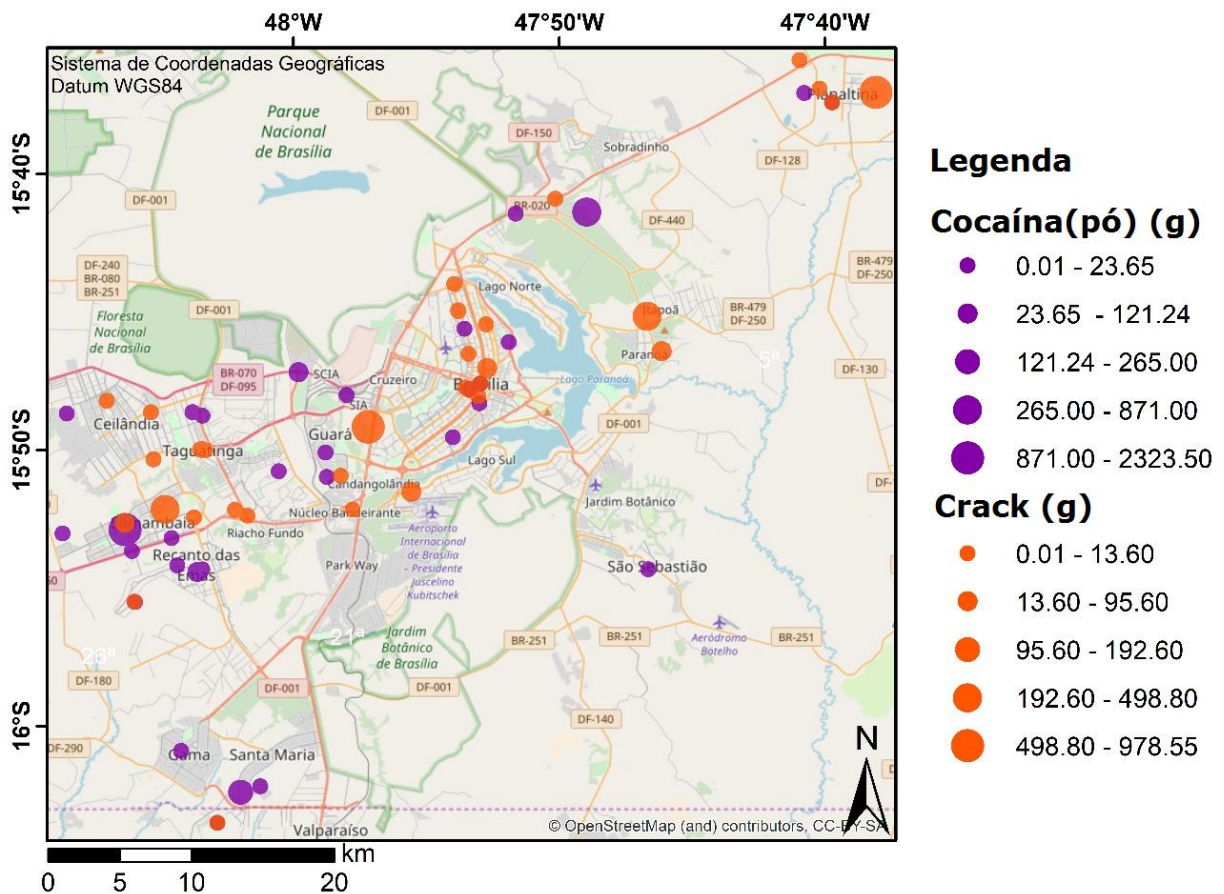


Figura 36. Distribuição das quantidades de crack e cocaína (pó) em gramas apreendidas no Distrito Federal na semana de coleta de amostras para análise de esgoto.

A Figura 36 mostra que o crack e a cocaína estão espalhadas por todo o Distrito Federal, principalmente na região central de Brasília, onde estaria localizada a “cracolândia” da cidade. Para comparar as apreensões com a carga diária de cocaína no esgoto, a quantidade diária de crack e cocaína apreendida em todas as delegacias do Distrito Federal foi somada e quantidade de cocaína estimada no esgoto foi extrapolada para uma população de três milhões de pessoas, que é aproximadamente a população atual do Estado. Na Figura 37 é mostrado graficamente as quantidades diárias com diferentes eixos verticais.

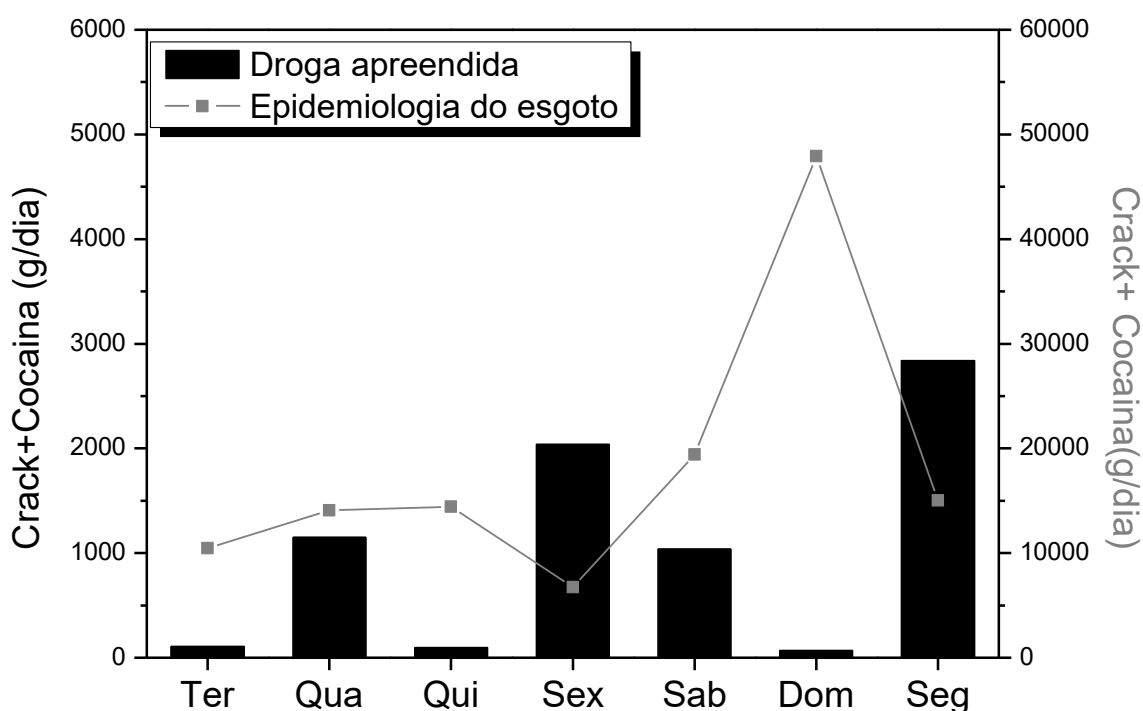


Figura 37. Apreensão de crack e cocaína em relação à carga encontrada por epidemiologia do esgoto.

A Figura 37 sugere que, em algumas ocasiões, o consumo diminui quando uma grande quantidade da droga foi apreendida. Entretanto, seriam necessários períodos de comparação mais longos ou apreensões em quantidades suficientes grandes para que alguma alteração significativa seja detectada no esgoto. Comparando os valores de consumo por epidemiologia do esgoto durante uma semana com o que foi apreendido, estimou-se que 10% da droga no mercado foi apreendido pela polícia civil do Distrito Federal. Esse número é muito importante para a avaliação da efetividade das ações policiais. Propostas de integração da epidemiologia do esgoto aos serviços de inteligência policial podem contribuir para o fortalecimento da ferramenta.

4.6 Discussão sobre o perfil de usuário de cocaínicos no Distrito Federal

Os trabalhos com usuários de drogas são complexos e englobam áreas da saúde e das ciências sociais. Com o objetivo de integrar a química ao contexto social e contribuir para os estudos epidemiológicos de saúde pública, os dados gerados neste trabalho foram compilados e levados para serem discutidos com o grupo do Centro de Referência sobre Drogas e Vulnerabilidades Associadas da Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília.

Diante dos dados que mostraram um aumento do consumo de cocaínicos durante o final de semana, questionou-se se os usuários de fim de semana são diferentes dos regulares, ou são os dependentes que abusam da droga por ter mais tempo livre. As pessoas com uso problemático de qualquer droga têm um padrão de uso característico, ou seja, regular. Mas que isso não significa que ela não possa aumentar esse padrão em eventos festivos e finais de semana. Surgiram, então, duas hipóteses: que o aumento no final de semana não se deve somente às pessoas que fazem uso social/recreativo da droga, mas também às pessoas que não, necessariamente, tem um padrão de dependência da substância, mas que tem um padrão de uso chamado de *binge*, ou uso excessivo episódico, que é tão problemático quanto o próprio quadro de dependência, ou seja, essas pessoas passam a semana toda sem usar, mas quando chega o final de semana, elas usam excessivamente (Vosburg *et al.*, 2010).

O uso recreativo e o *binge*, atribuídos como responsáveis pelo aumento do consumo no final de semana, podem também ser associados à outras drogas. O poliuso referido neste trabalho é relativo ao uso simultâneo, por questões de interações farmacológicas. Entretanto, o poliuso também se estende a usuários que fazem uso de diferentes drogas, mas em períodos diferentes. São práticas diferentes, mas não exclusivas (Guindalini *et al.*, 2006). A detecção do cocaetileno no esgoto, principalmente no final de semana corrobora com a ideia de que a associação de cocaínicos com álcool é predominante nos dias livres e feriados. A associação de cocaínicos com álcool é bastante comum, inclusive é a mais comum (Escobar *et al.*, 2018). Adicionalmente, usuários de cocaína na forma “pó” relatam episódios de associação com álcool mais frequentes que usuários de crack (Gossop *et al.*, 2006). Essa informação pode sugerir que o pico de concentração de cocaetileno no final de semana podem ter origem, principalmente, em usuários de cocaína na forma “pó”. Adicionalmente, a prevalência de cocaína pode ter aumentado em relação ao crack durante o carnaval, conforme sugerem os resultados de prevalência das formas de consumo obtidos com o uso dos adulterantes. Esses resultados reforçam ainda mais a contribuição de usuários de cocaína na forma de pó, geralmente associada a um maior poder aquisitivo e conseqüentemente utilizada por indivíduos com maior capacidade financeira.

