

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE**

Letícia Birk

**Desenvolvimento de estratégias baseadas na
Química Analítica Verde para análises
toxicológicas: da construção de
metodologias à aplicação na rotina
laboratorial**

UFCSPA
**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2025**

Letícia Birk

**Desenvolvimento de estratégias baseadas na
Química Analítica Verde para análises
toxicológicas: da construção de
metodologias à aplicação na rotina
laboratorial**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde da Universidade Federal
de Ciências da Saúde de Porto Alegre como
requisito para a obtenção do grau de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Tiago Franco de Oliveira
Coorientadora: Profa. Dra. Sarah Carobini
Werner de Souza Eller Franco de Oliveira

**Porto Alegre
2025**

Catálogo na Publicação

Birk, Letícia

Desenvolvimento de estratégias baseadas na Química Analítica Verde para análises toxicológicas: da construção de metodologias à aplicação na rotina laboratorial / Letícia Birk. -- 2025.

124 f. : il. ; 30 cm.

Tese (doutorado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2025.

Orientador(a): Tiago Franco de Oliveira ;
coorientador(a): Sarah Carobini Werner de Souza Eller
Franco de Oliveira.

1. Química Analítica Verde. 2. Análises toxicológicas.
3. Biossorventes. 4. Substâncias psicoativas. 5. Técnicas instrumentais. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primariamente, aos meus pais Maria Alice e José Claudio por serem meus maiores incentivadores e admiradores. Obrigada pelo possível e pelo impossível que vocês sempre fizeram por mim. Também gostaria de agradecer ao meu namorado Lucas, por ser meu ponto de equilíbrio e por acreditar em mim quando eu mesma não acreditei. Amo muito vocês.

Agradeço aos meus orientadores Prof. Tiago e Profa. Sarah por toda confiança depositada em mim durante este período, pelo incentivo contínuo e pela parceria. Estendo meu agradecimento ao Grupo de Pesquisa em Espectrometria de Massas, em especial aos meus colegas Bruno e Patrícia, que me acompanharam por grande parte desta jornada. Sou muito grata de ter vocês como amigos que com certeza vou levar para a vida inteira.

Também agradeço à minha orientadora durante o período sanduíche, Profa. Lorna, e todos os integrantes do Leverhulme Research Centre for Forensic Science da Universidade de Dundee. Obrigada por terem me recebido tão bem e terem feito da Escócia minha segunda casa.

Agradeço a todos meus amigos que “me cederam” ao doutorado por estes quatro anos, por me confortarem quando preciso e por comemorarem minhas conquistas comigo.

Também agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, pela oportunidade e pela formação, em especial à Profa. Eliane que esteve sempre presente na minha caminhada. Além disso agradeço à UFCSPA por ter sido minha casa pelos últimos dez anos.

Agradeço a CAPES pela bolsa recebida e à FAPERGS pelo fomento. Além disso, agradeço aos parceiros que tornaram este trabalho possível, o DPL do IGP-RS e o CIT-RS. Um agradecimento especial à Suyanne, que me apresentou o resíduo de malte e me auxiliou durante as análises.

A todos que tive o privilégio de conhecer durante este período e que sempre torceram por mim.

Meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

As análises toxicológicas são parte indispensável em casos de investigação clínica e forense relacionados à exposição a medicamentos e às drogas de abuso. Atualmente, os métodos analíticos devem considerar os conceitos da Química Analítica Verde (GAC) a fim de promover práticas sustentáveis. Neste trabalho, buscou-se revisar a literatura existente na aplicação da GAC em análises toxicológicas, observando-se que as principais estratégias envolvem o uso de técnicas de preparo de amostra ambientalmente amigáveis e a adoção de materiais alternativos. Dessa forma, uma metodologia baseada em microextração em fase sólida dispersiva (DSPME) com posterior análise por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas *em tandem* (LC-MS/MS) para a análise de catinonas sintéticas e outras drogas em sangue total foi desenvolvida. O sorvente utilizado na técnica de DSPME foi o pó de cortiça, inédito na aplicação a amostras de sangue. Posteriormente, o método foi aplicado a amostras de sangue *post mortem*, provenientes do Departamento de Perícias Laboratoriais do Instituto Geral de Perícias do Rio Grande do Sul. Outra metodologia baseada em DSPME foi desenvolvida para a determinação de antidepressivos em amostras de urina, com posterior análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS). Esta metodologia utiliza o resíduo de malte (BSG) como sorvente, uma aplicação inédita deste material, sendo aplicada a amostras de urina do Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul. Além disso, a possível variabilidade dos resultados quando utilizado o BSG proveniente de diferentes origens foi investigada. Adicionalmente, foi realizada a análise de custo do material em comparação com opções comerciais. Também foi desenvolvida uma metodologia para a determinação dos isômeros do hexahidrocanabinol (HHC), 9R-HHC e 9S-HHC em amostras de fluido oral baseado na extração por QuEChERS acoplado a GC-MS. Foi realizada a investigação da estabilidade estendida do 9R-HHC e 9S-HHC nas amostras de fluido oral e em soluções. Todos os métodos foram validados de acordo com diretrizes internacionais para que sua confiabilidade fosse atestada. De maneira geral, pode-se comprovar a aplicação dos princípios da GAC nas metodologias, com foco na simplificação dos processos, substituição de reagentes potencialmente tóxicos, utilização de menores volumes de amostra e reagentes e redução do custo total. Estes achados evidenciam o potencial sustentável que as técnicas verdes possuem, sem perda de eficiência, sendo alternativas interessantes para a rotina laboratorial em toxicologia.

Palavras chave: Química Analítica Verde, Análises toxicológicas, Biossorventes, Drogas de abuso, Antidepressivos, Substâncias Psicoativas, LC-MS/MS, GC-MS.

ABSTRACT

Toxicological analyses crucial components of clinical and forensic investigations related to the intake of pharmaceuticals and drugs of abuse. Currently, analytical methods must consider the concepts of Green Analytical Chemistry (GAC) to promote sustainable practices. This study aimed to review the current literature on the application of GAC in toxicological analyses. It was found that the most prominent strategies involved the implementation of green sample preparation techniques and the use of alternative materials. Accordingly, a methodology based on dispersive solid phase microextraction (DSPME) coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for the determination of synthetic cathinones and other psychoactive substances in whole blood was developed. The sorbent employed in the DSPME procedure was cork powder, applied for the first time to blood samples. Subsequently, the method was applied to *post mortem* blood samples from the Departamento de Perícias Laboratoriais do Instituto Geral de Perícias do Rio Grande do Sul. Another methodology based on DSPME was developed for the determination of antidepressants in urine samples, with analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). This methodology employs brewer's spent grain (BSG) as sorbent, a novel application of this material. The method was applied to the analyses of urine samples from the Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul. The variability of results obtained using BSG from different sources was also evaluated. Additionally, a cost analysis of the BSG material was performed and compared with commercial sorbents. Also, a methodology was developed for the determination of hexahydrocannabinol (HHC) isomers, 9R-HHC and 9S-HHC, in oral fluid samples based on QuEChERS extraction coupled to GC-MS. The long-term stability of 9R-HHC and 9S-HHC in oral fluid samples and solutions was investigated. All methods were validated according to international guidelines to ensure their reliability. Overall, the application of GAC principles was demonstrated across the proposed methods, with emphasis on process simplification, replacement of hazardous reagents, reduced consumption of sample and solvents, and cost reduction. These findings demonstrate the sustainable potential of green techniques, without loss of analytical efficiency, and are interesting alternatives for toxicological routine laboratories.

Keywords: Green Analytical Chemistry, Toxicological analyses, Biosorbents, Drugs of abuse, Antidepressants, Psychoactive substances, LC-MS/MS, GC-MS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas químicas dos antidepressivos avaliados neste estudo	17
Figura 2 – Estruturas químicas das drogas sintéticas clássicas	22
Figura 3 – Estrutura química base das catinonas sintéticas.....	26
Figura 4 – Estruturas químicas dos isômeros R e S do hexahidrocanabinol.....	30
Figura 5 – Etapas do procedimento da extração em fase sólida dispersiva.....	47
Figura 6 – Visualização da estrutura da cortiça nos diferentes planos de corte	54
Figura 7 – Imagens de microscopia eletrônica que mostram a estrutura porosa do BSG.	58

LISTA DE ABREVIATURAS

ADT	Antidepressivo tricíclico
AGREE	<i>Analytical Greenness calculator</i>
BAGI	<i>Blue Applicability Grade Index</i>
BA _μ E	Microextração por barra adsorptiva, do inglês: <i>bar adsorptive microextraction</i>
BSG	Resíduo de malte, do inglês: <i>brewer's spent grain</i>
C ₁₈	Octadecilsilano
CB	Receptor canabinoide
CBD	Canabidiol
CHEMS-1	<i>Chemical Hazard Evaluation for Management Strategies</i>
CIT-RS	Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul
D- _μ SPE	Extração em fase micro-sólida dispersiva, do inglês: <i>dispersive micro solid phase extraction</i>
DES	Solventes eutéticos profundos, do inglês: <i>deep eutectic solvents</i>
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês: <i>dispersive liquid-liquid microextraction</i>
DPX	Extração em ponteiros descartáveis, do inglês: <i>disposable pipette extraction</i>
dSPE	Extração em fase sólida dispersiva, do inglês: <i>dispersive solid phase extraction</i>
DSPME	Microextração em fase sólida dispersiva, do inglês: <i>dispersive solid phase microextraction</i>
EI	Ionização por elétrons, do inglês: <i>electron ionization</i>
ESI	Ionização por electrospray, do inglês: <i>electrospray ionization</i>
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GAC	Química analítica verde, do inglês: <i>green analytical chemistry</i>
GAPI	<i>Green Analytical Procedure Index</i>
GC	Cromatografia gasosa, do inglês: <i>gas chromatography</i>
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, do inglês: <i>gas chromatography-mass spectrometry</i>
GHB	Ácido gama-hidroxibutírico
HF-LPME	Microextração em fase líquida suportada por fibra oca, do inglês <i>hollow fiber liquid phase microextraction</i>
HHC	Hexahidrocanabinol
HHMA	3,4-dihidroximetanfetamina

