

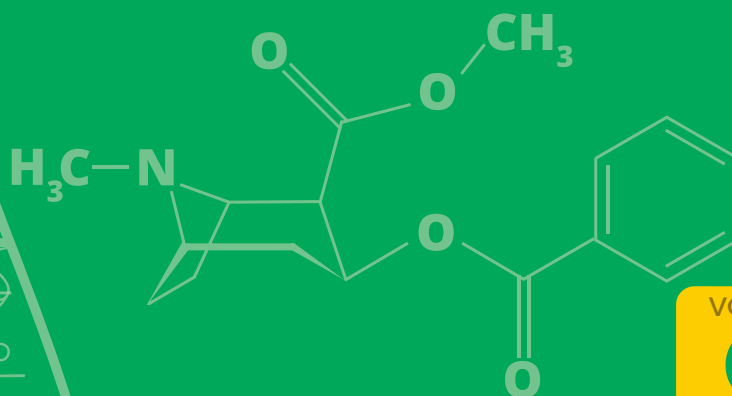


20
24

PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO

PERÍCIA CRIMINAL

QUÍMICA FORENSE



VOLUME
9

MJSP

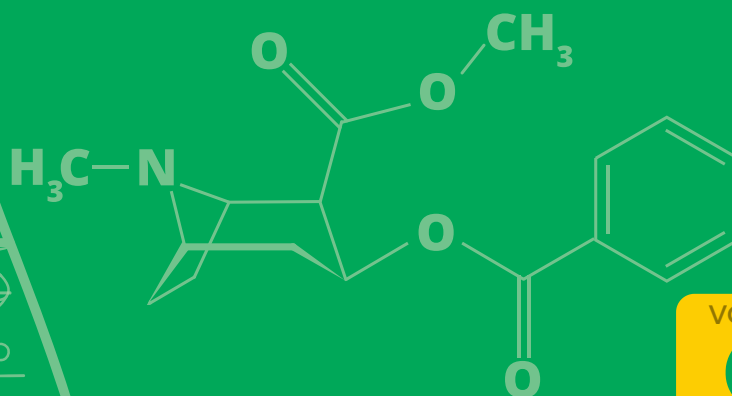


PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO

PERÍCIA CRIMINAL

20
24

QUÍMICA FORENSE



VOLUME

9

Presidente da República

Luiz Inácio Lula da Silva

Ministro da Justiça e Segurança Pública

Ricardo Lewandowski

Secretário Executivo

Manoel Carlos de Almeida Neto

Secretário Nacional de Segurança Pública

Mario Luiz Sarrubbo

Diretora do Sistema Único de Segurança Pública

Isabel Seixas de Figueiredo

Coordenadora-Geral de Modernização Tecnológica

Beatriz Marques de Jesus Figueiredo

MINISTÉRIO DA JUSTIÇA E SEGURANÇA PÚBLICA
Secretaria Nacional de Segurança Pública
Diretoria do Sistema Único de Segurança Pública

20
24

PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO

PERÍCIA CRIMINAL

QUÍMICA FORENSE



SECRETARIA NACIONAL DE SEGURANÇA PÚBLICA

Diretoria do Sistema Único de Segurança Pública
Coordenação - Geral de Modernização Tecnológica
Esplanada dos Ministérios, Bloco "T", Anexo 2, 5º andar, sala 506
Telefone de contato: (61) 2025.9125
E-mail: cgmtec.senasp@mj.gov.br

2024 ©Ministério da Justiça e Segurança Pública
Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução total ou parcial desta obra, desde que seja citada a fonte e não seja para venda ou qualquer fim comercial.

Disponível em <http://portal.mj.gov.br>

Tiragem: 2.000 exemplares

Impresso no Brasil

COORDENAÇÃO

Christhiane Pinto Cutrim e Liliane Pires (coordenadora suplente).

REVISÃO DE CONTEÚDO

Ana Vitória Botelho, Christhiane Pinto Cutrim, Fabio Ferreira Real, Franciele Prete Bento, Francisca Dieimes Braga Miguéis Rapini Cleto, Liliane Pires, Rafael Friedrich Davet.

INTEGRANTES DO GRUPO DE TRABALHO - GT

Isabella Ferreira Melo, Jose Paulo Cauas Tenorio, Leandro Fernandes Machado, Liliane Pires, Rafael Friedrich Davet.

DIAGRAMAÇÃO E PROJETO GRÁFICO

Ana Vitória Botelho, Christhiane Pinto Cutrim, Gabriel Silva Araújo, Franciele Prete Bento, Priscilla Duarte Bittar.

IMPRESSÃO

Senappen e Equipe do Projeto (Re) Integro.

341.4331

P441

Perícia criminal : química forense / coordenadoras, Christhiane Pinto Cutrim, Liliane Pires. – Brasília : Secretaria Nacional de Segurança Pública, 2024.
113 p. -- (Procedimentos operacionais padrão ; v. 9)

ISBN 978-85-5506-244-5

1. Perícia criminal - 2. Química forense - 3. Investigação criminal. I. Cutrim, Christhiane Pinto (coord.). II. Pires, Liliane (coord.). Brasil. Secretaria Nacional de Segurança Pública. III. Título. IV. Série.

CDD

Elaborada por Luciene Maria Sousa CRB1-1655

SUMÁRIO

09 — QUÍMICA FORENSE

Apresentação	9
9.01- Procedimentos de ambiente e segurança no laboratório	11
9.02 - Preparação de soluções reagentes de uso comum à prática forense	17
9.03 - Extração de substâncias de interesse forense	25
9.04 - Gestão sobre materiais de referência	35
9.05 - Manutenção e verificação de desempenho de cromatógrafo em fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas (GC/MS)	47
9.06 - Identificação de principais canabinoides por cromatografia em camada delgada (CCD) em amostras de material	57
9.07 - Identificação de cocaína por cromatografia em camada delgada (CCD) em amostras de material bruto questionado	67
9.08 - Análise qualitativa de substâncias ilícitas ou controladas por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (GC-MS)	77
9.09 - Análise qualitativa de substâncias ilícitas ou controladas por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) com acessório de reflectância total atenuada (ATR)	97

APRESENTAÇÃO

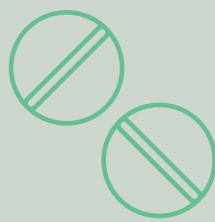
A Secretaria Nacional de Segurança Pública do Ministério da Justiça e Segurança Pública (Senasp) publicou pela primeira vez, em 2013, procedimentos operacionais padronizados (POPs) dedicados exclusivamente às atividades periciais. Tal passo estabeleceu um marco na disseminação de boas práticas na perícia criminal nacional, objetivando a uniformização do processo de produção da prova técnica no país, contribuindo para a garantia dos direitos de todas e de todos os envolvidos em processos criminais, seja na condição de vítima, seja na condição de autor.

Dando continuidade a este trabalho e reconhecendo o avanço da área pericial nos últimos anos, a Senasp agora lança a série Procedimentos Operacionais Padrão - Perícia Criminal. Esta nova coleção foi coordenada pela Diretoria do Sistema Único de Segurança Pública e foi elaborada com a colaboração de representantes do Conselho Nacional dos Dirigentes de Polícia Científica (CONDPC), das associações de profissionais de perícia criminal, da própria Senasp e de conceituados especialistas nos temas abordados.

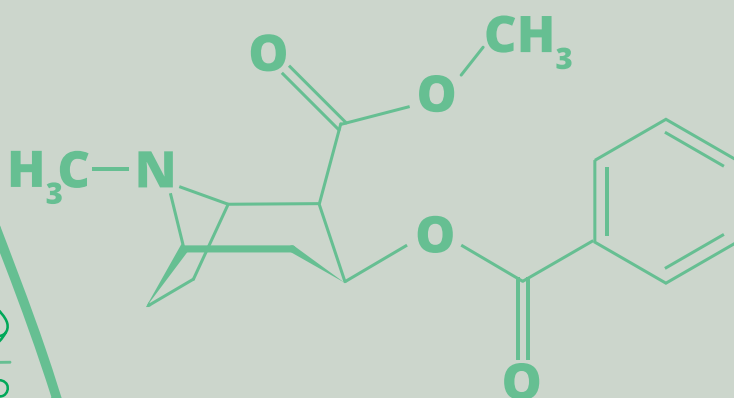
Os procedimentos operacionais padrão incluídos nesta publicação têm abrangência nacional e visam servir como referência para as Unidades Federativas, respeitando a diversidade das atividades periciais e a necessidade de adaptação às mais diversas realidades locais. O trabalho envolveu a atualização e a elaboração de 56 POPs, que foram validados e testados pelas perícias dos Estados e do Distrito Federal. Foram incluídas abordagens específicas para novos temas prioritários como o feminicídio e os crimes contra o meio ambiente. Além disso, nesta edição, para uma melhor organização, os documentos foram distribuídos em 10 volumes temáticos.

A Senasp expressa sua gratidão a todos os profissionais que contribuíram para esta publicação, essencial para a elucidação de crimes, especialmente os violentos. Em resposta às novas demandas identificadas durante a elaboração deste trabalho, planejamos atualizações e revisões futuras e constantes. Esperamos que estes POPs se tornem um guia confiável, promovendo a eficiência, a coesão e a força das atividades periciais em todo o país, fortalecendo com isso a proteção inegociável dos direitos humanos.

Mario Luiz Sarrubo
Secretario Nacional de Segurança Pública



PROCEDIMENTOS DE AMBIENTE E SEGURANÇA NO LABORATÓRIO



POP N° 9.01 - QUÍMICA FORENSE

PROCEDIMENTOS DE AMBIENTE E SEGURANÇA NO LABORATÓRIO

FINALIDADE

Orientar o profissional de perícia para a correta utilização do ambiente de trabalho, bem como para garantir a segurança nos laboratórios.

PÚBLICO ALVO

Peritos Criminais da área de Química Forense.

1. DESCRIÇÃO

1.1. Acesso

- Não é permitida a entrada e permanência de pessoas não autorizadas aos laboratórios.
- Visitantes devem ser acompanhados por servidores credenciados e devem seguir as orientações recebidas.

1.2. Equipamentos de emergência

- Todo o pessoal designado para trabalhar nos laboratórios deve ser instruído sobre a localização e uso adequado de chuveiros de emergência, lava-olhos e extintores de incêndio.
- O funcionamento adequado de chuveiros de emergência e lava-olhos deve ser verificado a cada três meses, sendo os resultados da verificação e manutenções, porventura necessárias, registrados em documento específico.
- Os laboratórios devem possuir extintores de incêndio em conformidade com as normas externas de segurança e outros equipamentos de segurança contra incêndio disponibilizados para uso pelo setor responsável pela logística do órgão.

1.3. Conduta

- Não executar tarefas de alto risco desacompanhado.
- Não realizar tarefas ou utilizar equipamentos sem o devido treinamento em conformidade com as normas específicas.
- Evitar o uso de adornos durante a realização de análises laboratoriais (e.g. gravatas, colares, etc).
- Restringir, sempre que possível, o uso de jaleco aos laboratórios.
- Retornar ao local original todos os objetos de uso coletivo que forem utilizados.
- Lavar as mãos, com frequência, com água corrente e sabão.
- Não comer, beber ou fumar nos laboratórios.
- Não usar refrigeradores e estufas para conservar ou aquecer alimentos.
- Não usar vidraria do laboratório para ingerir alimentos.
- Nunca pipetar com a boca.
- Nunca utilizar pipeta para retirar solventes dos frascos. Caso não haja dispensador, fazer a transferência do solvente para um béquer, ou outra vidraria, antes de seu uso.
- Nunca abrir frascos de reagentes voláteis fora da capela.

1.4. Cuidados na área analítica

- Conhecer a localização e a correta utilização dos chuveiros de emergência, lavadores de olhos e extintores.
- Usar a capela quando for trabalhar com líquidos voláteis, inflamáveis, irritantes ou tóxicos.
- Trabalhar, no mínimo, com 15 cm de distância da frente da capela.
- Ao trabalhar com mistura de ácidos e água, seguir a regra de adicionar, cuidadosamente, o ácido na água e nunca o contrário.
- Não retornar aos frascos originais sobras ou alíquotas não utilizadas dos reagentes.
- Nunca fechar, hermeticamente, os aparelhos ou recipientes onde há desprendimento de gases.
- Não trabalhar e não deixar frascos com reagentes inflamáveis próximos de chamas e/ou resistências elétricas.
- Nunca aquecer líquidos inflamáveis em chama.
- Nunca trabalhar ou aquecer tubos de ensaio com abertura dirigida contra si

ou outra pessoa, sempre direcionar para o lado ou o fundo da capela.

- Manusear com cuidado materiais perfurocortantes e descartá-los em caixas de descarte apropriadas, nunca no lixo comum.
- Descartar os resíduos adequadamente nos frascos de descarte, conforme o tipo de resíduo (aquoso ácido, aquoso básico, aquoso com metais, solventes orgânicos clorados, solventes orgânicos não clorados).

2. EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL

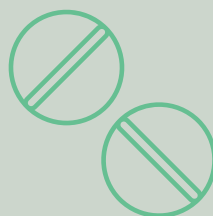
- Usar sempre o Equipamento de Proteção Individual (EPI) indicado.
- É obrigatório o uso de jaleco nos laboratórios de análise por via úmida e nos laboratórios de análise instrumental.
- Nos laboratórios, o uso de EPI é recomendado em todas as circunstâncias, especialmente, nas seguintes situações:
 - óculos de proteção – preparo de soluções e amostras, manuseio de substâncias voláteis ou em pó, manuseio de lâ de vidro, dentre outros;
 - óculos de proteção – portadores de lentes de contato;
 - máscaras – contra pó e névoa, contra vapores orgânicos ou gases ácidos;
 - luva cirúrgica – lavagem de vidraria, manuseio de padrões, amostras e reagentes;
 - luva de nitrila – manutenções de equipamentos, manuseio de solventes clorados;
 - luva para altas temperaturas – uso de estufa.

3. PROCEDIMENTO PARA ACIDENTES

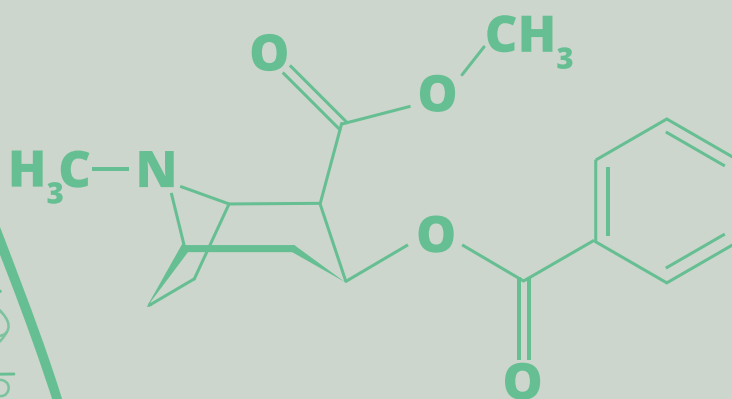
- Em casos de intoxicação identificar o agente causador e procurar, imediatamente, socorro médico.
- Em casos de queimaduras por ácidos ou álcalis, lavar, imediatamente, com água abundante e procurar socorro médico.

4. REFERÊNCIAS

POP-I-SEPLAB-02 - **AMBIENTE E SEGURANÇA** - SEPLAB/DPER/INC/DITEC - POLÍCIA FEDERAL.



PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES REAGENTES DE USO COMUM À PRÁTICA FORENSE



POP N° 9.02 - QUÍMICA FORENSE

PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES REAGENTES DE USO COMUM À PRÁTICA FORENSE

FINALIDADE

Orientar o profissional de perícia na preparação das principais soluções utilizadas em laboratórios forenses.

PÚBLICO ALVO

Peritos Criminais da área de Química Forense.

1. DESCRIÇÃO

PDAMB: para-dimetilaminobenzaldeído

2. RESULTADOS ESPERADOS

- Obtenção de soluções de uso comum aos laboratórios forenses e controle (positivo e negativo) para o uso dessas soluções.

3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Acetaldeído
- Acetato de magnésio tetrahidratado $[Mg(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O]$
- Acetato de uranilo dihidratado $[UO_2(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O]$
- Ácido acético glacial
- Ácido clorídrico concentrado
- Ácido nítrico concentrado (68%; 1,4 Kg/L)
- Ácido orto-fosfórico concentrado
- Ácido sulfúrico concentrado
- Agitador magnético

- Água destilada
- Balança analítica
- Balão volumétrico de 100 mL, 500 mL e 1L
- Béquer de 25 mL, 50 mL, 100 mL, 500 mL e 1L
- Carbonato de sódio
- Cloreto de bário diidratado
- Cloreto de cobalto anidro ou cloreto de cobalto hexahidratado
- Etanol ou álcool etílico
- Formaldeído a 40%
- Frasco de vidro âmbar com capacidade para 100 mL
- Funil
- Glicerina
- Hidróxido de sódio
- Metanol ou álcool metílico
- Micropipetas com capacidade para 100 e 1000 µL
- Nitrato de prata
- Nitroprussiato de sódio
- Oxalato de amônio diidratado $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ou monoidratado
- Padrão interno (por exemplo, n-tetracosano 99% ou dipentilftalato 99%)
- PDAMB
- Pipeta volumétrica 1mL, 5 mL e 10 mL ou dispensador de solventes
- Pipetas com capacidade para 1 mL, 5 mL e 10 mL
- Proveta de 50 mL, 100 mL e 200 mL
- Tiocianato de potássio
- Vanilina

4. PROCEDIMENTOS

- Todos os procedimentos devem ser realizados conforme recomendações do POP N° 9.01 – Procedimentos de Ambiente e Segurança no Laboratório.

