



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ANÁLISE DE ÁGUAS RESIDUAIS NA MONITORIZAÇÃO DE
BIOMARCADORES DE CONSUMO DE SUBSTÂNCIAS
PSICOATIVAS**

Trabalho submetido por
Ana Luísa Bronze de Figueiredo
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professor Doutor Álvaro Lopes

Outubro de 2014

“A presente monografia foi escrita ao abrigo do novo Acordo Ortográfico”

Aos meus pais,
Aos meus irmãos,
Aos meus avós,
Ao Francisco.

Agradecimentos

Ao Sr. Professor Álvaro Lopes, como orientador da monografia, agradeço de uma forma muito especial todo o entusiasmo que sempre mostrou pelo tema e todo o apoio que deu à sua concretização.

Aos meus pais muito obrigada pelo fato de terem confiado em mim, pelo apoio e otimismo que sempre me transmitiram durante os últimos 5 anos, possibilitando-me concluir mais uma etapa da minha vida.

Aos meus avós, agradeço o apoio, paciência e sabedoria que me demonstraram para que eu levasse a bom termo a conclusão desta monografia.

Aos meus irmãos e Francisco Barros, por todo o apoio, paciência e confiança que foram fundamentais ao longo deste longo percurso acadêmico.

Aos professores do Curso Integrado em Ciências Farmacêuticas, do Instituto Superior Egas Moniz, também o meu agradecimento pelo que me ensinaram.

A todos que conviveram comigo, agradeço o apoio mesmo nos dias mais sombrios.

Agradeço ao Pai e à Mãe todas as lições de vida que me ensinaram e todo o ânimo e fragrância que me transmitiram.

Resumo

A presente monografia contempla uma breve análise da monitorização de substâncias psicoativas nas águas residuais. Este tipo de análise permite aprofundar o conhecimento do estudo epidemiológico das substâncias psicoativas, apresentando diversas vantagens comparativamente aos estudos epidemiológicos tradicionais (entrevistas, apreensões, entre outros).

Como existem várias substâncias ilícitas na sociedade, de forma a tornar mais simples a pesquisa e organização do trabalho, foram selecionadas apenas duas, a cocaína e a metanfetamina. A cocaína é uma droga mais antiga que a metanfetamina mas ainda apresenta um grande consumo no mundo inteiro. A metanfetamina tem seduzido muitos consumidores jovens, pois trata-se de uma droga acessível e mais económica que a cocaína.

Numa primeira etapa, é feita uma breve descrição de ambas as drogas, focando a metabolização de cada uma no organismo humano. A pesquisa nas águas residuais tem como base a monitorização de biomarcadores (substâncias e/ou metabolitos excretados, na urina). De seguida, aborda-se a problemática da estabilidade destes metabolitos nas águas residuais, uma vez que a matriz destas é muito complexa e apresenta vários fatores que podem interferir (matéria orgânica, temperatura, pH, etc.) Também é abordada a forma como são preparadas e recolhidas as amostras.

Por fim, são caracterizados os vários métodos utilizados para esta monitorização, referindo as suas limitações e vantagens. Finalmente, comparam-se os resultados obtidos da concentração destas substâncias de abuso (cocaína e metanfetamina), em alguns países.

Conclui-se que, este método de monitorização permite um estudo mais objetivo sobre a atividade da população na utilização das drogas de abuso. Futuramente poderá ser considerado um método rotineiro para pesquisar substâncias de abuso a nível mundial.

Palavras-chave: Cocaína, Metanfetamina, águas residuais e monitorização de substâncias ilícitas

Abstract

This monograph includes a brief analysis of the monitoring of psychoactive substances present in wastewater. This type of analysis allows a deeper knowledge of the epidemiological study of psychoactive substances, presenting several advantages when compared to traditional epidemiological studies such as interviews, seizures and others.

As there are various illicit substances in society, in order to make it easier to search and organize this project, only two were selected, which were cocaine and methamphetamine. Cocaine is an older drug than methamphetamine but it still is largely consumed worldwide. Methamphetamine on the other hand has seduced many young consumers because it is affordable and cheaper than cocaine.

This monograph starts by making a brief description of both drugs, with a special focus on their metabolism by the human body. Wastewater research is based on monitoring biomarkers (substance and/or metabolites excreted in urine). On a second step we shall discuss the problem related with the stability of these metabolites in the wastewater, since their matrix is very complex and presents many factors that can interfere with the output of the analysis, such as organic matter, temperature, pH, among others. We shall discuss the mode of sample collection and preparation.

Afterwards, we shall characterize the various methods used for the monitoring of these substances, referring their advantages and limitations. Lastly, we compare the results of the concentration of these substances, cocaine and methamphetamine, in some countries.

It's concluded that this method of monitoring allows for a better study on the activity of the population concerning the abuse of illicit drugs. In the future this method may become considered on routine basis for the screen of substances of abuse worldwide.

Keywords: Cocaine, Methamphetamine, Wastewater and Monitoring of Illicit Substances.

Índice Geral

Agradecimentos	4
Resumo	5
Abstract.....	6
Índice Geral	7
Índice de Figuras	9
Índice de Tabelas	10
Lista de Abreviaturas.....	11
1. Introdução.....	12
2. Desenvolvimento do Trabalho.....	14
2.1. Substâncias Psicoativas	14
2.1.1.Cocaína	14
2.1.1.1.Caraterísticas e Produção	14
2.1.1.2. Consumos e Efeitos Psicoativos	16
2.1.1.4. Metabolismo da Cocaína.....	18
2.1.2.Metanfetamina.....	20
2.1.2.1.Caraterísticas e Produção	20
2.1.2.Consumos e Efeitos Psicoativos.....	21
2.1.2.Metabolismo da Mentanfetamina.....	23
2.2.Métodos de Análise Epidemiológica dos Consumos de Substâncias Psicoativas....	25
2.3.Recolha de Amostras em Águas Residuais	27
2.3.1.Breve descrição da Entrada do Afluente na Estação de Tratamentos de Águas Residuais (ETAR)	28
2.3.2.Estabilidade nas águas residuais dos metabolitos	29
2.3.3. Recolha de amostras em águas residuais.....	31
2.4.Métodos de Extração e de Detecção de Substâncias Psicoativas.....	34
2.4.1 Extração em Fase Sólida	36
2.4.2. Cromatografia Acoplada à Espectrometria de Massa	38
2.4.2.1.Espetrometria de Massa da Cocaína e de seus Metabolitos.....	40

2.4.2.2.Espetrometria de Massa da Metanfetamina	42
2.5.Tratamento de Dados para Estimar Consumos de Substâncias Ilícitas em Águas Residuais.....	43
2.5.1. Cálculo da concentração diária da cocaína	46
2.5.2.Cálculo da concentração diária da metanfetamina.....	47
2.5.3.Cálculo da concentração diária de metanfetamina e de cocaína tendo em conta a influência da estabilidade	48
2.6.Valores reais da concentração de Cocaína e de Metanfetamina.....	49
3.Conclusão	52
Bibliografia.....	54

Índice das Figuras

Figura 1: Campo de cultivo de coca na Bolívia.....	15
Figura 2: Fluxo de cocaína a nível mundial em 2008.....	15
Figura 3: Principais vias de administração de cocaína, dados de 2013.....	16
Figura 4: Efeito da cocaína no sistema nervoso central.....	17
Figura 5: Esquema do metabolismo da cocaína.....	18
Figura 6: Laboratórios clandestinos apreendidos na Europa, 2009-2012.....	21
Figura 7: Esquema do metabolismo da Metanfetamina.....	23
Figura 8: Vista aérea da ETAR de Beirolas localizada em Lisboa.....	27
Figura 9: Afluente à ETAR de Chelas com origens distintas, proveniente do coletor gravítico e das estações elevatórias.....	28
Figura 10: Entrada do afluente na ETAR de Chelas em Lisboa.....	28
Figura 11: Etapa de monitorização da recolha de amostras para determinação das substâncias psicoativas e fatores que possam influenciar a estabilidade destas substâncias na água residual.....	29
Figura 12: Equipamento de recolha automatizada da água residual que chega à ETAR de Chelas.....	32
Figura 13: Esquema geral do tipo de análise e de deteção das substâncias de abuso, nas águas residuais.....	34
Figura 14: Espectro de massa da cocaína.....	40
Figura 15: Espectro de massa da Benzoilecgonina.....	40
Figura 16: Espectro de massa da Cocaetileno.....	41
Figura 17: Espectro de massa da A) Ecgonina e de B) ecgonina metil éster.....	41
Figura 18: Espectro de massa da Norcocaína.....	41
Figura 19: Espectro de massa da A) Anfetamina e de B) Metanfetamina.....	42
Figura 20: Metanfetamina presente nas águas residuais nas cidades Europeias em 2013.....	50

Índice de Tabelas

Tabela 1: Resultados obtidos a partir de alguns artigos, sobre os ensaios de estabilidade das substâncias ilícitas: metanfetamina, cocaína e seus metabolitos.....	30
Tabela 2: Seleção de alguns estudos efetuados de 2009 a 2014, de forma a caracterizar a recolha das amostras nas ETAR.....	31
Tabela 3: Valores utilizados para o cálculo das concentrações de algumas substâncias ilícitas e seus metabolitos.....	43
Tabela 4: Parâmetros usados para o cálculo da concentração das substâncias ilícitas..	48
Tabela 5: Resultados das concentrações diárias de metanfetamina e cocaína.....	49

Lista de Abreviaturas

BEG- Benzoilecgonina

EME- Ecgonina metil éster

AEME- Anidroecgonina metil éster

AE- Anidroecgonina

NC- Norcocaína

CE- Cocaetileno

COC- Cocaína

ETAR- Estação de Tratamento de Águas Residuais

SPE- Extração em Fase Sólida

LES- Extração Líquida

CG-MS- Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa

CL-MS- Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa

CL-MS/MS- Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa Tandem

CLIH- Cromatografia Líquida de Interação Hidrofílica

CBO5- Concentração da Carência Bioquímica de Oxigênio

CQO- Concentração da Carência Química de Oxigênio

1. Introdução

A nível mundial tem vindo a aumentar o tráfico e a procura de drogas ilícitas comuns (cocaína, marijuana, heroína, entre outras) e a cada dia as entidades policiais deparam-se com novas drogas sintéticas. O aumento dos consumos destas drogas tem consequências significativas a nível social e na saúde pública.

O aparecimento das denominadas novas drogas sintéticas é um motivo de grande preocupação para toda a sociedade, pois estas apresentam um efeito farmacológico bastante potente mesmo em baixas dosagens.

Devido a esta problemática, todos os esforços para travar o tráfico e o consumo têm sido estudados mundialmente. No entanto, para se conseguir travar uma luta contra este complexo problema é importante caracterizar as drogas e como estas se expressam nas populações.

Atualmente, muitos métodos têm sido desenvolvidos para pesquisar os consumos das substâncias de abuso. Um método bastante recente que tem tido um grande impacto a nível da investigação é a pesquisa de biomarcadores das substâncias psicoativas nas águas residuais.

Para a elaboração deste trabalho foram selecionadas duas substâncias de abuso a cocaína e a metanfetamina. A cocaína é uma das drogas mais estudada e consumida no mundo, sendo um potente estimulante do sistema nervoso central podendo desencadear um grau de dependência bastante elevado.

A metanfetamina, ao contrário da cocaína, é uma droga sintética que tem seduzido os adolescentes, por ser uma droga muito potente, económica e de fácil produção. No entanto, em Portugal os dados de relatórios efetuados demonstram que o consumo ainda é bastante baixo.

Numa primeira etapa desta monografia caracterizam-se ambas as drogas quanto à sua produção, tráfico, efeitos tóxicos e metabolismo a nível do organismo. Esta descrição detalhada do metabolismo de ambas as drogas, permite determinar os biomarcadores das substâncias psicoativas.

De seguida, será descrita de uma forma breve e sucinta todo o processo de monitorização destas substâncias nas águas residuais, sendo primeiro abordada a forma como se deve efetuar a recolha destas amostras, o tratamento, o método de análise e ainda os cálculos que estão na base da determinação das concentrações.

Para finalizar, é apresentado um capítulo curto onde são descritos os valores mais recentes dos consumos destas substâncias ilícitas, através deste método de estudo.

2. Desenvolvimento do Trabalho

2.1. Substâncias Psicoativas

Entende-se por substâncias psicoativas aquelas que interferem no estado emocional, comportamental, fisiológico de um indivíduo. Estas substâncias podem ser lícitas ou ilícitas e cada vez mais, fazem parte do quotidiano das populações (EMCDDA, 2008).

A caracterização das águas residuais é um método, relativamente recente, que permite avaliar os consumos de substâncias psicoativas pela população numa dada região. Deste modo, nos últimos anos, têm surgido diversos estudos epidemiológicos nesta área.