5. Conclusão e Perspectivas

O trabalho realizado veio contribuir com os estudos de epidemiologia do esgoto para determinar drogas de abuso no Distrito Federal. Foi utilizado um método de extração já validado anteriormente com o diferencial de que as amostras foram levadas para análise no exterior e mesmo assim apresentou bons resultados. O transporte de cartuchos de extração de fase sólida é bem mais simples e permite que as amostras sejam armazenadas congeladas por até 3 meses. Novos, estudos de estabilidade das drogas nos cartuchos podem ser realizados futuramente para avaliar possíveis perdas durante o transporte. Isso tornaria possível o envio de amostras provenientes de várias regiões do Brasil para realização das análises em um único local, o que permitiria uma melhor visualização do tráfico e do consumo de drogas no país

Foi a primeira vez que a quantificação de drogas por LC-QTOF foi feita em nosso grupo de pesquisa. O analisador de massas QTOF é de alta acurácia e permitiu uma análise mais exata dos compostos sem perder a sensibilidade. Além disso, o uso de padrões internos deuterados permitiu a quantificação pelo método de razão das áreas que atenua o efeito de matriz.

Os resultados mostraram que o pico de consumo continua no fim de semana e que o poliuso de drogas pode estar relacionado com isso. A detecção de cocaetileno no esgoto mostrou que houve um consumo preferencial de cocaína com álcool nos fins de semana. Sugere-se a análise do sulfato de etila, marcador do álcool, para comparações com o cocaetileno e benzoilecgonina, e uma melhor visualização do poliuso. Trabalhos futuros podem tentar investigar diferentes metabólitos para avaliar outras combinações de drogas.

Os adulterantes, fenacetina e levamisol, foram utilizados, pela primeira vez, para prever a prevalência de consumo de cocaína e crack. As quantidades encontradas para os adulterantes no esgoto foram comparadas com a quantidade nas drogas apreendidas pela Polícia Federal. O consumo de crack apresentou um crescimento considerável na região, entre 2014 e 2017. O uso de cocaína mostrou-se elevado durante o carnaval, o que sugere um padrão de uso recreativo/social de cocaína (pó) em comparação ao crack, já que usuários na forma de pó são mais adeptos ao co-consumo com álcool em comparação ao usuário de crack, que prefere consumir drogas isoladamente e sem um contexto social.

Finalmente, a estimativa da quantidade de droga no esgoto, em g/dia, foi comparada com a quantidade apreendida de cocaínicos durante a semana da coleta. Estimou-se que cerca de 10% da droga foi apreendida pela Polícia Civil do DF. Os resultados mostraram

uma leve queda na quantidade no esgoto quando grandes apreensões eram feitas. Estudos futuros podem relacionar esse efeito à longo prazo para identificar se há alguma correlação, o que estabeleceria ainda mais a ferramenta.

6. Bibliografia

- Abdalla, R.R., Madruga, C.S., Ribeiro, M., Pinsky, I., Caetano, R., Laranjeira, R., 2014. Prevalence of Cocaine Use in Brazil: Data from the II Brazilian National Alcohol and Drugs Survey (BNADS). *Addict. Behav.* 39, 297–301. doi:<https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2013.10.019>
- Alves, E.A., Agonia, A.S., Cravo, S.M., Afonso, C.M., Netto, A.D.P., Bastos, M.D.L., Carvalho, F., Dinis-Oliveira, R.J., 2017. GC-MS Method for the Analysis of Thirteen Opioids, Cocaine and Cocaethylene in Whole Blood Based on a Modified Quechers Extraction. *Curr. Pharm. Anal.* 13, 215–223. doi:[10.2174/1573412912666160502163846](https://doi.org/10.2174/1573412912666160502163846)
- Andres-Costa, M.J., Escriva, U., Andreu, V., Pico, Y., 2016. Estimation of alcohol consumption during “Fallas” festivity in the wastewater of Valencia city (Spain) using ethyl sulfate as a biomarker. *Sci. Total Environ.* 541, 616–622. doi:[10.1016/j.scitotenv.2015.09.126](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.126)
- ANVISA, 2012. RESOLUÇÃO RDC 53. DOU n° 192, Se, 47.
- Archer, E., Castrignanò, E., Kasprzyk-Hordern, B., Wolfaardt, G.M., 2018. Wastewater-based epidemiology and enantiomeric profiling for drugs of abuse in South African wastewaters. *Sci. Total Environ.* 625, 792–800. doi:[10.1016/j.scitotenv.2017.12.269](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.269)
- Bade, R., Rousis, N.I., Bijlsma, L., Gracia-Lor, E., Castiglioni, S., Sancho, J. V, Hernandez, F., 2015. Screening of pharmaceuticals and illicit drugs in wastewater and surface waters of Spain and Italy by high resolution mass spectrometry using UHPLC-QTOF MS and LC-LTQ-Orbitrap MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 8979–8988. doi:[10.1007/s00216-015-9063-x](https://doi.org/10.1007/s00216-015-9063-x)
- Baker, D.R., Barron, L., Kasprzyk-Hordern, B., 2014. Illicit and pharmaceutical drug consumption estimated via wastewater analysis. Part A: Chemical analysis and drug use estimates. *Sci. Total Environ.* 487, 629–641. doi:[10.1016/j.scitotenv.2013.11.107](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.107)
- Baker, D.R., Barron, L., Kasprzyk-Hordern, B., 2014. Illicit and pharmaceutical drug consumption estimated via wastewater analysis. Part A: Chemical analysis and drug use estimates. *Sci. Total Environ.* 487, 629–641. doi:[10.1016/j.scitotenv.2013.11.107](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.107)
- Baker, D.R., Očenášková, V., Kvcialova, M., Kasprzyk-Hordern, B., 2012. Drugs of abuse in wastewater and suspended particulate matter - Further developments in sewage epidemiology. *Environ. Int.* 48, 28–38. doi:[10.1016/j.envint.2012.06.014](https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.06.014)
- Baz-Lomba, J.A., Salvatore, S., Gracia-Lor, E., Bade, R., Castiglioni, S., Castrignano, E.,

- Causanilles, A., Hernandez, F., Kasprzyk-Hordern, B., Kinyua, J., McCall, A.K., van Nuijs, A., Ort, C., Plosz, B.G., Ramin, P., Reid, M., Rousis, N.I., Ryu, Y., de Voogt, P., Bramness, J., Thomas, K., 2016. Comparison of pharmaceutical, illicit drug, alcohol, nicotine and caffeine levels in wastewater with sale, seizure and consumption data for 8 European cities. *BMC Public Health* 16, 11. doi:10.1186/s12889-016-3686-5
- Been, F., Lai, F.Y., Kinyua, J., Covaci, A., van Nuijs, A.L.N., 2016. Profiles and changes in stimulant use in Belgium in the period of 2011-2015. *Sci. Total Environ.* 565, 1011–1019. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.05.128
- Been, F., Rossi, L., Ort, C., Rudaz, S., Delemont, O., Esseiva, P., 2014. Population Normalization with Ammonium in Wastewater-Based Epidemiology: Application to Illicit Drug Monitoring. *Environ. Sci. Technol.* 48, 8162–8169. doi:10.1021/es5008388
- Benowitz, N.L., 1993. Clinical-Pharmacology and Toxicology of cocaine. *Pharmacol. Toxicol.* 72, 343.
- Bermejo, A.M., López, P., Álvarez, I., Tabernero, M.J., Fernández, P., 2006. Solid-phase microextraction for the determination of cocaine and cocaethylene in human hair by gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Sci. Int.* 156, 2–8. doi:10.1016/j.orsciint.2005.09.007
- Bertoni, N., Nacional, E., Arouca, S., Nascimento, P., 2013. Perfil dos usuários de crack e / ou similares no Brasil 1–27.
- Bijlsma, L., Beltran, E., Boix, C., Sancho, J. V., Hernandez, F., 2014. Improvements in analytical methodology for the determination of frequently consumed illicit drugs in urban wastewater. *Anal. Bioanal. Chem.* 406, 4261–4272. doi:10.1007/s00216-014-7818-4
- Bijlsma, L., Botero-Coy, A.M., Rincón, R.J., Peñuela, G.A., Hernández, F., 2016. Estimation of illicit drug use in the main cities of Colombia by means of urban wastewater analysis. *Sci. Total Environ.* 565, 984–993. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.05.078
- Boiteux, L., 2006. A Nova Lei Antidrogas e o aumento da pena do delito de tráfico de entorpecentes. *Bol. do Inst. Bras. Ciências Criminais* 8–9.
- Botelho, E.D., Cunha, R.B., Campos, A.F.C., Maldaner, A.O., 2014. Chemical Profiling of Cocaine Seized by Brazilian Federal Police in 2009-2012: Major Components. *J. Braz. Chem. Soc.* 25, 611–618. doi:10.5935/0103-5053.20140008
- Brasil, 2010. Farmacopeia Brasileira.
- Brasil, 1921. Decreto N 4.294. Diário Oficial da União, Brasil.