4.1. Generalidades

- Os reagentes preparados devem ser guardados em frascos de vidro âmbar e identificados por rótulos conforme descrito abaixo por rótulos contendo as seguintes informações:

- nome;
- concentração, quando apropriado;
- responsável pela preparação;
- data de preparação e/ou data de validade;
- condições de estocagem e cuidados, quando necessário.

Nome/concentração:
Responsável pelo preparo:
Data de preparo:
Condições de estocagem:

Figura 1. Rótulo sugerido para identificação de soluções em geral.

- Durante a realização das análises podem ser utilizadas alíquotas de solventes, reagentes e soluções. Os frascos contendo referidas alíquotas podem permanecer sobre as bancadas somente enquanto estiverem sendo utilizados, devendo ser identificados com, no mínimo, o nome do produto. Terminadas as análises, possíveis sobras de alíquotas devem ser descartadas.
- Para garantir a qualidade dos reagentes utilizados, devem ser realizados testes de controle positivo e testes de controle negativo na data de preparo do reagente e, posteriormente, a cada três meses.
- O controle positivo deve ser feito de acordo com o procedimento de uso de cada reagente, usando material de referência.
- O controle negativo deve ser feito de acordo com o procedimento de uso de cada reagente, sem a presença de analito. O resultado aceitável é a não formação significativa de cor ou precipitado. Se uma cor significativa se desenvolve ou ocorre formação de precipitado, o teste deve ser repetido, assegurando-se que o material utilizado esteja limpo. Caso necessário, deve ser feito um novo reagente e o teste refeito.

4.2. Solução de tiocianato de cobalto 1%

- Em béquer de 50 mL, pesar 1 g de cloreto de cobalto anidro (ou 1,83 g de cloreto de cobalto hexahidratado).
- Em outro béquer pesar 1,5 g de tiocianato de potássio.

- Dissolver cada reagente em 30 mL de água destilada e transferir para um balão volumétrico de 100 mL, fazendo-se 2 a 3 lavagens nos béqueres com água destilada.
- Completar o volume do balão com água destilada.
- Transferir a solução para frasco de vidro âmbar e adicionar 100 mL de glicerina.

4.3. Reagente de Duquenois-Levine

- Pesar 0,4 g de vanilina em um béquer de 25 mL.
- Adicionar 20 mL de álcool etílico e 4 gotas de acetaldeído.

4.4. Reagente de Marquis

- Colocar 1 mL de ácido sulfúrico concentrado em um tubo de ensaio.
- Adicionar cuidadosamente 1-2 gotas de solução de formaldeído a 40%, com agitação.
- Observação: este reagente deve ser preparado no momento de seu uso.

4.5. Solução de nitroprussiato de sódio 0,9%

- Em béquer de 50 mL, pesar 0,9 g de nitroprussiato de sódio e dissolver com 30 mL de água destilada.
- Transferir a solução para balão volumétrico de 100 mL, fazendo-se 2 a 3 lavagens do béquer com água destilada.
- Adicionar 10 mL de acetaldeído.
- Completar o volume do balão com água destilada.

4.6. Solução de carbonato de sódio 2%

- Em béquer de 50 mL, pesar 2,0 g de carbonato de sódio e dissolver com 30 mL de água destilada.
- Transferir para balão volumétrico de 100 mL, fazendo-se 2 a 3 lavagens do béquer com água destilada.
- Completar o volume do balão com água destilada.

4.7. Reagente de Ehrlich

- Em um erlemeyer, dissolver 1g de PDAMB em 10mL de metanol.
- Cuidadosamente, adicionar 10mL do ácido orto-fosfórico concentrado, sob agitação.

4.8. Solução de ácido clorídrico 5 mol/L

- Colocar 500 mL de água destilada em um balão volumétrico de 1L e, com o auxílio de um funil, adicionar cuidadosamente 416 mL de ácido clorídrico concentrado.
- Deixar esfriar até temperatura ambiente e completar o volume do balão com água destilada.

4.9. Solução de ácido nítrico 5 mol/L

- Colocar 500 mL de água destilada em um balão volumétrico de 1L e, com o auxílio de um funil, adicionar cuidadosamente 225 mL de ácido nítrico concentrado (68%; 1,4 Kg/L).
- Deixar esfriar até temperatura ambiente e completar o volume do balão com água destilada.

4.10. Solução de nitrato de prata 1%

- Em béquer de 50 mL, dissolver 1,0 g de nitrato de prata em 30 mL de água destilada.
- Transferir para balão volumétrico de 100 mL, fazendo-se 2 a 3 lavagens do béquer com água destilada.
- Completar o volume do balão com água destilada.

4.11. Solução de cloreto de bário 10%

- Em béquer de 50 mL, dissolver 11,7 g de cloreto de bário diidratado em 30 mL de água destilada.
- Transferir para balão volumétrico de 100 mL, fazendo-se 2 a 3 lavagens do béquer com água destilada.
- Completar o volume do balão com água destilada.

4.12. Solução de acetato de uranilo e magnésio

- Em béquer de 500 mL, dissolver 20 g de acetato de uranilo dihidratado $[\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ e 66 g de acetato de magnésio tetrahidratado $[\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ em 175 mL de água destilada, aquecida a 70°C e com agitação magnética.
- Adicionar cuidadosamente 25 mL de ácido acético glacial.
- Após o resfriamento, filtrar em papel filtro.

4.13. Solução de oxalato de amônio 2,5%

- Em béquer de 50 mL, dissolver 8,0 g de oxalato de amônio dihidratado $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ou 7,1 g do sal monohidratado em 30 mL de água destilada.
- Transferir para balão volumétrico de 250 mL, fazendo-se 2 a 3 lavagens do béquer com água destilada.
- Completar o volume do balão com água destilada.

4.14. Solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L

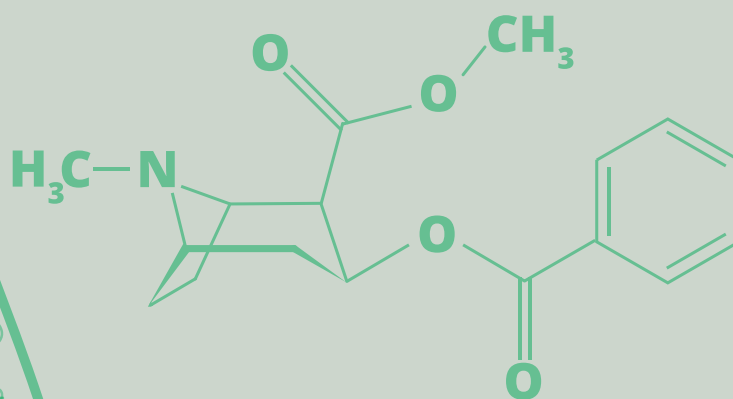
- Em béquer de 50 mL, dissolver 0,4 g de hidróxido de sódio em 30 mL de água destilada.
- Transferir para balão volumétrico de 100 mL, fazendo-se 2 a 3 lavagens do béquer com água destilada.
- Completar o volume do balão com água destilada.
- **Observação:** armazenar em frasco plástico tampado.

5. REFERÊNCIAS

MUP-I-SEPLAB-02 - PREPARAÇÃO SOLUÇÕES REAGENTES -
SEPLAB/DPER/INC/DITEC - POLÍCIA FEDERAL.



EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS DE INTERESSE FORENSE



PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP)

PERÍCIA CRIMINAL



MINISTÉRIO DA JUSTIÇA E
SEGURANÇA PÚBLICA

POP N° 9.03 - QUÍMICA FORENSE

EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS DE INTERESSE FORENSE

FINALIDADE

Orientar o profissional de perícia junto às técnicas de extração de substâncias de interesse forense para realização de análises qualitativas.

PÚBLICO ALVO

Peritos Criminais da área de Química Forense.

1. ABREVIATURAS E SIGLAS

GC-MS: cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

EPI: equipamento de proteção individual.

PI: padrão interno.

HPLC: cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

LC-MS-QTOF: Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas com analisador quadrupolo e tempo de voo.

FTIR-ATR: espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada.

2. RESULTADOS ESPERADOS

- Especificar as técnicas de extração de substâncias de interesse forense para realização de análises qualitativas.

3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Acetato de etila
- Acetona
- Ácido clorídrico 0,6 mol/L (ou outro ácido adequado)

- Agitador Vórtex
- Água deionizada
- Almofariz e pistilo
- Bastão de vidro
- Béqueres
- Capela
- Centrífuga
- Clorofórmio
- Espátula
- Éter etílico
- Filtros de 0,45 μm , para seringa (grau HPLC)
- Fitas para teste de pH
- Funil de separação
- Hexano
- Hidróxido de sódio (ou outra base adequada)
- Metanol
- Papel de filtro
- Para análises por Cromatografia Gasosa, os solventes utilizados devem ter grau de pureza P.A.
- Para análises por Cromatografia Líquida, os solventes utilizados devem ter grau HPLC
- Pipetas graduadas
- Pipetas pasteur
- Tubos de ensaio
- Ultrassom
- Vials com tampas

4. PROCEDIMENTOS

4.1. Extração de substâncias suspeitas em materiais recebidos com identificação

- Pesquisar na literatura a polaridade da(s) substância(s) que se pretende(m) extrair e escolher o solvente (ou mistura de solventes) mais adequado, levando em conta aspectos como seletividade, solubilidade, condições laboratoriais, objetivos da análise e viabilidade do procedimento.

- As soluções devem ser filtradas e centrifugadas antes da análise, sempre que possível.
- Tratando-se de comprimido revestido e análise por FTIR-ATR, é recomendado remover o revestimento antes da trituração e extração da(s) substância(s) alvo(s), devido a eventuais interferências. Sugere-se, por exemplo, retirar o revestimento com acetona ou outro solvente de remoção adequado e, posteriormente, proceder à extração com solvente adequado.

4.2. Extração de substâncias suspeitas em materiais recebidos sem identificação

- A escolha do procedimento de extração em materiais desconhecidos depende do tipo de apresentação do produto (por exemplo, na forma de comprimidos revestidos, pomadas, soluções, óleos ou pós), das condições laboratoriais, da quesitação formulada à perícia e do histórico do caso. O perito, em posse desses dados, deve decidir qual tipo de metodologia adotar para o material em questão.
- Abaixo, estão descritos dois procedimentos gerais de extração, os quais abrangem a recuperação de diversas substâncias com diferentes características físico-químicas.
 - **Procedimento 1:** para extrações com solventes de diferentes polaridades, seguir os seguintes passos, ilustrados no fluxograma na sequência:
 - dividir a amostra e selecionar três ou quatro solventes de polaridade crescente (por exemplo: hexano, acetato de etila e metanol). A tabela 01 ilustra a polaridade de alguns solventes;
 - realizar extrações em cada fração do analito com os diferentes solventes selecionados, extraíndo assim compostos de polaridade crescente;
 - as soluções devem ser filtradas e/ou centrifugadas antes da análise sempre que possível.
- Caso o resultado obtido nas extrações em solventes de diferentes polaridades não gere resultados analíticos satisfatórios, sugere-se proceder a extração ácido/base.

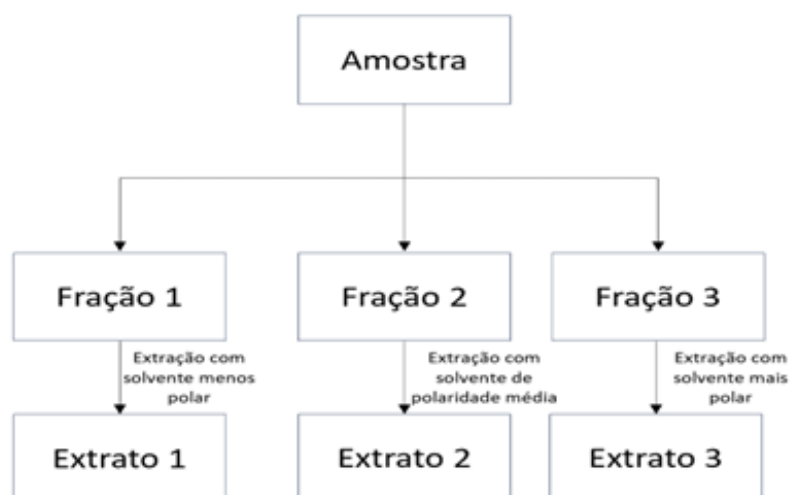


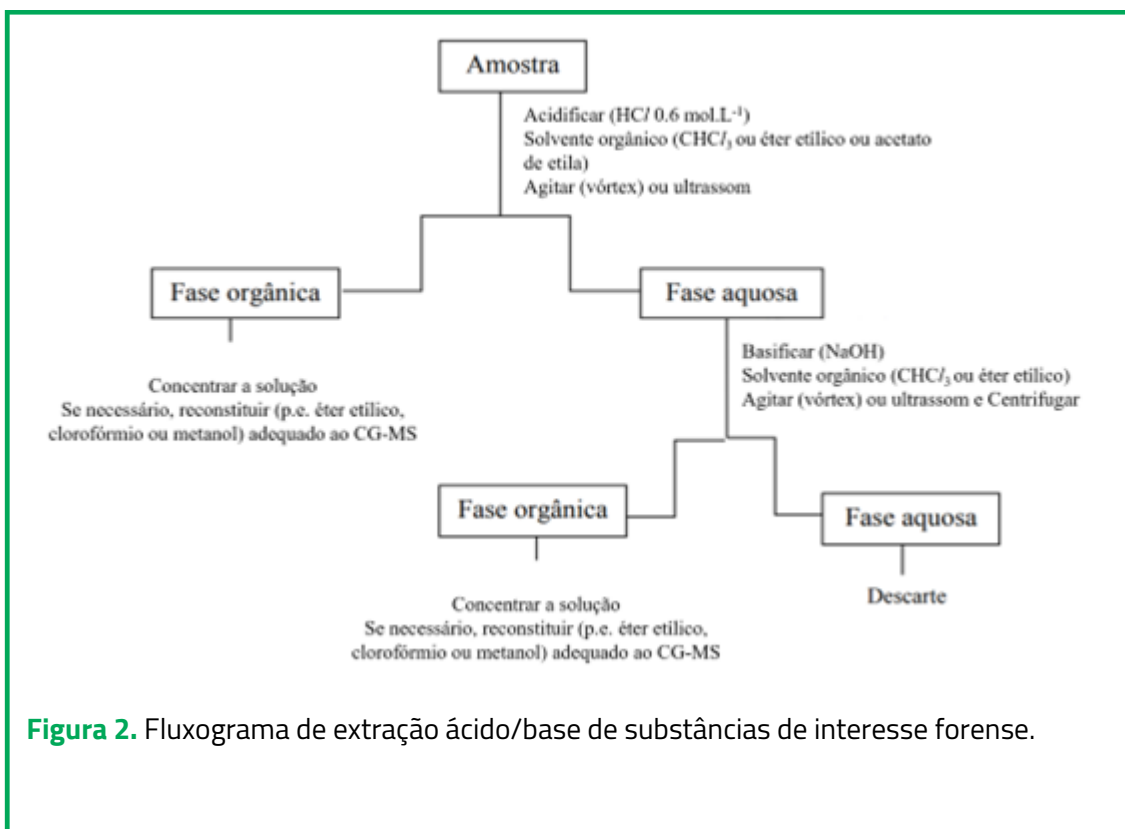
Figura 1. Fluxograma de extração de substâncias de interesse forense.

Tabela 01: Polaridade e Constante dielétrica de alguns solventes.

Solvente	Polaridade relativa a água	Constante dielétrica
Pentano, Hexano e Heptano	0,1	1,9
Tolueno	2,4	2,38
Éter dietílico	2,8	4,3
Diclorometano	3,1	9,1
Clorofórmio	4,1	4,81
Acetona	5,1	21
Dioxano	4,8	2,3

THF	4,0	7,5
Acetato de Etila	4,4	6,02
DMSO	7,2	46,7
Acetonitrila	5,8	37,5
Isopropanol	3,9	18
Etanol	4,3	30
Metanol	5,1	33
H ₂ O	10,2	80

- **Procedimento 2:** para extração ácido/base, seguir o fluxograma abaixo. Os ácidos, bases e solventes orgânicos especificados no fluxograma são sugestões de uso, podendo ser alterados quando o perito assim julgar conveniente.
- A eficiência da extração das substâncias será verificada na análise química, por meio da identificação da(s) substância(s) suspeita(s).



5. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

- Todos os procedimentos devem ser realizados conforme recomendações do POP N° 9.01 – Procedimentos de Ambiente e Segurança no Laboratório.
- Ressalta-se que os métodos adotados ou sugeridos a seguir não contemplam separação de substâncias nos procedimentos pré-analíticos. A ocorrência de um caso específico, que requeira separação prévia (substâncias interferentes no LC-MS-QTOF e no FTIR-ATR, por exemplo), exigirão pesquisa bibliográfica e decisão por parte do perito responsável pelas análises.
- Amostras sólidas após extração/diluição devem ser centrifugadas e filtradas para evitar que partículas em suspensão e compostos indesejados sejam introduzidos nos equipamentos. As partículas não devem ser visíveis a olho nu no vial da amostra.
- As amostras extraídas, que forem ser injetadas nos equipamentos de GC-MS, HPLC e LC-MS-QTOF, devem ser previamente filtradas em filtro de 0,45 µm para HPLC e LC-MS-QTOF.

- Atentar-se quanto ao tipo de solvente empregado na extração e a análise que será posteriormente realizada. Por exemplo, solventes amoniacais não podem ser injetados no GC-MS, assim como solventes clorados não podem ser injetados nos cromatógrafos líquidos. Caso tais solventes forem necessários à extração, proceder à evaporação dos mesmos e a reconstituição em solvente adequado à metodologia de análise.
- Este POP não considera questões específicas das técnicas de extração para análises quantitativas, o que exige alguns materiais, reagentes e cuidados adicionais, como por exemplo, adição de padrão interno.
- Análises em modo splitless são recomendadas sempre que os resultados retornarem negativos para as substâncias de interesse forense.