HILIC	Cromatografia de interação hidrofílica
IL	Líquido iônico, do inglês: <i>ionic liquid</i>
ISRS	Inibidores seletivos da receptação de serotonina
ISRSN	Inibidores seletivos da receptação de serotonina e norepinefrina
LC	Cromatografia líquida, do inglês: <i>liquid chromatography</i>
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, do inglês: <i>liquid chromatography-mass spectrometry</i>
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem, do inglês: <i>liquid chromatography-tandem mass spectrometry</i>
LLE	Extração líquido-líquido, do inglês: <i>liquid-liquid extraction</i>
LNUD	Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira
LSD	Dietilamida do ácido lisérgico
MAO	Monoaminoxidase
MDA	3,4-metilenodioxianfetamina
MDMA	3,4-metilenodioximetanfetamina
MEPS	Microextração por sorvente empacotado, do inglês: <i>microextraction by packed sorbent</i>
MIP	Polímeros molecularmente impressos, do inglês: <i>molecularly imprinted polymers</i>
MOF	Estruturas metalorgânicas, do inglês: <i>metal organic frameworks</i>
MRM	Monitoramento de reações múltiplas, do inglês: <i>multiple reaction monitoring</i>
MS	Espectrometria de massas, do inglês: <i>mass spectrometry</i>
NADES	Solventes eutéticos profundos naturais, do inglês: <i>natural deep eutectic solvents</i>
NP	Nanopartícula
NSP	Novas substâncias psicoativas
PMK	Piperonil metil cetona
PSA	Amina primária-secundária
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe</i>
SCRA	Agonistas sintéticos dos receptores canabinoides
SIM	Monitoramento de íon único, do inglês: <i>single ion monitoring</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
SPE	Extração em fase sólida, do inglês: <i>solid phase extraction</i>
SPME	Microextração em fase sólida, do inglês: <i>solid-phase microextraction</i>
SRM	Monitoramento de única reação, do inglês: <i>single reaction monitoring</i>
Δ^8 -THC	Δ^8 -tetra-hidrocanabinol

Δ^9 -THC Δ^9 -tetra-hidrocanabinol

UNODC Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime, do inglês: *United Nations Office of Drug and Crime*

SUMÁRIO

1 REFERENCIAL TEÓRICO	13
1.1 Análises toxicológicas	13
1.1.1 Analitos de interesse toxicológico	13
1.1.1.1 Antidepressivos	13
1.1.1.2 Drogas de abuso	19
1.1.1.2.1 Drogas sintéticas clássicas	20
1.1.1.2.1 Novas substâncias psicoativas	24
1.1.2 Matrizes biológicas	31
1.1.3 Preparo de amostra para análises toxicológicas	34
1.1.4 Técnicas instrumentais	36
1.2 Química Analítica Verde	39
1.2.1 Técnicas de preparo de amostra verdes	41
1.2.1.1 QuEChERS	44
1.2.1.1 Extração em fase sólida dispersiva	46
1.2.2 Materiais alternativos e biossorventes	49
1.2.2.1 Cortiça	52
1.2.2.2 Resíduo de malte	56
1.2.3 Ferramentas para avaliação do perfil verde	60
2 OBJETIVOS	64
2.1 Objetivo Geral	64
2.2 Objetivos Específicos	64
3 ARTIGOS	66
3.1 Artigo I	66
3.2 Artigo II	91
3.3 Artigo III	92
3.4 Artigo IV	93

3.5 Artigo V	94
4 CONCLUSÃO.....	95
5 REFERÊNCIAS	96
ANEXOS	110
ANEXO A – Termo do Comitê de Ética I	110
ANEXO B – Termo do Comitê de Ética II	114

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Análises toxicológicas

As análises toxicológicas são de relevância essencial para a investigação de casos relacionados à exposição a agentes tóxicos, frequentemente, xenobióticos. Os resultados obtidos nas análises são utilizados para a elucidação do papel que um xenobiótico exerce em determinados cenários. No âmbito da toxicologia clínica e forense, os principais cenários que fazem uso da análise toxicológicas são a determinação de intoxicações, a investigação *post mortem* de óbitos potencialmente relacionados a substâncias, a avaliação da direção sob a influência de drogas, a testagem de substâncias no ambiente de trabalho, a utilização de potencializadores de performance ou *doping*, e a investigação de crimes facilitados por drogas. Dessa maneira, as análises auxiliam na resolução clínica dos casos ou nas implicações legais que o consumo de substâncias pode incorrer (Dinis-Oliveira; Vieira; Magalhães, 2016; Peters *et al.*, 2017).

O método mais adequado a ser utilizado em uma análise toxicológica depende diretamente do objetivo da investigação e das condições estruturais e financeiras do laboratório. Uma vez definidos estes dois fatores, será possível estabelecer elementos-chave da análise, como os analitos a serem investigados, o tipo de matriz biológica empregada na análise e as técnicas laboratoriais que serão utilizadas, tanto para o preparo da amostra quanto para a posterior análise instrumental. A interpretação dos achados também irá depender destes elementos, visto que cada tipo de analito, matriz ou técnica utilizada terá suas particularidades e suas limitações (Moffatt; Osselton; Widdop, 2011; Peters *et al.*, 2017).

1.1.1 Analitos de interesse toxicológico

1.1.1.1 Antidepressivos

Os medicamentos são uma abrangente classe de substâncias de importância toxicológica. Apesar de seu uso terapêutico, os medicamentos são frequentemente encontrados em casos de intoxicação, sendo eles fatais ou não fatais, mas que podem acarretar em graves sequelas como falência renal, hepática, pulmonar e problemas cognitivos (Cowans *et al.*, 2023). As intoxicações por medicamentos são usualmente divididas em não-intencionais e intencionais. As não-intencionais ocorrem principalmente com crianças ou por erro terapêutico, quando o medicamento possui uma estreita janela terapêutica. Já as intencionais, são uma forma

de automutilação que podem resultar em suicídios (Azab *et al.*, 2016; Cowans *et al.*, 2023). O tipo de medicamento envolvido nas intoxicações irá mudar conforme fatores locais como a disponibilidade para compra e o custo para a aquisição. Em sua maioria, as substâncias mais frequentemente envolvidas são os analgésicos, os quais apresentam prescrição excessiva em diversos países e, por muitas vezes, podem ser adquiridos sem receita médica, sendo de fácil disponibilidade. Adicionalmente, há uma grande prevalência de fármacos psicoativos, como antidepressivos e benzodiazepínicos, visto que pacientes em tratamento para transtornos psiquiátricos possuem fácil acesso a estas classes de fármacos (Albano *et al.*, 2022; Azab *et al.*, 2016; Cowans *et al.*, 2023).

De acordo com dados do relatório anual do Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (CIT-RS), no ano de 2023 os medicamentos representaram o principal agente toxicológico. Os medicamentos também foram considerados os principais agentes de exposição, representando 32,9% dos casos (n=10.634) atendidos pelo serviço. As principais circunstâncias envolvidas com a intoxicação por medicamentos foram as tentativas de suicídio (71%), seguido por acidentes individuais (16%), onde a exposição ocorre de forma não-intencional. Em relação à idade dos casos com medicamentos, a maioria ocorreu na faixa etária dos 20 aos 29 anos. Em relação ao gênero, 69,2% eram mulheres, 30,6% eram homens e 0,1% não identificados. Entre os medicamentos, os principais grupos identificados foram os antidepressivos (19,8%), os benzodiazepínicos (19,2%), os analgésicos/antipiréticos (10,3%), os neurolépticos (9,6%) e os anticonvulsivantes (5,9%) (Rio Grande do Sul, 2024).

Os antidepressivos são uma classe de fármacos empregados no tratamento da depressão. É estimado que mundialmente, cerca de 280 milhões de pessoas sofram com depressão (WHO, 2023). Além disso, as desordens depressivas são consideradas como a maior causa de perda de saúde, sem consequências fatais (Luo *et al.*, 2020). Dessa forma, o uso de antidepressivos vem aumentando em diversas populações, associado também com um aumento do uso continuado destes medicamentos na forma de tratamentos de longo prazo (Brody; Gu, 2020; Luo *et al.*, 2020; Noordam *et al.*, 2015). De forma geral, a população com maior prevalência de uso de antidepressivos são as mulheres, na faixa etária dos 40 aos 49 anos (Noordam, 2015; Read; Williams, 2018). Além disso, os antidepressivos vêm sendo utilizados para outras indicações como ansiedade, dor neuropática e desordens do sono (González-López *et al.*, 2015; Noordam *et al.*, 2015).