- Brito, N.M., Junior, O.D.P.A., Polese, L., Ribeiro, M.L., 2003. Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão. *Pestic. R.Ecotoxicol. e Meio Ambient.* 13, 129–146. doi:<http://dx.doi.org/10.5380/pes.v13i0.3173>
- CAESB, 2018. Estações de Tratamento de Esgoto [WWW Document]. URL <https://www.caesb.df.gov.br/> (accessado em 1.21.18).
- Cami, J., Farré, M., González, M.L., Segura, J., de la Torre, R., 1998. Cocaine Metabolism in Humans after Use of Alcohol Clinical and Research Implications, in: *Recent Developments in Alcoholism: The Consequences of Alcoholism Medical Neuropsychiatric Economic Cross-Cultural*. Springer US, Boston, MA, pp. 437–455. doi:10.1007/0-306-47148-5_22
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Melis, M., Panawennage, D., Chiarelli, P., Fanelli, R., Zuccato, E., 2011. Identification of cocaine and its metabolites in urban wastewater and comparison with the human excretion profile in urine. *Water Res.* 45, 5141–5150. doi:10.1016/j.watres.2011.07.017
- Castiglioni, S., Bijlsma, L., Covaci, A., Emke, E., Hernandez, F., Reid, M., Ort, C., Thomas, K. V., Van Nuijs, A.L.N., De Voogt, P., Zuccato, E., 2013. Evaluation of uncertainties associated with the determination of community drug use through the measurement of sewage drug biomarkers. *Environ. Sci. Technol.* 47, 1452–1460. doi:10.1021/es302722f
- Castiglioni, S., Borsotti, A., Riva, F., Zuccato, E., 2016. Illicit drug consumption estimated by wastewater analysis in different districts of Milan: A case study. *Drug Alcohol Rev.* 35, 128–132. doi:10.1111/dar.12233
- Castiglioni, S., Thomas, K. V., Kasprzyk-Hordern, B., Vandam, L., Griffiths, P., 2014. Testing wastewater to detect illicit drugs: State of the art, potential and research needs. *Sci. Total Environ.* 487, 613–620. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.10.034
- Castiglioni, S., Zuccato, E., Crisci, E., Chiabrando, C., Fanelli, R., Bagnati, R., 2006. Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 78, 8421–8429. doi:10.1021/ac061095b
- Caulkins, J., Reuter, P., 1996. The meaning and utility of drug prices. *Addiction* 91, 1261–1264. doi:10.1111/j.1360-0443.1996.tb03606.x
- Causanilles, A., Ruepert, C., Ibanez, M., Emke, E., Hernandez, F., de Voogt, P., 2017. Occurrence and fate of illicit drugs and pharmaceuticals in wastewater from two wastewater treatment plants in Costa Rica. *Sci. Total Environ.* 599, 98–107. doi:10.101

6/j.scitotenv.2017.04.202

- Causanilles, A., Ruepert, C., Ibáñez, M., Emke, E., Hernández, F., De Voogt, P., 2017. Occurrence and fate of illicit drugs and pharmaceuticals in wastewater from two wastewater treatment plants in Costa Rica. *Sci. Total Environ.* 599, 600–98. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.04.202
- CGCRE, 2010. Orientação sobre validação de métodos analíticos.
- Chalout, L., 1971. Organic solvents. *Can. Psychiatr. Assoc. J. / La Rev. l'Association des psychiatres du Canada* 16, 157–160.
- Chang, A., Osterloh, J., Thomas, J., 2010. Levamisole: A dangerous new cocaine adulterant. *Clin. Pharmacol. Ther.* 88, 408–411. doi:10.1038/clpt.2010.156
- Cherpitel, C.J., Ye, Y., Andreuccetti, G., Stockwell, T., Vallance, K., Chow, C., Brubacher, J.R., 2017. Risk of injury from alcohol, marijuana and emergency department patients. *Drug Alcohol Depend.* 174, 121–127. doi:10.1016/j.drugalcdep.2017.01.019
- Cohen, D., 2011. *Freud on Coke*, 1st ed. Cutting Edge Press, London.
- Cole, C., Jones, L., McVeigh, J., Kicman, A., Syed, Q., Bellis, M., 2011. Adulterants in illicit drugs: a review of empirical evidence. *Drug Test. Anal.* 3, 89–96. doi:10.1002/dta.220
- Conceição, V.N., Souza, L.M., Merlo, B.B., Filgueiras, P.R., Poppi, R.J., Romão, W., 2014. Estudo do teste de Scott via técnicas espectroscópicas: Um método alternativo para diferenciar cloridrato de cocaína e seus adulterantes. *Quim. Nova* 37, 1538–1544. doi:10.5935/0100-4042.20140240
- Crunelle, C.L., Cappelle, D., Covaci, A., van Nuijs, A.L.N., Maudens, K.E., Sabbe, B., Dom, G., Michielsens, P., Yegles, M., Neels, H., 2014. Hair ethyl glucuronide as a biomarker of alcohol consumption in alcohol-dependent patients: Role of gender differences. *Drug Alcohol Depend.* 141, 163–166. doi:10.1016/j.drugalcdep.2014.05.014
- de Souza, L.M., Rodrigues, R.R.T., Santos, H., Costa, H.B., Merlo, B.B., Filgueiras, P.R., Poppi, R.J., Vaz, B.G., Romão, W., 2016. A survey of adulterants used to cut cocaine in samples seized in the Espírito Santo State by GC-MS allied to chemometric tools. *Sci. Justice* 56, 73–79. doi:10.1016/j.scijus.2015.11.006
- Devault, D.A., Néfau, T., Pascaline, H., Karolak, S., Levi, Y., Damien, D.A., Thomas, N., Helene, P., Sara, K., Yves, L., 2014. First evaluation of illicit and licit drug consumption based on wastewater analysis in Fort de France urban area (Martinique, Caribbean), a transit area for drug smuggling. *Sci. Total Environ.* 490, 970–978. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.05.090

- Donovan, D.M., Kivlahan, D.R., Doyle, S.R., Longabaugh, R., Greenfield, S.F., 2006. Concurrent validity of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) and AUDIT zones in defining levels of severity among out-patients with alcohol dependence in the combine study. *Addiction* 101, 1696–1704. doi:10.1111/j.1360-0443.2006.01606.x
- Duailibi, L.B., Ribeiro, M., Laranjeira, R., 2008. Profile of cocaine and crack users in Brazil. *Cad. Saude Publica* 24, s545–s557.
- EMCDDA, 2016. European Monitoring Centre For Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) Sewage Analysis CORE group Europe (SCORE). Wastewater analysis and drugs — a European multi-city study [WWW Document].
- EMCDDA, 2008. Assessing illicit drugs in wastewater, 1st ed. Luxembourg.
- Escobar, M., Scherer, J.N., Soares, C.M., Guimarães, L.S.P., Hagen, M.E., von Diemen, L., Pechansky, F., 2018. Active Brazilian crack cocaine users: nutritional, anthropometric, and drug use profiles. *Rev. Bras. Psiquiatr.* doi:10.1590/1516-4446-2017-2409
- Eurachem, 2014. Eurachem. *Eurachem* 1–70. doi:978-91-87461-59-0
- FDA, 2017. Food and Drugs. United States of America.
- Feitosa, R.S., Sodré, F.F., Maldaner, A.O., 2013. Drogas de abuso em águas naturais e residuárias urbanas: Ocorrência, determinação e aplicações forenses. *Quim. Nova* 36, 291–305. doi:10.1590/S0100-40422013000200016
- Ferrieres, J., 2004. The French paradox: lessons for other countries. *Heart* 90, 107–111. doi:10.1136/heart.90.1.107
- Filizola, H., 2006. Manual de Procedimentos de Coleta de Amostras em Áreas Agrícolas para Análise da Qualidade Ambiental: Solo, Água e Sedimentos. Jaguariúna.
- Fiorentin, T.R., D’Avilaa, F.B., Comiran, E., Zamboni, A., Scherer, J.N., Pechansky, F., Borges, P.E.M., Froehlich, P.E., Limberger, R.P., 2017. Simultaneous determination of cocaine/crack and its metabolites in oral fluid, urine and plasma by liquid chromatography-mass spectrometry and its application in drug users. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 86, 60–66. doi:10.1016/j.vascn.2017.04.003
- Gheorghe, A., van Nuijs, A., Pecceu, B., Bervoets, L., Jorens, P.G., Blust, R., Neels, H., Covaci, A., 2008. Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 391, 1309–1319. doi:10.1007/s00216-007-1754-5
- Gonzalez-Marino, I., Gracia-Lor, E., Bagnati, R., Martins, C.P.B., Zuccato, E., Castiglioni, S., 2016. Screening new psychoactive substances in urban wastewater using high

- resolution mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 408, 4297–4309. doi:10.1007/s00216-016-9521-0
- Gonzalez-Marino, I., Quintana, J.B., Rodriguez, I., Cela, R., 2010. Determination of drugs of abuse in water by solid-phase extraction, derivatisation and gas chromatography-ion trap-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1217, 1748–1760. doi:10.1016/j.chroma.2010.01.046
- Gonzalez-Marino, I., Quintana, J.B., Rodriguez, I., Gonzalez-Diez, M., Cela, R., 2012. Screening and Selective Quantification of Illicit Drugs in Wastewater by Mixed-Mode Solid-Phase Extraction and Quadrupole-Time-of-Flight Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 84, 1708–1717. doi:10.1021/ac202989e
- Gossop, M., Manning, V., Ridge, G., 2006. Concurrent use of alcohol and cocaine: Differences in patterns of use and problems among users of crack cocaine and cocaine powder. *Alcohol Alcohol.* 41, 121–125. doi:10.1093/alcalc/agh260
- Goulart Júnior, S.S., 2012. Otimização e Validação de Método Cromatográfico para Quantificação de Componentes Majoritários em Amostras de Cocaína. Universidade de Brasília.
- Gracia-Lor, E., Castiglioni, S., Bade, R., Been, F., Castrignano, E., Covaci, A., Gonzalez-Marino, I., Hapeshi, E., Kasprzyk-Hordern, B., Kinyua, J., Lai, F.Y., Letzel, T., Lopardo, L., Meyer, M.R., O'Brien, J., Ramin, P., Rousis, N.I., Rydevik, A., Ryu, Y., Santos, M.M., Senta, I., Thomaidis, N.S., Veloutsou, S., Yang, Z.G., Zuccato, E., Bijlsma, L., 2017. Measuring biomarkers in wastewater as a new source of epidemiological information: Current state and future perspectives. *Environ. Int.* 99, 131–150. doi:10.1016/j.envint.2016.12.016
- Gracia-Lor, E., Zuccato, E., Castiglioni, S., 2016. Refining correction factors. for back-calculation of illicit drug use. *Sci. Total Environ.* 573, 1648–1659. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.09.179
- Graebner, R.W., 2012. Levamisole Toxicity. *Mayo Clin. Proc.* doi:10.1016/j.mayocp.2012.07.010
- Guindalini, C., Vallada, H., Breen, G., Laranjeira, R., 2006. Concurrent crack and powder cocaine users from Sao Paulo: Do they represent a different group? *BMC Public Health* 6, 1–7. doi:10.1186/1471-2458-6-10
- Harris, D.S., Everhart, E.T., Mendelson, J., Jones, R.T., 2003. The pharmacology of cocaethylene in humans following cocaine and ethanol administration. *Drug Alcohol Depend.* 72, 169–182. doi:10.1016/S0376-8716(03)00200-X