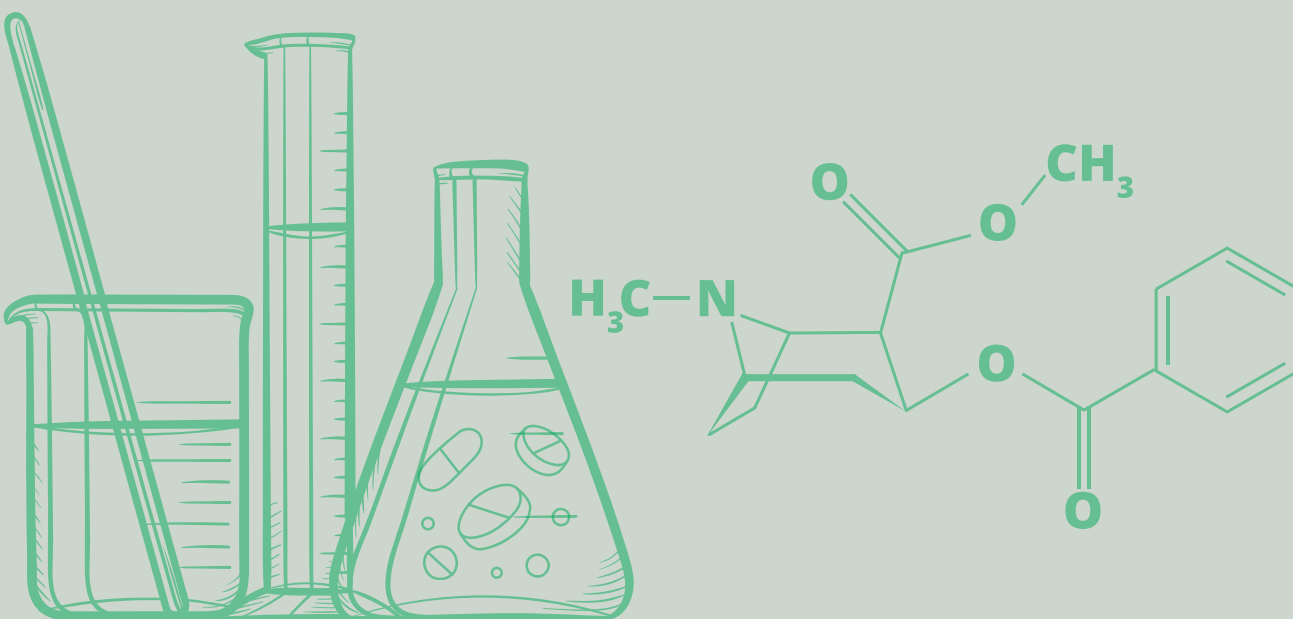
6. REFERÊNCIAS

MET-I-SEPLAB-01 - **EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS ILÍCITAS OU CONTROLADAS** – SEPLAB/DPER/INC/DITEC - POLÍCIA FEDERAL.

Waters – **Fundamentos da Cromatografia de convergência**. Disponível em <https://www.waters.com/nextgen/br/pt/education/primers/beginner-s-guide-to-convergence-chromatography/fundamentals-of-convergence-chromatography.html>. Acesso em 17/01/2024.



GESTÃO SOBRE MATERIAIS DE REFERÊNCIA



POP N° 9.04 - QUÍMICA FORENSE

GESTÃO SOBRE MATERIAIS DE REFERÊNCIA

FINALIDADE

Orientar o profissional de perícia quanto aos critérios para controle e manejo dos materiais de referência no âmbito dos laboratórios forenses.

PÚBLICO ALVO

Peritos Criminais da área de Química Forense.

1. ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

MAPA: Ministério da Agricultura e Pecuária

MRC: Material de Referência Certificado

MR: Material de Referência

SI: Sistema Internacional de Unidades

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

GC-MS: Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas

2. RESULTADOS ESPERADOS

- Orientar o profissional de perícia quanto aos critérios para controle e manejo dos materiais de referência no âmbito dos laboratórios forenses.

3. PROCEDIMENTOS

3.1. Gestão dos Materiais de Referência

- No recebimento de materiais de referência, devem ser verificadas as seguintes características, quando aplicável, além das especificações de compra:

- nome;
 - fabricante;
 - grau de pureza (teor);
 - incerteza de Medição;
 - declaração de rastreabilidade metrológica;
 - prazo de validade.
-
- Caso algum dos parâmetros de aceitabilidade definidos na especificação de compra não seja atendido, o material de referência deve ser devolvido ao fornecedor.
 - Os materiais de referência devem ser cadastrados para a geração de um número único de registro.
 - Os certificados que acompanham os materiais de referência, quando existentes, devem ser armazenados/registrados.
 - O armazenamento dos materiais de referência deve ser realizado de acordo com as condições expressas pelo fabricante, quando existentes, para manter sua estabilidade e confiabilidade.
-
- São considerados exemplos de fornecedores para o fornecimento de materiais de referências:
 - USP e demais farmacopeias;
 - Cerilliant;
 - Sigma-Aldrich e suas subsidiárias;
 - Cayman Chemicals;
 - Lipomed;
 - LGC Standards;
 - Supelco Analytical;
 - Australian Government National Measurement Institute;
 - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia;
 - Dr. Eherenstorfer;
 - NIS;
 - LoGiCal;
 - CIL;
 - BAM;
 - ERM;
 - JRC;

- Medichem;
- TRC.

3.2. Materiais de Referência Adquiridos pelo Laboratório

- Os materiais de referência adquiridos pelo laboratório são aqueles que possuem origem conhecida, podendo ser, dentre outros:
 - materiais de referência certificados;
 - materiais de referência;
 - padrões de trabalho:
 - i. produtos químicos comerciais;
 - ii. fármacos ou preparações farmacêuticas fornecidos por indústrias farmacêuticas que produzem medicamentos registrados pela ANVISA ou pelo MAPA;
 - iii. ingredientes ativos ou produtos formulados de agrotóxicos fornecidos por indústrias autorizadas pelo MAPA.
- Indústrias farmacêuticas e de agrotóxicos cujo funcionamento é autorizado pela ANVISA ou pelo MAPA, respectivamente, também são consideradas pré-aprovadas para o fornecimento de materiais de referência.
- Para fins de análise crítica, caso se trate de MRC, os seguintes critérios devem ser atendidos:
 - o MRC deve estar dentro do prazo de validade no ato do recebimento;
 - seu certificado deve conter sua identificação, incluindo teor, se apropriado;
 - o valor de propriedade deve ter incerteza associada, quando se tratar de teor;
 - seu certificado deve trazer expressamente uma declaração de rastreabilidade metrológica;
 - deve haver evidência de que o MRC seja produzido por organização autorizada para tal, conforme descrito na NIT-DICLA-030 (INMETRO) - Rastreabilidade Metrológica na Acreditação de Organismos de Avaliação da Conformidade e no Reconhecimento da Conformidade aos Princípios das Bpl.

- Para fins de análise crítica, caso se trate de MR, os seguintes critérios devem ser atendidos:
 - o MR deve estar dentro do prazo de validade no ato do recebimento;
 - sua documentação/embalagem deve conter sua identificação, incluindo teor, se apropriado.
- Caso o MRC não atenda aos critérios de aceitação, ele pode ter seus critérios avaliados como um MR e, caso aprovado, colocado em uso na condição de um MR. Da mesma forma, caso um material não esteja claramente descrito como MRC, mas atenda todos os critérios de um MRC, ele deve ser colocado em uso na condição de um MRC.
- A identidade dos padrões de trabalho adquiridos pelo laboratório deve ser confirmada por ocasião do seu primeiro uso por meio de análises qualitativas adequadas ao material.
- As análises qualitativas são classificadas conforme seu poder discriminatório, divididas em três categorias denominadas A, B e C, conforme recomendação da SWGDRUG, e consideradas suas atualizações, mostradas na Tabela 1, abaixo:

Tabela 1: Classificação das técnicas analíticas para análises qualitativas

Categoria A	Categoria B	Categoria C
Espectroscopia na região do Infravermelho (IV)	Cromatografia gasosa	Espectrofotometria na Região do Ultravioleta/Visível
Espectrometria de Massas (EM)	Cromatografia de Íons	Espectroscopia de Fluorescência
Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	Cromatografia Líquida de Alta eficiência	Imunoensaio

Espectroscopia Raman	Cromatografia em Camada Delgada	Propriedades Físicas e Físico-Químicas
Difração de Raio-X	Espectrometria de Mobilidade de Íons	Testes Colorimétricos e de Precipitação
	Microcristalização	
	Eletroforese Capilar	

- A confirmação da identidade dos padrões de trabalho adquiridos pelo laboratório deve ser baseada preferencialmente em resultado positivo de uma técnica classificada como categoria A. Quando não for possível realizar nenhuma técnica de categoria A, pode ser utilizada a combinação de duas análises classificadas como de categoria B, podendo ser utilizadas duas análises baseadas na mesma técnica cromatográfica, desde que seja alterada a fase estacionária ou pelo menos um dos eluentes da fase móvel. Essa confirmação deve ser feita por ocasião do primeiro uso do material de referência e deve ficar registrada. Os arquivos referentes a essa análise confirmatória devem ficar armazenados.
- Não é necessária a confirmação de identidade dos MRC ou MR, que podem ser colocados em uso tão logo aprovados na análise crítica realizada no seu recebimento.
- Quantificações que requeiram rastreabilidade metrológica somente podem ser realizadas com MRC dentro do período de validade ou, alternativamente, utilizando-se um MR ou um padrão de trabalho com teor recentemente determinado de modo que a rastreabilidade metrológica ao SI seja garantida (ex.: um padrão de trabalho de cafeína cujo teor foi determinado por ressonância magnética nuclear de prótons quantitativa, utilizando-se como calibrante um MRC de ácido maleico rastreável ao SI, pode ser usado como calibrante em quantificações que requeiram rastreabilidade metrológica).

- MRCs, MRs e padrões de trabalho podem ser usados por períodos superiores ao estabelecido pelo fabricante, desde que se comprove que continuam aptos para esse uso e que não sejam utilizados com a finalidade de assegurar rastreabilidade metrológica (ex.: ensaios qualitativos, uso na estimativa de limites de quantificação e/ou detecção durante a validação de métodos; quantificações que não requeiram rastreabilidade metrológica etc.).
- A verificação da continuidade da adequabilidade dos padrões cujo prazo de validade dado pelo fabricante já expirou pode ser realizada por técnica analítica capaz de confirmar a identidade do material, tal como descrito no item 3.2.4. Essa verificação é feita no momento do preparo de uma nova solução padrão e a cada novo uso das soluções já preparadas com os materiais de referência, pelo analista responsável pelo seu uso. As verificações devem ficar, para o caso de soluções que já estejam preparadas e armazenadas em congelador/freezer.
- Caso se verifique que o padrão não está mais apto para uso, tal fato deve ser comunicado ao gestor do laboratório para o devido descarte e baixa no registro.
- As soluções padrão armazenadas no congelador/freezer devem ser registradas na ordem de armazenamento.

3.3. Padrões de Trabalho desenvolvidos pelo próprio laboratório

- Padrões de trabalho podem ser desenvolvidos pelo laboratório a partir de materiais de origem desconhecida, como materiais apreendidos ou amostras de casos enviados para análise pericial ou para a realização de ensaios de proficiência.
- A caracterização da substância deve ser baseada em resultados positivos de, no mínimo duas análises, sendo pelo menos uma técnica classificada como de categoria A, desde que o conjunto das análises realizadas seja suficiente para garantir inequivocamente sua identidade, incluindo a distinção entre isômeros, se for necessário ao caso específico.
- Os resultados das análises realizadas para a geração de padrões de trabalho desenvolvidos pelo laboratório devem ser documentados. Os dados gerados devem passar, preferencialmente, por revisão e análise crítica. A aprovação do material é evidência de que a análise crítica foi realizada e o material é considerado adequado ao uso pretendido.

- Os padrões de trabalho desenvolvidos pelo laboratório serão considerados válidos conforme seja comprovado que continuam em condições de uso. O analista deve avaliar a adequabilidade do padrão para o uso em suas análises pela comparação dos resultados obtidos por uma das técnicas analíticas utilizadas na sua caracterização ou por outra técnica que garanta a sua identidade, registrando essas avaliações de maneira semelhante ao descrito em 3.6.

3.4. Soluções Padrão Preparadas pelo laboratório

- Soluções padrão podem ser preparadas a partir de MRCs, MRs ou padrões de trabalho, devendo ser registradas. O responsável pelo preparo das soluções deve etiquetá-las com sua identidade, teor (se necessário), solvente usado na solubilização, data e responsável pelo preparo. Além disso, o preparo das soluções padrão (descrição dos reagentes, massas e volumes utilizados) deve ser registrado, sendo fundamental que, conste também a data do preparo, de modo que se possa rastrear o frasco/vial contendo a solução de padrão de trabalho com o modo que se deu o seu preparo.
- As soluções padrão preparadas pelo laboratório devem ser armazenadas em freezer ou congelador para minimizar possíveis degradações.
- As soluções padrão preparadas pelo laboratório são consideradas válidas conforme seja comprovado que continuam em condições de uso. O analista deve avaliar a adequabilidade da solução para o uso em suas análises, pela comparação dos resultados obtidos pela mesma técnica analítica utilizada na confirmação da identidade do material ou por outra técnica que garanta a sua identidade, conforme item 3.2.4 sendo essa avaliação feita a cada uso da solução, ficando registrada.
- Os resultados das análises de soluções padrão (espectros, cromatogramas, etc.) podem ser salvos e registrados para possibilitar o uso por outros analistas, conforme estabelecido no POP N° 9.08 - Análise Qualitativa de Substâncias Ilícitas ou Controladas por Cromatografia Gasosa com Detecção por Espectrometria de Massas (GC-MS).
- Caso se verifique que a solução não está apta para uso, o analista deve descartá-la e comunicar o fato ao gestor do laboratório.

3.5. Identificação dos Materiais de Referência

- Todos os frascos de materiais de referência devem ser identificados com, no mínimo, o nome da(s) substância(s) presente(s) no material e o seu número de registro no controle do laboratório.
- Os materiais de referência também devem ser identificados por etiquetas coloridas conforme a situação do referido padrão, conforme exemplificado a seguir:
 - **etiqueta verde:** material que se encontra dentro do seu prazo de validade e cuja identidade já foi verificada (no caso de padrões de trabalho);
 - **etiqueta amarela:** padrões de trabalho cuja identidade ainda não foi verificada ou qualquer material de referência com prazo de validade expirado. Inclui ainda os padrões de trabalho desenvolvidos no laboratório a partir de materiais apreendidos para os quais não foi possível estabelecer um prazo de validade;
 - **etiqueta vermelha:** material reprovado. Deve ser imediatamente separado dos outros materiais de referência e encaminhado a descarte.

3.6. Registros

- Todos os registros técnicos (espectros, cromatogramas etc.) relativos às análises realizadas nos padrões do laboratório para sua identificação, caracterização e quantificação devem ser salvos pelo analista em pasta nomeada com o número de registro do material no controle do laboratório, criada na rede interna do laboratório (por exemplo: endereço "**ANDAMENTO > LOGÍSTICA > ALMOXARIFADO > MATERIAIS DE REFERÊNCIA**"). Análises feitas para verificação da estabilidade do padrão podem ser armazenadas na mesma pasta, se necessário.
- Todas as análises realizadas em laboratórios externos para caracterização e desenvolvimento de materiais de referência devem ser documentadas.
- A solicitação de materiais de referência para uso, sua restituição ao controle do laboratório e baixa devem seguir o estabelecido no controle de logística do laboratório.

4. VERIFICAÇÃO

4.1. Aplicação e uso

- O usuário de um dado MR, MRC ou padrão de trabalho é responsável por verificar se ele é adequado ao uso pretendido (e.g. concentração apropriada; nível de identificação, tal como diferenciação enantiomérica; grau de pureza; presença de declaração de rastreabilidade metrológica no certificado; possibilidade de uso em análises quantitativas etc.).
- Caso o certificado não declare o valor de pureza, mas traga todas as informações que permitam o seu cálculo por balanço de massas, ele pode ser obtido pela seguinte equação:

$$\text{Pureza \%} = (100\% - H2O\% - \text{Solvente residual \%} - \text{Inorgânicos\%}) \times P_{\text{cromatográfica \%}}$$

- A pureza cromatográfica (HPLC ou GC) jamais deve ser utilizada como a pureza final do MR/MRC para fins de fator de correção.

5. PONTOS CRÍTICOS

- A identificação de substâncias suspeitas no âmbito dos laboratórios forenses por meio de comparação entre substâncias, com uso das técnicas previstas na Tabela 01, deve ser baseada na comparação com materiais de referência (MR, MRC ou padrão de trabalho).
- As análises críticas devem ser registradas e referenciadas

6. REFERÊNCIAS

POP-I-SEPLAB-15 - **GESTÃO DE MATERIAIS DE REFERÊNCIA** - SEPLAB/DPER/INC/DITEC - POLÍCIA FEDERAL.

SWGDRUG. (2022, August 19). **SCIENTIFIC WORKING GROUP FOR THE ANALYSIS OF SEIZED DRUGS (SWGDRUG) RECOMMENDATIONS**. Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs. Acesso em 14 de dezembro de 2023. Disponível em: https://www.swgdrug.org/Documents/SWGDRUG%20Recommendations%20Version%2008.1_FINAL_ForPosting_Rev%201-23-23.pdf

INMETRO. **NIT-DICLA-030** (2023). Acesso em 19 de março de 2024. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa_link.asp?seq_tipo_documento=4&cod_uo_numeracao=00778&num_documento=030

7. GLOSSÁRIO

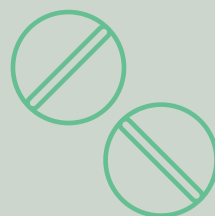
BRANCO: amostra que não contém o analito de interesse ou outras substâncias interferentes. Sugere-se que seja obtido através de marcha analítica idêntica à dos extratos.