O tratamento da depressão é realizado dentro do cuidado primário no sistema de saúde, e a terapia medicamentosa com antidepressivo único é a primeira linha de intervenção (González-López *et al.*, 2015). A escolha do antidepressivo ideal para cada paciente deve ser

realizada com base em fatores relacionados ao paciente como os sintomas exibidos, a sua preferência, seu histórico de tratamento e a presenças de outras comorbidades psiquiátricas, e fatores relacionados ao medicamento como o perfil de segurança, os efeitos adversos relacionados e o custo (Marasine *et al.*, 2021). Apesar do tratamento com antidepressivos ser a primeira escolha para manejo da depressão, cerca de $\frac{1}{3}$ a $\frac{1}{2}$ dos pacientes não respondem de maneira adequada ao mesmo. Além disso, os efeitos terapêuticos dos principais antidepressivos só começam a ser notados entre 4 a 12 semanas do início do tratamento, o que dificulta a aceitabilidade do paciente (Hillhouse; Porter, 2015; O’Leary; Dinan; Cryan, 2015).

As primeiras substâncias a serem utilizadas como antidepressivos foram compostos inibidores da monoaminoxidase (MAO). Seu uso foi realizado com base na teoria das monoaminas, que postula que pacientes com depressão possuem concentrações diminuídas dos neurotransmissores dopamina, norepinefrina e serotonina. Dessa maneira, a inibição da MAO impediria a degradação dos neurotransmissores citados, aumentando sua concentração na fenda sináptica (Harmer; Duman; Cowen, 2017; Hillhouse; Porter, 2015). Na década de 60, com a síntese da imipramina, uma nova classe de antidepressivos era desenvolvida, os chamados antidepressivos tricíclicos (Pereira; Hiroaki-Sato, 2018). Os antidepressivos tricíclicos (ATCs) recebem este nome por conta de sua estrutura química, contendo um núcleo com três anéis aromáticos e uma cadeia lateral alifática, que varia conforme a molécula (Glauser, 2000). As moléculas dos ATCs são rapidamente absorvidas no trato gastrointestinal após administração oral, com pico de concentração plasmática entre 2 a 8 horas. A maior parte dos ATCs se distribuem no plasma de forma conjugada com proteínas plasmáticas. A biotransformação ocorre pelo sistema do citocromo P450 e após processos de desmetilação, hidroxilação e conjugação, são excretados na urina pelo sistema renal (Gillman, 2007; Glauser, 2000).

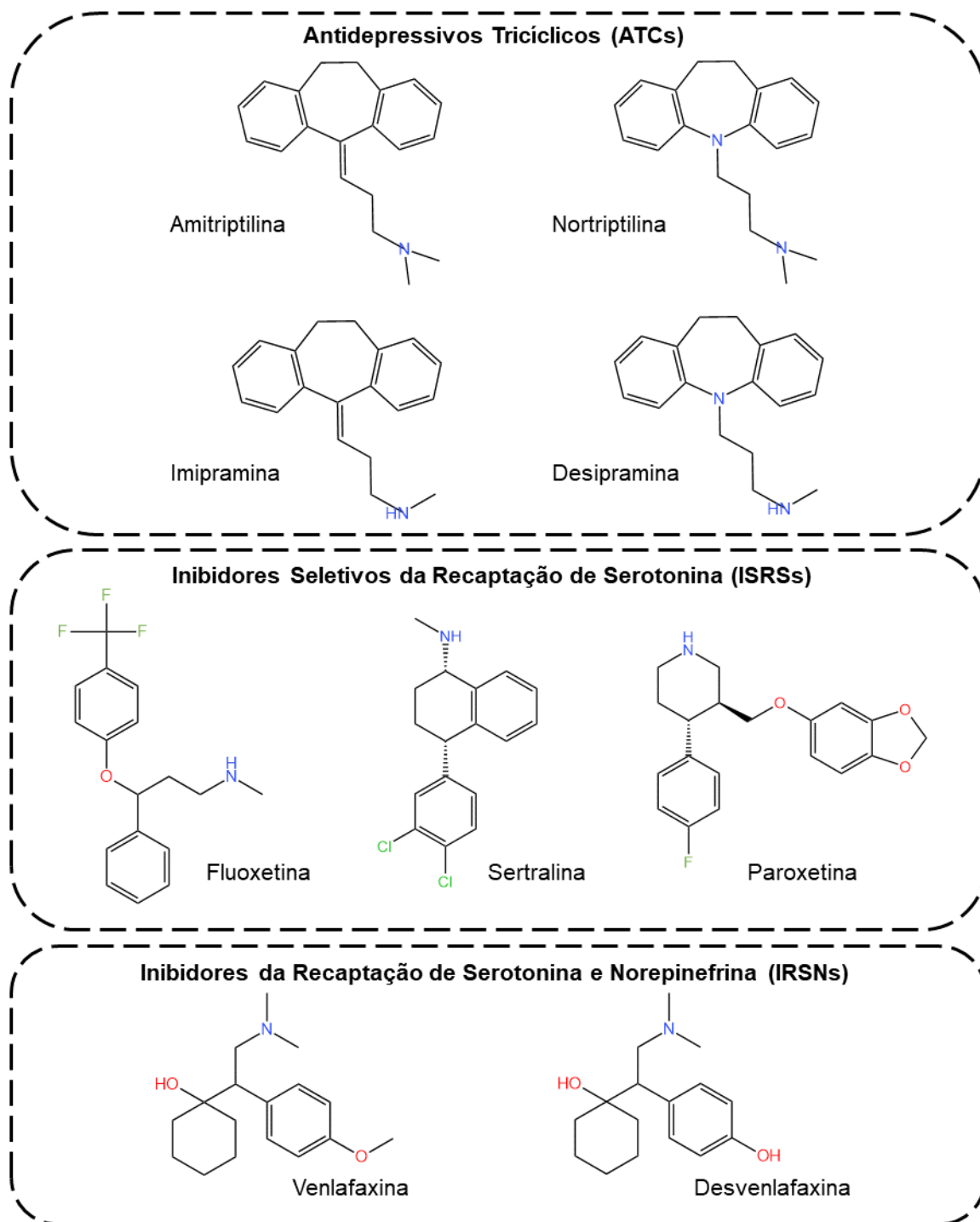
O mecanismo de ação dos ATCs é complexo e envolve a inibição da recaptação de norepinefrina e serotonina no neurônio pré-sináptico, a ação antagonista em receptores histamínicos H_1 , receptores adrenérgicos α -1 e α -2, receptores muscarínicos do sistema colinérgico e receptores serotoninérgicos $5HT_{2A}$ no neurônio pós-sináptico (Gillman, 2007; Hillhouse; Porter, 2015). Dado a sua ação em diversos tipos de receptores, os ATCs possuem uma diversidade de efeitos adversos associados, como desregulação do sono, hipotensão postural, boca seca, visão turva, constipação, retenção urinária e taquicardia (Gillman, 2007). Em intoxicações, os ATCs levam à diminuição da contração cardíaca pelo bloqueio de canais de sódio, no entanto os efeitos adrenérgicos incluem taquicardia e hipertermia, que podem evoluir para disritmia, confusão, delírio, convulsões e coma (Glauser, 2000; King; Thanacoody, 2024). No entanto, apesar destes efeitos, as prescrições de ATCs ainda são muito prevalentes,

o que pode ser explicado pelo seu custo mais acessível, o que é relevante no contexto de países em desenvolvimento e sistemas públicos de saúde (Marasine *et al.*, 2021).

No entanto, uma outra classe de antidepressivos foi desenvolvida nos anos 70 para serem drogas mais seletivas e com menos efeitos adversos quando comparados aos ATCs. Esta outra classe são os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), que nos anos 90 se tornaram a classe mais prescrita dentro dos Estados Unidos (Pereira; Hiroaki-Sato, 2018). Os ISRSs, como o próprio nome explicita, são moléculas capazes de inibir seletivamente a recaptação do neurotransmissor serotonina, fazendo com que a disponibilidade do mesmo aumente na fenda sináptica. É estimado que a ordem de seletividade para serotonina seja de 20 a 1500 vezes maior nestas moléculas quando comparado a norepinefrina (Hillhouse; Porter, 2015). Atualmente os ISRSs são considerados a primeira linha de tratamento para a depressão, sendo amplamente utilizados ao redor do mundo (Harmer; Duman; Cowen, 2017; Luo *et al.*, 2020). No entanto, alguns efeitos adversos como náuseas, insônia e disfunções sexuais estão associados ao uso dos ISRSs, enquanto que em intoxicações, podem levar a agitação, vômitos e taquicardia (Hillhouse; Porter, 2015; King; Thanacoody, 2024).