- Hernandez, F., Ibanez, M., Botero-Coy, A.M., Bade, R., Bustos-Lopez, M.C., Rincon, J., Moncayo, A., Bijlsma, L., 2015. LC-QTOF MS screening of more than 1,000 licit and illicit drugs and their metabolites in wastewater and surface waters from the area of Bogotá, Colombia. *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 6405–6416. doi:10.1007/s00216-015-8796-x
- Hess, C., Ritke, N., Broecker, S., Madea, B., Musshoff, F., 2013. Metabolism of levamisole and kinetics of levamisole and aminorex in urine by means of LC-QTOF-HRMS and LC-QqQ-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 4077–4088. doi:10.1007/s00216-013-6829-x
- Heuett, N. V., Ramirez, C.E., Fernandez, A., Gardinali, P.R., 2015. Analysis of drugs of abuse by online SPE-LC high resolution mass spectrometry: Communal assessment of consumption. *Sci. Total Environ.* 511, 319–330. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.12.043
- Hofmaier, T., Luf, A., Seddik, A., Stockner, T., Holy, M., Freissmuth, M., Ecker, G.F., Schmid, R., Sitte, H.H., Kudlacek, O., 2014. Aminorex, a metabolite of the cocaine adulterant levamisole, exerts amphetamine like actions at monoamine transporters. *Neurochem. Int.* doi:10.1016/j.neuint.2013.11.010
- Ibanez, M., Sancho, J. V., Bijlsma, L., van Nuijs, A.L.N., Covaci, A., Hernandez, F., 2014. Comprehensive analytical strategies based on high-resolution time-of-flight mass spectrometry to identify new psychoactive substances. *Trac-Trends Anal. Chem.* 57, 107–117. doi:10.1016/j.trac.2014.02.009
- IBGE, 2010. Atlas de Saneamento [WWW Document]. URL www.ibge.gov.br/home/estatistica (accessado em 8.8.17).
- Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda., 2013. Ascaridil® (levamisol). BULA.
- Karjalainen, K., Kuussaari, K., Kataja, K., Tigerstedt, C., Hakkarainen, P., 2017. Measuring Concurrent Polydrug Use in General Populations: A Critical Assessment. *Eur. Addict. Res.* 23, 163–169. doi:10.1159/000477802
- Katzung, B., Trevor, A.J., Masters, S., 2014. *Farmacologia Básica e Clínica*, 12th ed. Amgh, Porto Alegre.
- Lai, F.Y.I.N., Wilkins, C., Thai, P., Mueller, J.F., 2017. An exploratory wastewater analysis study of drug use in Auckland, New Zealand. doi:10.1111/dar.12509
- Laranjeira, R., Madruga, C.S., Pinsky, I., Caetano, R., Mitsuhiro, S.S., 2012. II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD). São Paulo.
- Lima, R.S. de, Bueno, S., Pröglhöf, P.N., Hanashiro, O., Martins, C., Marques, D., Sobral, I., Pinheiro, M., Santos, M., Astolfi, R., Langeani, B., Rosa, C., De, T.A., Cerqueira, D., Borges, D., Lotin de Souza, E., Cano, I., Viegas, R., 2017. 11º Anuário Brasileiro

- de Segurança Pública. Sao Paulo.
- Maldaner, A.O., Botelho, E.D., Zacca, J.J., Melo, R.C.A., Costa, J.L., Zancanaro, I., Oliveira, C.S.L., Kasakoff, L.B., Paixao, T.R.L.C., 2016. Chemical Profiling of Street Cocaine from Different Brazilian Regions. *J. Braz. Chem. Soc.* 27, 719–726.
- Maldaner, A.O., Schmidt, L.L., Locatelli, M.A.F., Jardim, W.F., Sodr , F.F., Almeida, F. V, Pereira, C.E.B., Silva, C.M., 2012. Estimating cocaine consumption in the Brazilian Federal District (FD) by sewage analysis. *J. Braz. Chem. Soc.* 23, 861–867.
- Mastroianni, N., Lopez de Alda, M., Barcelo, D., 2014. Analysis of ethyl sulfate in raw wastewater for estimation of alcohol consumption and its correlation with drugs of abuse in the city of Barcelona. *J. Chromatogr. A* 1360, 93–99. doi:10.1016/j.chroma.2014.07.051
- Matuszewski, B.K., Constanzer, M.L., Chavez-Eng, C.M., 2003. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. *Anal. Chem.* 75, 3019–3030. doi:10.1021/ac020361s
- McCall, A.K., Bade, R., Kinyua, J., Lai, F.Y., Thai, P.K., Covaci, A., Bijlsma, L., van Nuijs, A.L.N., Ort, C., 2016. Critical review on the stability of illicit drugs in sewers and wastewater samples. *Water Res.* 88, 933–947. doi:10.1016/j.watres.2015.10.040
- Nadeau, G., Sobolewski, G., 1960. Tolerance to drugs, especially to morphine. *Nature* 186, 169–170. doi:10.1038/186169a0
- Nagi, K., Pineyro, G., 2011. Regulation of opioid receptor signalling: Implications for the development of analgesic tolerance. *Mol. Brain* 4, 9. doi:10.1186/1756-6606-4-25
- Negrete, J.C., 1992. Cocaine problems in the coca-growing countries of South America, in: *Cocaine: Scientific and Social Dimensions*. John Wiley & Sons.
- NIDA, 2014. *Drugs, Brains, and Behavior: The Science of Addiction*. doi:14-5605
- NIH, 2012. *Principles of Drug Addiction Treatment*, 5th ed. 12–4180.
- NIH, 2007. Phenacetin [WWW Document]. *Toxicol. Data Netw.* URL <https://toxnet.nlm.nih.gov/>
- Occupati, B., Rotulo, A., Gori, F., Gambassi, F., Bertol, E., Masini, E., 2017. Cocaethylene formation following ethanol and cocaine use: a case report. *Clin. Toxicol.* 55, 445.
- Oliveira, S. da C., 2013. *Conversando sobre drogas*, 2nd ed. Rio de Janeiro.
- Palardy, A., Gagne, J.-P., Tremblay, L., 2015. Presence of illicit drugs and pharmaceutical residues in the wastewaters of an eastern Canadian city. *J. Xenobiotics* 5, 37–39.
- Polícia Federal, 2017. *Estat stica de Drogas Apreendidas* [WWW Document]. URL <http://www.pf.gov.br/imprensa/estatistica/drogas>

- Radjenovic, J., Petrovic, M., Barceló, D., 2007. Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor 1365–1377. doi:10.1007/s00216-006-0883-6
- Rees, K.A., McLaughlin, P.A., David Osselton, M., 2012. Validation of a gas chromatography-ion trap-tandem mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of cocaine, benzoylecgonine, cocaethylene, morphine, codeine, and 6-acetylmorphine in aqueous solution, blood, and skeletal muscle tissue. *J. Anal. Toxicol.* 36, 1–11. doi:10.1093/jat/bkr006
- Reid, M.J., Baz-Lomba, J.A., Ryu, Y., Thomas, K. V, 2014. Using biomarkers in wastewater to monitor community drug use: A conceptual approach for dealing with new psychoactive substances. *Sci. Total Environ.* 487, 651–658. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.12.057
- Ribeiro, M., Laranjeira, R.O., 2010. *O Tratamento do Usuário de Crack*, 1st ed. Casa da Leitura Médica, São Paulo.
- Rodayan, A., Afana, S., Segura, P.A., Sultana, T., Metcalfe, C.D., Yargeau, V., 2016. Linking drugs of abuse in wastewater to contamination of surface and drinking water. *Environ. Toxicol. Chem.* 35, 843–849. doi:10.1002/etc.3085
- Rodríguez-Álvarez, T., Racamonde, I., González-Mariño, I., Borsotti, A., Rodil, R., Rodríguez, I., Zuccato, E., Quintana, J.B., Castiglioni, S., 2015. Alcohol and cocaine co-consumption in two European cities assessed by wastewater analysis. *Sci. Total Environ.* 536, 91–8. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.07.016
- Rodríguez-Álvarez, T., Rodil, R., Cela, R., Quintana, J.B., 2014. Ion-pair reversed-phase liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight and triple-quadrupole-mass spectrometry determination of ethyl sulfate in wastewater for alcohol consumption tracing. *J. Chromatogr. A* 1328, 35–42. doi:10.1016/j.chroma.2013.12.076
- Rousis, N.I., Gracia-Lor, E., Zuccato, E., Bade, R., Baz-Lomba, J.A., Castrignano, E., Causanilles, A., Covaci, A., de Voogt, P., Hernandez, F., Kasprzyk-Hordern, B., Kinyua, J., McCall, A.K., Plosz, B.G., Ramin, P., Ryu, Y., Thomas, K. V, van Nuijs, A., Yang, Z.G., Castiglioni, S., 2017. Wastewater-based epidemiology to assess pan-European pesticide exposure. *Water Res.* 121, 270–279. doi:10.1016/j.watres.2017.05.044
- Ruitenbergh, A., van Swieten, J.C., Witteman, J.C.M., Mehta, K.M., van Duijn, C.M., Hofman, A., Breteler, M.M.B., 2002. Alcohol consumption and risk of dementia: the Rotterdam Study. *Lancet* 359, 281–286. doi:10.1016/S0140-6736(02)07493-7