MATERIAL DE REFERÊNCIA: material, suficientemente homogêneo e estável em relação a propriedades específicas, preparado para se adequar a uma utilização pretendida numa medição ou num exame de propriedades qualitativas. Os materiais de referência são classificados como material de referência certificado e como padrão de trabalho.

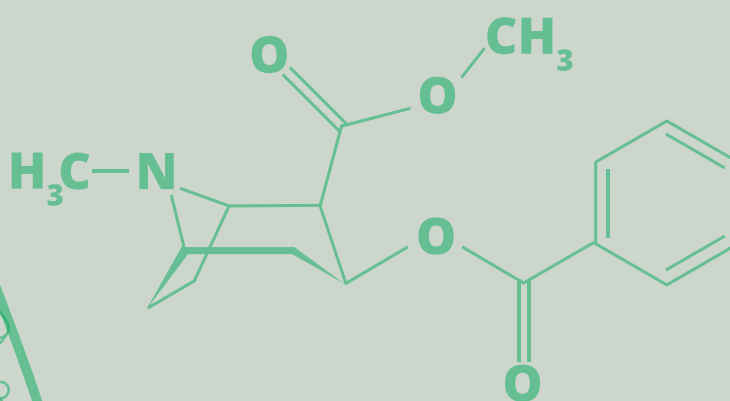
MATERIAL DE REFERÊNCIA CERTIFICADO: material de referência caracterizado por um procedimento metrologicamente válido para uma ou mais propriedades especificadas, acompanhado de um certificado que fornece o valor de propriedade específica, sua incerteza associada e uma declaração de rastreabilidade metrológica.

PADRÃO DE TRABALHO: material de referência utilizado rotineiramente para controlar instrumentos de medição ou metodologias analíticas, geralmente aferido por comparação a um material de referência certificado, fornecido por empresas com autorização de funcionamento pelos órgãos competentes ou desenvolvido pelo próprio laboratório.

RASTREABILIDADE METROLÓGICA: propriedade de um resultado de medição pela qual tal resultado pode ser relacionado a uma referência através de uma cadeia ininterrupta e documentada de calibrações, cada uma contribuindo para a incerteza de medições.



MANUTENÇÃO E VERIFICAÇÃO DE DESEMPENHO DE CROMATÓGRAFO EM FASE GASOSA ACOPLADO A ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (GC/MS)



POP N° 9.05 - QUÍMICA FORENSE

MANUTENÇÃO E VERIFICAÇÃO DE DESEMPENHO DE CROMATÓGRAFO EM FASE GASOSA ACOPLADO A ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (GC/MS)

FINALIDADE

Especificar os elementos necessários para a manutenção e a verificação de desempenho de cromatógrafo em fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS), visando manter o correto funcionamento do equipamento.

PÚBLICO ALVO

Peritos Criminais da área de Química Forense.

1. ABREVIATURAS E SIGLAS

GC-MS: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
EPI: Equipamento de proteção individual
PI: Padrão interno
SWGDRUG: Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs
TR: Tempo de retenção do analito
TRR: Tempo de retenção relativo
UNODC: United Nations Office on Drugs and Crime
NIST: National Institute of Standards and Technology
EI: Ionização eletrônica

2. RESULTADOS ESPERADOS

- Garantir o bom funcionamento e desempenho de cromatógrafo em fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS), visando manter a confiabilidade e a vida útil do equipamento.

3. MATERIAL

- Anilhas de grafite para uso em injetores split/splitless
- Anilhas de grafite para uso em interface GC/MS
- Balões volumétricos
- Coluna capilar HP-5 MS, HP-1 MS, RXI-5 MS, RXI-1 MS, DB-WAX, DB-5 MS ou DB-1 MS (ou outra coluna similar)
- Cortador cerâmico de coluna capilar ou cortador de equivalente desempenho
- Etanol, éter de petróleo, éter etílico, clorofórmio, diclorometano, hexano ou metanol
- Filamento para ionização eletrônica (EI) para uso em espectrômetro de massas
- Frascos de lavagem e descarte para ALS
- Gás hélio grau 6.0
- Gold-seal inerte, para uso em injetores split/splitless
- Haste de madeira e pano de algodão
- Injeções no modo split ou splitless
- Kit para realização de limpeza: preferencialmente conjunto de suabes de algodão com Liner de vidro, contendo no mínimo 4 milímetros de lã de vidro dessalinizada, para O-ring de fluorocarbono para uso em injetores do tipo split-splitless
- Padrão de 2,2,2-trifenil-acetofenona
- Padrão de cafeína
- Padrão de cocaína
- Padrão de efedrina
- Padrão de Isocaproato de Testosterona
- Pipetas volumétricas
- Rosca de latão ou outra com desempenho compatível para uso em injetores split/splitless
- Sangramento, para uso em amostrador automático de injeção (ALS)
- Septo de longa durabilidade ou septo otimizado para altas temperaturas/baixo
- Seringa de 10 µL para amostrador automático
- Solução de perfluorotributilamina (PFTBA, solução para realização de tune)
- Solventes orgânicos de grau analítico: acetato de etila, acetonitrila, álcool isopropílico,
- Vials com tampa dotada de septo

4. PROCEDIMENTOS

4.1. Generalidades

- Os procedimentos descritos neste método se encontram divididos em: procedimentos de execução periódica, que tratam de manutenção de rotina; e procedimentos de execução sob demanda, que tratam de manutenções não rotineiras.
- Os procedimentos de manutenção realizados devem ser registrados.

4.2. Manutenção de execução periódica

- A cada 500 injeções, aproximadamente, devem ser realizados os seguintes procedimentos:
 - verificação da microseringa e, no caso de problemas aparentes, realização da troca da microseringa;
 - troca dos frascos de lavagem do sistema ALS (recomendação: mistura de solventes clorofórmio: etanol 1:1, acetato de etila: hexano 1:1) e troca dos frascos de descarte;
 - troca de liner e septo;
 - execução de sequência com cinco injeções de metanol (ou etanol) em método "RAPIDO", conforme POP N° 9.08 - Análise Qualitativa de Substâncias Ilícitas ou Controladas por Cromatografia Gasosa com Detecção por Espectrometria de Massas (GC-MS), para condicionamento do liner trocado.
- A cada 30 dias, recomenda-se efetuar tune do GC-MS no modo stune ou equivalente, sendo o valor da voltagem da eletromultiplicadora obtido registrado para acompanhamento. Caso a voltagem da eletromultiplicadora ultrapasse o limite superior de 2.800 V, devem ser adotadas medidas de manutenção sob demanda (item 4.3).
- Conforme a necessidade de uso também pode ser feito tune do GC-MS no modo atune, recomendado para análises de substâncias em quantidades de traço.
- Recomenda-se que diariamente sejam realizadas as seguintes tarefas nos equipamentos, para auxiliar na manutenção da rotina de trabalho: verificar a sequência em andamento, retirar vials que já tenham sido analisados, limpar a seringa, trocar ou completar os solventes de lavagem.

4.3. Manutenção de execução sob demanda

- Englobam os procedimentos recomendados pelo fabricante do equipamento que devem ser realizados quando os critérios estabelecidos na verificação de desempenho não forem atendidos. Incluem os procedimentos descritos abaixo sem, entretanto, limitar-se a eles:
 - execução de novo tune no modo stune ou equivalente;
 - corte de seção da coluna capilar (recomenda-se 15 cm), na extremidade conectada ao injetor;
 - troca de gold seal;
 - limpeza da câmara de ionização do Espectrômetro de Massas;
 - troca de filamentos de EI;
 - troca da coluna capilar.

5. VERIFICAÇÃO DE DESEMPENHO

5.1. Periodicidade de Verificação de Desempenho

- A verificação de desempenho descrita neste procedimento deve ser realizada a cada 30 dias ou na ocorrência de desligamento completo do sistema GC-MS.
- Quando o detector de massas não estiver sendo utilizado, deve ser feita a verificação de desempenho do GC-MS somente quando o referido detector for recolocado em uso, e caso tenha se passado 30 dias da verificação de desempenho anterior.

5.2. Solução de verificação

- Uma solução deve ser preparada para avaliação das condições do equipamento. Sugere-se uma solução com as seguintes substâncias, em etanol: efedrina (1000 ppm), cafeína (500 ppm), cocaína (500 ppm), 2,2,2-trifenil-acetofenona (1000 ppm) e isocaproato de testosterona (1000 ppm).

- A solução de verificação deve ser identificada conforme o POP N° 9.02 - Preparação de Soluções Reagentes de Uso Comum à Prática Forense, devendo ser armazenada em congelador. Uma nova solução deve ser preparada quando ela não atingir os critérios de aceitação estabelecidos no item 6 – Verificação de Resultados, bem como quando os resultados da verificação apresentarem qualquer inconsistência relevante, como picos inesperados, a não ser que a solução esteja comprovadamente adequada.
- Para realização da verificação de desempenho, preparar um vial com a solução de verificação e outro com etanol, para ser utilizado como “branco”.

5.3. Parâmetros dos Equipamentos

- Para a verificação de desempenho do equipamento deve ser utilizado o método “ESTENDIDO”, conforme POP N° 9.08 - Análise Qualitativa de Substâncias Ilícitas ou Controladas por Cromatografia Gasosa com Detecção por Espectrometria de Massas (GC-MS).

5.4. Montagem de Sequências

- As sequências devem ser identificadas com a data corrente. As sequências não necessitam ser arquivadas.
- Sugere-se montar a sequência de injeções conforme a seguinte ordem cronológica de análise:
 - 1º- vial de branco – duas injeções;
 - 2º- vial da solução de verificação – três injeções;
 - 3º- vial de branco - uma injeção.

6. VERIFICAÇÃO DE RESULTADOS

- Os resultados das análises dos brancos devem ser avaliados e, caso apresentem qualquer inconsistência relevante, como picos não esperados, a sequência de verificação de desempenho deve ser repetida.
- Os resultados obtidos para a injeção da solução de verificação devem ser avaliados utilizando os parâmetros de auto integração do software utilizado e devem atender aos seguintes critérios de aceitação:
 - no cromatograma, todos os cinco picos devem estar presentes;

- o formato dos picos deve apresentar simetria aceitável;
 - os tempos de retenção devem ser registrados e devem ser avaliados nos critérios previstos no POP N° 9.08 - Análise Qualitativa de Substâncias Ilícitas ou Controladas por Cromatografia Gasosa com Detecção por Espectrometria de Massas (GC-MS);
 - os espectros de massas das substâncias cocaína e isocaproato de testosterona, se for o caso, devem ser avaliados nos critérios previstos no POP N° 9.08 - Análise Qualitativa de Substâncias Ilícitas ou Controladas por Cromatografia Gasosa com Detecção por Espectrometria de Massas (GC-MS).
- Havendo alguma inconsistência, tais como picos não esperados ou valores não conformes, devem ser adotadas medidas e manutenção corretivas adequadas e, em seguida, deve ser realizada uma nova avaliação de desempenho.

7. PONTOS CRÍTICOS

- Seguir as orientações do POP n° 9.01 Procedimentos de Ambiente e Segurança no Laboratório.
- Para injeção manual, a seringa a ser utilizada deve ser previamente lavada com o mesmo solvente utilizado na preparação da amostra, antes e após sua utilização. Recomenda-se o mínimo de 3 lavagens.
- Os métodos de GC-MS descritos neste procedimento não devem ser utilizados para distinguir entre os isômeros ópticos.
- Durante a preparação das amostras, deve-se tomar cuidado com sobrecarga de material, pH extremo, presença de óleos, açúcares e compostos que possam ser retidos no equipamento, de modo a evitar baixa sensibilidade ou efeitos residuais. Soluções ácidas ou básicas devem ser neutralizadas antes da injeção no equipamento.
- Após extração/diluição das amostras, estas devem ser centrifugadas e/ou filtradas para evitar que partículas em suspensão e compostos indesejados sejam introduzidos no equipamento. Partículas não devem ser visíveis a olho nu no vial da amostra.
- Problemas ou mensagens de erro no equipamento que não possam ser imediatamente corrigidos devem ser notificados aos responsáveis pela manutenção dos equipamentos de GC-MS para que sejam corrigidos.

8. INSTALAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE DESEMPENHO DE NOVA INSTRUMENTAÇÃO

- A instalação de novos equipamentos de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas deve ser realizada por representante autorizado e seguindo as exigências do fabricante.
- Antes da liberação do equipamento para uso, deve ser realizada verificação de desempenho conforme descrito no item 5 e avaliada como no item 6 deste documento.

9. REFERÊNCIAS

MET-I-SEPLAB-11 – **MANUTENÇÃO E VERIFICAÇÃO DE DESEMPENHO DE CROMATÓGRAFO EM FASE GASOSA ACOPLADO A ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (CG/EM).**

10. GLOSSÁRIO

BRANCO: amostra que não contém o analito de interesse ou outras substâncias interferentes. Sugere-se que seja obtido através de marcha analítica idêntica à dos extratos.

MATERIAL DE REFERÊNCIA: material estável e homogêneo, contendo o analito de interesse devidamente caracterizado.

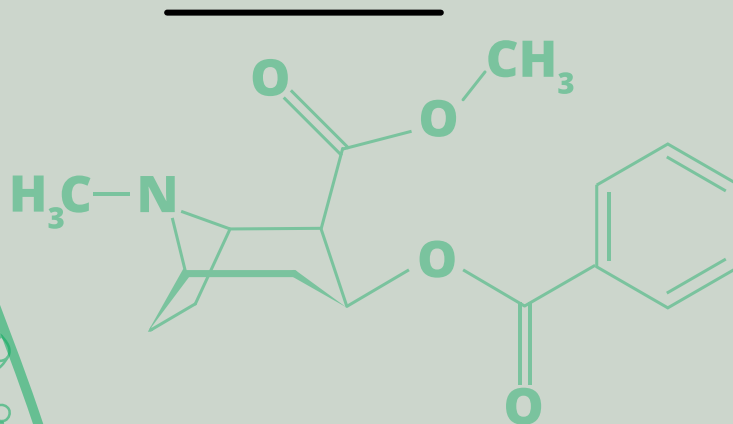
TEMPO DE RETENÇÃO RELATIVO (TRR): é o tempo de retenção do analito dividido pelo tempo de retenção do padrão interno.

SPLIT: Condição analítica definida pela proporção entre o volume inserido no equipamento e o volume real que é usado na eluição cromatográfica.

SPLITLESS: Condição analítica em que o volume inserido no equipamento é completamente usado para a eluição cromatográfica.



IDENTIFICAÇÃO DE PRINCIPAIS CANABINOIDES POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD) EM AMOSTRAS DE MATERIAL BRUTO QUESTIONADO



POP N° 9.06 - QUÍMICA FORENSE

IDENTIFICAÇÃO DE PRINCIPAIS CANABINOIDES POR CROMATOGRRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD) EM AMOSTRAS DE MATERIAL BRUTO QUESTIONADO

FINALIDADE

Orientar o profissional de perícia a identificar os principais canabinoides de interesse forense comumente presentes em partes da planta Cannabis Sativa L. (maconha), por cromatografia em camada delgada (CCD) em amostras de material bruto questionado.

PÚBLICO ALVO

Peritos Criminais da área de Química Forense.

1. ABREVIATURAS E SIGLAS

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

CNB: Canabinol

CND: Canabidiol

EPI: Equipamento de proteção individual

Rf: Fator de retenção/retardo

SWGDRUG: Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs

THC: Tetrahydrocannabinol ou tetraidrocannabinol

UNODC: United Nations Office on Drugs and Crime

2. RESULTADOS ESPERADOS

- Identificação de principais canabinoides, por meio da cromatografia em camada delgada (CCD), em amostras de material bruto questionado.

3. MATERIAL

- Balança analítica
- Béqueres e provetas de volume adequado para o preparo das soluções
- Borrifador
- Capela com sistema de exaustão
- Cubas cromatográficas com tampa
- Espátulas
- Estante ou suporte para microtubos ou para tubos de ensaio
- Fast Blue Salt B PA
- Frasco de vidro âmbar para o acondicionamento das soluções
- Materiais de referência (THC, CND, CNB, THCA)
- Micropipetas com capacidade para 200 µL ou pipetas Pasteur
- Microtubos ou tubos de ensaio
- NaOH 0,1 mol/L
- Pipeta com capacidade para 1 mL
- Placas de cromatografia em camada delgada: fase estacionária sílica gel G 250µm ou 60 F254 (por exemplo, 10x10 cm sobre alumínio ou 20x20 cm sobre vidro)
- Régua
- Sistemas de base móvel – dois sistemas de fase móvel distintos, podendo ser adotados aqueles sugeridos no item 4.1
- Solvente orgânico para extração dos canabinoides (éter de petróleo, hexano ou etanol)
- Tubos capilares de vidro

4. PROCEDIMENTOS

4.1. Introdução

- Os principais canabinoides de interesse forense comumente presentes em partes da planta *Cannabis sativa* L. (maconha) constam nos anexos da Portaria 344/98-SVS/MS, de 12/05/1998 e suas atualizações (THC – Lista F2: Substâncias Psicotrópicas; CBD – Lista C1: Substâncias sujeitas a controle especial).
- O teste de CCD pode utilizar diversos sistemas de fase móvel (solventes) para identificação de canabinoides presentes nas amostras questionadas,

consoante abaixo.