Outra classe de antidepressivos são os inibidores da recaptação de serotonina e norepinefrina (IRSN), que agem na inibição da recaptação de serotonina e norepinefrina no neurônio pré-sináptico (Hillhouse; Porter, 2015). O uso de IRSNs é usualmente prescrito quando o paciente não responde ao tratamento com ISRSs (Harmer; Duman; Cowen, 2017). A seletividade para serotonina e norepinefrina irá variar de acordo com a molécula. Um dos exemplos de IRSNs mais utilizados é a venlafaxina, que possui eficácia similar ou maior que alguns ATCs e ISRSs, porém com um menor grau de efeitos adversos, o que aumenta a adesão do paciente ao tratamento (Lambert; Bourin, 2002). Entre os efeitos adversos reportados pode-se citar náuseas, insônia, vertigem, constipação, sudorese e dor de cabeça, enquanto que em intoxicações, os IRSNs promovem arritmias cardíacas e convulsões (King; Thanacoody, 2024; Lambert; Bourin, 2002). As estruturas químicas dos antidepressivos avaliados neste estudo, que incluem ATCs, ISRSs e IRSNs podem ser encontradas na Figura 1.

Figura 1 – Estruturas químicas dos antidepressivos avaliados neste estudo



Fonte: Elaboração própria.

Além destas três classes de antidepressivos mais comumente utilizadas, existem outros fármacos capazes de modular o sistema monoaminérgico, chamados de antidepressivos atípicos. Entre os exemplos pode-se citar a bupropiona, que irá inibir a recaptação de dopamina com maior seletividade e norepinefrina, e a mirtazapina, que irá bloquear receptores α -2

adrenérgicos (Harmer; Duman; Cowen, 2017; Hillhouse; Porter, 2015). Recentemente, o envolvimento do sistema glutamatérgico também vem sendo avaliado na etiologia da depressão. Esse fato decorre da ação antidepressiva da cetamina, anestésico dissociativo capaz de bloquear os receptores N-metil-D-aspartato do sistema glutamatérgico (O’Leary; Dinan; Cryan, 2015; Pereira; Hiroaki-Sato, 2018). Efeitos antidepressivos rápidos foram relatados com uso de dose única de ketamina, no entanto, por conta do potencial de abuso e dependência desta substância, seu uso deve ser investigado com cautela (Harmer; Duman; Cowen, 2017; Hillhouse; Porter, 2015). Além disso, outros sistemas vêm sendo estudados pelo seu envolvimento causal com a depressão, como cascatas de sinalização celular e expressão gênica, o que explica a baixa taxa de resposta ao tratamento apenas focado no sistema monoaminérgico (Harmer; Duman; Cowen, 2017). Novos alvos para a ação de antidepressivos incluem neuropeptídeos, receptores opióides, receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA_B), entre outros (O’Leary; Dinan; Cryan, 2015).

Quando se avaliam antidepressivos pelo viés da toxicologia, os mesmos correspondem entre 20 a 30% das intoxicações intencionais não-fatais que irão resultar em um atendimento hospitalar e cerca de 20% das intoxicações fatais (Bergen *et al.*, 2010; Hawton *et al.*, 2010). Como antes mencionado, os antidepressivos são os medicamentos mais presentes em casos de intoxicação no Rio Grande do Sul, segundo os dados do CIT-RS. Entre os antidepressivos, as principais substâncias envolvidas no ano de 2023 foram a fluoxetina (22,1%), a amitriptilina (17,8%), o lítio (15,0%), a sertralina (12,7%), e o escitalopram (8,9%) (Rio Grande do Sul, 2024). Alguns estudos reportam o aumento das taxas de tentativa de suicídio e suicídios em jovens, menores de 25 anos, que fazem o uso de antidepressivos (Brent, 2016; Coupland *et al.*, 2015). Os antidepressivos mais envolvidos com tentativa de suicídio são os ISRSs, possivelmente por serem os mais prescritos (Bergen *et al.*, 2010). No entanto, os ADTs possuem uma toxicidade maior, dessa maneira a prescrição dos mesmos deve ser cautelosa em pacientes com tendências suicidas (Hawton *et al.*, 2010; Methling *et al.*, 2019). Essa prescrição se torna ainda mais complexa quando se considera a tentativa de suicídio como um dos eventos mais comuns para o início do tratamento com antidepressivos. Dessa maneira, uma abordagem mais integrada deve ser adotada principalmente em jovens, considerando as particularidades desta população, tanto fisiológicas, como a presença de maior densidade de receptores e a biotransformação mais acelerada, quanto psicológicas, visto que é uma fase da vida de mudanças expressivas e autodescobrimento. Em muitos casos, o início do uso de antidepressivos está relacionado com a tomada de iniciativa para o suicídio na população jovem visto que há uma melhora inicial na energia do indivíduo (Brent, 2016).

1.1.1.2 Drogas de abuso

Na toxicologia, drogas de abuso são definidas como substâncias psicoativas capazes de provocar alterações no sistema nervoso central e induzir dependência física e/ou psicológica. A dependência é reconhecida como uma doença crônica caracterizada pelo comportamento compulsivo em relação ao uso da substância, especialmente pela perda de controle sobre a busca e o consumo, apesar das consequências adversas. Isso pode ser relacionado com o indivíduo se colocando em situações de risco e violência para conseguir a droga. Além disso, o indivíduo irá vivenciar um estado emocional negativo quando o acesso a droga lhe é negado. Dentre as drogas temos duas classificações gerais: as drogas lícitas e as drogas ilícitas. As drogas lícitas se referem aquelas cuja produção, distribuição, comercialização e consumo não constituem crime. Entre as drogas lícitas mais comuns podemos citar o álcool e o tabaco (McLellan, 2017). Já as drogas ilícitas são aquelas que possuem controle sobre todos os processos, sendo mundialmente controladas pela Convenção Única sobre Entorpecentes de 1961 ou pela Convenção de Substâncias Psicotrópicas de 1971 (UNODC, 2024). No Brasil, a regulamentação envolvendo essas substâncias é dada pela Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998 do Ministério da Saúde, sendo elas relacionadas na lista F, que elenca as substâncias de uso proscrito no país (Brasil, 1998).

Segundo o último Relatório Mundial sobre Drogas, o número global de usuários de drogas ultrapassou os 290 milhões em 2022. As substâncias mais prevalentes, em ordem de usuários, são a *Cannabis*, os opióides, as substâncias do tipo anfetamina, a cocaína e o ecstasy. Em relação às substâncias mais apreendidas por autoridades da segurança pública, a *Cannabis* também figura como mais prevalente, considerando a quantidade em toneladas, seguida pela cocaína, o ópio e a metanfetamina. No entanto, o padrão de apreensões da *Cannabis* segue estável nas últimas duas décadas, o que pode ser relacionado a legalização ou descriminalização do consumo e distribuição em muitos países. Enquanto isso, a apreensão de opiáceos teve queda nos últimos anos, muito relacionado com o banimento da produção no Afeganistão em 2022, onde a produção teve queda de 70% no período de um ano. Em contraste, observa-se um aumento nas apreensões de cocaína desde 2015, com crescimento acentuado a partir de 2020. Um padrão semelhante, porém, muito mais exacerbado vem sendo observado para as anfetaminas, com crescimento das apreensões desde o final dos anos 2000. Além disso, ainda temos no mercado as Novas Substâncias Psicoativas (NSPs), que tiveram grande crescimento

no número de novos compostos identificados entre 2013-2015. Atualmente, o número de novos compostos identificados a cada ano segue estável, com cerca de 566 NSPs no mercado no ano de 2022 (UNODC, 2024; UNODC, 2025).

No Brasil, os últimos dados sobre o uso de drogas pela população foram coletados pelo III Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira (LNUD) em 2017. Cerca de 15 milhões de brasileiros relataram ter consumido algum tipo de substância ilícita na vida, enquanto 2,5 milhões reportaram o uso nos últimos 30 dias. A drogas de abuso mais prevalente, quando considerado o uso na vida, é a maconha e seus similares (haxixe, skunk) (7,7%), seguida pela cocaína na forma de cloridrato (3,1%), solventes (2,8%), cocaína na forma de *crack* (0,9%), dietilamida do ácido lisérgico (LSD) (0,8%) e 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) (0,8%). Quando avaliado o consumo nos últimos 12 meses, o perfil sociodemográfico apresenta uma prevalência maior para homens (5%), com idade entre 18 e 24 anos (7,4%), com escolaridade de ensino superior completo (4,4%). A idade mediana do primeiro consumo de alguma substância ilícita é de 16,6 anos, quando considerada a população total (Brasil, 2017). Já no cenário estadual, de acordo com o Relatório Anual de 2023 do CIT-RS, as drogas de abuso representaram apenas 0,83% do total de casos atendidos. A maioria dos casos de intoxicação por drogas de abusos foram decorrentes do uso intencional, ocorreram na faixa etária de 20 a 29 anos, e com uma maior prevalência no sexo masculino (67,5%), quando comparado aos casos do sexo feminino (32,5%). As drogas de abuso mais frequentes foram o álcool (46,7%), a cocaína (35,0%), a maconha (12,2%), a nicotina (1,7%) e MDMA (1,6%) (Rio Grande do Sul, 2024).