- Ryu, Y., Gracia-Lor, E., Bade, R., Baz-Lomba, J.A., Bramness, J.G., Castiglioni, S., Castrignano, E., Causanilles, A., Covaci, A., de Voogt, P., Hernandez, F., Kasprzyk-Hordern, B., Kinyua, J., McCall, A.K., Ort, C., Plosz, B.G., Ramin, P., Rousis, N.I., Reid, M.J., Thomas, K. V, 2016. Increased levels of the oxidative stress biomarker 8-iso-prostaglandin F-2 alpha in wastewater associated with tobacco use. *Sci. Rep.* 6, 7. doi:10.1038/srep39055
- Sánchez-gonzález, J., Jesús, M., María, A., Bermejo, P., Moreda, A., 2016. Talanta Development of magnetic molecularly imprinted polymers for solid phase extraction of cocaine and metabolites in urine before high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Talanta* 147, 641–649. doi:10.1016/j.talanta.2015.10.034
- Sandoval, C., Vásquez, B., Mandarim-de-Lacerda, C., del Sol, M., 2017. Ethanol intake and toxicity: In search of new treatments. *Int. J. Morphol.* 35, 942–949. doi:10.4067/S0717-95022017000300024
- Santos, H., Lima, A.S., Mazega, A., Domingos, E., Thompson, C.J., Maldaner, A.O., Filgueiras, P.R., Vaz, B.G., Romao, W., 2017. Quantification of cocaine and its adulterants (lidocaine and levamisole) using the Dragendorff reagent allied to paper spray ionization mass spectrometry. *Anal. Methods* 9, 3662–3668. doi:10.1039/c7ay00588a
- Santos, J.M., Jurban, M., Kim, H., 2015. Could sewage epidemiology be a strategy to assess lifestyle and wellness of a large scale population? *Med. Hypotheses* 85, 408–411. doi:10.1016/j.mehy.2015.06.020
- Scappaticcio, L., Maiorino, M.I., Bellastella, G., Giugliano, D., Esposito, K., 2017. Insights into the relationships between diabetes, prediabetes, and cancer. *Endocrine* 56, 231–239. doi:10.1007/s12020-016-1216-y
- Silva, R.F. DA, 2012. Determinação de cocaína e benzoilecgonina em amostras de esgoto bruto do Distrito Federal como suporte à realização de estimativas de consumo. Universidade de Brasília.
- Silveira, G.D., Belitsky, I.T., Loddi, S., de Oliveira, C.D.R., Zucoloto, A.D., Fruchtengarten, L.V.G., Yonamine, M., 2016. Development of a method for the determination of cocaine, cocaethylene and norcocaine in human breast milk using liquid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Sci. Int.* 265, 22–28. doi:10.1016/j.forsciint.2016.01.007
- Sodré, F.F., Feitosa, R.S., Jardim, W.F., Maldaner, A.O., 2018. Wastewater-based epidemiology of cocaine in the Brazilian Federal District: spatial distribution, weekly

- variation and sample preservation strategies. *J. Braz. Chem. Soc.*
- Sodré, F.F., Souza, G.B., Feitosa, R.S., Pereira, C.E.B., Maldaner, A.O., 2017. Illicit Drugs, Metabolites and Adulterants in Wastewater: Monitoring Community Drug Abuse in the Brazilian Federal District during the 2014 Soccer World Cup. *J. Braz. Chem. Soc.* 1–9.
- Stampfer, M.J., Kang, J.H., Chen, J., Cherry, R., Grodstein, F., Sc, D., 2005. Effects of moderate alcohol consumption on cognitive function in women. *N. Engl. J. Med.* 352, 245–53. doi:10.1056/NEJMoa041152
- Tang, S., Zhang, H., Lee, H.K., 2016. Advances in Sample Extraction. *Anal. Chem.* 88, 228–249. doi:10.1021/acs.analchem.5b04040
- Tarcomnicu, I., van Nuijs, A.L.N., Simons, W., Bervoets, L., Blust, R., Jorens, P.G., Neels, H., Covaci, A., 2011. Simultaneous determination of 15 top-prescribed pharmaceuticals and their metabolites in influent wastewater by reversed-phase liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta* 83, 795–803. doi:10.1016/j.talanta.2010.10.045
- Thai, P.K., Jiang, G., Gernjak, W., Yuan, Z., Lai, F.Y., Mueller, J.F., 2014. Effects of sewer conditions on the degradation of selected illicit drug residues in wastewater. *Water Res.* 48, 538–547. doi:10.1016/j.watres.2013.10.019
- Thomas, K. V, Bijlsma, L., Castiglioni, S., Covaci, A., Emke, E., Grabic, R., Hernandez, F., Karolak, S., Kasprzyk-Hordern, B., Lindberg, R.H., de Alda, M.L., Meierjohann, A., Ort, C., Pico, Y., Quintana, J.B., Reid, M., Rieckermann, J., Terzic, S., van Nuijs, A.L.N., de Voogt, P., 2012. Comparing illicit drug use in 19 European cities through sewage analysis. *Sci. Total Environ.* 432, 432–439. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.06.069
- Toledo, L., Gongora, A., Bastos, F., 2017. On the sidelines of society: crack use, deviation, criminalization and social exclusion - a narrative review. *Cien. Saude Colet.* 22, 31–42. doi:10.1590/1413-81232017221.02852016
- UNODC, 2017. World Drug Report 2017. Vienna.
- van Nuijs, A.L.N., Abdellati, K., Bervoets, L., Blust, R., Jorens, P.G., Neels, H., Covaci, A., 2012. The stability of illicit drugs and metabolites in wastewater, an important issue for sewage epidemiology? *J. Hazard. Mater.* 239, 19–23. doi:10.1016/j.jhazmat.2012.04.030
- van Nuijs, A.L.N., Castiglioni, S., Tarcomnicu, I., Postigo, C., de Alda, M.L., Neels, H., Zuccato, E., Barcelo, D., Covaci, A., 2011. Illicit drug consumption estimations derived from wastewater analysis: A critical review. *Sci. Total Environ.* 409, 3564–3577.

doi:10.1016/j.scitotenv.2010.05.030

- van Nuijs, A.L.N., Pecceu, B., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P.G., Bervoets, L., Blust, R., Meulemans, H., Neels, H., Covaci, A., 2009a. Can cocaine use be evaluated through analysis of wastewater? A nation-wide approach conducted in Belgium. *Addiction* 104, 734–741. doi:10.1111/j.1360-0443.2009.02523.x
- van Nuijs, A.L.N., Pecceu, B., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P.G., Bervoets, L., Blust, R., Neels, H., Covaci, A., 2009b. Spatial and temporal variations in the occurrence of cocaine and benzoylecgonine in waste- and surface water from Belgium and removal during wastewater treatment. *Water Res.* 43, 1341–1349. doi:10.1016/j.watres.2008.12.020
- Volkow, N.D., Wang, G.-J., Fowler, J.S., Tomasi, D., 2015. Addiction Circuitry in the Human Brain. *Focus (Madison)*. 13, 341–350. doi:10.1176/appi.focus.130306
- Vosburg, S.K., Haney, M., Rubin, E., Foltin, R.W., 2010. Using a Novel Alternative to Drug Choice in a Human Laboratory Model of a Cocaine Binge: A Game of Chance. *Drug Alcohol Depend* 110, 144–150. doi:10.1016/j.drugalcdep.2010.02.015.
- Will, S., 2005. *Drugs of Abuse*, 2nd ed. Pharmaceutical Press, London.
- Wilson, L.D., French, S., 2002. Cocaethylene 's Effects on Coronary Artery Blood Flow and Cardiac Function in a Canine Model. *J Toxicol Clin Toxicol* 40, 535–546.
- Yang, Z.G., Castrignano, E., Estrela, P., Frost, C.G., Kasprzyk-Hordern, B., 2016. Community Sewage Sensors towards Evaluation of Drug Use Trends: Detection of Cocaine in Wastewater with DNA-Directed Immobilization Aptamer Sensors. *Sci. Rep.* 6, 10. doi:10.1038/srep21024
- Yao, B., Lian, L.S., Pang, W.H., Yin, D.Q., Chan, S.A., Song, W.H., 2016. Determination of illicit drugs in aqueous environmental samples by online solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 160, 208–215. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.06.092
- Yargeau, V., Taylor, B., Li, H., Rodayan, A., Metcalfe, C.D., 2014. Analysis of drugs of abuse in wastewater from two Canadian cities. *Sci. Total Environ.* 487, 722–730. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.094
- Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Calamari, D., Bagnati, R., Schiarea, S., Fanelli, R., 2005. Cocaine in surface waters: A new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ. Health* 4, 14.

APÊNDICE 1

O preparo de amostra seguiu o mesmo procedimento descrito em 3.3, com exceção de que os cartuchos permaneceram congelados (-10°C) até o momento da análise. Os analitos foram recuperados com 6 mL de metanol em tubos de vidro previamente limpos e adicionou-se 100 μL dos padrões internos deuterados (1 mg L^{-1}). O eluato foi evaporado com fluxo de N_2 , e concentrados a um volume final de 1,5 mL.

O espectrômetro de massas utilizado no Brasil possui o sistema QTRAP 3200, do inglês *hybrid quadrupole-ion trap*, que é apto a realizar determinações como triplo quadrupolo ou armadilha de íons, um esquema do equipamento é apresentado na Figura 38.