As substâncias (EMCDDA, 2008; Baker, Barron Kasprzyk-Hordern, 2014): geralmente pesquisadas nas águas residuais são

- Ilícitas: cocaína, anfetaminas, ecstasy, heroína, LSD, canábis, entre outras;
- Lícitas: psicofármacos do grupo das benzodiazepinas (como o diazepam), antidepressivos (como a fluoxetina, venlafaxina), cafeína, nicotina e as xantinas.

Nesta monografia, conforme já referido, serão abordadas duas substâncias psicoativas: a cocaína e a metanfetamina.

2.1.1. Cocaína

A cocaína é uma das drogas estimulantes mais consumidas a nível Europeu e que tem apresentado crescimento na sua comercialização e utilização. Devido a este crescimento global as instituições públicas policiais têm redobrado as suas preocupações na detenção e no controlo do tráfico.

2.1.1.1. Características e Produção

A coca é originária dos Andes do Peru e da Bolívia, sendo proveniente de um arbusto da espécie *Erythroxylon coca* L. ou de *E. Novogranates*. As folhas da coca são constituídas por alcalóides, cuja concentração varia consoante a forma de cultivo e a espécie utilizada. O principal alcalóide é a cocaína, em conjunto com a cinamoilcocaína, truxilinas e as higrinas (Castiglioni, Zuccato, Chiabrando, Fanelli, & Bagnati, 2008; Cunha, 2010; NIH, 2008).



Figura 1: Campo de cultivo de coca na Bolívia. Fonte: UNODC, 2014a.

A cocaína é extraída da folha da coca através de um processo simples de extração utilizando carbonato de cálcio, querosene ou gasolina, e a separação do solvente é feita através da adição do ácido sulfúrico. A fase aquosa obtida é alcalinizada pelo bicarbonato de sódio ou amónia que precipita e forma uma pasta constituída predominantemente pelo alcaloide de cocaína (Kolbrich et al., 2006; NIH, 2008).

O maior produtor de cocaína é a Colômbia, seguido do Peru e da Bolívia, sendo a partir destes países, enviada para o resto do mundo. A introdução desta droga na União Europeia é efetuada a partir de alguns países da América Latina, como por exemplo o Brasil, por via aérea ou marítima, sendo os principais pontos de entrada Portugal, Espanha ou Países Baixos (EMCDDA, 2014b). Na Europa a cocaína é consumida predominantemente na forma de pó, sendo menos comum o consumo do *crack* (EMCDDA, 2014b).

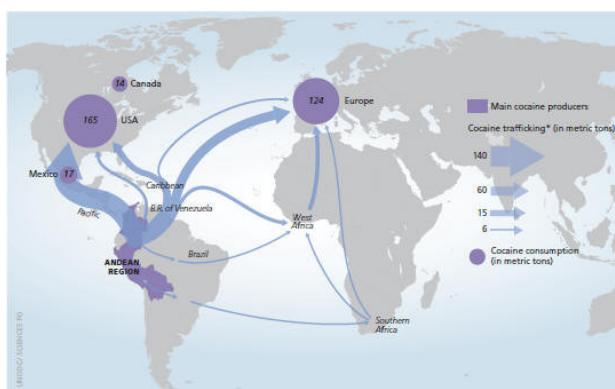


Figura 2: Fluxo de cocaína a nível mundial (2008).
Fonte: Damien et al., 2014.

Hoje em dia, deparamo-nos com a problemática da pureza da droga, que vem dos países de produção para a Europa onde os “laboratórios ilegais” preparam a droga para que esta seja consumida. Estes laboratórios muitas vezes recorrem a substâncias inertes (lactose, talco, farinha) de modo a diminuir a quantidade de cocaína a ser vendida, permitindo obter maiores lucros com o negócio da droga. A pureza da droga na Europa varia entre os 33 e os 47% e o preço oscila entre os 54 e os 77€ por grama (EMCDDA, 2014b).

2.1.1.2. Consumo e Efeitos Psicoativos

A cocaína pode ser administrada através da via oral, intravenosa, intranasal e do fumo (Caldwell, Dring, & Williams, 1972; Kolbrich et al., 2006; NIH, 2008).

A via oral é característica dos países da América Latina que consiste na mastigação das folhas de coca. As vias que apresentam um efeito mais rápido são a via intravenosa através da dissolução da cocaína em água, e a inalatória devido à elevada irrigação do tecido nasal. A forma fumada é realizada a partir dos cristais de cocaína insolúveis na água, o chamado de *crack*, que ao serem aquecidos, convertem-se em vapor que pode ser fumado (Kolbrich et al., 2006; van Nuijs et al., 2009).

Segundo o relatório Europeu sobre as Drogas de 2014, o consumo da cocaína é mais predominante no homem (84%), sendo a idade média de consumo, os 22 anos. A principal via de administração desta droga (gráfico 1) é a inalação (67%), seguida da aspiração do fumo (27%).

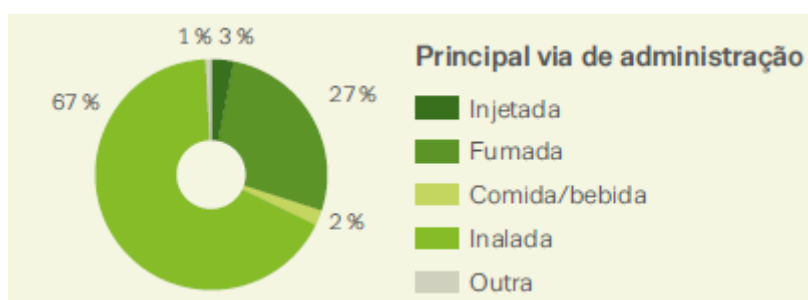


Figura 3: Principais vias de administração de cocaína, dados de 2013.
Fonte: EMCDDA, 2014b.

Após a absorção desta droga num curto período de tempo, aproximadamente 6 a 8 segundos, esta exerce diversas ações no organismo. A nível do SNC e do SNA vai originar um bloqueio direto dos canais de sódio, interferindo com a função dos neurotransmissores. A nível dos neurotransmissores esta exerce um efeito agonista, inibindo a recaptação das catecolaminas (serotonina, dopamina, noradrenalina) aumentando-as na fenda sináptica, ocasionando a estimulação do sistema nervoso central/autónomo, figura 3, conduzindo a um estado de euforia e bem-estar (Castiglioni et al., 2008; NIH, 2008; van Nuijs et al., 2009). A nível cardíaco apresenta aumento da pressão arterial, taquicardia, além de outras alterações físicas tais como a dilatação das pupilas, elevação da temperatura corporal e aumento da sudação. A sensação de euforia e bem-estar desencadeia mais tarde uma recaída onde se destaca o cansaço, a irritabilidade e a depressão, isto no caso de consumidores de grandes quantidades de droga (NIH, 2008; van Nuijs et al., 2009).

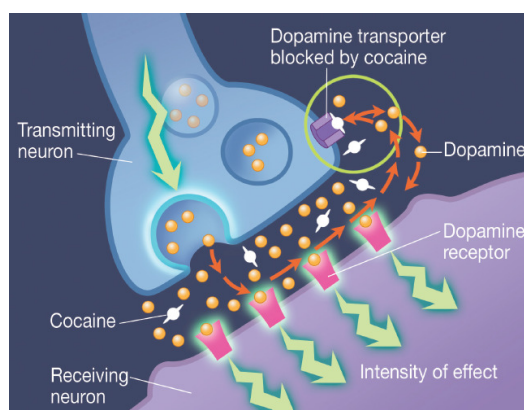


Figura 4: Efeito da cocaína no sistema nervoso central . Fonte:NIH, 2008.

A longo prazo o consumo desta droga pode provocar dependência, problemas a nível respiratório, cardíaco, danos a nível nasal e o consumidor pode desenvolver distúrbios mentais graves. Esta droga apresenta um potencial de dependência bastante elevado, aumentando as catecolaminas a nível da fenda sináptica, levando o organismo do consumidor a formar mais recetores e estes recetores vão reduzindo a sensibilidade à droga, o que conduz ao desejo de consumo (NIH, 2008; van Nuijs et al., 2009). Além destes problemas relacionados com a droga, uma outra questão bastante preocupante, relacionada com o consumo por via injetável são os problemas associados com a transmissão de doenças infecto-contagiosas (EMCDDA, 2014b).

Além do consumo da cocaína para fins recreativos, esta pode também ser utilizada em medicina humana como anestésico local. É injetada sob a forma de cloreto e em solução aquosa, atua nas terminações nervosas sensitivas (Cunha, 2010).

2.1.1.3. Metabolismo da Cocaína

A concentração de cocaína no organismo, e a intensidade dos seus efeitos vai depender, entre outros fatores, da (EMCDDA, 2008):

- ✓ Dose consumida;
- ✓ Via de administração;
- ✓ Sexo do indivíduo;
- ✓ Idade.

A via de administração determina o início da ação e a sua duração. A via intravenosa e a fumada vão originar um pico de cocaína mais rápido comparativamente à consumida pela via intranasal. No entanto, esta via vai permitir uma ação mais prolongada do que as anteriores, resultante do efeito vasoconstritor da cocaína, que persiste nas fossas nasais (EMCDDA, 2008; van Nuijs et al., 2009)

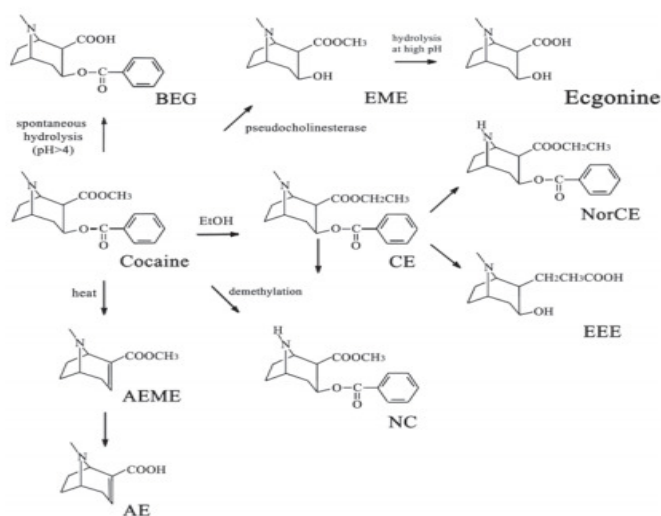


Figura 5: Esquema do metabolismo da cocaína .Fonte EMCDDA, 2008.

A cocaína ao ser administrada é espontaneamente hidrolisada em **benzoilecgonina** (BEG) pela ação das esterases hepáticas (como a carboxilesterase 1), este é um dos maiores metabolitos desta droga sendo 30-50% da dose administrada convertida neste metabolito. Este metabolito não apresenta atividade farmacológica, supõe-se que tenha, apenas, uma influência a nível dos canais de cálcio. O BEG possui um tempo de meia vida de 6-8 horas e permanece na urina por 48 horas após o consumo (Castiglioni et al.,

2008; EMCDDA, 2008; Jatlow, 1988; van Nuijs et al., 2009) Apenas 1-9% da cocaína administrada é eliminada na urina, sem ter sido metabolizada, mas esta eliminação vai depender do pH da urina e da dose consumida (Castiglioni et al., 2008; Lopes, Silva, Bronze, Ferreira, & Morais, 2014).

A **ecgonina metil éster** (EME) é um dos maiores metabolitos da cocaína que corresponde a 40% da dose administrada. É formada a partir da hidrólise da cocaína pelas colinesterases plasmáticas e hepáticas e tal como o BEG também não apresenta atividade farmacológica (Castiglioni et al., 2008; EMCDDA, 2008; Jatlow, 1988).

Os consumidores ao aquecerem o *crack* para a inalação vão converter a cocaína com composto anidroecgonina metil éster (AEME), que é hidrolisado a anidroecgonina (AE) que apresenta uma atividade colinérgica (EMCDDA, 2008).

O metabolismo hepático, através do citocromo P450, converte a cocaína na **norcocaína** (NC), produto que apresenta mais toxicidade que a própria cocaína. Este metabolito é farmacologicamente ativo, provocando o aumento da peroxidação dos lípidos e o aumento da proteína carboxilação (Castiglioni et al., 2008; EMCDDA, 2008).

Existe uma associação entre o álcool e a cocaína, que vai influenciar a farmacocinética da cocaína, principalmente a nível da metabolização. Os consumidores de cocaína têm por hábito associar esta droga com o álcool, permitindo efeitos psicotrópicos mais intensos (Graziani, Nencini, & Nisticò, 2014).

O álcool juntamente com a cocaína vai aumentar a hidrólise espontânea da cocaína, diminuir a clearance do BEG e aumenta a formação de um metabolito ativo **cocaetileno** (CE). O álcool leva à metabolização da cocaína pela enzima carboxiesterase, que está presente em vários órgãos, tais como coração, rim, estomago, colon e fígado. Este metabolito é farmacologicamente ativo aumentando a concentração da dopamina na fenda pré-sináptica, através da inibição da recaptção deste neurotransmissor (Graziani et al., 2014; Laizure, Mandrell, Gades, & Paker, 2003).