1.1.1.2.1 Drogas sintéticas clássicas

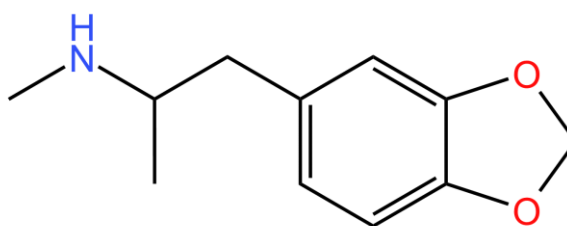
As drogas sintéticas são substâncias psicoativas produzidas através de produtos químicos, ou seja, não necessitam de uma fonte vegetal para sua extração. Isso pode ser considerado uma vantagem do ponto de vista de quem comercializa estas substâncias, de forma que sua produção não é influenciada por diversos fatores que interferem na colheita das plantas, como eventos climáticos extremos. Os principais países reconhecidos como fontes de químicos precursores para a síntese de drogas sintéticas são a China e a Índia, enquanto a maior parte da produção final ocorre em países europeus. No entanto, principalmente após a pandemia por COVID-19 e as dificuldades de mobilidade impostas durante esse período, laboratórios

clandestinos de produção de drogas sintéticas estão se tornando mais frequentes no mundo inteiro, incluindo o Brasil (UNODC, 2024).

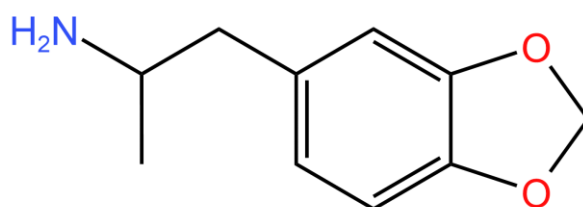
No Brasil, segundo o último Relatório de Drogas Sintéticas elaborado pela Polícia Federal, as drogas sintéticas representaram em 2023, 9% (n=733) do total de laudos de análise de drogas, com 965 análises positivas. As drogas sintéticas “clássicas”, como MDMA, 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA) e LSD, totalizam 60,5% dos casos positivos, uma queda em relação ao ano de 2022 (87,1%) e 2021 (77,9%). A substância mais prevalente em 2023 foi o MDA, com 243 detecções, o que representa 25,2% do total de drogas sintéticas e 38,8% das drogas clássicas. Em segundo lugar está a MDMA com 201 positivos, representando 20,1% do total de drogas sintéticas e 32,1% das drogas clássicas. É o primeiro ano, desde o início do monitoramento, que a detecção de MDA é maior que a de MDMA. Este comportamento pode ser justificado pelo estabelecimento de uma produção nacional de MDA, hipótese que é corroborada pelas apreensões de químicos precursores da síntese de MDA no país. Além disso, houve um salto na quantidade de comprimidos apreendidos, que passou de 68.953 em 2022, para 172.105 em 2023 (Brasil, 2024).

A MDMA é um composto que foi primeiramente sintetizado em 1912, pela empresa Merck para uso terapêutico. No entanto, foi redescoberto com o passar dos anos, ganhando popularidade nos anos 80, principalmente para fins recreativos no cenário de uso em festas, *raves* e festivais (El-Mallakh; Halpern; Abraham, 2015; Farrar *et al.*, 2025; Meyer, 2013; Nichols, 2022). A MDMA é uma derivada sintética da anfetamina, com um núcleo quirál, sendo assim, possui dois isômeros estruturais (R e S). As estruturas da MDMA e da MDA podem ser visualizadas na Figura 2. Ambas são bases fracas com valor de pKa 9,9 e 9,7, respectivamente. Usualmente, a síntese de MDMA resulta em uma mistura racêmica dos dois isômeros, no entanto o isômero S é mais potente e responsável pelos efeitos clínicos. A síntese de MDMA e MDA é tradicionalmente realizada com químicos como o safrol, isosafrol, piperonal e piperonil metil cetona (PMK). Atualmente outros compostos estão sendo utilizados como o helional e derivados do PMK como PMK glicidato e PMK ácido glicídico (El-Mallakh; Halpern; Abraham, 2015; Farrar *et al.*, 2025; Hartman *et al.*, 2014; Mercierca *et al.*, 2023).

Figura 2 – Estruturas químicas das drogas sintéticas clássicas



3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA)



3,4-metilenodioxianfetamina (MDA)

Fonte: Elaboração própria.

A distribuição da MDMA é usualmente realizada na forma de comprimidos, pós, cristais e cápsulas. É popularmente chamado de ecstasy, “bala”, “MD” ou “Molly”, o último mais utilizado para descrever a forma de pó ou cristal, enquanto os outros são mais utilizados para comprimidos, forma mais comum de apresentação (Krotulski *et al.*, 2018). Os comprimidos se apresentam em formas diversas, com grande variedade de cores e logos, que buscam identificar uma “marca”. Um dado preocupante se refere à quantidade de MDMA nos comprimidos que vem aumentando com o passar dos anos. A dose tradicional de MDMA varia entre 50 a 100 mg, no entanto, recentemente a dose média encontrada está em torno de 150 a 200 mg, sendo observados comprimidos com mais de 400 mg de MDMA. Doses acima de 120 mg já foram relacionadas com um aumento de risco de efeitos adversos, enquanto doses maiores que 180 mg foram relacionadas com a aparição de apenas efeitos adversos, em indivíduos sem tolerância. Adicionalmente, os comprimidos possuem uma pureza variada, podendo ainda não apresentar a substância MDMA. Adicionalmente, os adulterantes mais comuns incluem subprodutos da síntese, MDA e NSPs, principalmente catinonas sintéticas (Farrar *et al.*, 2025; Krotulski *et al.*, 2018; Meyer, 2013; Roxburgh *et al.*, 2021).

Por se apresentar majoritariamente como comprimido, a MDMA é administrada pela via oral, com relatos de administração intranasal e intravenosa (Meyer, 2013). Após a ingestão, é rapidamente absorvida no trato gastrointestinal e o pico de concentração plasmática é alcançado em 1 a 2 horas. Possui alta biodisponibilidade, uma vez que não se liga fortemente às proteínas plasmáticas, permanecendo na forma livre (Farrar *et al.*, 2025; Hartman *et al.*, 2014). A biotransformação da MDMA é realizada pelo complexo citocromo P450, particularmente na enzima CYP2D6, através de reações de desmetilação, desalquilação e desaminação. Os principais produtos formados são a 3,4-dihidroximetanfetamina (HHMA) e a MDA, que é ativo. No entanto, a cinética da MDMA é considerada não-linear, pois o próprio composto é capaz de inibir a enzima CYP2D6, dessa forma inibindo sua biotransformação. Dessa maneira, um pequeno aumento na dose administrada pode resultar em um aumento significativo da concentração plasmática (El-Mallakh; Halpern; Abraham, 2015; Farrar *et al.*, 2025).

A MDMA promove o aumento da concentração de monoaminas (dopamina, norepinefrina e serotonina) na fenda sináptica. Este aumento pode ser decorrente de dois mecanismos principais. No primeiro, a MDMA se liga ao transportador bloqueando a recaptação das monoaminas. No segundo, se liga ao transportador e provoca uma mudança de conformação do mesmo. Esta ligação também incorre no aumento da concentração intracelular dos neurotransmissores. Dessa forma, há uma reversão da função do transportador, que passa a liberar as monoaminas na fenda sináptica. Além disso, a MDMA pode atuar inibindo a degradação das monoaminas pela MAO (El-Mallakh; Halpern; Abraham, 2015; Farrar *et al.*, 2025; Meyer, 2013). Possui uma maior seletividade com transportadores de serotonina, o que está relacionado com um aumento de sociabilidade e empatia. Dessa forma, a MDMA é, por muitas vezes, classificada em um novo grupo de substâncias, os chamados entactógenos (Nichols, 2022). Em relação à MDA, a literatura ainda não é tão extensa, quando comparada à MDMA. No entanto, a cinética e dinâmica destas substâncias é similar, com MDA tendo efeitos de maior duração. Enquanto a MDMA é responsável por um aumento da sociabilidade, é observado que a MDA produz efeitos mais introspectivos, como distorção de percepção e tempo, principalmente por ação nos receptores de serotonina (Baggott *et al.*, 2019).

Entre os efeitos desejados do uso de MDMA, pode-se citar o aumento da sociabilidade, auto-estima, energia, libido e percepção sensorial, a melhora das relações interpessoais, a alteração de consciência e o relaxamento (El-Mallakh; Halpern; Abraham, 2015; Meyer, 2013). Entre os efeitos indesejados, têm-se efeitos clínicos como o aumento da frequência cardíaca, hipertermia, tonturas, náuseas, hipertensão, tensão muscular, boca seca, visão turva, sudorese,

bruxismo e trismo, e efeitos psíquicos como ansiedade, alucinações, desorientação, ataques de pânico e comportamentos impulsivos. Em casos severos, promove desidratação pela hipovolemia, hiponatremia, infarto do miocárdio, convulsões, rabdomiólise, falência hepática, injúria renal, acidente vascular cerebral, coagulação intravascular disseminada e coma. É possível verificar uma diferença de manifestações adversas em função do gênero, com mulheres apresentando mais efeitos adversos que homens (El-Mallakh; Halpern; Abraham, 2015; Farrar *et al.*, 2025; Roxburgh *et al.*, 2021). O manejo da intoxicação é realizado com tratamento de suporte, sendo conduzida a reposição de líquidos pela via intravenosa para a desidratação e o uso de banhos de gelo e cobertores térmicos para a hipertermia. Adicionalmente, podem ser administrados benzodiazepínicos para conter a agitação (Farrar *et al.*, 2025). Além disso, efeitos residuais são observados dias após o consumo, incluindo irritabilidade, fadiga, mudança de apetite, inquietação, distúrbios do sono, depressão e ideação suicida (Farrar *et al.*, 2025; Meyer, 2013). Em usuários crônicos são observados sintomas neuropsíquicos como baixa concentração, problemas de memória, desordens de humor e ansiedade (Meyer, 2013).