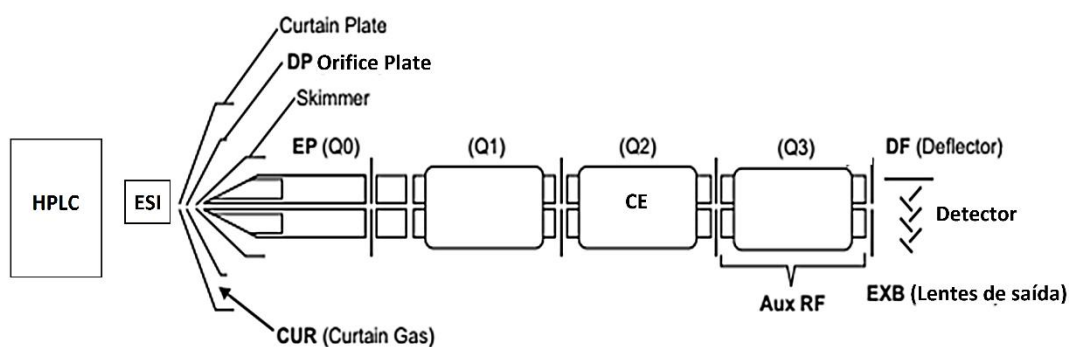


Figura 38. Sistema QTRAP (Adaptada de AB SCIEX, 2013).

Inicialmente os analitos são separados pela coluna cromatográfica e seguem para a fonte de ionização (ESI, do inglês *electrospray ionization*). Na fonte, os íons são gerados à pressão atmosférica com o auxílio de um gás nebulizador (GS1) e de uma diferença de potencial (IS), que varia de - 4500 a 5500 V dependendo da polaridade dos íons. O gás de cortina (CUR, do inglês *curtain gas*) controla o fluxo de gás entre o *curtain plate* e o *orifice plate*. O parâmetro DP, do inglês *declustering potential*, controla a diferença de potencial entre o *skimmer* e o *orifice plate*, minimizando os *clusters* de íons com o solvente. O Turbogás (GS2) age em conjunto com a temperatura da fonte de íons (TEM) para auxiliar na evaporação da fase móvel vinda da cromatografia. Os íons que entram no caminho iônico são primeiramente focados pelo quadrupolo Q0 com o auxílio do potencial de entrada (EP) entre o Q0 e o *skimmer*. Os íons seguem para o quadrupolo Q1 que classifica os íons antes de entrar na célula de colisão Q2. O Q2 é uma célula de colisão onde os íons são fragmentados por colisões com moléculas de gás N_2 ultrapuro. A energia de colisão (CE, do inglês *collision energy*) é a quantidade de energia que os íons precursores recebem ao serem

fragmentados em Q2. O CEP, do inglês *Collision Entrance Potential*, estabelece o potencial de entrada de Q2, guiando os íons para dentro da célula de colisão, enquanto que o CXP, do inglês *Collision Exit Potential*, guia e acelera o íon para fora da célula de colisão. Depois de passar pela célula de colisão, os íons entram no quadrupolo Q3, e finalmente seguem para o detector. No detector, os íons criam uma corrente que é convertida em um pulso de tensão. Os pulsos de tensão que saem do detector são diretamente proporcionais à quantidade de íons que entram e são convertidos em sinais elétricos. O sinal representa a intensidade do íon para uma relação massa/carga (m/z) particular e o software exibe essa informação como um espectro de massa.

A técnica utilizada para a realização das análises foi a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas LC-MS/MS. A separação cromatográfica dos analitos foi realizada em fase reversa. A fase móvel consistiu em água com 0,1% de ácido fórmico como fase aquosa e metanol com 0,1% de ácido fórmico como fase orgânica. A coluna cromatográfica utilizada foi uma Eclipse XDB-C18 (Agilent, USA) com 4,6 mm de diâmetro interno, 15 cm de comprimento e 5 μm de partícula.

Os cocaínicos (BE, COC, COE) e adulterantes (FEN e LEV) foram quantificados no modo MRM, do inglês *multiple reaction monitoring*, onde ocorre o monitoramento das transições entre os íons selecionados e os íons produtos. Os parâmetros instrumentais foram obtidos por análise multivariada e experimental, encontrando-se na Tabela 24.

Tabela 24. Parâmetros de Fonte do 3200 QTRAP.

TEM (°C)	550
IS (V)	+4500
GS1(psig)	45
GS2(psig)	45
CUR (V)	15

Os parâmetros MRM são únicos para cada molécula. Eles foram otimizados individualmente para cada composto, assim como seus produtos de fragmentação, apresentados na Tabela 25.

Tabela 25. Parâmetros do equipamento otimizados para cada analito e suas respectivas transições MRM.

Compostos	DP (V)	EP (V)	CEP (V)	CAD	Transição MRM (<i>m/z</i>)	CE (V)	CXP (V)
COC	51	1	26	Médio	304,1→182,0*	39	10
			26		304,1→105,1	45	24
BE	51	5	20		290,1→168,1*	25	4
			20		290,1→105,0	41	4
COE	26	4,5	14		318,1→196,2*	23	4
			14		318,1→105,3	55	4
FEN	56	8	28		180,1→109,9*	31	4
			28		180,1→137,8	25	24
LEV	16	3,5	100		205,0→178,1*	27	4
			100		205,0→123,2	39	4
COC-D ₃	16	5	22		307,1→185,1*	25	4
BE-D ₃	16	4,5	98		293,1→171,1*	25	4
COE-D ₃	11	5	28		321,1→199,1*	27	4

*Transição utilizada para quantificação

Os parâmetros cromatográficos foram escolhidos variando-se a vazão da fase móvel, a porcentagem de fase orgânica e o volume de injeção. A coluna foi mantida a temperatura ambiente. A fase móvel foi acidificada com ácido fórmico 0,1 % para auxiliar na ionização das moléculas e, conseqüentemente, na intensidade do sinal cromatográfico. Os parâmetros cromatográficos utilizados encontram-se na Tabela 26.

Tabela 26. Parâmetros cromatográficos otimizados.

Vazão da fase móvel (µL/min)	300
Volume de injeção (µL)	20
Gradiente de fase móvel*	0-3 min: 20-50% B; 3.1-6 min: 100% B; 6.1-13min: 100-10% B; 13-17min: 27% B
Pressão Máxima (bar)	140

*Fase móvel: A (água ultrapura 0.01% de ácido fórmico) e B (metanol com .01% de ácido fórmico).

Na Figura 39 encontra-se o cromatograma obtido pela análise MRM dos analitos no LC-QTRAP.

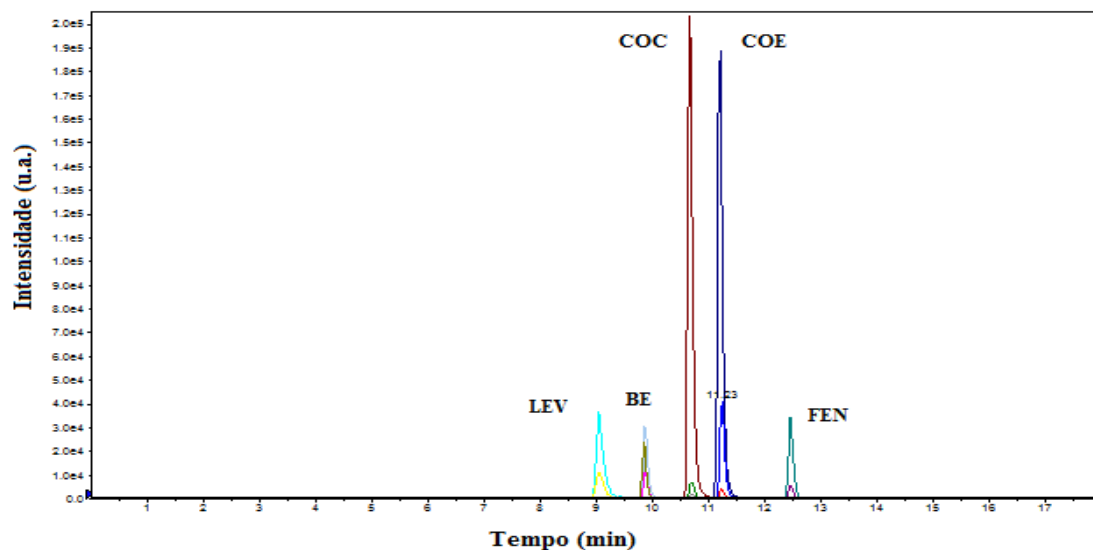


Figura 39. Cromatograma total de íons obtido por LC-QTRAP

Nas Figuras 40 e 41 estão as curvas de calibração no sistema LC-QTRAP. A plotagem dos resíduos do ajuste linear encontra-se à direita, mostrando que os dados são homocedásticos.