Em suma, existem várias vias de administração que vão influenciar a intensidade, duração de ação e os metabolitos formados. Os dois principais metabolitos não apresentam atividade farmacológica, no entanto a associação da cocaína com o álcool vai influenciar a metabolização e também potenciar os efeitos associados.

2.1.2. Metanfetamina

A metanfetamina também conhecido como “cristal” ou “cranck”, faz parte do grupo das drogas derivadas das anfetaminas. Esta droga é considerada uma droga sintética¹ e é mais recente que a cocaína e é consumida por milhões de pessoas no mundo inteiro (NIDA, 2007; Schifano, Corkery, & Cuffolo, 2007).

A sua produção não exige grandes matérias-primas, nem equipamentos, sendo possível produzi-la numa simples casa de banho ou qualquer outro espaço reduzido, o que a torna mais económica e disponível do que a maioria das drogas clássicas. Além da sua produção ser de relativa facilidade, como apresenta um efeito bastante potente e prolongado, tem começado a ser muito procurada por consumidores relativamente jovens como substituição de outras drogas, tais como a cocaína, por ser mais económica (EMCDDA, 2014b; UNODC, 2014b).

2.1.2.1. Caraterísticas e Produção

A metanfetamina é caracterizada por ser uma base ou um sal cristalino, com sabor amargo, inodoro apresentando uma boa solubilidade na água e no álcool (NIDA, 2007).

A metanfetamina exhibe dois isómeros d-metanfetamina e o l-metanfetamina, sendo o primeiro mais potente e com uma duração de ação mais prolongada. No entanto as drogas ilícitas são constituídas por uma mistura racémica de ambos os enantiómeros (UNODC, 2014b).

A produção desta droga tem como base cerca de cinco métodos de síntese, que consistem numa reação simples de substâncias, tais como: lítio, amónia, fósforo vermelho, iodo adicionado à efedrina ou à pseudoefedrina (percursos químicos), medicamentos comuns usados para broncodilatação e descongestionamento (EMCDDA, 2014a; UNODC, 2014b).

É de salientar, que nos Estados Unidos, a FDA aprova a utilização das anfetaminas nas patologias como narcolepsia, crianças com défice de atenção e em tratamentos de

¹ “Droga sintética” é uma mistura ou substância psicoativa que é produzida através de matérias-primas que não são de origem natural.

curto prazo para a obesidade. Os medicamentos que possuem como substância ativa a anfetamina são: o *Aderell XR*[®] (Shire BioChem Inc.) e o *Dexedrine*[®] (GlaxoSmithKline). Estes medicamentos são prescritos para o déficit de atenção, com dosagens que rondam os 5-30mg/dia. Os consumidores de uso recreativo consomem dosagens bastante mais elevadas, cerca de 60mg (Stephen, J. Kish 2008).

Conforme já referenciado a metanfetamina e seus derivados são drogas de produção simples, a partir de matérias-primas de fácil aquisição. Na Europa existem vários locais de produção clandestina para utilização interna e também para exportação, nomeadamente para o Médio Oriente. Os países da Europa com maior número de apreensões, desses locais de produção, são a República Checa, seguida da Bélgica, Países Baixos, Polónia e Alemanha, ver figura 6 (EMCDDA, 2014b; UNODC, 2014b).

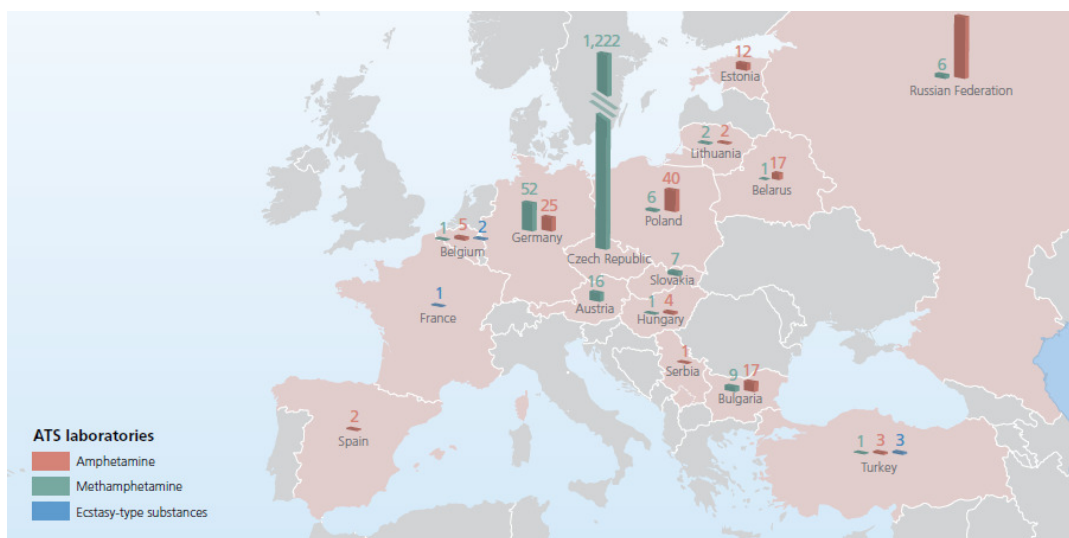


Figura 6: Laboratórios clandestinos apreendidos na Europa, 2009-2012. Fonte: UNODC, 2014b.

A pureza desta droga depende da forma consumida, o cristal apresenta uma maior pureza que o pó de metanfetamina, que é muitas vezes misturado com talco. A pureza média para a metanfetamina ronda os 28 e os 73%, sendo o preço variável entre os 12 e os 48 euros/grama. Comparativamente ao custo da cocaína é mais acessível (EMCDDA, 2014b).

2.1.2.2. Consumo e Efeitos Psicoativos

A Metanfetamina é uma droga que pode ser administrada por via intravenosa, pela adição de água ao pó, por via oral, sublingual e retal. No entanto, o cristal fumado é das

vias mais usadas, devido à rápida ação e também porque produz efeitos mais persistentes (NIDA, 2007, 2009).

A estrutura química da metanfetamina assemelha-se aos dos neurotransmissores o que permite uma boa absorção através da barreira hemato-encefálica. Esta droga vai permitir um aumento da estimulação da síntese dos neurotransmissores da dopamina, da noradrenalina e da serotonina e também inibe a recaptação destes neurotransmissores da fenda sináptica. Estes efeitos vão aumentar a estimulação pós sináptica, o que torna uma droga altamente potente e viciante (Krolkowski & Koyfman, 2014; Stephen, 2008).

Os sintomas a curto prazo são caracterizados pelo aumento da euforia (dose dependente), aumento da sensação de bem-estar, aumento do apetite sexual, diminuição do apetite, taquicardia, aumento da tensão arterial, hipertermia, alucinações, dilatação das pupilas e diminuição da fadiga. A nível do coração verifica-se uma grande carga o que muitas vezes leva à morte do usuário e mesmo os estados de alucinações podem levar a situações de risco para o consumidor (Cruickshank & Dyer, 2009; NIDA, 2007; Stephen, 2008).

A longo prazo esta droga pode levar a complicações do aparelho respiratório, cardiovascular, problemas psiquiátricos (desenvolvimento de psicoses) e a problemas neurológicos (como perda de memória, insónias). Esta droga também pode provocar problemas graves nos dentes, devido à falta de estima pelos consumidores levando a comportamentos de descuido da higiene pessoal, nomeadamente na higiene dentária (NIDA, 2007; Stephen, 2008).

A metanfetamina é uma droga altamente viciante que cada vez mais seduz os adolescentes e produz uma grande preocupação não só a nível social como também os custos associados à prevenção, combate ao consumo e cuidados hospitalares. Além disso afeta a problemática das doenças infectocontagiosas (hepatites e HIV) pelos consumidores da droga por via endovenosa (EMCDDA, 2014b; UNODC, 2014b).

2.1.2.3. Metabolismo da Metanfetamina

A metanfetamina apresenta um tempo de meia vida de 12-34 horas e uma duração de ação de cerca de 8 a 24h, no entanto a duração da ação vai depender da via de administração e da dose administrada, entre outros fatores (Krolikowski & Koyfman, 2014).

As vias de administração que apresentam maior biodisponibilidade são a intravenosa (100%) e a fumada (90%) enquanto a via oral e inalada apresentam baixa biodisponibilidade, cerca de 67% e 70%, respectivamente (Castiglioni et al., 2008).

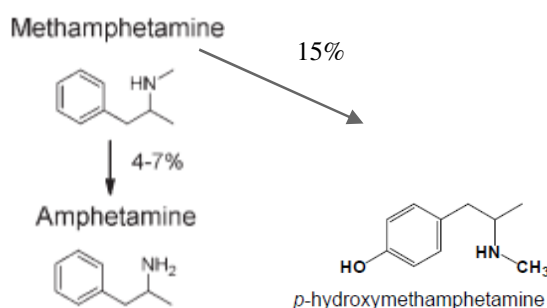


Figura 7: Esquema do metabolismo da metanfetamina (Castiglioni et al., 2008).

O complexo citocromo P450, mais propriamente a CYP2D6, vai metabolizar a metanfetamina através de uma N-demetilação desta droga, e origina um dos maiores metabolitos que é a anfetamina (4-7% da droga consumida), através da mesma isoenzima do citocromo P450 produz uma 4-hidroilação do anel aromático, originando o metabolito 4-hidroximetanfetaminas (15% da dose administrada). Esta droga, contrariamente à cocaína, não apresenta processo de metabolização, cerca de 50% da dose administrada é eliminada sem sofrer biotransformação (Li, Wang, Zhang, & Liu, 2014).

É de salientar que o pH da urina influencia a excreção dos metabolitos. Deste modo, uma urina com pH alcalino vai diminuir, significativamente, a excreção dos metabolitos atrás referenciados, nestas circunstâncias a excreção da anfetamina é de apenas 0.1% (Schifano et al., 2007).

Muitas vezes os consumidores destas drogas associam o seu consumo à ingestão de álcool como uso recreativo. O álcool altera a absorção, a distribuição e a metabolização,

no entanto não apresenta efeitos sobre a excreção desta droga. A nível da absorção e do metabolismo, a sua associação vai aumentar a atividade de ambas as etapas farmacocinéticas, no entanto na distribuição vai provocar uma diminuição do volume volume de distribuição (Li et al., 2014).

2.2. Métodos de Análise Epidemiológica dos Consumos de Substâncias Psicoativas

Os estudos epidemiológicos sobre os consumos das substâncias de abuso têm demonstrado muita utilidade para se determinar quais as drogas mais consumidas, quais as regiões dos países onde existe maior consumo e caracterizar o tráfico (preço, pureza, rotas, etc.). Todos estes fatores são analisados permitindo bases de atuação no combate ao tráfico, ao consumo e eventualmente legislar nesta problemática.

Atualmente, utilizam-se os métodos tradicionais que permitem estudar os consumos e frequência dos mesmos, das várias substâncias de abuso. Estes métodos incluem os inquéritos à população, as informações fornecidas pelas drogas apreendidas pelas entidades policiais, dados médicos (mortes, doenças relacionadas com os consumos das drogas), estatística de crimes e início de tratamento de toxicodependentes (EMCDDA, 2008, 2014b; Reid, Baz-Lomba, Ryu, & Thomas, 2014; van Nuijs et al., 2009) . Através destes métodos elaboram-se relatórios anuais sobre as substâncias de abuso.

Os métodos tradicionais têm várias limitações, como os elevados custos, serem pouco objetivos e os tipos de estudos serem morosos e acabarem por não refletir a realidade imediata (van Nuijs et al., 2012). Devido a estas limitações, os epidemiologistas e os investigadores têm aumentado a sua atenção de modo a encontrar alternativas mais viáveis aos métodos tradicionais.

Daughton (2001) publicou num artigo um novo conceito alternativo de pesquisa destas substâncias de abuso através das águas residuais (van Nuijs, Castiglioni, et al., 2011).

A pesquisa nas águas residuais de biomarcadores² de consumo, permite conhecer, em tempo real, as substâncias psicoativas ou os metabolitos presentes nas águas. Este método é mais preciso e mais económico comparativamente aos métodos tradicionais (Van Nuijs et al., 2009)

² “Biomarcadores de consumos” é uma medida que quantifica as substâncias ou seus metabolitos em vários meios biológicos, como sangue, urina.

A pesquisa das substâncias de abuso através das águas residuais tem como base analisar, através de vários métodos de extração e de deteção, os metabolitos formados pelo consumo de certas drogas. Após análise e tratamento dos resultados é possível avaliar os consumos das drogas em estudo e obter uma análise geográfica dos consumos das substâncias de abuso.