Em relação ao perfil de intoxicações, as fatalidades ocorrem em maior número em homens (entre 80 e 95% dos casos) e com idade entre 24 e 28 anos. Cerca de 60 a 70% das mortes com a presença de MDMA estão relacionadas diretamente com o consumo de drogas de abuso. No entanto, a MDMA sendo utilizada como único agente representa somente 13 a 25% dos casos, sendo verificado um alto uso de polissubstâncias (Roxburgh *et al.*, 2021). As substâncias frequentemente encontradas em associação com a MDMA são o álcool, a *Cannabis*, outros estimulantes (anfetamina, metanfetamina e cocaína), NSPs, LSD, ácido gama-hidroxibutírico (GHB), cetamina e medicamentos prescritos, principalmente opióides (Farrar *et al.*, 2025; Meyer, 2013; Roxburgh *et al.*, 2021). No restante das fatalidades (30 a 40%), a MDMA foi considerada agente contribuidor para o óbito, sendo a maioria por acidente de trânsito e suicídio (Roxburgh *et al.*, 2021). Recentemente, o potencial terapêutico da MDMA vem sendo investigado, com maior aplicação no tratamento do estresse pós-traumático associado à psicoterapia (El-Mallakh; Halpern; Abraham, 2015; Meyer, 2013).

1.1.1.2.1 Novas substâncias psicoativas

As NSPs são definidas pela UNODC como aquelas substâncias que não são controladas pelas Convenções de 1961 e 1971, mas que tem o potencial de causar dependência. Mais de 1200 NSPs já foram identificadas em cerca de 140 países ao redor do mundo. Devido a esse

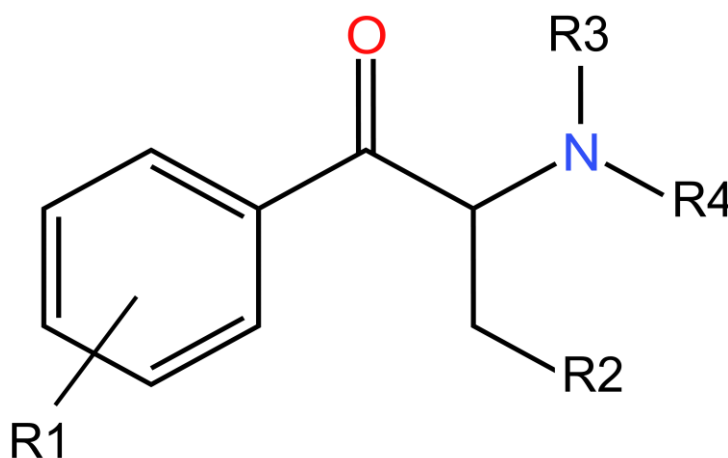
grande número de substâncias e também a heterogeneidade de composições, as NSPs são comumente divididas em grupos de acordo com suas características químicas, sendo eles: aminoindanos, *designer* benzodiazepínicos, análogos do fentanil, lisergamidas, nitazenos, substâncias do tipo fenciclidina, fenetilaminas, fenidatos, fenmetrazinas, piperazinas, substâncias de origem vegetal, canabinoides sintéticos, catinonas sintéticas, triptaminas e outras substâncias (UNODC, 2025). No Brasil, os grupos de maior relevância toxicológica, por serem os mais encontrados em apreensões e em relatos de casos, são as fenetilaminas, as catinonas sintéticas e os canabinoides sintéticos (Dos Santos *et al.*, 2023).

De acordo com o último Relatório de Drogas Sintéticas elaborado pela Polícia Federal, em 2023 foram 71 NSPs identificadas, sendo 29 inéditas no país. O grupo de NSP mais prevalente foi o dos canabinoides sintéticos, com 100 detecções em 2023, o que corresponde a 29% do total de NSPs. Esse número também representa um aumento expressivo do grupo quando comparada a dados de 2022 e 2021, onde o número de detecções foi de 27 (10,6%) e 12 (8,3%), respectivamente. O canabinoide sintético mais prevalente no país no ano de 2023 foi o ABD-Butinaca, com 52 ocorrências, sendo também a sexta substância mais detectada considerando todas as drogas sintéticas. Em segundo lugar dentre as NSPs, está o grupo das fenetilaminas, cujas detecções vêm caindo nos últimos anos de maneira acentuada. Em 2023, elas representaram apenas 15,7% do total de NSPs com 54 detecções, enquanto este percentual em 2022 era de 34,5%, e de 60% em 2021. A substância mais prevalente do grupo das fenetilaminas no país em 2023 foi o 25B-NBOH. O último grupo de maior relevância dentre as NSPs no Brasil é o das catinonas sintéticas. Em 2023, foram registradas 53 detecções de substâncias deste grupo, o que corresponde a 15,4% do total de NSPs. Este número representa um leve aumento nas detecções quando comparado a 2022 onde houve registro de 37 detecções (14,5%), e um aumento considerável em relação a 2021, quando as catinonas correspondiam a apenas 2,8% do total de NSPs. A catinona sintética com maior prevalência em 2023 foi a eutilona, que também ocupou o sétimo lugar geral no ranking das principais drogas sintéticas identificadas no Brasil em 2023 (Brasil, 2024).

As catinonas sintéticas são substâncias análogas à catinona, substância estimulante encontrada na planta *khat* (*Catha edulis*), originária de regiões como a península arábica e o leste africano. Nestas populações, o uso da planta é tradicional, sendo o consumo realizado mascando as folhas ou através de chás, com o objetivo de aumentar a disposição e energia (Kuroпка; Zawadzki; Szpot, 2023; Riley *et al.*, 2020). Já as catinonas sintéticas começaram a ser distribuídas no mercado para uso recreacional no início dos anos 2000, sendo consideradas alternativas “legais” a drogas estimulantes como as anfetaminas, a MDMA e a cocaína.

Atualmente são consideradas o segundo maior grupo de NSPs em diversidade e apreensões (Adamowicz, 2021a; Chen; Zhou; Lai, 2024). As catinonas sintéticas são usualmente encontradas com nomes como “sais de banho”, “químicos para pesquisa”, “fertilizantes” e “produtos para uso externo”. As formas de apresentação mais comuns são pós e cristais brancos ou marrons, cápsulas ou comprimidos, no entanto, também já foram encontradas como líquidos para cigarros eletrônicos e sprays nasais (Pieprzyca; Skowronek; Czekaj, 2022; Riley *et al.*, 2020). A diversidade de substâncias se dá por modificações da molécula base da catinona em quatro radicais principais: no anel aromático (R1), na cadeia lateral (R2), e no grupamento amino (R3 e R4). As modificações mais comuns incluem a adição de halogênios e grupamentos alquila (Chen; Zhou; Lai, 2024; Kuropka; Zawadzki; Szpot, 2023; Riley *et al.*, 2020). A estrutura base e os possíveis locais de alteração da molécula da catinona podem ser visualizados na Figura 3.

Figura 3 – Estrutura química base das catinonas sintéticas



Fonte: Elaboração própria.

As catinonas sintéticas são majoritariamente consumidas por via oral, seguido pela via intranasal e via intravenosa. Outras vias de administração incluem a retal, pulmonar, intramuscular e ocular (Daziani *et al.*, 2023; Riley *et al.*, 2020). A dose típica para administração por via oral varia entre 25 a 75 mg e podem alcançar o pico de concentração plasmática em 30 a 45 minutos, quando se iniciam os primeiros efeitos, que podem durar entre 1 a 3 horas (Chen; Zhou; Lai, 2024; Daziani *et al.*, 2023). As catinonas sintéticas irão aumentar os níveis de dopamina, norepinefrina e serotonina na fenda sináptica. Este aumento pode ser decorrente de dois mecanismos, assim como observado para a MDMA. No primeiro, a

substância irá agir como inibidor da recaptação das monoaminas, impedindo sua volta para o neurônio pré-sináptico. No segundo mecanismo, a substância irá se ligar como substrato nos transportadores das monoaminas. Esta ligação irá desencadear uma série de cascatas intracelulares que irão aumentar a liberação dos neurotransmissores. A seletividade para cada um dos neurotransmissores e o mecanismo de ação de uma catinona específica irá depender das modificações realizadas a sua estrutura química (Kuropka; Zawadzki; Szpot, 2023; Riley *et al.*, 2020)

O consumo destas substâncias é geralmente realizado na própria casa do indivíduo, em contexto de festas ou em situações de *chemsex*, ou seja, onde o consumo da droga é realizado com objetivo de aumentar a atividade e o prazer sexual (La Maida *et al.*, 2021). Os efeitos desejados do uso de catinonas sintéticas incluem aumento da sociabilidade, da percepção sensorial, do alerta, da energia, do bom humor, do sentimento de bem-estar, da produtividade e da libido (Chen; Zhou; Lai, 2024; Daziani *et al.*, 2023). Já os efeitos adversos incluem náuseas, vômitos, sudorese, tonturas, agitação, hipertermia, epistaxe, tremores, taquicardia, midríase, ansiedade, alucinações, comportamento violento e agressivo, confusão, paranóia e ideação suicida. Em casos de intoxicação grave o indivíduo pode manifestar convulsões, rabdomiólise, falência renal, hepática e pulmonar, encefalopatias e coma. O tratamento é realizado com o suporte do paciente e administração de antipsicóticos para conter os episódios de psicose e comportamentos agressivos. É importante destacar que os sintomas clínicos irão depender do tipo de substância e sua afinidade e potência com os receptores das monoaminas (Adamowicz, 2021a; Chen; Zhou; Lai, 2024; Daziani *et al.*, 2023; La Maida *et al.*, 2021; Pieprzyc; Skowronek; Czekaj, 2022; Riley *et al.*, 2020).