- Outros sistemas de fase móvel podem ser utilizados, desde que tenham sido testados e validados em laboratório.
- A fase estacionária mais utilizada é a sílica gel G 250 μm , dispersa sobre uma superfície de vidro ou alumínio.
- O revelador químico mais utilizado é uma solução aquosa básica de Fast Blue Salt B, borrifada, após a eluição, sobre a placa totalmente seca.
- Alguns dos valores de R_f descritos na literatura obtidos utilizando a fase estacionária citada e o revelador descrito acima são:

Tabela 01: Sistemas de fase móvel e valores de R_f : UNODC (2022).

Composto	Sistemas de Eluição ($R_f\%$)			
	A(1)	B(1)	C(1)(2)	D(3)
Canabinol	33	26	47	28
THC	37	38	49	35
Canabidiol	42	42	47	41

A: Éter de Petróleo: Éter dietílico (80:20 v/v, sistema saturado);

B: Ciclohexano:Éter diisopropílico:Dietilamina (52:40:8 v/v, sistema saturado);

C: n-Hexano: Dioxano: Metanol (70:20:10 v/v, sistema saturado);

D: Tolueno: Dietilamina (97:3 v/v sistema saturado);

(1) Sistemas de fase móvel e valores de R_f : UNODC (2022) em Placa de 10x10 com sílica gel G250;

(2) Sistema para canabinoides ácidos;

(3) Sistema somente para canabinoides neutros e com placa de sílica gel 60 F254;

4.2. Requisitos

- Se for necessário, realizar condicionamento prévio da placa, de acordo com o procedimento de escolha do Laboratório.
- A localização e a distribuição dos pontos de aplicação devem considerar as dimensões da placa, volume da cuba, volume da fase móvel, bem como, a quantidade de extratos a serem examinados, de forma que cada amostra seja aplicada a uma distância que permita a sua eluição sem interferir nas amostras adjacentes (recomendado: 1cm de distância entre os pontos de aplicação e 1,5 cm da borda da placa).

4.3. Execução

- Preparação do sistema de revelação: misturar 25 mg do corante Fast Blue Salt B à 10 mL de solução de NaOH 0,1 mol/L imediatamente antes do uso.
- Para saturação da cuba, preparar o sistema, pelo menos, 30 minutos antes da análise, possibilitando o equilíbrio do meio líquido/vapor.
- Extração: as amostras questionadas devem ser preparadas por extração de, aproximadamente, 50 mg de material vegetal com cerca de 1 mL de solvente (éter de petróleo, hexano ou etanol) em microtubo ou tubo de ensaio, com agitação durante 15 minutos ou em banho ultrassônico em temperatura ambiente. Em caso de resina ou óleo à base de Cannabis, realizar extração utilizando 10 mg e 5 mg respectivamente.
- Preparação dos padrões: as soluções dos padrões de referência devem ser preparadas em concentrações de, aproximadamente, 0,5 mg/mL em metanol, sendo armazenada em local refrigerado e ao abrigo da luz.
- Preparação do branco: Devem ser preparados com os mesmos solventes empregados nas amostras e no material de referência.
- Aplicação da amostra: utilizando tubos capilares limpos, aplicar sobre a placa cromatográfica os extratos a serem analisados, os padrões de referência e o branco a, aproximadamente, 2 cm da borda inferior.
- Corrida cromatográfica:
 - deixar que os extratos aplicados à placa sequem antes de inserir a placa na cuba;
 - tampar rapidamente e deixar eluir até que a fase móvel atinja a altura desejada (recomendável 10 cm distante do local de aplicação);

- retirar a placa da cuba, marcar a altura atingida pela fase móvel e deixar em capela até a completa evaporação dos solventes.
- Revelação: borrifar sobre a placa a solução básica de Fast Blue Salt B recém-preparada.
- Aferição da eluição: observar a coloração e os valores de R_f (%) das manchas, aferindo com o uso da régua as distâncias percorridas considerando o centro dos pontos revelados.

5. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

5.1. Interpretação

- Comparar o perfil cromatográfico - R_f (%) e a coloração das manchas - dos extratos questionados com o obtido com o material de referência.
- Considerar o limite de detecção de até 5 ng do analito de interesse presente na amostra.
- Os valores de R_f nem sempre são reprodutíveis devido a pequenas alterações na composição da placa, em sistemas de solventes, saturação de tanques ou distância de corrida. Portanto, os valores de R_f fornecidos são indicações do comportamento cromatográfico das substâncias listadas.
- É essencial que os materiais de referência sejam executados simultaneamente na mesma placa. Para fins de identificação, devem ser considerados tanto o valor do R_f quanto a cor das manchas após a pulverização com os reagentes de visualização apropriados.
- Os resultados possíveis são:
 - **detectado:** perfil cromatográfico do extrato analisado coincide com o do material de referência;
 - **não detectado:** perfil cromatográfico do extrato analisado não coincide com o do material de referência e, portanto, o analito não está presente ou está presente em concentração abaixo do limite de detecção do método.

5.2. Recomendações

- Este procedimento deve ser realizado conforme POP N° 9.01 - PROCEDIMENTOS DE AMBIENTE E SEGURANÇA NO LABORATÓRIO.

6. PONTOS CRÍTICOS

- Os resíduos de solventes devem ser descartados de forma adequada.
- Materiais de referência devem estar disponíveis para análises por CCD.
- A detecção da mancha dos canabinoides dos materiais de referência e a não detecção com o branco, indicam que o procedimento foi executado adequadamente.
- A análise executada por um único sistema de CCD não possui capacidade discriminatória suficiente para identificar o analito, conforme as recomendações da SWGDRUG (2022). Conforme referidas diretrizes, se a identificação dos canabinoides se embasar em testes colorimétricos (por exemplo, Duquenois-Levine) e CCD, devem-se realizar duas análises por CCD em sistemas diferentes de fase móvel.
- Importante para garantia da cadeia de custódia que todo o procedimento seja documentado (fotografias, tomar nota, etc.), quanto aos números de lacre (recebido e devolvido), massa separada para análise e contraprova.

7. ESTRUTURA BÁSICA DO LAUDO

7.1. Identificação e descrição da amostra

- Natureza e quantidade do material recebido.

7.2. Lacre, documentação, quesitos apresentados.

- Exames realizados

7.3. Metodologia

- Resultados obtidos
 - **detectado:** perfil cromatográfico do extrato analisado coincide com o do material de referência e, portanto, os canabinoides (THC, CBD, CBN, THCA) estão presentes no material questionado;
 - **não detectado:** perfil cromatográfico do extrato analisado não coincide com o do material de referência e, portanto, os canabinoides (THC, CBD, CBN, THCA) não estão presentes ou estão presentes em concentração abaixo do limite de detecção do método.

7.4. Conclusão

- Considerando que as condições listadas nos Pontos Críticos tenham sido atendidas, pode-se concluir de duas formas:
 - **detectado THC:** “As análises realizadas no material descrito no item 7.1 (Identificação e descrição da amostra) detectaram a presença de tetrahydrocannabinol, substância relacionada na Lista F2 - Substâncias Psicotrópicas de uso proscrito no Brasil da Portaria SVS/MS nº. 344, de 12/05/1998 e atualizações posteriores;
 - **detectado CBD:** “As análises realizadas no material descrito no item 6.1 (Identificação e descrição da amostra) detectaram a presença de canabidiol, substância relacionada na Lista C1: Substâncias sujeitas a controle especial, constantes na Portaria SVS/MS nº. 344, de 12/05/1998 e atualizações posteriores”;
 - **não detectado:** “As análises realizadas no material descrito no item 6.1 (Identificação e descrição da amostra) não detectaram a presença de canabinoides de interesse forense”.

8. REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Justiça. Secretaria Nacional de Segurança Pública. **Procedimento Operacional Padrão: perícia criminal**. Brasília. 2013.

SWGDRUG: **Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs. Recommendations**. Revision 8.1, 19 ago. 2022. Disponível em: www.swgdrug.org/Documents/SWGDRUG%20Recommendations%206.pdf.

Acesso em: 05 dez. 2023.

UNODC (United Nations Office on Drugs and Crime). **Laboratory and scientific section. Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products**. New York, 2022.

9. GLOSSÁRIO

BRANCO: amostra que não contém o analito de interesse ou outras substâncias interferentes. Sugere-se que seja obtida através do uso dos solventes e reagentes utilizados na marcha analítica idêntica àquela executada para os extratos.

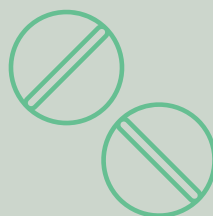
CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD): consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada delgada adsorvente retida em uma superfície plana (fase estacionária). Os adsorventes mais utilizados são: sílica, alumina, celulose e poliamida.

A fase móvel passa através do ponto de partida da amostra (aplicada em uma das extremidades da placa cromatográfica) e arrasta os componentes da mistura durante o processo de desenvolvimento/eluição. A análise qualitativa de uma substância realiza-se pelo seu valor de R_f , que é definido pela razão descrita abaixo:

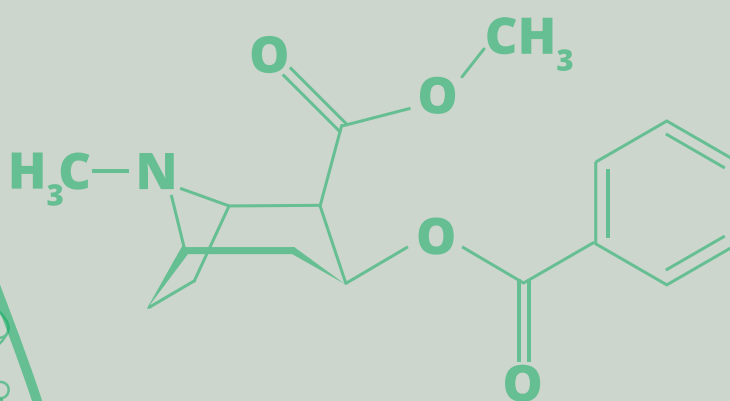
$$R_f(\%) = 100 \times \frac{\text{distância percorrida pela substância}}{\text{distância percorrida pela frente da fase móvel}}$$

MATERIAL DE REFERÊNCIA: material estável e homogêneo, contendo o analito de interesse, preferencialmente material de referência certificado.[1]

[1] Caso não haja disponibilidade de material de referência certificado, o laboratório poderá fazer uso de padrão de trabalho devidamente caracterizado de acordo com o POP 9.4 – Gestão sobre Materiais de Referência, sem prejuízo do previsto nos manuais da UNODC e SWGDRUG e cujo histórico seja documentando e sua rastreabilidade assegurada.



IDENTIFICAÇÃO DE COCAÍNA POR CROMATOGRRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD) EM AMOSTRAS DE MATERIAL BRUTO QUESTIONADO



POP N° 9.07 - QUÍMICA FORENSE

IDENTIFICAÇÃO DE COCAÍNA POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD) EM AMOSTRAS DE MATERIAL BRUTO QUESTIONADO

FINALIDADE

Orientar o profissional de perícia a identificar cocaína por cromatografia em camada delgada (CCD) em amostras de material bruto questionado.

PÚBLICO ALVO

Peritos Criminais da área de Química Forense.

1. ABREVIATURAS E SIGLAS

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

EPI: Equipamento de proteção individual

Rf: Fator de retenção/retardo

SWGDRUG: Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs

UNODC: United Nations Office on Drugs and Crime

2. RESULTADOS ESPERADOS

- Identificação de cocaína, por meio da cromatografia em camada delgada (CCD), em amostras de material bruto questionado.

3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Ácido clorídrico concentrado PA.
- Ácido cloroplático hexahidratado $[H_2(PtCl_6).6H_2O]$ P.A.
- Água destilada
- Balança analítica
- Béqueres e provetas de volume adequado para o preparo das soluções
- Borrifado

- Capela com sistema de exaustão
- Cubas cromatográficas com tampa
- Dois sistemas de fase móvel distintos, podendo ser adotados aqueles sugeridos na tabela abaixo (vide seção 4.1)
- Espátulas
- Estante ou suporte para tubos microtubos ou para tubos de ensaio
- Frasco de vidro âmbar para o acondicionamento das soluções
- Iodeto de potássio PA
- Material de referência (cocaína)
- Micropipetas com capacidade para 200 μ L ou pipetas Pasteur
- Microtubos ou tubos de ensaio
- Placas de cromatografia em camada delgada: fase estacionária sílica gel G 250 μ m ou 60 F254 (por exemplo, 10x10 cm sobre alumínio ou 20x20 cm sobre vidro)
- Régua
- Sistemas de Fase Móvel
- Solvente orgânico para extração das amostras (metanol ou clorofórmio)
- Tubos capilares de vidro

4. PROCEDIMENTOS

4.1. Introdução

- A cocaína é um alcaloide capaz de produzir intensa estimulação do sistema nervoso central, agindo principalmente sobre a transmissão dopaminérgica e adrenérgica. Esta substância encontra-se relacionada na lista F1 - Substâncias Entorpecentes de uso proscrito no Brasil, da Portaria 344-SVS/MS, de 12/05/1998.
- O teste de CCD pode utilizar diversos sistemas de fase móvel (solventes) para identificação de cocaína presente nas amostras questionadas, consoante abaixo.
- Outros sistemas de fase móvel podem ser utilizados, desde que tenham sido testados e validados em laboratório.
- A fase estacionária mais utilizada é a sílica gel G 250 μ m, dispersa sobre uma superfície de vidro ou alumínio.
- O revelador químico mais utilizado é a solução de iodoplatinato acidificada, borrifada, após a eluição, sobre a placa totalmente seca.

- Alguns dos valores de Rf descritos na literatura para a cocaína obtidos utilizando a fase estacionária citada e o revelador descrito acima, são:

Tabela 1: Sistemas e valores de Rf: UNODC (2012)

Composto	Sistemas de Eluição (RF%)		
	A(1)	B(1)	C(1)
Cocaína	81	59	56

A: Clorofórmio: dioxano: acetato de etila: hidróxido de amônio (25:60:10:5, v/v, sistema saturado);

B: Metanol: hidróxido de amônio (100:1,5 v/v, sistema saturado);

C: Ciclohexano: tolueno: dietilamina (75:15:10 v/v, sistema saturado).

4.2. Requisitos

- Se for necessário, realizar condicionamento prévio da placa, de acordo com o procedimento de escolha do Laboratório.
- A localização e a distribuição dos pontos de aplicação devem considerar as dimensões da placa, volume da cuba, volume da fase móvel, bem como, a quantidade de extratos a serem examinados, de forma que cada amostra seja aplicada a uma distância que permita a sua eluição sem interferir nas amostras adjacentes (recomendado: 1cm de distância entre os pontos de aplicação e 1,5 cm da borda da placa).

4.3. Execução

- Preparação do sistema de revelação: solução de iodoplatinato acidificada:
 - Dissolver 25 mg de ácido cloroplático hexahidratado $[H_2(PtCl_6).6H_2O]$ e 500 mg de iodeto de potássio em 10 mL de água destilada. Adicionar 0,2 mL de ácido clorídrico concentrado imediatamente antes do uso.

- A solução não acidificada pode ser transferida para um frasco âmbar e mantida sob refrigeração até o uso.
- Para saturação da cuba, preparar o sistema pelo menos 30 minutos antes da análise, possibilitando o equilíbrio do meio líquido/vapor.
- Extração: sugere-se preparar as amostras questionadas em concentração entre 1 e 3 mg/mL em solvente orgânico apropriado (por exemplo, metanol ou clorofórmio) em microtubo ou tubo de ensaio.
- Preparação do padrão: o material de referência de cocaína deve ser preparado na concentração aproximada de 1 mg/mL em solvente orgânico apropriado (por exemplo, metanol ou clorofórmio) em microtubo ou tubo de ensaio.
- Preparação do branco: devem ser preparados com os mesmos solventes empregados nas amostras e no material de referência.
- Aplicação da amostra: utilizando tubos capilares limpos, aplicar sobre a placa cromatográfica os extratos a serem analisados, os padrões de referência e o branco a, aproximadamente, 2 cm da borda inferior.
- Corrida cromatográfica:
 - deixar que os extratos aplicados à placa sequem antes de inserir a placa na cuba.
 - tampar rapidamente e deixar eluir até que a fase móvel atinja a altura desejada (Recomendável 10 cm distante do local de aplicação);
 - retirar a placa da cuba, marcar a altura atingida pela fase móvel e deixar em capela até a completa evaporação dos solventes.
- Revelação: borrifar sobre a placa a solução de iodoplatinato acidificada;
- Aferição da eluição: observar a coloração e os valores de R_f (%) das manchas, aferindo com o uso de régua as distâncias percorridas considerando o centro dos pontos revelados.

5. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

5.1. Interpretação

- Comparar o perfil cromatográfico – R_f (%) e coloração das manchas - dos extratos questionados com o obtido com o material de referência.
- Considerar o limite de detecção de até 5 ng do analito de interesse presente na amostra.

- Os valores de R_f nem sempre são reprodutíveis devido a pequenas alterações na composição da placa, em sistemas de solventes, saturação de tanques ou distância de corrida. Portanto, os valores de R_f fornecidos são indicações do comportamento cromatográfico das substâncias listadas.
- É essencial que os materiais de referência sejam executados simultaneamente na mesma placa. Para fins de identificação, devem ser considerados tanto o valor do R_f quanto a cor das manchas após a pulverização com os reagentes de visualização apropriados.
- Os resultados possíveis são:
 - **detectado:** perfil cromatográfico do extrato analisado coincide com o do material de referência.
 - **não detectado:** perfil cromatográfico do extrato analisado não coincide com o do material de referência e, portanto, o analito não está presente ou está presente em concentração abaixo do limite de detecção do método.