É de salientar, que este método também apresenta algumas limitações como, a estabilidade dos metabolitos nas águas residuais (que podem ser transformados até à recolha da amostragem e/ou também na sua conservação), as novas drogas ainda não apresentam estudos suficientes sobre o seu metabolismo no corpo humano o que torna difícil a sua pesquisa. Este método é relativamente recente ainda está numa fase evolutiva (Reid et al., 2014). No entanto, para um estudo epidemiológico mais preciso é aconselhável associar os resultados obtidos pela monitorização dos metabolitos de consumo das substâncias de abuso em águas residuais e os métodos tradicionais.

2.3. Recolha de Amostra em Águas Residuais

A recolha da amostra é a etapa inicial da monitorização das substâncias psicoativas em águas residuais, sendo por isso uma das fases de tratamento mais importantes. E é das etapas dos estudos que apresentam mais limitações e que pode ocasionar resultados menos fidedignos (EMCDDA, 2008).

Por estas razões, muitos investigadores, redobram a sua atenção nos estudos desta etapa inicial de forma a ultrapassar certas limitações, que possam interferir com a obtenção dos resultados.

O estudo de pesquisa de substâncias de abuso nas águas residuais pode ser feito em toda a rede de esgoto. No entanto, a maioria dos artigos publicados efetua a recolha no afluente das ETAR. Esta recolha é feita nos afluentes das ETAR onde é relativamente fácil realizar a sua recolha. Muitas ETAR apresentam equipamentos de recolha das amostras de forma automática, que podem ser controlados sem interferências e sem risco de furto. Também é fácil obter dados históricos e atuais sobre o número de habitantes, caudais e outros parâmetros de interesse para o estudo.

Além destas vantagens, uma outra questão importante que não põe em causa estes estudos, são os problemas éticos. Neste tipo de estudos os princípios éticos não são desrespeitados, porque este método não permite a identificação dos consumidores. No entanto, algumas pesquisas têm efetuado as análises, com amostras de águas residuais em locais específicos como escolas, prisões e concertos musicais. Estes locais específicos originam problemas éticos, eventualmente questionáveis, por ser posto em causa o nome das instituições envolvidas (Hall et al., 2012).



Figura 8: Vista aérea da ETAR de Beirolas localizada em Lisboa. Fonte: SimTejo disponível em [http://editorial.up.pt/anexo/ficheiro/1/Normas de edicao.pdf](http://editorial.up.pt/anexo/ficheiro/1/Normas_de_edicao.pdf).

2.3.1. Breve descrição da Entrada do Afluente na Estação de Tratamento de Águas Residuais (ETAR)

Afluem diariamente às ETAR as águas residuais rejeitadas nos coletores, de origem doméstica, comercial, industrial e pluvial. A água residual antes de chegar a uma ETAR, percorre nos coletores um maior ou menor percurso consoante a localização da ETAR e o ponto de descarga no coletor (EMCDDA, 2008; Thai et al., 2014).

As águas residuais quando chegam à ETAR são designadas de afluente, podendo provir de (Thai et al., 2014):

- Estações elevatórias que têm como objetivo reunir as águas residuais originárias de vários locais numa cota inferior à da ETAR e bombear para esta;
- Graviticamente quando a água residual aflui à ETAR, através de coletores por ação da gravidade não havendo necessidade de recorrer a bombeamento.



Figura 9: Afluente à ETAR de Chelas com origens distintas, proveniente do coletor gravítico e das estações elevatórias.



Figura 10: Entrada do afluente na ETAR de Chelas em Lisboa.

Desde que as substâncias ilícitas são descarregadas no coletor até à chegada à ETAR, desde a recolha na ETAR até ao laboratório, podem ocorrer várias transformações dos metabolitos, dependendo do tempo de contacto com os constituintes da matéria orgânica e a temperatura da água residual. Esta questão é limitante porque a estabilidade das substâncias ilícitas é difícil de ser assegurada. Contudo, tem sido alvo de diversos estudos (Reid et al., 2014)

2.3.2. Estabilidade nas águas residuais dos metabolitos

A estabilidade das substâncias ilícitas presentes nas águas residuais é de primordial importância porque pode dar origem a conclusões incorretas.

Vários estudos têm sido publicados sobre os fatores (como a temperatura, o pH, os constituintes das águas residuais) que podem influenciar a estabilidade das substâncias em estudo (Castiglioni et al., 2011).

Pesquisaram-se as alterações sofridas por diversas substâncias ilícitas mimetizando as condições que são evidenciadas nas águas residuais. É de referenciar que as condições que influenciam a degradação e/ou formação estão diretamente relacionadas com: (Castiglioni et al., 2006, 2011).



Figura 11: Etapa de monitorização da recolha de amostras para determinação das substâncias psicoativas e fatores que possam influenciar a estabilidade destas substâncias na água residual. Fonte: Adaptado de Baker, Barron, Kasprzyk-Hordern, 2014; Castiglioni et al., 2011.

Conforme representado na Figura 11, as águas residuais podem conter vários fatores que influenciam a estabilidade das substâncias psicoativas desde a origem até à entrada da ETAR, onde se vai efetuar a recolha da amostra. Para contornar esta problemática vários estudos têm sido realizados, apresentando-se na tabela 1, de forma resumida, a comparação dos ensaios de estabilidade de substâncias ilícitas.

Tabela 1: Resultados obtidos a partir de alguns artigos, sobre os ensaios de estabilidade das substâncias ilícitas: metanfetamina, cocaína e seus metabolitos.

Estudo	Tempo de estudo	Condições de armazenamento (temperatura e pH)	Concentração da metanfetamina	Concentração dos metabolitos de cocaína
Van Nuijs et al., 2012	12 horas	20°C, pH 7.5	+2%	COC (-40%) BEG (+6%) EME (-20%)
Plósz et al., 2013	24 horas	20°C, pH 7.4	Não definido	BEG (não definido) COC (<-80°C)
Baker et al., 2011	12 horas	19°C, pH7.4	+8%	COC (-8%) BEG (+7%)
Thai et al., 2014	12 horas	20°C, pH 7.5	0	BEG (+14%) COC (-20%)

Nota: os valores negativos são referentes à degradação e os positivos à formação.

Na tabela 1, os estudos foram realizados entre as 12 horas e as 24 horas onde a temperatura das águas residuais rondou os 20°C, temperatura esta verificada nos afluentes das ETAR (Thai et al., 2014).

Foi observado que a concentração de metanfetamina não apresenta alterações significativas, o que permite concluir que o meio das águas residuais não altera a estabilidade desta droga (van Nuijs et al., 2012).

Contrariamente à metanfetamina, na cocaína observam-se alterações na concentração desta e dos seus metabolitos. Estas alterações nas águas residuais, podem resultar da temperatura, do pH e da presença de biofilmes de microrganismos ativos (anaeróbios e aeróbios). Esta degradação por sua vez origina a transformação da cocaína no seu metabolito benzoilecognina, como se pode verificar na tabela 1 (Thai et al., 2014; van Nuijs et al., 2012).

Estes estudos de estabilidade permitem prever as perdas e ganhos nas concentrações das substâncias ilícitas, sendo fundamental nestes estudos prever as consequências na determinação da concentração diária destas drogas.

2.3.3. Como é efetuada a recolha das amostras de águas residuais

A recolha da amostra é a etapa mais importante na monitorização de biomarcadores de consumo de substâncias psicoativas, neste tema serão abordados vários fatores importantes que devem ser levados em linha de conta antes e durante a recolha.

A preparação da amostra é a primeira etapa e muito importante para garantir uma análise válida e coerente.

Nas publicações selecionadas e avaliadas nesta monografia verificam-se divergências no tipo de amostras recolhidas, no tempo de estudo, na forma e na temperatura de conservação após a recolha (Tabela 2).

Tabela 2: Seleção de alguns estudos efetuados de 2009 a 2014, de forma a caracterizar a recolha das amostras das ETAR.

Estudo	País	Tempo de estudo	Recolha da amostra	Condições de conservação da amostra
Karolak et al.,2010	França (Paris)	7 dias consecutivos	Amostra de 24 horas	Conservadas a 4°C
Van Nuijs et al.2011	Bélgica (Bruxelas)	2 meses consecutivos (do mês de março a abril, de junho a julho e de setembro a outubro de 2009)	Amostra de 24 horas	Após 24 horas conservação a pH=2 e a uma temperatura de -20°C
Yargeau et al.2014	Canadá	18 de novembro a 2 de dezembro de 2010	Amostra de 24 horas	Após as 24h conservação a -20°C
Klos et al., 2013	Polónia	2 vezes por semana (segunda-feira e quarta-feira), durante o mês de junho de 2009 a dezembro de 2010	Amostra de 24 horas	Após as 24h conservação a -20°C
Lopes et al., 2014	Portugal (Lisboa)	2 vezes por semana (terça-feira e quinta-feira), durante o mês de outubro a novembro de 2011	Amostra de 24h	Após a recolha de 24h, o pH é ajustado para 2 e a temperatura de conservação é de -20°C
Mackuyak et al.,2014	Eslováquia	março a outubro de 2013	Recolha automática de 15 em 15 minutos durante 24 horas	Após 2 horas as amostras são recolhidas e conservadas a -20°C

Na tabela 2 são caracterizados cada um dos estudos em relação:

- Ano do estudo (de 2009 a 2014);
- País;
- Tempo de estudo, onde são descritos os meses e a frequência da colheita das amostras;
- Ao modo como são obtidas as amostra;
- E por fim é descrito o modo de conservação das amostras após as 24 horas de colheita.

Da análise da tabela verifica-se que a seleção do tempo de estudo não segue nenhum critério de seletividade. Apenas nalguns estudos mais recentes, é que abordam a problemática da época em que se deve realizar os estudos. Existe uma relação da precipitação e os resultados obtidos das concentrações das substâncias de abuso. Está comprovado que o aumento da pluviosidade vai aumentar o caudal o que torna a amostra mais diluída, sendo difícil obter um resultado mais próximo da realidade (EMCDDA, 2008; Vuori et al., 2014).

Em todos os estudos as amostras são representativas de 24 horas. Este procedimento, efetuado ao longo de um dia, não inclui um critério uniformizado do espaçamento temporal entre recolhas.

De forma a analisar este procedimento de recolha programada, veremos o caso do equipamento que a ETAR de Chelas utiliza. Este equipamento é um dispositivo que pode ser programado para o tempo de recolha das amostras e é depois mantido dentro desse equipamento todas as amostras recolhidas durante 24 horas, como se pode ver na figura 12. Este equipamento é utilizado nas ETAR para verificação da eficácia do tratamento. São recolhidas amostras diárias no efluente e no afluente, onde depois se comparam os parâmetros químicos dessas amostras (GLS Sampler, 2013).



Figura 12: Equipamento de recolha automatizada da água residual que chega à ETAR de Chelas.

Em todos os estudos, verifica-se que a conservação é feita a temperaturas que variam entre os -20°C e os 4°C. Alguns estudos referem a conservação das amostras recolhidas a 4°C, ao abrigo da luz e a sua análise deverá ser realizada, no máximo até 3 dias após a recolha (Damien, Thomas, Hélène, Sara, & Yves, 2014; Pedrouzo, Borrull, Pocurull, & Marcé, 2011; Zuccato et al., 2005). No entanto, o estudo de (castiglino, et al., 2011), verificou alterações significativas na quantidade dos metabolitos de cocaína presente nas águas residuais nos 3 dias seguintes mesmo com amostra conservada a 4°C. Após esta verificação sugere que a conservação deva ser realizada a -20°C, ou então a 4°C só nos casos em que a análise é efetuada em menos de 24 horas. É de salientar, que todas as amostras devem ser colhidas para recipientes constituídos por polietileno, de forma a não interferir com a amostra.

Relativamente ao valor do pH, é referenciado o pH=2, ou seja as amostras são acidificadas para estas condições com o objetivo de prevenir a degradação dos metabolitos nas águas residuais (Van Nuijs et al., 2011). A temperatura recomendada para a conservação das amostras é a -20°C (Chen, Kostakis, Irvine, Felgate, & White, 2013).

2.4. Métodos de Extração e de Detecção de Substâncias Psicoativas

A análise direta em fluidos biológicos, para pesquisa de drogas de abuso, tanto no sangue como na urina tem sido muito utilizada na área clínica e forense. Para essa pesquisa recorre-se geralmente ao método de deteção através da espetrometria de massa (Castiglioni et al., 2008; Pedrouzo et al., 2011).

Após a recolha e conservação das amostras, são realizadas, em laboratório, as operações de extração e de deteção das substâncias psicoativas.

Uma característica bastante importante na deteção das substâncias de abuso nas águas residuais, é a complexidade da matriz que vai interferir com os resultados finais, afetando a ionização e a supressão do sinal (20-30%) na espetrometria de massa (Castiglioni et al., 2008). O que requer um pré-tratamento da amostra antes de se efetuar a deteção (Ort et al., 2014).