Tanto em casos de intoxicação não-fatal, como óbitos decorrentes do uso de catinonas sintéticas, a maior parte ocorre com homens (entre 80 e 90%), com média de idade perto dos 30 anos. Além disso, é observado uma grande presença de poliuso de substâncias, com o uso concomitante de álcool, outras drogas estimulantes, *Cannabis* e medicamentos psicoativos. Adicionalmente, a maior parte dos casos ocorreu em pessoas que já faziam uso de drogas de abuso (Daziani *et al.*, 2023; La Maida *et al.*, 2021; Pieprzyc; Skowronek; Czekaj, 2022). Outra questão alarmante é que, em grande parte dos casos, os indivíduos não têm conhecimento que estão utilizando uma catinona sintética e também não sabem a dosagem. As catinonas sintéticas são, muitas vezes, vendidas como ecstasy ou presentes como adulterantes dos mesmos (La Maida *et al.*, 2021; Riley *et al.*, 2020). Em relação às concentrações consideradas fatais, um grande intervalo é observado, variando entre <1 a 50.000 ng/mL. No entanto, estes dados devem ser cuidadosamente interpretados visto que uma alta variabilidade pode ser encontrada devido

ao tipo de substância envolvida e, também, a fatores como variações individuais, falta de tolerância e interações entre as catinonas e outras drogas possivelmente presentes (Adamowicz, 2021a).

Os canabinoides sintéticos, também chamados de agonistas sintéticos dos receptores canabinoides (SCRAs) são considerados o maior grupo dentro das NSPs, pelo número de substâncias já identificadas. Relatos da síntese de SCRAs são encontrados desde a década de 70, onde as substâncias eram investigadas para fins terapêuticos, no entanto o uso recreacional destes compostos começou a se popularizar no início dos anos 2000, com a primeira identificação em 2008 da substância JWH-018 (Alves *et al.*, 2020; Darke *et al.*, 2020). Isto se deve principalmente aos SCRAs serem anunciados como uma alternativa "legal" à maconha, em países onde a mesma era proibida. Os SCRAs são frequentemente distribuídos na forma de material vegetal, onde plantas sem propriedades psicoativas são pulverizadas com um solvente orgânico contendo as substâncias. Esse material vegetal é comumente distribuído por nomes como "Spice", "K2" ou "K9" (De Oliveira *et al.*, 2023; Roque-Bravo *et al.*, 2023). Também podem ser encontrados na forma de cápsulas comprimidos, pós, e mais recentemente, líquidos para cigarro eletrônico (Alves *et al.*, 2020; Ambroziak; Adamowicz, 2018). Os SCRAs possuem uma diversidade de estruturas químicas elevada, sendo geralmente compostos de 22 a 26 átomos de carbono e com uma estrutura genérica composta de quatro partes: o núcleo, a cauda, a conexão e os grupamentos ou anéis aromáticos (Potts *et al.*, 2020; Roque-Bravo *et al.*, 2023).

Como se apresentam como material vegetal, são normalmente administrados na forma fumada, pela via inalatória, o que permite uma rápida absorção, distribuição e início dos efeitos. Podem também ser administrados por via oral, no entanto a absorção é inconsistente, principalmente pelo metabolismo de primeira passagem. Por serem compostos lipofílicos, se apresentam majoritariamente ligados às proteínas plasmáticas. (Roque-Bravo *et al.*, 2023). Essas substâncias são extensamente biotransformadas no fígado pelo sistema citocromo P450, passando por reações de fase I como a oxidação, seguido de reações de fase II como glicuronidação e sulfatação, que produzem produtos mais polares passíveis de serem eliminados na urina (Alves *et al.*, 2020). Quanto à toxicodinâmica, os SCRAs são considerados agonistas dos receptores canabinoides CB1 e CB2, possuindo maior afinidade e maior potência quando comparados com o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) (Alves *et al.*, 2020; Alzu'bi *et al.*, 2024). A maioria dos efeitos psicoativos ocorre por ação no receptor canabinoide do tipo 1, encontrado em maior quantidade no SNC. A ativação de CB1 dá início a diversas cascatas de sinalização celular, incluindo a diminuição dos níveis de AMP cíclico, modulação de canais

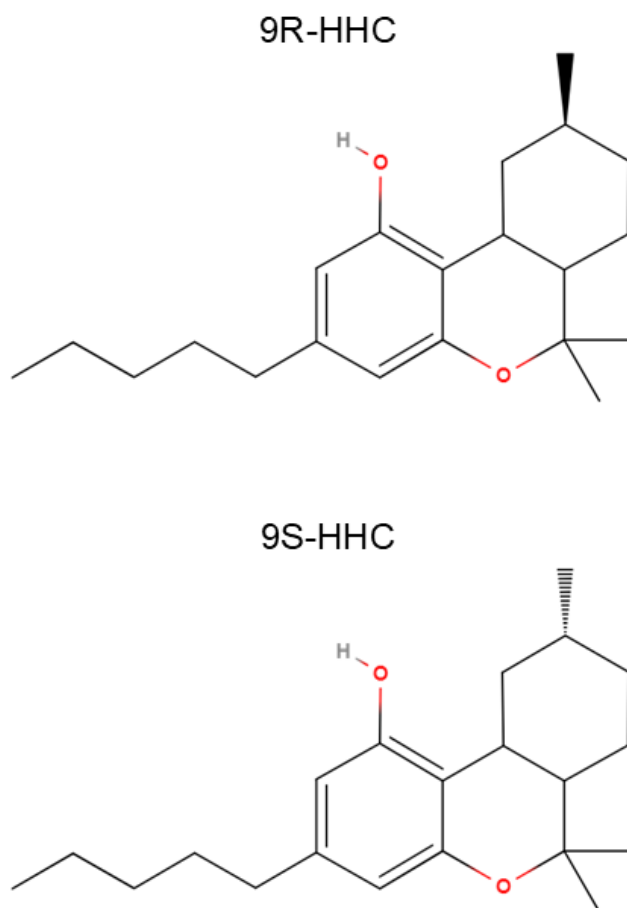
iônicos, redução do potencial de membrana e ativação da proteína quinase ativada por mitógeno. Além disso, podem modular cascatas intracelular independentes da ligação com CB1 e CB2 e agir em sistemas de neurotransmissores como dopamina, glutamato, GABA e serotonina (Alves *et al.*, 2020; Alzu'bi *et al.*, 2024; Roque-Bravo *et al.*, 2023).

Entre os efeitos desejados com o uso dos SCRA's se destacam a euforia, relaxamento, alterações sensoriais e sensação de bem-estar (Alves *et al.*, 2020). As manifestações tóxicas mais comuns estão relacionadas com o sistema nervoso central, com alterações neuropsiquiátricas como perda de memória recente, psicose, paranoia, ideação suicida, delírio, confusão, alucinações, agitação e ataques de pânico e ansiedade (Alves *et al.*, 2020; Roque-Bravo *et al.*, 2023). Além disso, há alta toxicidade cardiovascular, caracterizada por sintomas como hipertensão, taquicardia, arritmias, fibrilação atrial e ventricular, prolongação do intervalo QT e dor no peito, levando ao infarto agudo do miocárdio (Alzu'bi *et al.*, 2024; Darke *et al.*, 2020). Outras complicações incluem falência hepática e renal, através de injúria renal, convulsões, depressão respiratória e comprometimento cognitivo (Adamowicz, 2021b; Alzu'bi *et al.*, 2024). O tratamento clínico da intoxicação é realizado por meio de terapia de suporte, com manutenção das vias aéreas e monitoramento cardíaco, além da administração de benzodiazepínicos e antipsicóticos para quadros de agitação e delírio (Roque-Bravo *et al.*, 2023). O perfil de intoxicações, tanto fatais quanto não-fatais, inclui homens (cerca de 90% dos casos), na faixa etária dos 25 aos 40 anos, e que já possuíam um histórico de uso de *Cannabis*. Também é observada a presença de consumo de outras substâncias, com destaque para o álcool, Δ^9 -THC e cocaína (Darke *et al.*, 2020; De Oliveira *et al.*, 2023). Quanto às concentrações de SCRA's já reportadas em casos fatais, uma faixa ampla é encontrada, com valores que variam entre 0,01 a 950 ng/mL, a depender da substância. No entanto, a quantidade de dados na literatura ainda é escassa, sendo difícil estabelecer um limite entre uma dose tóxica e uma fatal, visto que as concentrações não-fatais e fatais se sobrepõem em muitos casos (Adamowicz, 2021b).