5.2. Observação

- A forma de apresentação da cocaína na amostra ou no material de referência (sal ou base livre) não é relevante na análise por CCD objeto deste POP, uma vez que nos sistemas de fase móvel sugeridos acima, a substância migrará como base livre.

5.3. Recomendações

- Este procedimento deve ser realizado conforme POP N° 9.01 - Procedimentos de Ambiente e Segurança no Laboratório.

6. PONTOS CRÍTICOS

- Os resíduos de solventes devem ser descartados de forma adequada.
- Materiais de referência devem estar disponíveis para análises por CCD.
- Para correta visualização das cores, é importante que toda amônia ou dietilamina seja removida antes da nebulização do revelador (iodoplatinato acidificado). Por isso a placa cromatográfica deve ser seca em capela de exaustão (temperatura ambiente) antes da nebulização da solução

reveladora.

- A detecção da mancha de cocaína com o material de referência e a não detecção com o branco, indicam que o procedimento foi executado adequadamente.
- A análise executada por um único sistema de CCD não possui capacidade discriminatória suficiente para identificar o analito, conforme as recomendações da SWGDRUG (2022). Conforme referidas diretrizes, se a identificação de cocaína se embasar em testes colorimétricos (por exemplo, Scott modificado) e CCD, devem-se realizar duas análises por CCD em sistemas diferentes de fase móvel.
- Importante para garantia da cadeia de custódia que todo o procedimento seja documentado (fotografias, tomar nota, etc.), quanto aos números de lacre (recebido e devolvido), massa separada para análise e contraprova.

7. ESTRUTURA BÁSICA DO LAUDO

7.1. Identificação e descrição da amostra

- Natureza e quantidade do material recebido;
- Lacre, documentação, quesitos apresentados.

7.2. Exames realizados

7.3. Metodologia (CCD)

7.4. Resultados obtidos

- **Detectado:** perfil cromatográfico do extrato analisado coincide com o do material de referência e, portanto, a cocaína está presente no material questionado.
- **Não detectado:** perfil cromatográfico do extrato analisado não coincide com o do material de referência e, portanto, a cocaína não está presente ou está presente em concentração abaixo do limite de detecção do método.

7.5. Conclusão

- Considerando que as condições listadas nos pontos críticos tenham sido

atendidas, pode-se concluir de duas formas:

- **detectada cocaína:** “As análises realizadas no material descrito no item 6.1 (Identificação e descrição da amostra) detectaram a presença de cocaína, substância relacionada na Lista F1 - Substâncias Entorpecentes de uso proscrito no Brasil da Portaria SVS/MS n°. 344, de 12/05/1998 e atualizações posteriores”;
- **não detectada cocaína:** “As análises realizadas no material descrito no item 6.1 (Identificação e descrição da amostra) não detectaram a presença de cocaína.”

8. REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Justiça. Secretaria Nacional de Segurança Pública. **Procedimento Operacional Padrão: perícia criminal**. Brasília. 2013.

SWGDRUG: **Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs. Recommendations**. Revision 8.1, 19 ago. 2012. Disponível em: www.swgdrug.org/Documents/SWGDRUG%20Recommendations%206.pdf. Acesso em: 05 dez. 2023.

UNODC (United Nations Office on Drugs and Crime). **Laboratory and scientific section. Recommended methods for the identification and analysis of cocaine in seized materials**. New York, 2012.

9. GLOSSÁRIO

BRANCO: amostra que não contém o analito de interesse ou outras substâncias interferentes. Sugere-se que seja obtida através do uso dos solventes e reagentes utilizados na marcha analítica idêntica àquela executada para os extratos.

CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD): consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada delgada adsorvente retida em uma superfície plana (fase estacionária). Os adsorventes mais utilizados são: sílica, alumina, celulose e poliamida. A fase móvel passa através do ponto de partida da amostra (aplicada em uma das extremidades da placa cromatográfica) e arrasta os componentes da mistura durante o processo de desenvolvimento/eluição. A análise qualitativa de uma substância realiza-se pelo seu valor de R_f , que é definido pela razão:

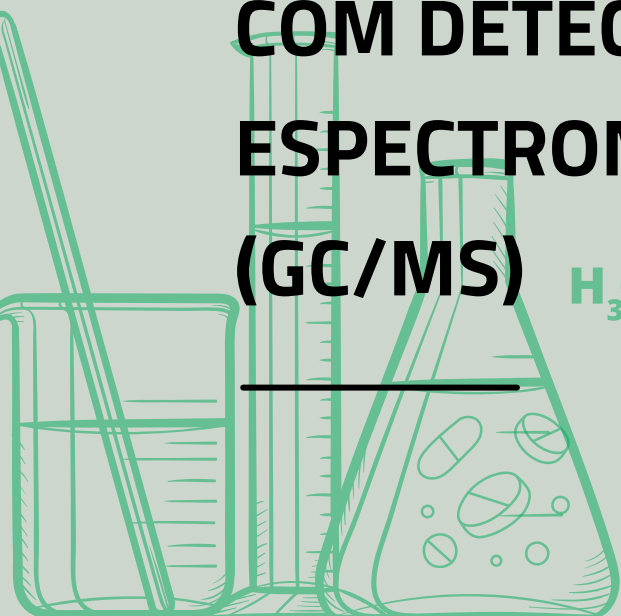
$$R_f(\%) = 100 \times \frac{\text{distância percorrida pela substância}}{\text{distância percorrida pela frente da fase móvel}}$$

MATERIAL DE REFERÊNCIA: material estável e homogêneo, contendo o analito de interesse devidamente caracterizado, preferencialmente material de referência certificado[2].

[2] Caso não haja disponibilidade de material de referência certificado, o laboratório poderá fazer uso de padrão de trabalho devidamente caracterizado de acordo com o POP 9.4 – Gestão sobre Materiais de Referência, sem prejuízo do previsto nos manuais da UNODC e SWGDRUG e cujo histórico seja documentando e sua rastreabilidade assegurada.



**ANÁLISE QUALITATIVA DE
SUBSTÂNCIAS ILÍCITAS OU
CONTROLADAS POR
CROMATOGRÁFIA GASOSA
COM DETECÇÃO POR
ESPECTROMETRIA DE MASSAS
(GC/MS)**



POP N° 9.08 - QUÍMICA FORENSE

ANÁLISE QUALITATIVA DE SUBSTÂNCIAS ILÍCITAS OU CONTROLADAS POR CROMATOGRÁFIA GASOSA COM DETECÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS (GC/MS)

FINALIDADE

Orientar o profissional de perícia acerca de análises qualitativas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) em amostras de material bruto questionado.

PÚBLICO ALVO

Peritos Criminais da área de Química Forense.

1. ABREVIATURAS E SIGLAS

GC-MS: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

EPI: Equipamento de proteção individual.

PI: Padrão interno.

SWGDRUG: Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs

TR: Tempo de retenção do analito.

TRR: Tempo de retenção relativo.

UNODC: United Nations Office on Drugs and Crime

NIST: National Institute of Standards and Technology

2. RESULTADOS ESPERADOS

- Identificação de substâncias por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) em amostras de material bruto questionado.

3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Balança analítica
- Balão volumétrico de 100 mL
- Coluna capilar HP-5 MS, HP-1 MS, RXI-5 MS, RXI-1 MS, DB-WAX, DB-5 MS ou DB-1 MS (ou outra coluna similar)
- Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas
- Frasco de vidro âmbar com capacidade para 100 mL
- Frasco de vidro de 2 mL (vial), com septo de silicone e tampa rosqueável
- Gás Hélio grau 6.0
- Material de referência
- Micropipetas com capacidade para 50 e 950 µL
- Padrão interno (por exemplo, n-tetracosano 99% ou dipentilftalato 99%)
- Pipetas com capacidade para 1 mL, 5 mL e 10 mL ou dispensador de solventes
- Seringa de 10µL
- Solvente orgânico grau analítico (por exemplo, clorofórmio ou metanol)
- Tubos ou frascos com capacidade para 15 mL

4. PROCEDIMENTOS

4.1. Preparação de amostras e padrões

- Para a extração de amostras deve ser consultado o POP n°9.03 EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS DE INTERESSE FORENSE. Padrões porventura utilizados devem ser preparados por procedimento equivalente.
- Agentes de derivatização podem ser utilizados, quando necessário, desde que os responsáveis pela manutenção dos equipamentos de GC/MS sejam anteriormente consultados.

4.2. Métodos de GC-MS

- As descrições dos parâmetros dos métodos recomendados estão arroladas no Anexo 1.
- O Amostrador automático deve ser utilizado sempre que possível.

- De maneira geral, injeções splitless só devem ser realizadas após a análise em modo split, caso não tenha ocorrido a identificação bem-sucedida do analito. Soluções em baixa concentração podem ser injetadas diretamente em modo splitless.

4.3. Injeções de branco

- Injeções de branco devem ser realizadas em qualquer das seguintes situações:
 - antes da injeção de uma amostra, ou de uma série de amostras, utilizando o mesmo método utilizado para a amostra;
 - no máximo a cada 5 amostras;
 - sempre que houver uma mudança nas condições cromatográficas do instrumento (exceto aquelas que simplesmente mudarem o volume de injeção ou a razão de split);
 - injeções de branco adicionais podem ser executadas a critério do analista.
- O mesmo solvente utilizado na preparação da amostra deve ser utilizado na preparação do branco.
- Picos significativos em cromatogramas de brancos devem ser devidamente investigados e documentados.

5. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

5.1. Cromatografia Gasosa

- O GC-MS fornece os dados de tempo de retenção e de espectrometria de massas.
- Para que a cromatografia gasosa possa ser considerada como técnica analítica na identificação de uma substância, na categoria B, conforme recomendação da SGWDRUG, é necessário efetuar a comparação do tempo de retenção do analito no cromatograma do material questionado com um tempo de retenção de referência, que pode ser obtido pela análise do padrão do analito de interesse, realizada nas mesmas condições que o material questionado (mesmo equipamento, coluna, método etc).

- Para determinação do tempo de retenção podem ser utilizados os integradores disponíveis nos softwares dos equipamentos (e.g. ChemStation, Mass Hunter, Xcalibur etc). Alternativamente, pode-se fazer a determinação manualmente, considerando o tempo de eluição em que o pico cromatográfico foi detectado.
- Para utilizar o tempo de retenção para a identificação de um analito, o tempo de retenção obtido no cromatograma do material questionado deverá estar contido no seguinte intervalo: tempo de retenção de referência $\pm 0,10$ minuto ou tempo de retenção de referência $\pm 1\%$ (o que for maior).
- Para a comparação dos tempos de retenção obtidos para a amostra e o padrão é aceitável um intervalo de tempo de até 30 dias entre as injeções.
- Recomenda-se que os cromatogramas dos padrões sejam salvos com fins de registro técnico.
- Se entre a injeção da amostra e a injeção do padrão ocorrer manutenção da coluna cromatográfica, ou alguma alteração no aparelho que possa interferir no tempo de retenção dos analitos, a comparação dos tempos de retenção não pode ser realizada, sendo necessária uma nova injeção do padrão nas mesmas condições da amostra.

5.2. Espectrometria de Massas

- Para que a espectrometria de massas possa ser considerada como técnica analítica na identificação de uma substância, na categoria "A", conforme a SWGDRUG, é necessário efetuar a comparação do espectro de massas questionado com o espectro de uma referência.
- Espectros de referência podem ser obtidos de três fontes, a saber:
 - Bibliotecas eletrônicas disponíveis, cuja consulta é feita a partir dos softwares nativos (e.g. ChemStation, Mass Hunter, Xcalibur etc), onde estão disponíveis os programas de busca PBM e NIST MS Search;
 - Material de referência analisado nas mesmas condições da amostra, desde que ambos tenham o mesmo tempo de retenção, conforme detalhado em 5.1;
 - Literatura científica, como farmacopeias, artigos publicados em periódicos científicos e outros. Nesse caso, é desejável que a referência consultada mencione as abundâncias relativas dos íons presentes no espectro de massas para possibilitar a comparação.

- A confirmação da identidade de uma substância pela comparação entre o espectro de massas questionado e um espectro obtido em biblioteca eletrônica ou literatura científica (espectro de referência) deve ser feita seguindo os seguintes critérios:
 - Todos os íons que tenham abundância relativa (AR) superior a 10% no espectro de referência devem necessariamente estar presentes no espectro questionado, até o limite de 10 íons (caso o espectro de referência apresente mais de 10 íons com AR superior a 10%, devem ser avaliados apenas os 10 mais abundantes). A AR de um íon é a razão percentual entre a área do íon em questão e a área do íon majoritário (íon base) do espectro. No software NIST MS Search, esse valor aparece ao lado do íon. Por exemplo, se no software aparece a informação "10 largest peaks: 194 999 | 109 718 | 55 478 [...]", isso significa que o íon base é o 194, o segundo mais abundante é o 109 (AR de 71,8%) e o terceiro mais abundante é o 55 (AR de 47,8%).
 - Caso o espectro de referência não tenha ao menos três íons com AR superior a 10%, deve ser avaliada a presença dos 8 íons mais abundantes, independentemente de suas AR, que devem necessariamente estar presentes no espectro questionado;
 - O íon base do espectro questionado deve ser o mesmo do espectro de referência, ou algum outro íon cuja AR no espectro de referência seja superior a 70%. Nesse caso, o íon base do espectro de referência também deve ter uma AR superior a 70% no espectro questionado;
 - É recomendado salvar a tela do software NIST MS Search mostrando a comparação entre o espectro questionado e o espectro de referência. Caso a comparação tenha sido feita com um espectro obtido em literatura científica, salvar a imagem e os dados do espectro questionado e as informações oriundas da literatura no mesmo local (diretório).
- Para confirmação da identidade de uma substância pela comparação entre um espectro de massas questionado e um obtido de um padrão analisado juntamente à amostra questionada, devem ser observados todos os critérios descritos no item b, excetuando-se o descrito no item d; adicionalmente, devem ser selecionados ao menos três íons, dentre os mais abundantes e/ou característicos do espectro de referência, para comparação de suas AR

com o espectro questionado. Não há restrição para o valor da AR dos íons no espectro de referência. Caso o íon molecular da substância esteja presente no espectro de referência numa AR superior a 5%, ele também deve ser selecionado para comparação. A comparação dos espectros em causa deve atender aos seguintes critérios:

- A diferença máxima aceitável entre a contagem de um íon particular no espectro questionado com o mesmo íon no espectro de referência é de 30% em termos relativos ou $\pm 100\%$ em termos absolutos, o que for maior. Para contagens iguais ou inferiores a 330, o intervalo calculado por ± 100 absoluto passa a ser maior.
- Alguns exemplos de intervalos aceitáveis estão listados na tabela 01.

Tabela 1. Exemplos do cálculo dos faixas aceitáveis de contagem dos íons na comparação entre os espectros de massas da substância de referência e do questionado

AR do íon no espectro de referência	Contagem do íon no espectro de referência	Cálculo do intervalo aceitável	Faixa aceitável de contagem do íon no espectro questionado
100% (Íon base)	999	30% relativo	699 – 999
80%	800		560 – 999
60%	600		420 – 780
34%	340		238 – 442
33%	330	± 100 absolutos	230 – 430
10%	100		0 – 200
1%	10		0 – 11

- Caso seja necessário avaliar a AR de um íon que não esteja listado entre os dez mais abundantes do espectro questionado, sua AR pode ser calculada manualmente, com auxílio de softwares (e.g. Excel). Em seguida, calcular a AR do íon de interesse pela equação:

$$AR=100* (\text{Abundância íon de interesse})/(\text{Abundância íon majoritário})$$

- Alternativamente, todos os fragmentos podem ser mostrados no programa NIST Search da seguinte forma: clicar com o botão direito do mouse em qualquer lugar da janela de informações do espectro de massas desconhecido, e no menu que irá aparecer, selecionar "properties"; em seguida selecionar a aba "Unknown Text info", clicar marcando a opção "m/z Intensity list", e por último clicar em "ok". Para mostrar a intensidade de todos os fragmentos do composto presente na biblioteca, basta clicar na aba "Hit Text Info", em seguida clicar marcando a opção "m/z Intensity list" e por último clicar em "ok".
- O espectro questionado não pode apresentar íons estranhos ao espectro padrão com relação m/z superior a 100 e AR superior a 20%, a não ser que possa ser demonstrado que esses íons se referem a uma co-eluição com outras substâncias ou ao ruído no cromatograma. Essa demonstração pode ser feita, por exemplo, através da extração de cromatogramas de íons ou subtração do background de um espectro.

6. PONTOS CRÍTICOS

- Seguir as orientações do POP N° 9.01 - QUÍMICA FORENSE - PROCEDIMENTOS DE AMBIENTE E SEGURANÇA NO LABORATÓRIO.
- Para injeção manual, a seringa a ser utilizada deve ser previamente lavada com o mesmo solvente utilizado na preparação da amostra, antes e após sua utilização. Recomenda-se o mínimo de 3 lavagens.
- Os métodos de GC-MS descritos neste procedimento não devem ser utilizados para distinguir entre os isômeros ópticos.
- Durante a preparação das amostras, deve-se tomar cuidado com sobrecarga de material, pH extremo, presença de óleos, açúcares e compostos que possam ser retidos no equipamento, de modo a evitar baixa sensibilidade ou efeitos residuais. Soluções ácidas ou básicas devem ser neutralizadas antes da injeção no equipamento.