É importante caracterizar os parâmetros físico-químicos das substâncias ilícitas, de forma a selecionar os métodos mais adequados à sua determinação. Estes tipos de monitorizações incidem sobre as drogas mais utilizadas a nível mundial que já estão bastante estudadas e analisadas.

Para a análise destas substâncias psicoativas em águas residuais recorre-se a vários processos, que compreendem:

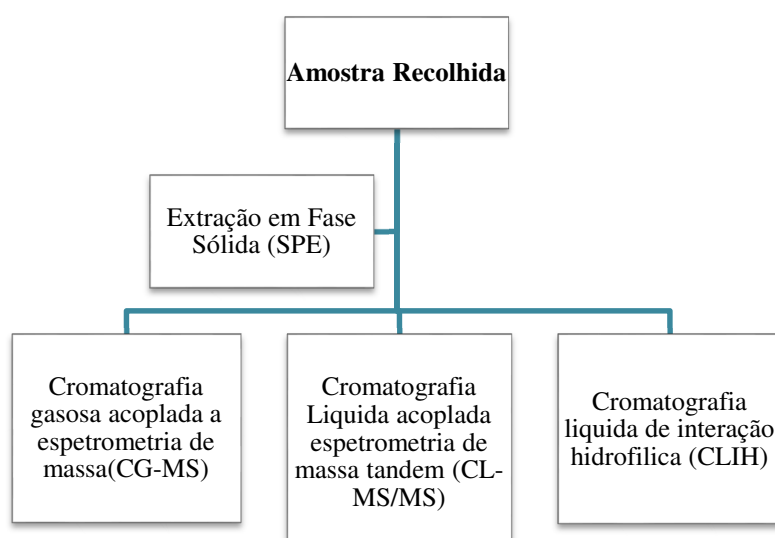


Figura 13: Esquema geral do tipo de análise e de deteção das substâncias de abuso, em águas residuais. Fonte: adaptado de Castiglioni et al., 2008; Lopes et al., 2014; Pedrouzo et al., 2011.

Dos métodos apresentados na figura 13, verifica-se que a extração em fase sólida é o único método referenciado em todos os estudos, sendo considerado um pré-tratamento da amostra. Em relação à espectrometria de massa também é o método de detecção mais utilizado. Apenas o que difere é a acoplação deste método à cromatografia líquida, gasosa e/ou líquida de interação hidrofílica.

2.4.1. Extração em Fase Sólida

A extração em fase sólida é uma técnica de pré-tratamento, pois conforme foi referenciado anteriormente, a matriz das águas residuais é muito complexa, interferindo com os resultados da espectrometria de massa. Recorre-se a esta técnica, antes do método de deteção, para eliminar as substâncias da matriz, que possam interferir com a análise aumentando a sensibilidade do método de deteção (Orlando et al., 2009; Pedrouzo et al., 2011).

A extração em fase sólida é um sistema constituído por um cartucho que contém um extrator de fase sólida, que varia dependendo do analito que se pretenda estudar. A amostra é colocada neste cartucho, sob pressão e as moléculas orgânicas são extraídas da amostra para a fase sólida, através de uma interação *Van Der Waals*. De forma, a retirar estas moléculas que ficaram ligadas à fase sólida, é utilizado um solvente polar como o metanol (Skoog, West, Holler & Crouch, 2007). Para a seleção do tipo de coluna a preparar, deve ter-se em atenção as propriedades da matriz e do analito (neutro, básico ou ácido) (Ort et al., 2014).

As colunas ou os cartuchos podem ser enchidos pelos analistas, no entanto hoje em dia, para facilitar e reduzir o tempo de trabalho são comercializadas, já preparadas com a fase sólida. No mercado existem várias marcas, mas as mais utilizadas nos estudos efetuados na monitorização das substâncias ilícitas nas águas residuais, são do tipo Oasis® e Strata®.

A Oasis apresenta vários produtos a utilizar na fase sólida, no entanto as mais utilizadas na monitorização de substâncias de abuso são (Pedrouzo et al., 2011; van Nuijs et al., 2014; Waters, n.d.):

- OasisHLB® (*Hydrophilic-Lipphilic-Balanced*) apresenta um enchimento com um equilíbrio hidrofólio e lipofílico, este método é considerado generalista e de larga utilização;
- OasisMCX® (*Mixed-mode Cation-exchange*) é um método seletivo para bases pois apresenta um recheio misto, com troca catiónica e fase reversa para bases.

A Strata® é uma outra marca para a fase sólida que apresenta dois produtos utilizados na pesquisa das substâncias de abuso que é o Strata-XC® e o Strata-X® são semelhantes ao OasisHLB® e ao OasisMCX®, respectivamente (Pedrouzo et al., 2011) .

É de salientar, que a metanfetamina apresenta uma taxa de extração pelo OasisMCX® bastante elevada (superior a 90%), no entanto caso se utilize o OasisHLB® a eficácia da extração é reduzida para metade (van Nuijs et al., 2014).

Recentemente foi desenvolvido um novo método de extração, extração líquida (LES), de forma a substituir o antigo método de extração líquido-líquido, apresentando várias vantagens tais como a utilização de volumes menores de solvente e de amostra.

Este método LES em relação ao SPE também apresenta vantagens, no tempo de procedimento e menores gastos de solvente. Esta técnica tem sido aplicada para a análise de plasma, pesticidas no mel e polifenóis no vinho (Albero, Sánchez-Brunete, Miguel, Aznar, & Tadeo, 2014). O estudo (Albero et al., 2014) publicou pela primeira vez a pesquisa de resíduos de produtos farmacêuticos nas águas residuais. Possivelmente poderá ser utilizado na pesquisa de substâncias ilícitas.

2.4.2. Cromatografia Acoplada à Espectrometria de Massa

O método de eleição para deteção dos biomarcadores das respetivas substâncias ilícitas é a espectrometria de massa. Neste método o que varia é o tipo de cromatografia que é acoplada a ele. Podem acoplar-se as seguintes cromatografias:

- Cromatografia líquida;
- Cromatografia gasosa;
- Cromatografia líquida de interação hidrofílica.

A cromatografia é um método de separação, identificação e de determinação de compostos presentes em matrizes complexas. Este método apresenta uma fase estacionária e uma fase móvel, sendo os componentes separados pela fase estacionária através do fluxo da fase móvel. Dentro da cromatografia existem vários métodos que são baseados na natureza da fase móvel, podendo ser: líquida ou gasosa (Skoog, West, Holler & Crouch, 2007).

A cromatografia gasosa foi das primeiras técnicas a ser utilizadas nas pesquisas forenses e toxicológicas para pesquisa das substâncias ilícitas em fluidos biológicos, sendo posteriormente substituída pela cromatografia líquida para pesquisa de substâncias voláteis e não polares (Castiglioni et al., 2008). A cromatografia gasosa requer temperaturas que excedem os 400°C, o que torna necessário equipamento adaptado a estas elevadas temperaturas e limita a utilização em substâncias que sejam termolábeis (Skoog, West, Holler & Crouch, 2007).

A cromatografia líquida surgiu após a cromatografia gasosa, com a vantagem de separar compostos não-voláteis e termolábeis, sendo o método mais utilizado na maioria dos estudos publicados (Skoog, West, Holler & Crouch, 2007). Este método acoplado à espectrometria de massa permite uma melhor sensibilidade e seletividade (Castiglioni et al., 2008; Zuccato, Chiabrando, Castiglioni, Bagnati, & Fanelli, 2008).

A cromatografia líquida de alta eficiência tem vindo a ganhar importância, mas caracteriza-se por ser um método que permite separações eficazes, rápidas e com melhores rendimentos e sensibilidade (Ort et al., 2014; Pedrouzo et al., 2011).

A cromatografia líquida de interação hidrofílica, apresenta uma fase estacionária polar e uma móvel orgânica, não é muito utilizada mas alguns estudos demonstram que

esta permite uma melhor retenção do metabolito de cocaína (ecognina metil ester) comparativamente com as outras cromatografias (Pedrouzo et al., 2011).

As amostras separadas pela cromatografia entram diretamente no espectrómetro de massa, onde são ionizadas por uma fonte de ionização. Estas fontes de ionização vão permitir quebrar as ligações químicas das moléculas da amostra. De seguida, o analisador separa os iões, em função da razão massa/carga (m/z), e emite um sinal elétrico que é representado num gráfico pelo sistema de dados (Skoog, West, Holler & Crouch, 2007). O espectrómetro de massa pode operar no modo de ionização positivo ou negativo. Todas as investigações recorrem ao modo de ionização positivo, no entanto, para detetar a classe dos canabinóides tanto se recorre ao modo positivo como ao negativo (van Nuijs, Castiglioni, et al., 2011; Yargeau, Taylor, Li, Rodayan, & Metcalfe, 2014).

A cromatografia líquida pode ser associada à espetrometria de massa tandem este método apresenta filtros de triplo quadrupolo que funciona como um filtro que seleciona o ião de interesse pelo analisador de massas (Skoog, West, Holler & Crouch, 2007).

De seguida, são apresentados os espectros de massa da cocaína e seus metabolitos bem como o da metanfetamina. Esta análise é bastante importante pois permite identificar as substâncias que estão presentes na amostra recolhida das águas residuais.

2.4.2.1. Espectrometria de Massa da Cocaína e de seus Metabolitos

O detetor da espectrometria de massa, através do sistema de dados, produz um espectro de massa que corresponde aos fragmentos obtidos, característicos de cada composto. A cocaína e os seus metabolitos são analisados no modo positivo da espectrometria de massa.

O espectro de massa da cocaína, ver figura 14, produz um fragmento m/z 182 devido à perda de ácido benzoico da sua estrutura inicial. Um outro fragmento menor é visível no espectro da cocaína que corresponde à perda de uma molécula de água ou de metanol (m/z 150) (Castiglioni et al., 2006, 2008; Karolak, Nefau, Bailly, Solgadi, & Levi, 2010).

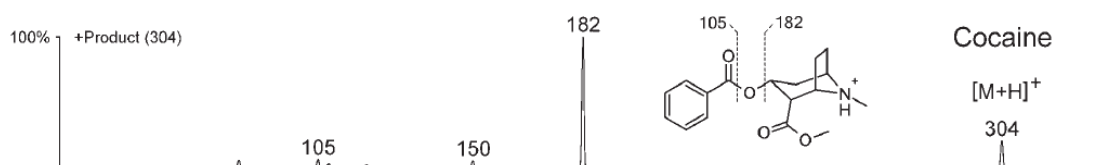


Figura 14: Espectro de massa da cocaína. Fonte: Castiglioni et al., 2008.

Na benzoilecognina o seu espectro de massa também produz um fragmento de m/z de 168, que corresponde à perda do ácido benzoico e um menor fragmento devido à perda de uma molécula de água ou de metanol (m/z 150) (Bijlsma, Sancho, Pitarch, Ibáñez &, 2007)Hernández, 2009; Castiglioni et al., 2006, 2008; Karolak et al., 2010).

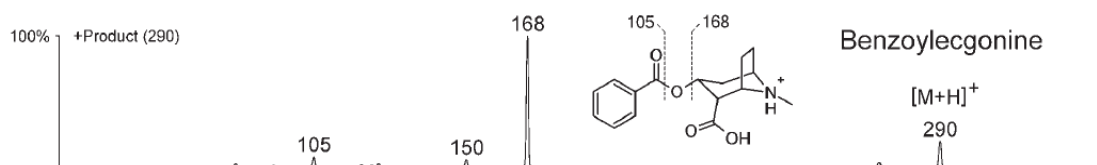


Figura 15: Espectro de massa da Benzoilecgonina. Fonte: Castiglioni et al., 2008.

A cocaetileno é um outro metabolito da cocaína que é característico de consumidores de álcool. Este metabolito apresenta um menor fragmento m/z 82 que corresponde a um fragmento de N- metilpirrolidina e a perda de ácido benzoico produz um fragmento maior (m/z 196) (Bijlsma et al, 2009; Castiglioni et al., 2008).

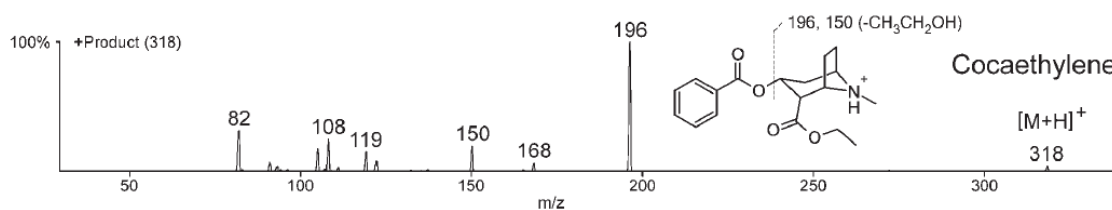


Figura 16: Espectro de massa da Cocaetileno. Fonte: Castiglioni et al., 2008.