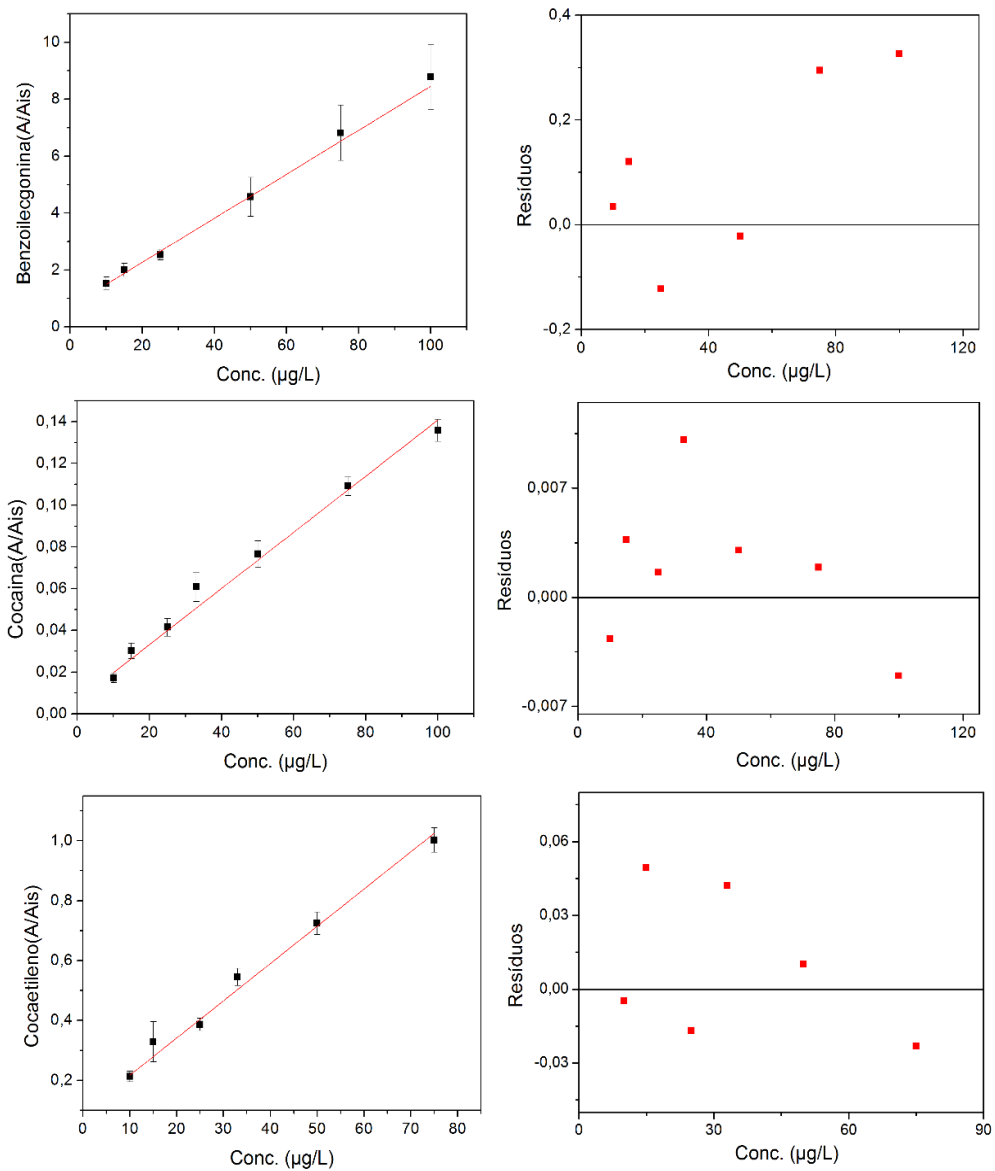


Figura 40. Curvas de calibração para os cocaínicos obtidas por LC-QTRAP.

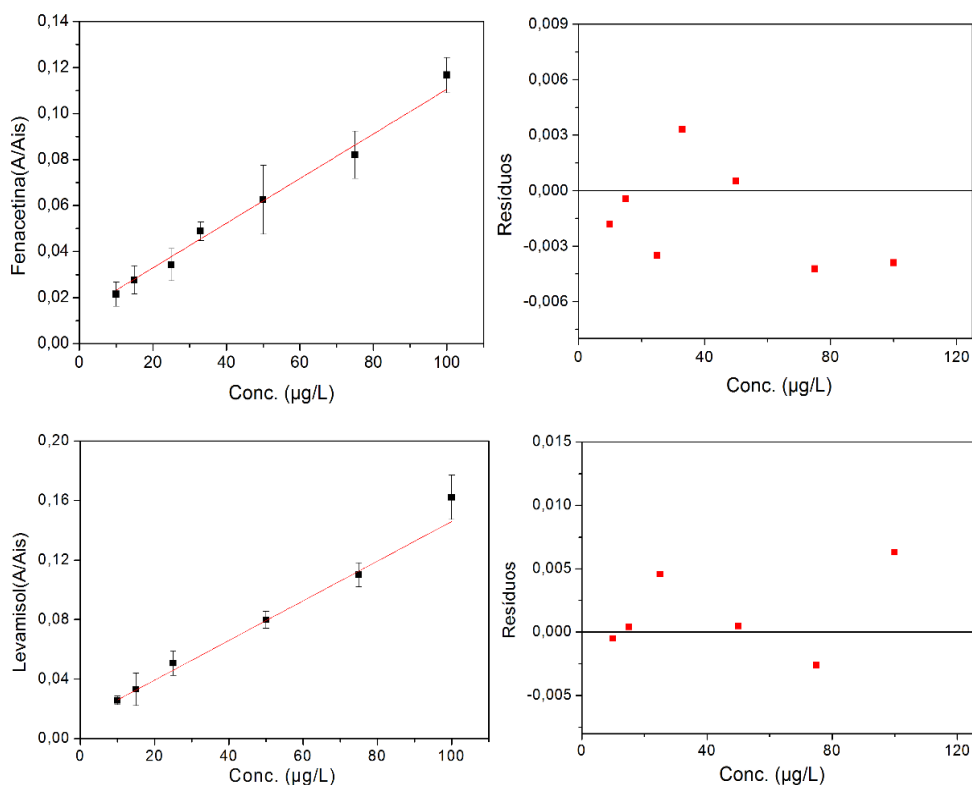


Figura 41. Curvas de calibração para os adulterantes obtidas por LC-QTRAP.

Na Tabela 26 as figuras do método são apresentadas. O LOQ instrumental foi calculado experimentalmente, considerando a área do analito sendo 10 vezes superior ao sinal do ruído do cromatograma, enquanto LOD sendo 3 vezes superior ao sinal do ruído com até 10% de incerteza.

Tabela 27. Figuras de mérito do método no sistema LC-QTRAP

Composto	PI	T _R	Curva Analítica	R ² ^c	Faixa	LOD ^f	LOQ ^e	DPR ^d
		(min)	y=a+bx		µg mL ⁻¹	µg L ⁻¹	µg L ⁻¹	%
COC	COC-d3	10,6	y=0,006+0,001x	0,989	10-100	3	10	13,01
BE	BE-d3	9,9	y=0,723+0,077x	0,998	10-100	3	10	14,12
COE	COE-d3	11,2	y=0,093+0,012x	0,994	10-75	3	10	8,33
FEN	COE-d3	12,4	y=0,014+9,703x	0,976	10-100	3	10	18,34
LEV	BE-d3	9,1	y=0,012+0,001x	0,991	10-100	3	10	11,36

a Coeficiente linear da equação **b** Coeficiente angular da equação **c** Faixa linear de trabalho (IS (50 ng/mL) **d** Desvio padrão relativo do mesmo padrão (3 replicatas) na faixa de LOQ **e** Limite de quantificação da curva S/N=10 **f** Limite de quantificação da curva S/N=3

PI= Padrão Interno Deuterado

T_R= Tempo de retenção na coluna cromatográfica

ANPÊNDICE 2

A Polícia Civil do DF faz análise de cocaína e crack por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas para gerar os laudos de confirmação de cocaína. Os dados obtidos pela PCDF durante a semana da coleta foram analisados e comparados com a biblioteca do NIST. Esta etapa teve como objetivo verificar a presença destes compostos como adulterantes período da coleta. A Figura 42 mostra o cromatograma de uma amostra de crack apreendida dia 30 de maio de 2017.

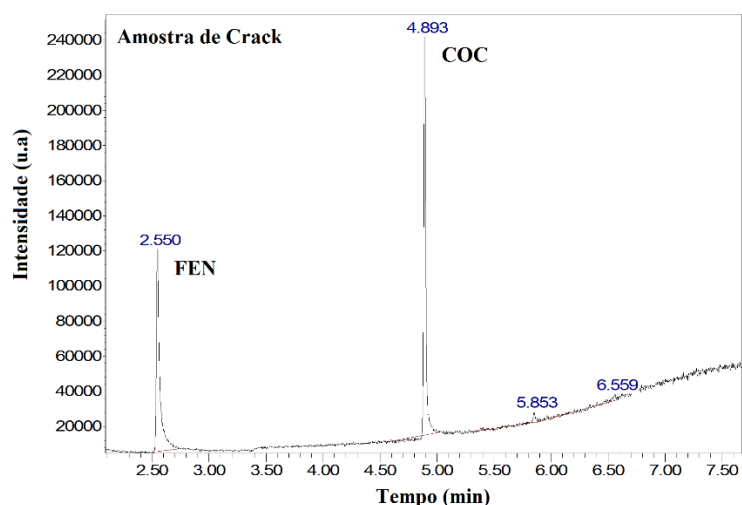


Figura 42. Cromatograma de uma amostra de crack apreendida pela PCDF.

O cromatograma da Figura 42 foi obtido por cromatografia gasosa conectada ao espectrômetro de massa utilizando uma fonte de ionização por elétrons (CG-EI-MS). O pico em 2,550 minutos é de fenacetina e o de 4,893 de cocaína. A confirmação do adulterante no tempo de retenção de 2,550 minutos se deu com auxílio da biblioteca NIST que compara o espectro de massas obtido com o de várias moléculas com mesmo tempo de retenção e perfil de fragmentação. O uso da ferramenta NIST, onde o espectro de massas do íon extraído do tempo de retenção 2,550 min é mostrado na Figura 43.

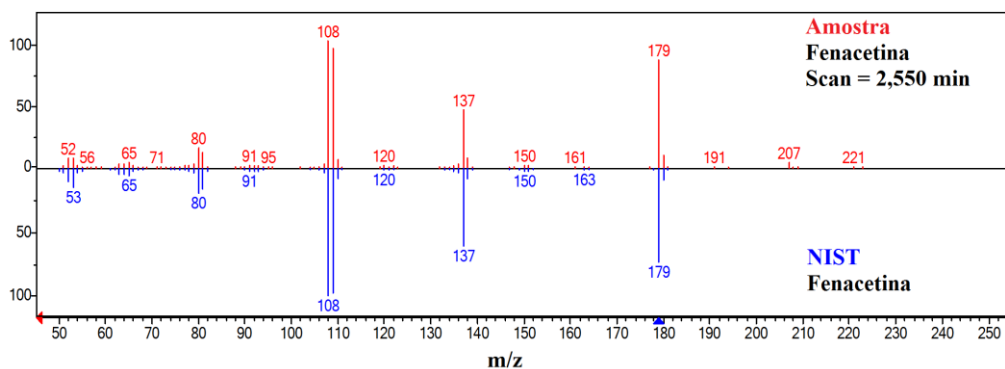


Figura 43. Confirmação da presença de fenacetina na amostra de crack usando NIST.