- Após a extração/diluição das amostras, estas devem ser centrifugadas e/ou filtradas para evitar que partículas em suspensão e compostos indesejados sejam introduzidos no equipamento. Partículas não devem ser visíveis a olho nu no vial da amostra.
- Problemas ou mensagens de erro no equipamento que não possam ser imediatamente corrigidos devem ser notificados aos responsáveis pela manutenção dos equipamentos de GC/MS para que sejam corrigidos.
- Materiais de referência devem estar disponíveis para as análises.
- A injeção do material de referência e do branco, adicionados de padrão interno, visa garantir que a execução foi adequada.
- A detecção da substância no material de referência e a não detecção no branco no início e no final de cada sequência de amostras, indicam que a análise foi executada adequadamente.

7. ESTRUTURA BÁSICA DO LAUDO

7.1. Identificação e descrição da amostra / extrato

- Natureza e quantidade do material recebido
- Lacre, documentação, quesitos apresentados

7.2. Exames realizados

- GC-MS

7.3. Resultados obtidos

- **Detectado:** no cromatograma do material questionado está presente pico com TRR e espectro de massas condizente com os obtidos para o material de referência e, portanto, a substância está presente no material questionado.
- **Não detectado:** no cromatograma do material questionado não está presente nenhum pico com TRR e espectro de massas condizente com os obtidos para o material de referência e, portanto, a substância não está presente ou está presente em concentração abaixo do limite de detecção do método.

7.4. Conclusão

- **Detectada a substância:**

- “As análises realizadas no material questionado detectaram a presença de [composto], substância relacionada na Lista [Lista] –[Descrição lista] da Portaria SVS/MS nº. 344, de 12/05/1998 e atualizações posteriores”.

- **Não detectada a substância:**

- “As análises realizadas no material questionado não detectaram a presença de [composto]”.

8. ESTRUTURA BÁSICA DO LAUDO

MET-I-SEPLAB-09 – ANÁLISE QUALITATIVA DE SUBSTÂNCIAS ILÍCITAS OU CONTROLADAS POR CROMATOGRÁFIA GASOSA COM DETECÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG/EM) - SEPLAB/DPER/INC/DITEC - POLÍCIA FEDERAL.

9. GLOSSÁRIO

BRANCO: amostra que não contém o analito de interesse ou outras substâncias interferentes. Sugere-se que seja obtido através de marcha analítica idêntica à dos extratos.

MATERIAL DE REFERÊNCIA: material estável e homogêneo, contendo o analito de interesse devidamente caracterizado.

TEMPO DE RETENÇÃO RELATIVO (TRR): é o tempo de retenção do analito dividido pelo tempo de retenção do padrão interno.

SPLIT: Condição analítica definida pela proporção entre o volume inserido no equipamento e o volume real que é usado na eluição cromatográfica.

SPLITLESS: Condição analítica em que o volume inserido no equipamento é completamente usado para a eluição cromatográfica.

AR: Razão que mede a quantidade de um íon produzido em relação à quantidade do íon mais abundante (sinal base).

10. ANEXOS

10.1. Método Rápido

Indicado para compostos que eluem até 10 min, anfetaminas, cocaína, opiáceos, benzodiazepínicos e uso geral.

GC	Interface GC/MS
- tempo inicial 2,00 min - temperatura inicial 150 oC - rampa 40 oC/min - temperatura final 315 oC - tempo final 4,87 min - tempo total corrida de 10,99 min - razão de split 50:1 - volume de injeção 0,2 µL - temperatura do injetor 280 oC	-temperatura 280 - 300 °C
	MS
	- modo de aquisição Scan - solvente delay 1,50 min - faixa de scan 40 – 550 - tipo de tune: stune.u - Gain Tune: 1 a 15

10.2. Método Rápido "Splitless"

- Indicado para compostos que eluem até 10 min, anfetaminas, cocaína, opiáceos, benzodiazepínicos e uso geral, quando não identificados pelo método **RÁPIDO**.

GC	Interface GC-MS
- tempo inicial 2,00 min - temperatura inicial 150 °C - rampa 40 °C/min - temperatura final 315 °C - tempo final 4,87 min - tempo total corrida de 10,99 min - modo splitless - tempo de válvula split fechada: 1,0 min - volume de injeção 0,2 µL - temperatura do injetor 280 °C	-temperatura 280 - 300 °C
	MS
	- modo de aquisição Scan - solvente delay 2,30 min - faixa de scan 40 - 550 - tipo de tune: stune.u - Gain Tune: 1 a 15

10.3. Método “Cannabis”

- Indicado para análise de material vegetal aparentando ser maconha.

GC	Interface GC-MS
- tempo inicial 2,00 min - temperatura inicial 150 °C - rampa 40 °C/min - temperatura final 315 °C - tempo final 4,87 min - tempo total corrida de 10,99 min - razão de split 50:1 - volume de injeção 0,2 µL - temperatura do injetor 280 °C - lavagem microseringa com mistura hexano : acetato de etila (1:1)	-temperatura 280 - 300 °C
	MS
	- modo de aquisição Scan - solvente delay 1,50 min - faixa de scan 40 - 550 - tipo de tune: stune.u - Gain Tune: 1 a 15

10.4. Método "Cannabis" Splitless

- Indicado para análise de resíduos de maconha, quando não identificados no método "Cannabis".

GC	Interface GC-MS
- tempo inicial 2,00 min - temperatura inicial 150 °C - rampa 40 °C/min - temperatura final 315 °C - tempo final 4,87 min - tempo total corrida de 10,99 min - modo splitless - tempo de válvula split fechada: 1,0 min - - volume de injeção 0,2 µL - temperatura do injetor 280 °C - lavagem microseringa com mistura hexano : acetato de etila (1:1)	-temperatura 280 - 300 °C
	MS
	- modo de aquisição Scan - solvente delay 2,30 min - faixa de scan 40 - 550 - tipo de tune: stune.u - Gain Tune: 1 a 15

10.5. Método Estendido

- Indicado para os compostos que eluem após 10 min, substâncias não identificadas, esteróides, canabinóides sintéticos, suplementos alimentares.

GC	Interface GC-MS
- tempo inicial 2,00 min - temperatura inicial 150 °C - rampa 40 °C/min - temperatura final 315 °C - tempo final 14,87 min - tempo total corrida de 20,99 min - razão de split 50:1 - volume de injeção 0,2 µL - temperatura do injetor 280 °C	- temperatura 280 - 300 °C
	MS
	- modo de aquisição Scan - solvente delay 1,50 min - faixa de scan 40 - 550 - tipo de tune: stune.u - Gain Tune: 1 a 15

10.6. Método Estendido Splitless

- Indicado para os compostos que eluem após 10 min, quando não identificados no método ESTENDIDO, substâncias não identificadas, esteróides, canabinóides sintéticos, suplementos alimentares.

GC	Interface GC-MS
- tempo inicial 2,00 min - temperatura inicial 150 °C - rampa 40 °oC/min - temperatura final 315 °C - tempo final 14,87 min - tempo total corrida de 20,99 min - modo splitless - tempo de válvula split fechada: 1,0 min - volume de injeção 0,2 µL - temperatura do injetor 280 °C	-temperatura 280 - 300 °C
	MS
	- modo de aquisição Scan - solvente delay 2,30min - faixa de scan 40 - 550 - tipo de tune: stune.u - Gain Tune: 1 a 15

10.7. Método Solvente

- Indicado para análises de solventes e diluentes em geral.

GC	Interface GC-MS
- tempo inicial 5,00 min - temperatura inicial 50 °C - rampa 8 °C/min - temperatura final 170 °C - tempo final 1,00 min - tempo total corrida de 21,00 min - razão de split 100:1 a 300:1 - volume de injeção 0,2 µL - temperatura do injetor 250 °C	-temperatura 280 - 300 °C
	MS
	- modo de aquisição Scan - solvente delay 0 min - faixa de scan 30-250 - voltagem relativa: 0 a – 400 V - tipo de tune: stune.u - Gain Tune: 1 a 15

10.8. Método Drogas Sintéticas

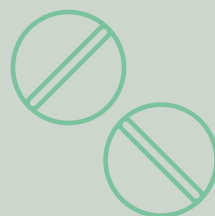
- Indicado para análises de compostos sintéticos em geral.

GC	Interface GC-MS
- tempo inicial 2,00 min - temperatura inicial 100 °C - rampa 12 °C/min - temperatura final 300 °C - tempo final 10,00 min - tempo total corrida de 28,67 min - razão de split 10:1 - volume de injeção 0,2 µL - temperatura do injetor 250 °C	-temperatura 280 - 300 °C.
	MS
	- modo de aquisição Scan - solvente delay 1.8 min - faixa de scan 30-550 - tipo de tune: stune.u - Gain Tune: 1 a 15

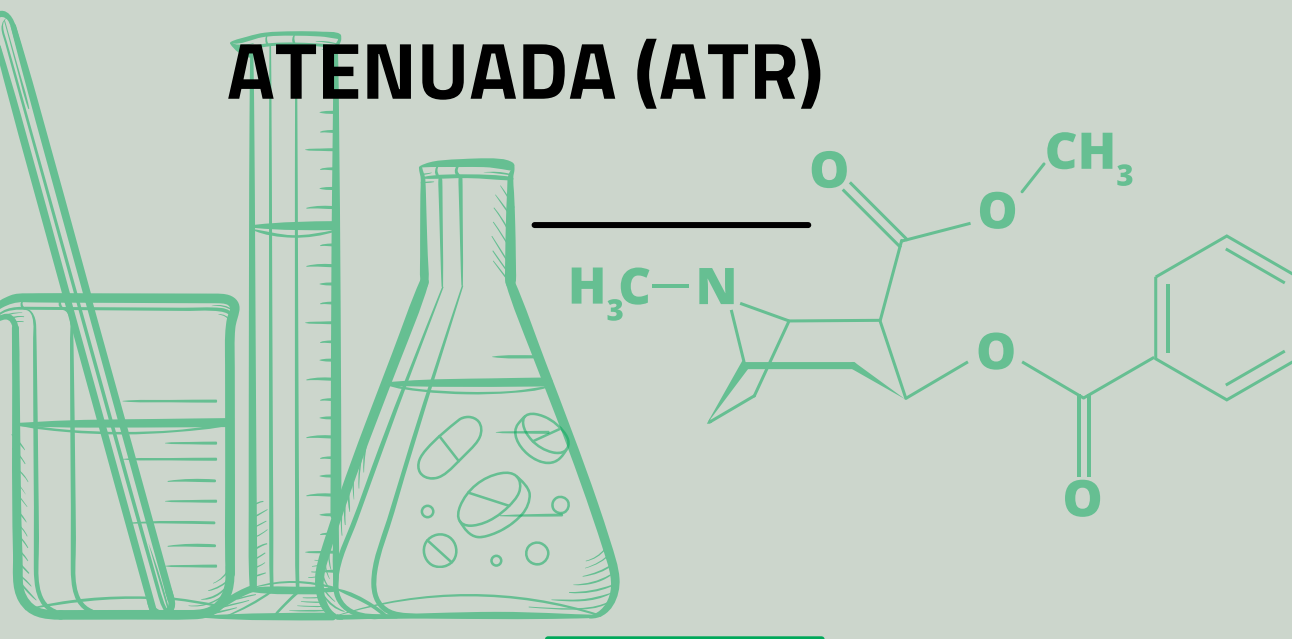
10.9. Método de Substâncias Lipolíticas

- Indicado para análises de suplementos alimentares com ação declarada emagrecedora e produtos que declarem conter DMAA.

GC	Interface GC-MS
- tempo inicial 2,00 min - temperatura inicial 70 °C - primeira rampa 40 °C/min - temperatura intermediária 200°C - tempo intermediário 4,00 min - segunda rampa 40 °C/min - temperatura final 315 °C - tempo final 4,00 min - tempo total corrida de 16.125 min - razão de split 60:1 - volume de injeção 0,5 µL - temperatura do injetor 280 °C	-temperatura 280 - 300 °C
	MS
	- modo de aquisição Scan - solvente delay 1.9 min - faixa de scan 20-400 - tipo de tune: stune.u - Gain Tune: 1 a 15



**ANÁLISE QUALITATIVA DE
SUBSTÂNCIAS ILÍCITAS OU
CONTROLADAS POR
ESPECTROSCOPIA DE
INFRAVERMELHO POR
TRANSFORMADA DE FOURIER
(FT-IR) COM ACESSÓRIO DE
REFLECTÂNCIA TOTAL
ATENUADA (ATR)**



POP N° 9.09 - QUÍMICA FORENSE

ANÁLISE QUALITATIVA DE SUBSTÂNCIAS ILÍCITAS OU CONTROLADAS POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR) COM ACESSÓRIO DE REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA (ATR)

FINALIDADE

Fornecer orientações para a adequada utilização do Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) na realização de análise qualitativa em amostras de material bruto questionado.

PÚBLICO ALVO

Peritos Criminais da área de Química Forense.

1. ABREVIATURAS E SIGLAS

FT-IR: Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

EPI: Equipamento de proteção individual

SWGDRUG: Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs

UNODC: United Nations Office on Drugs and Crime

ATR: Reflectância Total Atenuada

ZnSe: Seleneto de Zinco

2. RESULTADOS ESPERADOS

- Identificação de substâncias por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) em amostras de material bruto questionado.

3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Acessório ATR com cristal de diamante
- Acetona
- Água destilada
- Algodão ou Papel Toalha
- Capilar ou pipeta Pasteur para amostras líquidas
- Espátula para amostras sólidas
- Espectrofotômetro FT-IR (ex: Thermo Nicolet IS10, Agilent Carry 630, Bruker Alpha II e PerkinElmer SpectrumTwo)
- Estação de trabalho com software compatível com o equipamento instalado (ex: Omnic, MicroLab, OPUS e Spectrum)
- Etanol

4. PROCEDIMENTOS

4.1. Preparação de amostras e padrões

- Certificar-se se o equipamento está ligado e em seguida carregar o software de análise.
- Garantir que o acessório de ATR esteja conectado e reconhecido pelo software antes de iniciar as análises.
- Para a realização do experimento recomenda-se os seguintes parâmetros:
 - número de varreduras (Scans): 16;
 - resolução: 4 cm⁻¹;
 - pré-visualização dos dados da coleta (atentar para esta opção no software);
 - usar dados de transmitância durante a pré-visualização (atentar para esta opção no software);
 - janela de Coleta: 4000 cm⁻¹ a 650 cm⁻¹;
 - ganho da Amostra: 8.
- O parâmetro “número de varreduras” pode ser alterado de acordo com a necessidade da análise, sempre em incrementos de 2n. Exemplos: 32 scans, 64 scans, etc.

- Quando forem necessárias modificações nos demais parâmetros do experimento, essas devem ser validadas pelo laboratório antes de serem utilizadas na rotina operacional.

4.2. Análise de amostras sólidas ou líquidas utilizando dispositivo ATR de diamante.

- Limpar o cristal, preferencialmente, com solvente orgânico, ou caso seja necessário utilizar água, entre as amostras. Certificar-se de que o cristal esteja completamente seco antes de colocar o material questionado.
- Obter o espectro de background pelo menos uma vez ao dia e sempre que for necessário (por exemplo, quando o programa for reiniciado ou quando houver alterações nas condições atmosféricas).
- Antes de cada amostra, realizar um teste de controle negativo para verificar se o cristal está devidamente limpo. Caso o teste não forneça o resultado esperado, repetir o procedimento de limpeza do cristal e realizar o teste novamente.
- Para materiais sólidos, colocar aproximadamente 1 mg da amostra uniformemente sobre o cristal do dispositivo ATR. Para materiais líquidos, colocar a amostra de forma a cobrir todo o cristal.
- Caso a amostra seja sólida, mover o braço de força do dispositivo ATR em direção ao cristal e aplicar pressão suficiente para garantir um bom contato entre a amostra e a superfície do cristal. Caso a amostra seja líquida, e esteja sendo utilizado o dispositivo ATR para sólidos, esse procedimento não deve ser realizado.
- Adquirir o espectro da amostra e salvá-lo a fim de garantir a cadeia de custódia e a rastreabilidade do material.

5. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

- O espectro obtido pode ser processado por diversas ferramentas, incluindo a correção da linha base, a correção de ATR para transmitância, dentre outras. Para cada processo realizado, um novo espectro será gerado, devendo ser salvo conforme descrito no item 4.2 (com o mesmo nome do espectro original) acrescido de caracteres que identifiquem a alteração realizada.

- O espectro obtido deve ser comparado com um espectro de referência. A biblioteca de referência pode ser utilizada para essa comparação. Alternativamente, podem ser empregados espectros obtidos na literatura científica para comparação, que devem indicar o comprimento de onda das principais bandas observadas no espectro. Os espectros de referência da literatura científica devem ser salvos junto com a descrição detalhada da fonte de consulta.
- O analista deve utilizar, preferencialmente, resultados oriundos das bibliotecas espectrais de referência ou desenvolvidas e validadas pelo laboratório.
- Caso o analista, baseado na sua experiência, perceba que o espectro obtido reflete a presença de mistura de substâncias, pode ser realizado procedimentos de extração para a separação do analito de interesse, submetendo os diferentes extratos à análise por FT-IR (vide POP 9.03 - Extração de Substâncias de Interesse Forense).
- Caso a substância contaminante seja conhecida, seu espectro pode ser subtraído do espectro da mistura utilizando a função subtração do software, sem a necessidade de separação prévia. O espectro obtido após subtração deve também ser salvo conforme descrito no item 4.2 (com o mesmo nome do espectro original), acrescido de caracteres que identifiquem a subtração.
- Na comparação com espectros oriundos da biblioteca eletrônica, o analista não deve se limitar apenas ao primeiro espectro informado como mais provável pelo software e nem se ater apenas aos valores de match fornecidos, sendo necessário efetuar uma comparação visual entre o espectro questionado e vários dos espectros informados como mais prováveis. A comparação deve ser feita seguindo os seguintes passos:
 - avaliar a aparência geral do espectro questionado, que deve ser a mesma do espectro de referência;
 - determinar quais são as principais bandas do espectro de referência, incluindo-se as mais abundantes e/ou características;
 - procurar as bandas selecionadas no espectro questionado. São aceitáveis diferenças de até $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$ na posição das bandas.
- Caso alguma das bandas avaliadas não esteja presente no espectro questionado, verificar se aquela região do espectro questionado é ao menos compatível com a presença de uma banda, não podendo, por exemplo, ser

uma região de linha de base.