A ecgonina como a ecgonina metil éster apresenta um fragmento em comum de m/z 82 que corresponde ao N-metilpirolidina (Castiglioni et al., 2008). O que distingue estes dois metabolitos são os outros fragmentos característicos de cada metabolito como se pode ver na figura 17 (Bijlsma et al., 2009; Castiglioni et al., 2008).

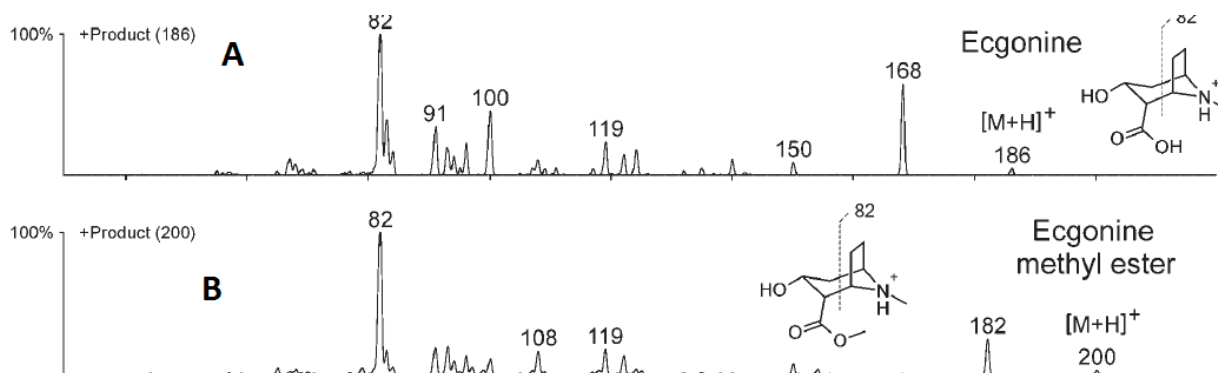


Figura 17: Espectro de massa da A) Ecgonina e de B) ecgonina metil éster. Fonte Castiglioni et al., 2008.

Por fim, os metabolitos norcocaína e de norbenzoecgonina apresentam um fragmento semelhante m/z 136 que corresponde à perda de uma molécula de água. Um outro fragmento que está associado à perda do ácido benzoico e que corresponde a m/z 168 (norcocaína) e 154 (norbenzilecgonina) (Bijlsma et al, 2009; Castiglioni et al., 2008) .

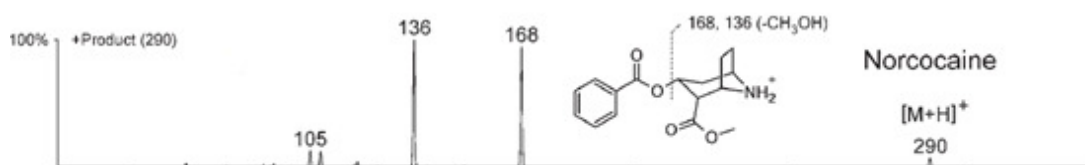


Figura 18: Espectro de massa da Norcocaína. Fonte: Castiglioni et al., 2008.

É de salientar que através dos espectros de massa produzidos é possível distinguir cada metabolito, sendo que alguns devido às semelhanças de estrutura produzem espectros de massa com fragmentos semelhantes.

2.4.2.2. Espectrometria de Massa da Metanfetamina

A metanfetamina é uma substância ilícita que apresenta uma reduzida metabolização a nível do organismo, sendo eliminada na urina sem ter sido metabolizada (43% da dose consumida) e pode ser metabolizada a anfetamina (4-7% da dose administrada).

Tanto a metanfetamina como a anfetamina apresentam fragmentos simples, como é o m/z 91 que corresponde ao ião tropílio e um outro é o m/z 119 que corresponde à perda de amónia ou metilamina. Apesar destes fragmentos serem semelhantes eles apresentam nos seus espectros de massa outros fragmentos que os permite diferenciar, ver figura 19 (Bijlsma et al, 2009; Castiglioni et al., 2008; Klos, Nowicki, & Kokot, 2013).

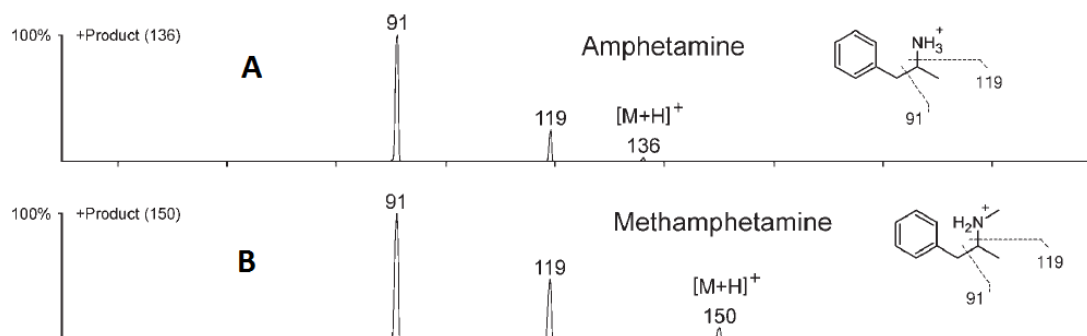


Figura 19: Espectro de massa da A) Anfetamina e de B) Metanfetamina . Fonte: Castiglioni et al., 2008.

2.5. Tratamento de Dados para Estimar Consumos de Substâncias Ilícitas em Águas Residuais

Uma das etapas finais deste tipo de análise é o tratamento dos dados obtidos, de forma a determinar a quantidade de droga consumida, numa dada região abrangida pela ETAR. Para determinar a concentração e a dose de substância ilícita diária, é necessário avaliar e determinar a concentração de alguns parâmetros.

O cálculo destas substâncias ilícitas nas águas residuais, requer os seguintes critérios (Lopes et al., 2014; van Nuijs et al., 2009):

- Caudal diário na ETAR (L/dia);
- Fator de correção;
- Estimar o número de habitantes que contribuem para a amostra recolhida.

Caudal diário

O caudal diário entra em todas as determinações das concentrações de substâncias ilícitas nas águas residuais. Este valor é determinado na ETAR, a partir dos caudalímetros.

Fator de Correção

O fator de correção, ver tabela 3, é um valor que se baseia nas percentagens da excreção das substâncias ilícitas e a razão massa molar entre as drogas e os seus metabolitos presentes nas águas residuais (van Nuijs, Mougel, Tarcomnicu, Bervoets, & Blust, 2011; Yargeau et al., 2014).

Tabela 3: Valores utilizados para o cálculo das concentrações de algumas substâncias ilícitas e seus metabolitos. Fonte: Zuccato et al., 2008.

Drug	DTR	Relation of DTR to parent drug	Percentage of drug dose excreted as DTR ^a	Molar mass ratio (parent drug/DTR)	Correction factor
Cocaine	BE	Major metabolite	45	1.05	2.33
Heroin	Cocaine	Parent drug (minor excretion product)	42	1.29	3.07
	Morphine	Major but nonexclusive metabolite			
Amphetamines	6-Acetylmorphine	Minor but exclusive metabolite	30	1.0	3.3
	Amphetamine	Parent drug and major excretion product			
	Methamphetamine	Parent drug and major excretion product			
Ecstasy	Ecstasy	Parent drug and major excretion product	65	1.0	1.5
Cannabis	THC-COOH	Major metabolite of THC (cannabis active principle)	0.6	0.91	152

Determinação do número de habitantes

A determinação do número de habitantes é um outro parâmetro importante no cálculo da concentração das drogas nas águas residuais. Para esta determinação recorre-se às concentrações de azoto, do fósforo, da carência bioquímica de oxigénio e da carência química de oxigénio. As concentrações destes parâmetros são determinadas nas ETAR com regularidade, com o objetivo de controlar a eficácia do tratamento (Baker, Barron, & Kasprzyk-Hordern, 2014; Lopes et al., 2014).

Concentração de fósforo e do azoto

O azoto e o fósforo são dois parâmetros, normalmente quantificados nas ETAR, a partir das suas concentrações é possível determinar o número de habitantes (*Memento Technique de L'Eau*, 1989).

Para estimar o número de habitantes, de acordo com a bibliografia, sabe-se que 1.7g de fósforo corresponde ao valor diário excretado por habitante e que 12.5 g de azoto ao valor excretado por habitante e por dia (Lopes et al., 2014)

Concentração da Carência Bioquímica de Oxigénio (CBO₅)

A carência bioquímica de oxigénio define-se como a quantidade de oxigénio, expresso em mg/L, que é consumido durante a estabilização da matéria orgânica, decomponível por ação bioquímica aeróbia (Metcalf & Eddy, 1991).

O teste do CBO₅ é usado para determinar a força poluente dos esgotos industriais e doméstico e para avaliar o oxigénio necessário à sua estabilização, o teor em matéria orgânica oxidável e a velocidade de oxidação. O CBO₅ é também um parâmetro muito utilizado para estimar o número de habitantes-equivalentes para além de verificar a qualidade do método de tratamento das águas residuais (*Memento Technique de L'Eau*, 1989; Metcalf & Eddy, 1991).

Para estimar a quantidade de CBO₅ afluente a uma ETAR, recorre-se ao valor da concentração da CBO₅ (g/m³) e ao caudal afluente. De acordo com a bibliografia, são produzidas diariamente 59g de CBO₅/ habitante. Com base neste valor e na quantidade de CBO₅ afluente, é possível estimar o número de habitantes (Lopes et al., 2014).

Concentração da Carência Química de Oxigênio (CQO)

A Carência Química de Oxigênio é a quantidade de oxigênio consumida na degradação da fração orgânica da amostra que é suscetível de ser oxidada por substâncias oxidáveis e minerais existentes na água (*Memento Technique de L'Eau*, 1989; Metcalf & Eddy, 1991).

Este parâmetro conjuntamente com o CBO₅ permite avaliar o grau de poluição das águas residuais, principalmente a presença de substâncias orgânicas biológicas resistentes e permite também a sua utilização para estimar o número de habitantes. Sabe-se que diariamente um habitante excretado corresponde a 128 g de CQO (Lopes et al., 2014).

2.5.1. Cálculo da concentração diária de cocaína

A determinação da concentração de cocaína é realizada a partir dos valores obtidos da concentração do metabolito benzoilecognina. Dado que o metabolito cocaína apenas 9% é excretado do organismo e apresenta uma baixa estabilidade nas águas residuais (Lopes et al., 2014; van Nuijs et al., 2012). Ou seja, o metabolito benzoilecognina é o selecionado nos cálculos, pois apresenta uma elevada excreção urinária (cerca de 43%) e uma boa estabilidade nas águas residuais (Castiglioni et al., 2008; van Nuijs et al., 2009).

A equação (1) representa a concentração de cocaína diária (van Nuijs, Mougel, et al., 2011):

$$Cocaína \left(\frac{mg}{dia} \right) = [Benzoilecognina] \left(\frac{ng}{L} \right) \times 10^{-6} \times Fluxo \left(\frac{L}{dia} \right) \times 2.77 \quad (1)$$

O fluxo refere-se ao caudal que afluí, à ETAR no dia da colheita. A constante 2.77 é um fator de correção que tem em consideração a excreção de BEG (é de 45%) e a razão de massas molares entre a droga e o seu resíduo nas águas residuais. No entanto, este fator de correção tem levantado algumas questões, tais como a ingestão de álcool em simultâneo com o consumo de cocaína (van Nuijs, Castiglioni, et al., 2011). Como é descrito na bibliografia, quando existe a associação da cocaína com o álcool, o seu metabolismo difere, levando a uma diminuição dos metabolitos BEG e EME, o que deve ser tido em conta no cálculo. Esta condição levou a um ajuste no fator de correção

que passou a ser de 3, o que traduz a redução da excreção do metabolito BEG (35%) (van Nuijs, Castiglioni, et al., 2011).

A equação (1) apresenta a quantidade de cocaína existente, em mg/dia, no entanto para uma melhor comparação de valores com outras regiões ou País é necessário apresentarmos este valor, em mg/dia/1000 habitantes. Ao resultado obtido, em mg/dia, divide-se pelo nº de habitantes abrangidos pela ETAR. Conforme anteriormente descrito, para determinar o nº de habitantes, recorre-se aos parâmetros analisados nas ETAR, ou seja, à concentração de azoto, fósforo, carência bioquímica de oxigénio (CBO₅) e a carência química de oxigénio (CQO) (Andrés-Costa, Rubio-López, Morales Suárez-Varela, & Pico, 2014; Lopes et al., 2014; van Nuijs, Mougel, et al., 2011).

Tendo em conta o consumo diário de cocaína pode-se determinar o número de doses consumidas, sabendo que 100 mg corresponde a uma dose de cocaína (Yargeau et al., 2014).