Na Figura 44, observa-se a semelhança da fenacetina encontrada nas amostras de crack por GC-EI-MS e da fenacetina encontrada no esgoto por LC-ESI-MS/MS mesmo que obtidos por técnicas diferentes.

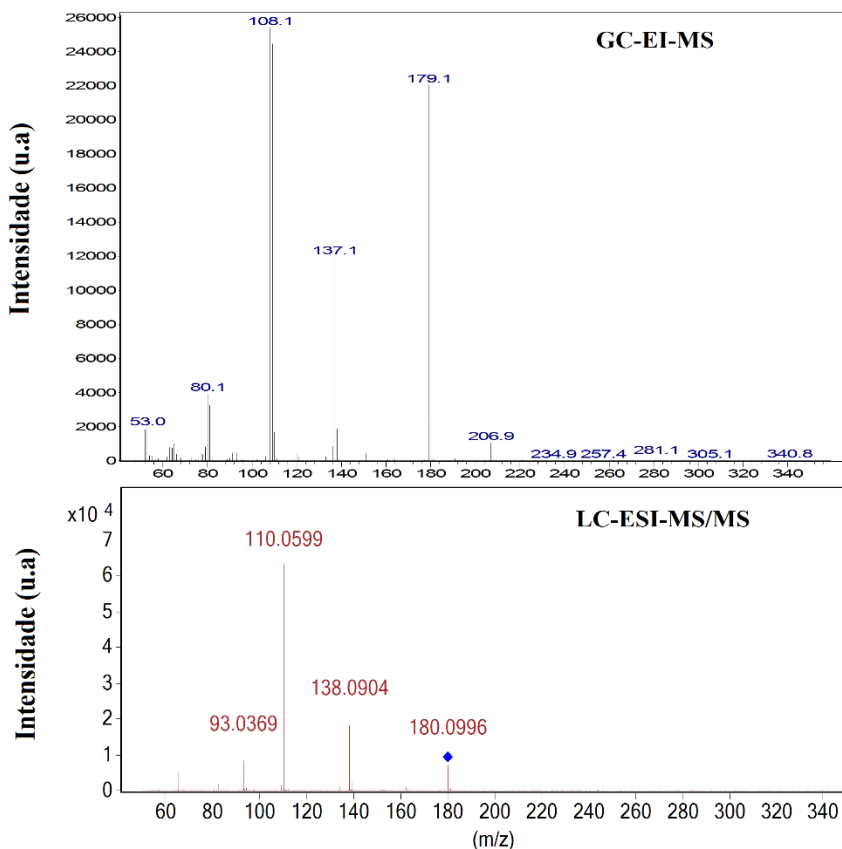


Figura 44. Fenacetina obtida por análise de amostras apreendidas de crack e de esgoto.

A fenacetina tem massa molecular em torno de 179 Da. No espectro de GC-EI-MS o mecanismo de ionização ocorre com o descarregamento de elétrons com energia em torno de 70 eV, onde ocorre a captura ou retirada de um elétron da molécula, a massa/carga

permanecendo igual. Como mencionado antes, no LC-ESI-MS/MS a ionização ocorre por meio de eletronebulização, adicionando um H^+ neste caso, gerando o íon de 180 Da.

A Figura 45 mostra o cromatograma de uma amostra de cocaína na forma “pó” apreendida dia 31 de maio de 2017.

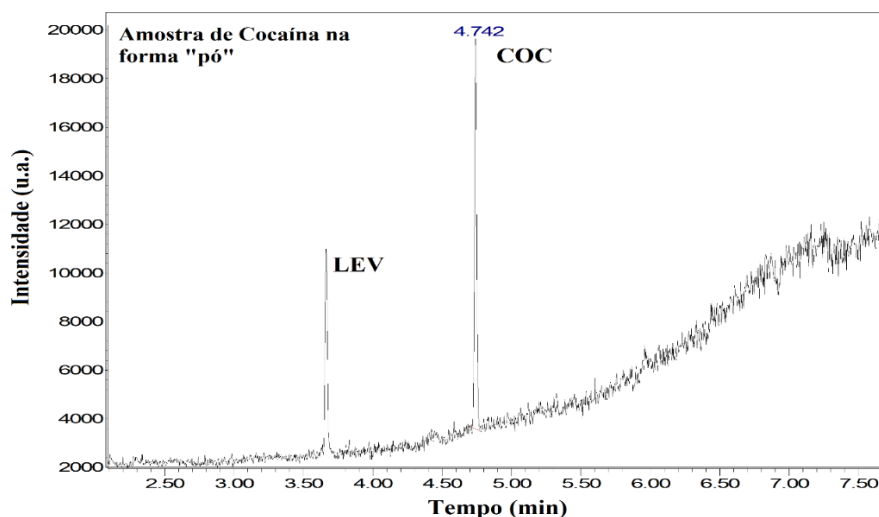


Figura 45. Cromatograma de uma amostra de cocaína apreendida pela PCDF.

A presença do levamisol é confirmado com auxílio da biblioteca do NIST (Figura 46).

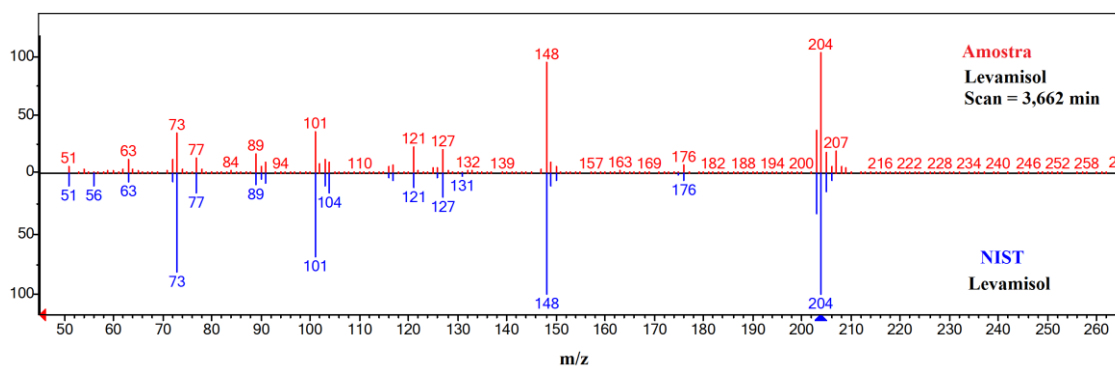


Figura 46. Confirmação da presença de levamisol na amostra de cocaína usando NIST.

Na Figura 47 observa-se o espectro de massas do levamisol encontrado nas amostras de cocaína na forma “pó” por GC-EI-MS e encontrado no esgoto por LC-ESI-MS/MS.

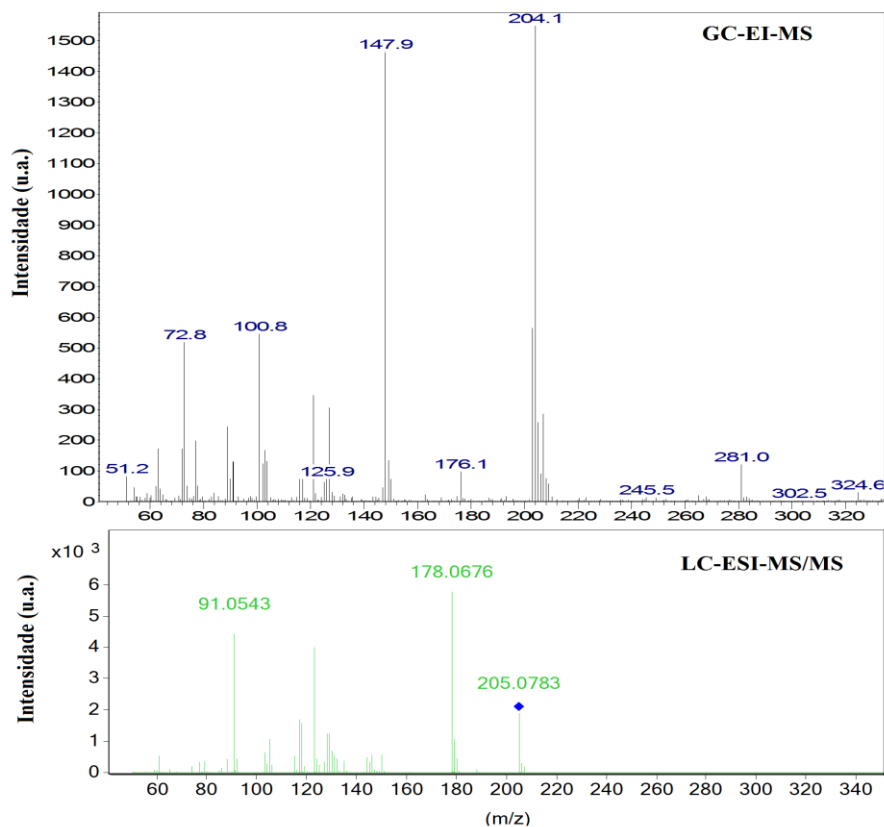


Figura 47. Levamisol obtido por análise de amostras apreendidas de cocaína e de esgoto.

Além de fenacetina e levamisol, cafeína, aminopirina e lidocaína apareceram como adulterantes. Das 111 amostras de apreensão analisadas durante a semana da coleta de esgoto, a fenacetina se mostrou predominante. A cinamoilcocaína também apareceu em alguns cromatogramas. Essa espécie é utilizada para determinar o grau de oxidação da cocaína (Botelho *et al.*, 2014).