- Comparações com espectros obtidos na literatura científica devem ser feitas seguindo o mesmo procedimento descrito acima.

6. PONTOS CRÍTICOS

- Seguir as orientações do POP 9.01 – Procedimentos de Ambiente e Segurança no Laboratório.
- No procedimento de limpeza do cristal do ATR, não devem ser utilizados solventes organoclorados, como clorofórmio ou diclorometano, pois tais solventes podem remover a tinta da superfície ou danificar o cristal.
- Durante o processo de limpeza do cristal do ATR, o solvente deve ser aplicado com auxílio de algodão ou papel macio e nunca diretamente sobre o suporte, para evitar que ocorra vazamento para dentro do aparelho.
- Deve-se tomar cuidado com a pressão aplicada no braço de força do dispositivo ATR, de modo a não danificar o cristal.
- Deve-se tomar cuidado durante as trocas ou movimentações dos acessórios, uma vez que a ótica interna pode ser danificada caso seja manuseada incorretamente.
- Nunca se deve olhar diretamente para o laser vermelho.
- O valor de match fornecido pelo software não pode ser o único elemento de convicção do analista, este deve conferir visualmente as bandas conforme o item 5.
- O FT-IR é ideal para amostras com ausência mistura, caso as técnicas de subtração não forneçam um espectro que permita a avaliação pelo analista, opte por outra técnica analítica (ex: cromatográfica).
- O cristal do ATR pode sofrer fraturas ou arranhuras que comprometam a obtenção do espectro; cuidados com o tipo de solvente utilizado, excesso de fricção e pressão sobre a peça precisam ser tomados.
- O excesso de umidade pode comprometer a janela ZnSe do equipamento de FTIR; deve-se garantir a troca do agente dessecante e manter o controle de umidade conforme as recomendações do fabricante.
- Apesar de ser considerada uma técnica "A", a análise executada somente por FT-IR não segue as diretrizes de identificação inequívoca da SWGDRUG, havendo a necessidade de realização de técnicas complementares.

7. RESULTADOS ESPERADOS

7.1. Manutenção

- Recomenda-se a realização de uma manutenção preventiva anual por um fornecedor externo aprovado.
- Manutenções corretivas, sob demanda, podem ser solicitadas sempre que necessário, como por exemplo, procedimentos recomendados pelo fabricante do equipamento, ou quando os critérios estabelecidos na verificação de desempenho não forem atendidos.
- Após a realização de manutenção ou reparo do equipamento, os procedimentos de verificação de desempenho devem ser realizados.
- Adicionalmente, dependendo da disponibilidade de padrões (por exemplo, cafeína, MDMA e cocaína base), após as verificações de desempenho desencadeadas devido a manutenções ou reparos no equipamento, devem ser realizadas análises de pelo menos três padrões de substâncias controladas. O responsável pela manutenção do FT-IR deve analisar os espectros obtidos e compará-los a espectros armazenados em bibliotecas eletrônicas. Somente após avaliação positiva dos resultados obtidos pode ser autorizado o uso do equipamento para análise de casos.
- Todos os procedimentos de manutenção realizados devem ser registrados.

7.2. Substituição do dessecante

- Para evitar que o equipamento absorva umidade, os pacotes de dessecante devem ser substituídos, conforme recomendação do fabricante ou quando sinalizada por meio de dispositivo ou software do espectrofotômetro.

7.3. Verificação de Desempenho do Equipamento

- A verificação de desempenho deve ser realizada a cada 30 dias, ou na ocorrência de desligamento completo do equipamento.
- Para a verificação dos parâmetros do aparelho, seguir as recomendações do fabricante. Caso qualquer um dos parâmetros apresente inconformidades deve ser realizada uma nova avaliação de desempenho.

- Caso o resultado não conforme persista, o responsável pela manutenção do FTIR deve entrar em contato com o fabricante para agendamento de visita técnica para reparo do aparelho.
- Todas as verificações realizadas devem ser registradas.

8. ESTRUTURA BÁSICA DO LAUDO

8.1. Identificação e descrição da amostra / extrato

- Natureza e quantidade do material recebido
- Lacre, documentação, quesitos apresentados

8.2. Exames realizados

- FT-IR

8.3. Resultados obtidos

- **Detectado:** o espectro do material questionado apresenta as bandas características da substância e, conseqüentemente, resulta na indicação do composto por FT-IR.
- **Não detectado:** o espectro do material questionado não apresenta as bandas características da substância e, conseqüentemente, não resulta na indicação do composto FT-IR.

8.4. Conclusão

- **Detectada a substância:**
 - "As análises realizadas no material detectaram a presença do [composto], substância relacionada na Lista F1 – Substâncias Entorpecentes de uso proscrito no Brasil da Portaria SVS/MS nº. 344, de 12/05/1998 e atualizações posteriores".
- **Não detectada a substância:**
 - "As análises realizadas no material não detectaram a presença de [composto]".

9. REFERÊNCIAS

MET-I-SEPLAB-02– **ANÁLISE QUALITATIVA DE SUBSTÂNCIAS ILÍCITAS OU CONTROLADAS POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)**- SEPLAB/DPER/INC/DITEC - POLÍCIA FEDERAL.

SWGDRUG: **Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs. Recommendations.** Revision 8.1, 19 ago. 2012. Disponível em: www.swgdrug.org/Documents/SWGDRUG%20

10. GLOSSÁRIO

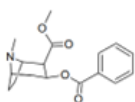
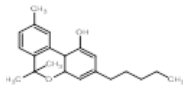
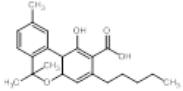
MATERIAL DE REFERÊNCIA: material estável e homogêneo, contendo o analito de interesse devidamente caracterizado.

BACKGROUND: espectro adquirido sem a presença da amostra cujo propósito é medir a contribuição do sinal do instrumento e do ambiente que será utilizado para subtrair sinais residuais indesejados do espectro de amostra questionada.

TESTE DE CONTROLE NEGATIVO: realizar uma leitura após o background sem a amostra para verificar se o espectro não apresenta bandas indicando sujidades.

11. ANEXOS

Tabela 01:

Análises de FT-IR de amostras entorpecentes			
Substância Química	Preparo de Amostra	λ das bandas mais relevante	Observações
Cocaína 	-	2976 e 2945 cm^{-1} : estiramentos C-H da cocaína base. 1734 e 1706 cm^{-1} : estiramentos das duas carbonilas C=O. 712 cm^{-1} referente à deformação da ligação C-H	-
THC 	Extrair com solventes orgânicos (Ex: etanol, hexano, éter de petróleo)	700 e 750 cm^{-1} : deformação C-H em benzenos 1100 e 1150 cm^{-1} : deformação C-O do alquil-éter. 1550 e 1650 cm^{-1} : estiramento da ligação dupla de C=C	- THC é formado através da descarboxilação do THCA-A quando os vegetais sofrem aquecimento. - Método com aquecimento de 60-80 °C.
THCA-A 	Extrair com solventes orgânicos (Ex: etanol, hexano, éter de petróleo)	1610-1614 cm^{-1} : estiramentos da ligação dupla de C=O	-

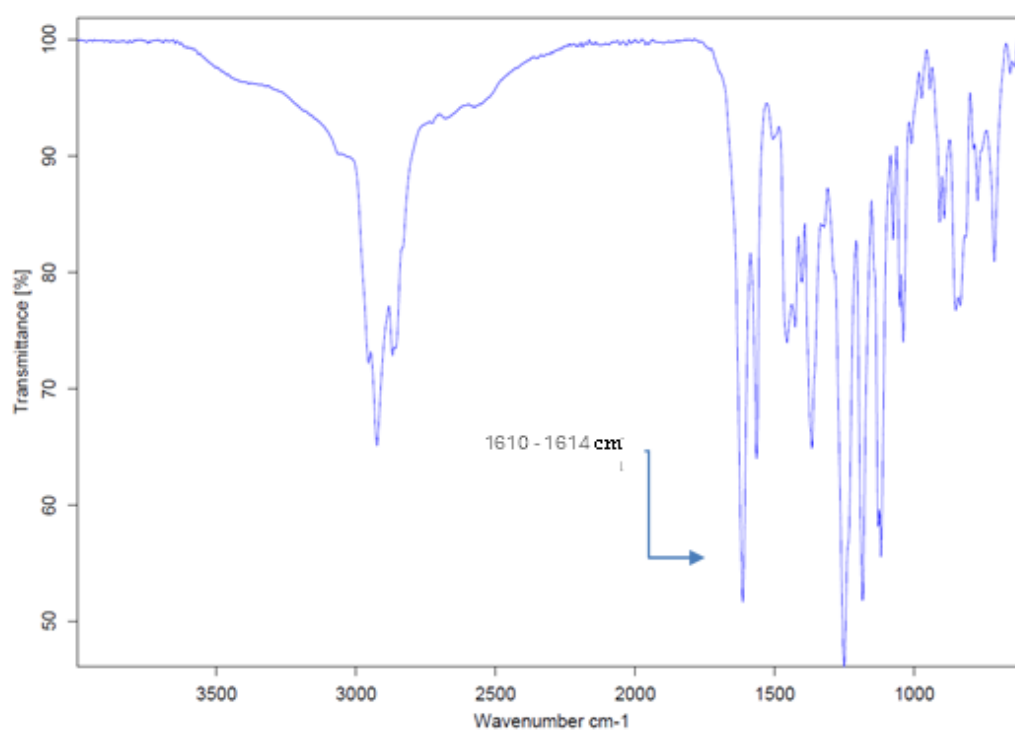


Figura 01. Espectro de extrato de Cannabis adquirido Bruker Alpha II, com as bandas características da substância THCA-A.

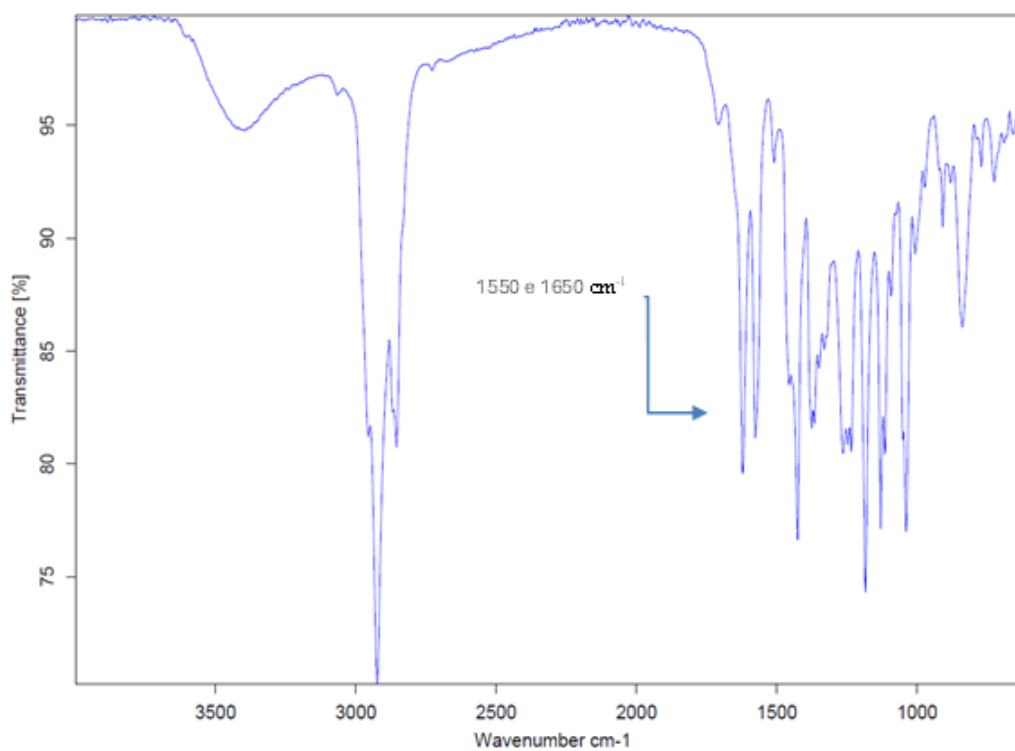


Figura 02. Espectro de extrato de Cannabis adquirido Bruker Alpha II, com as bandas características da substância THC.

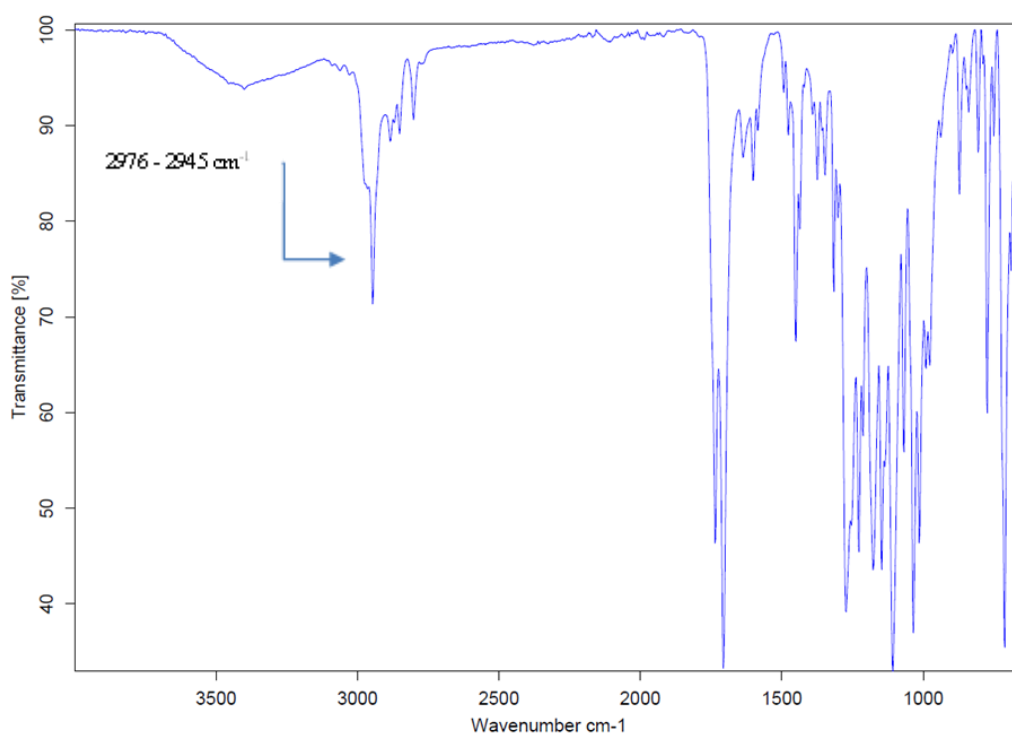


Figura 03. Espectro de cocaína base adquirido Bruker Alpha II.

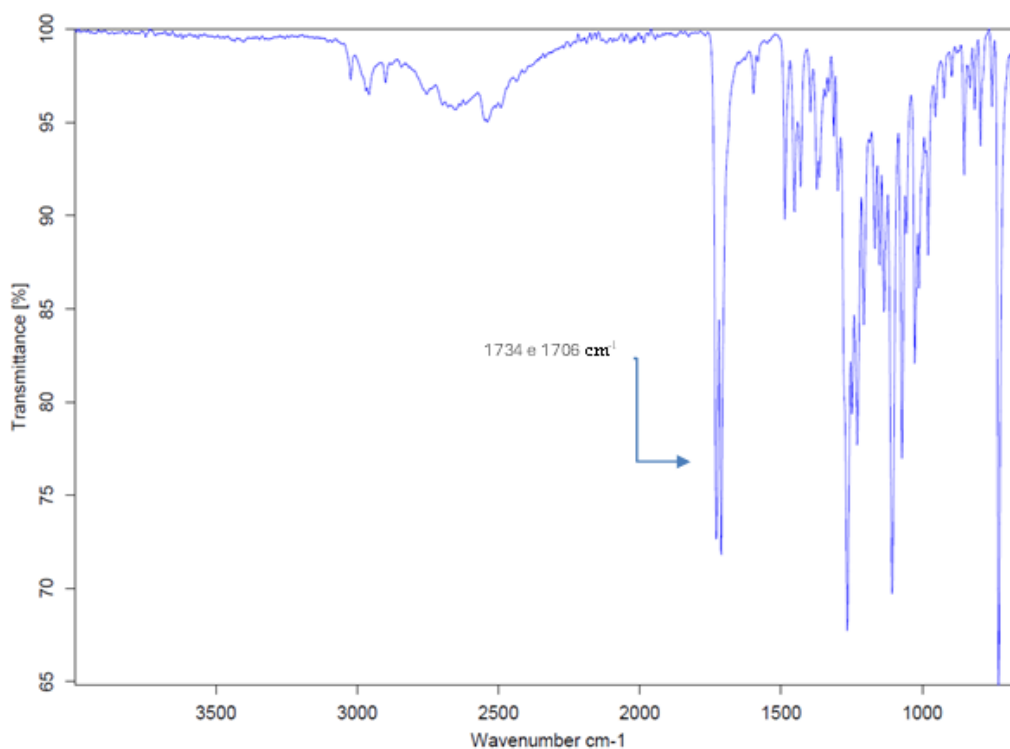


Figura 04. Espectro de cocaína cloridrato adquirido Bruker Alpha II



DSUSP

SECRETARIA
NACIONAL DE
SEGURANÇA PÚBLICA

MINISTÉRIO DA
JUSTIÇA E
SEGURANÇA PÚBLICA