2.5.2. Cálculo da concentração diária de metanfetamina

O cálculo da concentração da metanfetamina, ao contrário da cocaína, é mais simples, pois esta é excretada sem sofrer alterações a nível do organismo, implicando que para determinar a sua concentração diária basta apenas considerar os valores de metanfetamina. Esta droga apresenta uma boa estabilidade a nível das águas residuais.

A equação (2) representa a concentração de metanfetamina diária (van Nuijs, Mougel, et al., 2011).

$$\text{Metanfetamina} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dia}} \right) = [\text{Metanfetamina}] \left(\frac{\text{ng}}{\text{L}} \right) \times 10^{-6} \times \text{Fluxo} \left(\frac{\text{L}}{\text{dia}} \right) \times 2.3 \quad (2)$$

O fluxo corresponde ao caudal da ETAR no dia da recolha. O valor 2.3 é um fator de correção que tem em consideração a excreção das metanfetaminas e a razão de massas molares entre a droga e o seu resíduo nas águas residuais (Klos et al., 2013; van Nuijs, Castiglioni, et al., 2011).

A equação (2) apresenta a quantidade de metanfetamina existente, em mg/dia, no entanto para uma melhor comparação dos valores com outras regiões ou País é geralmente apresentado este valor, em mg/dia/1000 habitantes. Sendo assim ao

resultado obtido, em mg/dia, divide-se este valor pelo n° de habitantes abrangidos pela ETAR.

Tendo em conta o consumo diário de metanfetamina pode determinar-se o número de doses consumidas, sabendo que 30 mg corresponde a uma dose de metanfetamina (Yargeau et al., 2014).

É de salientar que os cálculos para a determinação das doses são baseados na premissa de que a pureza da droga é de 100%. No entanto, como foi descrito anteriormente, as purezas das metanfetaminas e da cocaína encontram-se inferiores a 50%. Esta consideração pode alterar completamente o cálculo do número de consumidores, pois com a pureza a 100%, estimam-se menos consumidores comparativamente ao número real (Lopes et al., 2014).

2.5.3. Cálculo da concentração diária de metanfetamina e de cocaína tendo em conta a influência da estabilidade

Conforme foi descrito anteriormente, a estabilidade das substâncias ilícitas pode influenciar o valor obtido na estimativa. Para ultrapassar esta limitação, alguns estudos têm em consideração, nos cálculos das concentrações diárias, a estabilidade de cada substância. Sendo assim, alguns autores enunciam a seguinte equação (3) (Baker et al., 2014):

$$Load = conc. \times fluxo \times \left(\frac{100}{100 + Sta} \right) \times \left(\frac{100}{100 - Sorption} \right) \times \frac{1}{10^3} \quad (3)$$

Sendo que a concentração (ng/L), fluxo do afluente durante as 24 horas, o Sta corresponde à estabilidade dos compostos, em %. Os valores do STA e da *Sorption* apresentam-se na tabela 4 (Baker et al., 2014; Baker, Očenášková, Kvicálová, & Kasprzyk-Hordern, 2012; Zuccato et al., 2008).

Para determinar o consumo em mg/dia/1000 habitantes recorre-se à equação (4) (Baker et al., 2014):

$$Consumo = 1000 \times load \times \left(\frac{1}{excreção} \right) \times \left(\frac{MW_{par}}{MWDTR} \right) \times \left(\frac{1000}{Número\ de\ habitantes} \right) \quad (4)$$

Sendo que os valores para as parcelas de excreção, MW_{par} e MWDRT são valores fixos e tabelados (tabela 4).

Tabela 4: Parâmetros usados para o cálculo da concentração das substâncias ilícitas. Fonte: adaptado de Baker et al., 2014, 2012; Zuccato et al., 2008.

Substância	DTR	Sportion (%)	Estabilidade (%)	Excreção (%)	MW par/DTR
Cocaína	Cocaína	1.4	-7.7	1.53	1.00
	Benzoilecgonina	0.4	5.5	32.5	1.05
Metanfetamina	Metanfetamina	0.6	8.1	43	1.00

2.6. Valores reais da concentração de Cocaína e de Metanfetamina

Para avaliação da concentração de cocaína e de metanfetamina foram selecionados vários estudos recentes (2010-2014) que permitiram realizar uma análise crítica da situação em algumas cidades Europeias.

Tabela 5: Resultados das concentrações diárias de metanfetamina e cocaína (estudos selecionados 2010-2014).

Referência	País	Concentração de metanfetaminas (mg/dia/1000 habitantes)	Concentração de cocaína (mg/dia/1000 habitantes)
Lopes et al., 2014	Portugal (Lisboa)	Não foi investigada	382
Mackulak et al., 2014	Eslováquia (9 cidades)	146	34
Andrés-Costa et al., 2014	Espanha (Valência)	Não foi investigado	1270
Damien et al., 2014	Martinica e Caribe	Não foi investigado	429-3168
Vuori et al., 2014	Finlândia	0.87-47.5	0.05-6.82
Yargeau et al., 2014	Canadá (2 cidades)	54	1570
Van Nuijs et al., 2011	Bélgica (Bruxelas)	2	519
Klos et al., 2013	Polónia (Poznan)	0.53	Não foi investigado
Karolak et al., 2010	França (Paris)	Não foi investigado	10.9-127.3

Através da tabela 5 verifica-se que ao comparar as concentrações obtidas de cocaína e de metanfetamina, a cocaína apesar de ser mais antiga, ainda apresenta um grande consumo, em destaque nas cidades ocidentais e em algumas cidades do sul da Europa. A cocaína é uma das drogas estimulantes mais consumida a nível Europeu (14.1 milhões de adultos) e as anfetaminas (11.4 milhões de adultos) (EMCDDA, 2014b).

A metanfetamina é uma substância de abuso que é pouco consumida em Portugal, deste modo não tem apresentado relevância nos estudos realizados neste país.

No *National Report 2012* que retrata o consumo de diferentes substâncias de abuso em Portugal, a cocaína foi considerada a terceira substância mais consumida nos anos de 2001 (0.9%) e 2007 (1.9%). No entanto, em 2012 passou a ocupar a quarta posição (1.2%), tendo sido substituída pelo ecstasy. Saliente-se que, mais uma vez, a metanfetamina não está em destaque, pelas razões atrás apontadas (IDT, 2013).

Em todos os estudos verificou-se que o aumento de cocaína era mais visível durante o fim-de-semana, festivais musicais, natal e as férias da páscoa, o que prova que o consumo de cocaína está relacionado com a utilização num contexto recreativo (EMCDDA, 2014b; van Nuijs, Castiglioni, et al., 2011).

Segundo o Relatório Europeu de Drogas de 2014, foram publicados os resultados de um estudo sobre a pesquisa de metanfetamina a nível Europeu, ver figura 20. Verificou-se que o consumo da metanfetamina tem sido mais elevado em países como a República Checa e a Eslováquia. Conforme se pode verificar na tabela 5, a Eslováquia apresenta um aumento crescente do consumo de metanfetamina e é um dos únicos Países que apresenta uma concentração diária superior à cocaína.

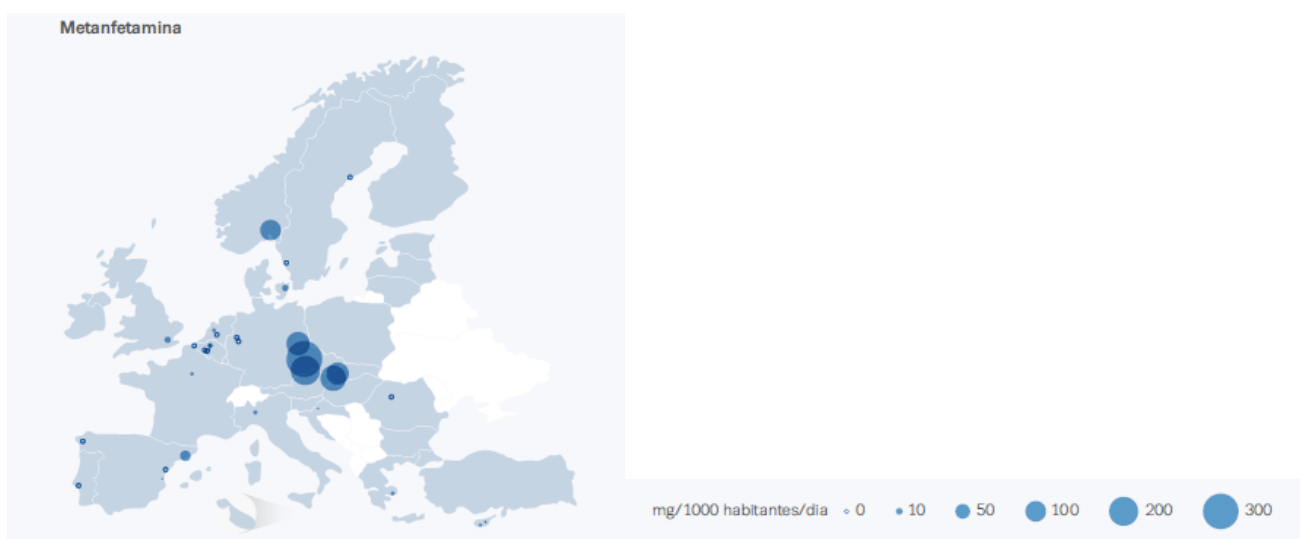


Figura 20: Metanfetamina presente nas águas residuais nas cidades Europeias em 2013. Fonte: EMCDDA, 2014b.

É de esperar que se observe na República Checa um maior número de consumidores, visto que é dos países da Europa que apresenta mais “laboratórios clandestinos” (EMCDDA, 2014a, 2014b; UNODC, 2014b).

Em 2010 foi criado um grupo (Sewage Analysis CORE group Europe- SCORE), constituído por técnicos altamente especializados, oriundos de vários países europeus incluindo Portugal, tendo como objetivo pesquisar o consumo de substâncias ilícitas através da análise em águas residuais. Este grupo organiza campanhas de monitorização, durante uma semana, e daí resultam relatórios que permitem avaliar, comparar e concluir os consumos (“Sewage Analysis Core group Europe” 2013).

Em suma, a cocaína continua a ser a segunda substância ilícita mais consumida em todo o mundo, seguida da canábis. A metanfetamina não apresenta grande impacto nos países da Europa, exceto na Eslováquia e na República Checa, cujos valores de consumo se encontram muito elevado.

3. Conclusão

A pesquisa das quantidades e tipo de substâncias psicoativas em águas residuais, tem vindo a ganhar cada vez mais relevância. A monitorização é realizada no afluente bruto das ETAR. Cada ETAR tem associada uma bacia de drenagem o que possibilita determinar o número de habitantes, através da população de cada zona, ou através dos parâmetros da gestão operacional, tais como: caudal, concentrações em azoto, em CBO, em fósforo e em CQO. A recolha nas ETAR também possibilita o controlo das amostras de forma segura. Por outro lado, não coloca em causa os princípios éticos, uma vez que garante um pleno anonimato.

A recolha das amostras é considerada uma etapa fundamental porque podem interferir vários fatores como: a estabilidade das substâncias psicoativas, e/ou a dos metabolitos nas águas residuais. Nesta perspetiva, torna-se imperativo caracterizar o local onde é feita a recolha, quando é feita a recolha (por exemplo: devem ser evitadas épocas de grande pluviosidade porque estas podem contribuir para a diluição das concentrações dos analitos), a conservação da amostra (temperatura e/ou acidificação) entre outros fatores.

Para análise das substâncias psicoativas e seus metabolitos, é necessário efetuar na amostra, um pré-tratamento. Este consiste na extração em fase sólida, pois a matriz das águas residuais é muito complexa o que vai interferir com a sensibilidade e reprodutibilidade do método de deteção. Relativamente à seleção do método de deteção das amostras não há consenso, no entanto, o método mais utilizado é a cromatografia líquida acoplada à espetrometria tandem (MS/MS).

O cálculo das concentrações, bem como das doses consumidas, requer vários parâmetros para o seu cálculo, tais como o caudal da ETAR, o número de habitantes e os fatores de estabilidade. Nos cálculos, também deve ser considerado o grau de pureza da droga, porque pode dar origem a falsos resultados, nomeadamente na estimativa do número de utilizadores. A pureza da metanfetamina e da cocaína, geralmente, não ultrapassa os 50%.

Através dos Relatórios Europeus e dos diversos estudos efetuados às águas residuais, conclui-se que na Europa a cocaína é a droga mais consumida, comparativamente com a

Conclusão

metanfetamina. Contudo, nalguns países europeus de leste, verifica-se que a procura e consumo da metanfetamina está a aumentar e a ser preferida em relação à cocaína. Em Portugal o seu consumo é pouco expressivo.

Em suma, este tipo de estudos de curta duração, permitem caracterizar epidemiologicamente o consumo de substâncias psicoativas, através de um processo pouco comum que são as águas residuais. Através destas, é possível obter muita informação epidemiológica relevante, praticamente em tempo real, sobre os perfis de consumos, as quantidades e o tipo de droga utilizadas pelas populações, bem como apoiar na investigação do tráfico de droga.

Bibliografia

Albero, B., Sánchez-Brunete, C., Miguel, E., Aznar, R., e Tadeo, J. L. (2014). Determination of selected pharmaceutical compounds in biosolids by supported liquid extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography. A*, 1336, 52–8. doi:10.1016/j.chroma.2014.02.020

Andrés-Costa, M. J., Rubio-López, N., Morales Suárez-Varela, M., e Pico, Y. (2014). Occurrence and removal of drugs of abuse in Wastewater Treatment Plants of Valencia (Spain). *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 194C, 152–162. doi:10.1016/j.envpol.2014.07.019

Baker, D. R., Barron, L., & Kasprzyk-Hordern, B. (2014). Illicit and pharmaceutical drug consumption estimated via wastewater analysis. Part A: chemical analysis and drug use estimates. *The Science of the Total Environment*, 487, 629–41. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.107

Baker, D. R., Očenášková, V., Kvicálova, M., e Kasprzyk-Hordern, B. (2012). Drugs of abuse in wastewater and suspended particulate matter--further developments in sewage epidemiology. *Environment International*, 48, 28–38. doi:10.1016/j.envint.2012.06.014

Bijlama, L., Sancho, J. V., Pitarch, E., Ilbáñez, M. e Hernández, F. (2009) Simultaneous ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of amphetamines and amphetamine-like stimulants, cocaine and its metabolites, and cannabis metabolite in surface water and urban wastewater. *Journal Chromatography A*, 1216, 3078-3089.

Caldwell, J., Dring, L. G., e Williams, R. T. (1972). Metabolism of (¹⁴C)methamphetamine in man, the guinea pig and the rat. *The Biochemical Journal*, 129(1), 11–22. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1174036&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Castiglioni, S., Bagnati, R., Melis, M., Panawennage, D., Chiarelli, P., Fanelli, R., e Zuccato, E. (2011). Identification of cocaine and its metabolites in urban wastewater and comparison with the human excretion profile in urine. *Water Research*, 45(16), 5141–50. doi:10.1016/j.watres.2011.07.017

Castiglioni, S., Zuccato, E., Chiabrando, C., Fanelli, R., e Bagnati, R. (2008). Mass spectrometric analysis of illicit drugs in wastewater and surface water. *Mass Spectrometry Reviews*, 27(4), 378–94. doi:10.1002/mas.20168

Castiglioni, S., Zuccato, E., Crisci, E., Chiabrando, C., Fanelli, R., e Bagnati, R. (2006). Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 78(24), 8421–9. doi:10.1021/ac061095b

Chen, C., Kostakis, C., Irvine, R. J., Felgate, P. D., e White, J. M. (2013). Evaluation of pre-analysis loss of dependent drugs in wastewater: stability and binding assessments. *Drug Testing and Analysis*, 5(8), 716–21. doi:10.1002/dta.1428

Cruickshank, C. C., e Dyer, K. R. (2009). A review of the clinical pharmacology of methamphetamine. *Addiction (Abingdon, England)*, 104(7), 1085–99. doi:10.1111/j.1360-0443.2009.02564.x

Cunha, P. (2010). *Farmacognosia e Fitoquímica* (3^a ed., pp. 521–523). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.

Damien, D. a, Thomas, N., Hélène, P., Sara, K., e Yves, L. (2014). First evaluation of illicit and licit drug consumption based on wastewater analysis in Fort de France urban area (Martinique, Caribbean), a transit area for drug smuggling. *The Science of the Total Environment*, 490, 970–8. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.05.090

EMCDDA. (2008). Assessing illicit drugs in wastewater. Potencial and limitations of new monitoring approach, 9. Insights. p. 1-106

EMCDDA. (2014a). Exploring methamphetamine trends in Europe. *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction*, p. 1–10.

EMCDDA. (2014b). Relatório Europeu sobre Drogas 2014. *Observatório Europeu da Droga e da Toxicodependência* p.11-71.

GLS Sampler-Installation and Operation Guide (2013), Teledyne Isco.

Graziani, M., Nencini, P., e Nisticò, R. (2014). Genders and the concurrent use of cocaine and alcohol: Pharmacological aspects. *Pharmacological Research : The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 87, 60–70. doi:10.1016/j.phrs.2014.06.009

Hall, W., Prichard, J., Kirkbride, P., Bruno, R., Thai, P., e Gartner, C. (2012). An analysis of ethical issues in using wastewater analysis to monitor illicit drug use. *Addiction*, 107, 1767–1773.

IDT (2013). 2013 National Report (2012 data) To the EMCDDA by the Reitox Nacional Focal Point. "Portugal": new developments, trends and in-depth information on selected issues. p.27-35.

Jatlow, P. (1988). Cocaine: analysis, pharmacokinetics, and metabolic disposition. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 61(2), 105–13. Disponível em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2590277&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Karolak, S., Nefau, T., Bailly, E., Solgadi, A., e Levi, Y. (2010). Estimation of illicit drugs consumption by wastewater analysis in Paris area (France). *Forensic Science International*, 200, 153–160.

Klos, J., Nowicki, P., e Kokot, Z. (2013). Pilot Study of the Estimation of Amphetamines Consumption in the Polish City of Poznan. *Forensic Research*, 4(5), 2157–7145.

Kolbrich, E. a, Barnes, A. J., Gorelick, D. a, Boyd, S. J., Cone, E. J., e Huestis, M. a. (2006). Major and minor metabolites of cocaine in human plasma following controlled subcutaneous cocaine administration. *Journal of Analytical Toxicology*, 30(8), 501–10. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17132243>

Krolukowski, A. M., e Koyfman, A. (2014). Methamphetamine and MDMA: “Safe” drugs of abuse. *African Journal of Emergency Medicine*, 4(1), 34–38. doi:10.1016/j.afjem.2013.01.005

Laizure, S. C., Madrell, T., Gades, N.M., e Paker, R.B. (2003). COCAETHYLENE METABOLISM AND INTERACTION WITH COCAINE AND ETHANOL: ROLE OF CARBOXYLESTERASES ABSTRACT: *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 31(01), 16–20.

Li, B., Wang, Y., Zhang, Y., e Liu, M. (2014). Effects of Ethanol on the Toxicokinetics of Methamphetamine in Rabbits, 13(January 2012), 329–336.

Lopes, A., Silva, N., Bronze, M. R., Ferreira, J., e Morais, J. (2014). Analysis of cocaine and nicotine metabolites in wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Cross abuse index patterns on a major community. *The Science of the Total Environment*, 487, 673–80. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.10.042

Memento Technique de L'Eau. (1989) (1st ed.). Degremont.

Metcalf, & Eddy. (1991). *Wastewater Engineering* (3rd ed.). McGraw-Hill internacional Editions.

NIDA. (2007). Abuso y Adicción a la Metanfetamina. *Institutes Nacional Sobre El Abuso de Droga*, p.1-8.

NIDA. (2009). La metanfetamina. *National Institutes on Drug Abuse*.p.1-4.

NIH. (2008). Research Report Series-Cocaine. *National Institute on Drug Abuse*. Disponível em: <http://www.drugabuse.gov/sites/default/files/cocainerrrs.pdf>

Orlando, R. M., Cordeiro, D. D., Elisa, A., Mathias, B., Rezende, K. R., Gil, E. D. S., e Al, E. T. (2009). Pré-Tratamento de Amostras. *Vita et Sanitas*, 122–139.

Ort, C., van Nuijs, A. L. N., Berset, J.-D., Bijlsma, L., Castiglioni, S., Covaci, A., ... Thomas, K. V. (2014). Spatial differences and temporal changes in illicit drug use in Europe quantified by wastewater analysis. *Addiction (Abingdon, England)*, 109(8), 1338–52. doi:10.1111/add.12570

Pedrouzo, M., Borrull, F., Pocurull, E., e Marcé, R. M. (2011). Drugs of abuse and their metabolites in waste and surface waters by liquid chromatography-tandem mass

spectrometry. *Journal of Separation Science*, 34(10), 1091–101. doi:10.1002/jssc.201100043

Reid, M. J., Baz-Lomba, J. a, Ryu, Y., e Thomas, K. V. (2014). Using biomarkers in wastewater to monitor community drug use: a conceptual approach for dealing with new psychoactive substances. *The Science of the Total Environment*, 487(0349), 651–8. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.12.057

Schifano, F., Corkery, J. M., e Cuffolo, G. (2007). Smokable (“ice”, “crystal meth”) and non smokable amphetamine-type stimulants: clinical pharmacological and epidemiological issues, with special reference to the UK. *Annali dell’Istituto Superiore Di Sanità*, 43(1), 110–5. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17536161>

Sewage Analysis Core group Europe (SCORE) (2013). Norsk institutt for vannforskning, Consultado a 24 de outubro. Disponível em: www.niva.no/SCORE.

Simtejo-Grupo águas de Portugal (n.d.) Subsistema de Beirolas, Consultados a 1 de outubro. Disponível em: http://editorial.up.pt/anexo/ficheiro/1/Normas_de_edicao.pdf.

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F.J., e Crouch, S.T. (2007). *Fundamentos de Química Analítica* (p. 798-943). São Paulo: Thomson learning.

Stephen, J. K. (2008). Pharmacologic mechanism of crystal meth. *Canadian Medical Association*, 178(13), 6–9.

Thai, P. K., Jiang, G., Gernjak, W., Yuan, Z., Lai, F. Y., e Mueller, J. F. (2014). Effects of sewer conditions on the degradation of selected illicit drug residues in wastewater. *Water Research*, 48(0), 538–47. doi:10.1016/j.watres.2013.10.019

Thomas, K. V., Bijlsma, L., Castiglioni, S., Covaci, A., Emke, E., Grabic, Roman...Voogt, P. (2012). Comparing illicit drug use in 19 European cities through sewage analysis. *Science of the Total Environment*, 432, 432-439.

UNODC. (2014a). Estado Plurinacional de Bolivia Monitoreo de Cultivos de Coca 2013. *Oficina de Las Naciones Unidas Contra La Droga Y El Delito*.

UNODC. (2014b). Global Synthetic Drugs Assessment. *United Nations Office on Drugs and Crime*, p.1-88.

Van Nuijs, A. L. N., Abdellati, K., Bervoets, L., Blust, R., Jorens, P. G., Neels, H., e Covaci, A. (2012). The stability of illicit drugs and metabolites in wastewater, an important issue for sewage epidemiology? *Journal of Hazardous Materials*, 239-240, 19–23. doi:10.1016/j.jhazmat.2012.04.030

Van Nuijs, A. L. N., Castiglioni, S., Tarcomnicu, I., Postigo, C., Lopez de Alda, M., Neels, H., ... Covaci, A. (2011). Illicit drug consumption estimations derived from wastewater analysis: a critical review. *The Science of the Total Environment*, 409(19), 3564–77. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.05.030

Van Nuijs, A. L. N., Gheorghe, A., Jorens, P. G., Maudens, K., Neels, H., & Covaci, A. (2014). Optimization, validation, and the application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of new drugs of abuse in wastewater. *Drug Testing and Analysis*, 6(7-8), 861–7. doi:10.1002/dta.1460

Van Nuijs, A. L. N., Mougel, J.-F., Tarcomnicu, I., Bervoets, L., & Blust, R. (2011). Sewage epidemiology- A real-time approach to estimate the consumption of illicit drugs in Brussels, Belgium. *Environment International*, 37, 612–621.

Van Nuijs, A. L. N., Pecceu, B., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P. G., ... Covaci, A. (2009). Can cocaine use be evaluated through analysis of wastewater? A nation-wide approach conducted in Belgium. *Addiction (Abingdon, England)*, 104(5), 734–41. doi:10.1111/j.1360-0443.2009.02523.x

Vuori, E., Happonen, M., Gergov, M., Nenonen, T., Järvinen, A., Ketola, R. a, & Vahala, R. (2014). Wastewater analysis reveals regional variability in exposure to abused drugs and opioids in Finland. *The Science of the Total Environment*, 487, 688–95. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.010

Waters. (n.d.). SPE OASIS. Consultado a 23 de setembro, 2014, Disponível em: http://www.waters.com/waters/pt_PT/Oasis-Sample-ExtractionProducts/nav.htm?cid=513209&&locale=pt_PT

Yargeau, V., Taylor, B., Li, H., Rodayan, A., & Metcalfe, C. D. (2014). Analysis of drugs of abuse in wastewater from two Canadian cities. *The Science of the Total Environment*, 487, 722–30. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.094

Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Bagnati, R., & Fanelli, R. (2008). Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environmental Health Perspectives*, 116(8), 1027–32. doi:10.1289/ehp.11022

Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Calamari, D., Bagnati, R., Schiarea, S., & Fanelli, R. (2005). Environmental Health : A Global Cocaine in surface waters : a new evidence-based tool to monitor community drug abuse, 7, 1–7.