Recentemente, uma nova subclasse dos canabinoides sintéticos vem sendo detectada mundialmente, os canabinoides semi-sintéticos. Sua produção foi alavancada pela flexibilização da legislação dos Estados Unidos sobre o status legal da *Cannabis*. Desde 2018, os subtipos de *Cannabis* com conteúdo de Δ^9 -THC <0,3% são permitidos para plantio. Estes subtipos são ricos em canabidiol (CBD), precursor para síntese de canabinoides semi-sintéticos. Os canabinoides semi-sintéticos de maior importância são o Δ^8 -tetra-hidrocanabinol (Δ^8 -THC) e o hexahidrocanabinol (HHC), por serem mais encontrados em apreensões e casos clínicos (Hundertmark *et al.*, 2025; Ujváry, 2024). O HHC é na verdade, uma mistura dos isômeros 9R-

HHC e 9S-HHC, cujas estruturas químicas são apresentadas na Figura 4. É usualmente comercializado como uma alternativa ao Δ^9 -THC, sendo encontrado na forma de material vegetal, resinas, líquidos para cigarros eletrônicos e produtos comestíveis (Birk *et al.*, 2025; Hundertmark *et al.*, 2025). Além da variedade de formas em que o HHC pode aparecer, as proporções dos isômeros variam significativamente nos materiais apreendidos, que também podem conter Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, CBD e canabinol, sendo resultantes da composição inicial da planta, do processo de síntese e da degradação dos produtos (Birk *et al.*, 2025; Bottinelli *et al.*, 2024).

Figura 4 – Estruturas químicas dos isômeros R e S do hexahidrocanabinol



Fonte: Birk *et al.*, 2025.

O HHC, assim como o Δ^9 -THC, também irá atuar nos receptores CB1 e CB2, no entanto o isômero 9R-HHC possui significativa maior afinidade e maior potência, quando comparado ao 9S-HHC. Inclusive, tanto a afinidade quanto a potência do 9R-HHC já foi identificada como

sendo maior que a do Δ^9 -THC. Isto pode se refletir em efeitos adversos mais pronunciados, no entanto os reportes de efeitos clínicos ainda são escassos (Janssens *et al.*, 2024). Casos de psicose já foram associados com indivíduos que fizeram uso de HHC, incluindo sintomas como delírio, síndrome de perseguição, sentimento de culpa, alucinações, distúrbios de sono, inquietação (O'Mahony *et al.*, 2024). Concentrações plasmáticas de HHC em amostras de motoristas resultaram em valores entre 0,25 a 35,35 ng/mL para 9R-HHC e 0,25 a 21,76 ng/mL para 9S-HHC, com a maioria dos casos também apresentando positividade para Δ^9 -THC. Estes dados reiteram a necessidade do uso de métodos analíticos sensíveis e específicos para a determinação desta substância, visto a sua similaridade estrutural com outros canabinoides e as baixas concentrações encontradas em amostras biológicas (Höfert *et al.*, 2024).

1.1.2 Matrizes biológicas

Diversos tipos de matrizes biológicas podem ser submetidas a análise, e sua escolha depende de alguns fatores como as circunstâncias do caso a ser estudado, se é uma investigação de uso agudo ou crônico, e a disponibilidade da amostra, muitas vezes limitada em casos forenses ou em populações que fogem à normalidade como os recém-nascidos (Moffatt; Osselton; Widdop, 2011; Peters *et al.*, 2017). Além disso, fatores legais podem determinar a escolha da matriz no caso de legislações específicas, a exemplo da Lei 12.760 de 2012, que determina o exame de alcoolemia em ar alveolar ou sangue dentro do contexto de trânsito (Brasil, 2012). A correta escolha da matriz apropriada é o primeiro passo para um resultado confiável nas análises toxicológicas. Dentre outros fatores de ponderação para a escolha da matriz ideal temos a facilidade da coleta, a presença de substâncias potencialmente interferentes, a presença do analito na forma inalterada ou de seus produtos de biotransformação, a janela de detecção, a estabilidade tanto da matriz quanto do analito na matriz correspondente e a existência de literatura que fornece dados para a interpretação dos valores encontrados (Moffatt; Osselton; Widdop, 2011). Ademais, a qualidade da amostra irá influenciar no resultado final, devendo a coleta ser realizada por profissionais capacitados (Dinis-Oliveira; Vieira; Magalhães, 2016).

As matrizes disponíveis irão variar de acordo com o cenário, ou seja, se a coleta é efetuada *in vivo* ou *post mortem*. As matrizes *in vivo* mais utilizadas são sangue, plasma, soro, urina, cabelo, unhas, ar expirado, fluido oral, enquanto as mais comuns em cenário *post mortem* são sangue periférico ou cardíaco, urina, humor vítreo, conteúdo gástrico e órgãos, sendo os

pulmões e o fígado os mais relevantes (Dinis-Oliveira; Vieira; Magalhães, 2016). São consideradas matrizes ou amostras convencionais o sangue e seus derivados, soro e plasma, e a urina, que são as matrizes usualmente empregadas para análises toxicológicas (De Campos *et al.*, 2022). No caso do sangue e seus derivados, é possível realizar a correlação entre as concentrações encontradas e os efeitos, sendo a matriz de escolha para verificar se o indivíduo estava sob efeito de alguma substância (Dinis-Oliveira; Vieira; Magalhães, 2016; Wagmann; Jacobs; Meyer, 2022). Isto se dá pela vasta literatura já reportada para esta matriz, sendo possível encontrar tantos dados de concentrações *ante mortem* como *post mortem* (Moffatt; Osselton; Widdop, 2011). Outra vantagem do sangue é a dificuldade na adulteração intencional da amostra. No entanto, a coleta *in vivo* é considerada invasiva, o requer um profissional treinado e cuidados apropriados, visto que existe um risco de contaminação biológica (Peters *et al.*, 2017).

Considerando o sangue *post mortem*, as características da matriz diferem, sendo ele mais viscoso e com pH mais baixo que o sangue *in vivo*. Além disso, é comum a presença de coágulos e hemólise (Moffatt; Osselton; Widdop, 2011). Para o sangue *post mortem*, o sítio de coleta terá grande influência sobre as concentrações encontradas. Dessa maneira, é recomendado que se realize a coleta do sangue periférico, preferencialmente da veia femoral, visto que é um local mais isolado, onde o fenômeno da redistribuição *post mortem* não será tão presente (Dinis-Oliveira; Vieira; Magalhães, 2016). Caso não seja possível a coleta do sangue periférico, o sangue cardíaco pode ser utilizado, no entanto, a interpretação das concentrações deve ser realizada com cautela, visto que podem estar aumentadas nesta matriz devido à redistribuição *post mortem*. A redistribuição é o processo onde irá haver a liberação passiva de substâncias de órgãos centrais do organismo que atuam como reservatórios, relacionada com a ocorrência de autólise e putrefação. No entanto, ainda é considerada uma matriz valiosa para uso em *screening* (Moffatt; Osselton; Widdop, 2011).

Outra matriz convencional amplamente utilizada é a urina. A urina é a matriz de escolha para o *screening* toxicológico. Isto ocorre, pois, a coleta de urina é realizada de forma simples e não-invasiva, sendo obtido um grande volume de amostra, quando comparado com outras matrizes como o sangue. Outras vantagens incluem a alta concentração dos analitos e a ampla janela de detecção que permite verificar o uso da substância por dias ou até semanas (Peters *et al.*, 2017; Wagmann; Jacobs; Meyer, 2022). Além disso, diversos testes imunocromatográficos são comercialmente disponíveis para realização de *screening* utilizando urina, sendo uma alternativa rápida e barata para uma resposta rápida frente a uma investigação (Mali; Karpe; Kadam, 2011). No entanto, algumas limitações do uso de urina incluem a não-correlação dos

achados com os efeitos e a possibilidade de adulteração, sendo necessária a realização de coleta assistida. As concentrações são dependentes de fatores como o volume urinário, o *clearance* renal, o pH e o tempo de esvaziamento da bexiga (Moffatt; Osselton; Widdop, 2011). Adicionalmente, a urina pode conter os produtos de biotransformação das substâncias, o que por um lado é positivo visto que sua detecção confirma o consumo da substância, no entanto também pode ser uma dificuldade, visto que nem sempre estão disponíveis padrões analíticos para o desenvolvimento de métodos que avaliam os produtos (Wagmann; Jacobs; Meyer, 2022). A urina também é plausível de ser coletada em casos *post mortem*, através da punção com seringa ou uso de catéter uretral para coleta direta da bexiga (Dinis-Oliveira; Vieira; Magalhães, 2016).

No entanto, matrizes alternativas podem ser empregadas em casos onde as matrizes convencionais não estejam disponíveis ou não possuem a qualidade necessária para a análise, e em casos específicos pela coleta menos invasiva (De Campos *et al.*, 2022). Dentre estas matrizes, destaca-se o fluido oral. A passagem das substâncias do sangue para o fluido oral ocorre por difusão simples das moléculas na forma livre. Pelo pH relativamente mais elevado do fluido oral em relação ao sangue, a passagem de substâncias básicas e com baixa taxa de ligação às proteínas plasmáticas é favorecida. Dessa forma, as concentrações encontradas na amostra de fluido oral podem ser correlacionadas com os níveis plasmáticos (Cohier; Mégarbane; Roussel, 2017; Desrosiers; Huestis, 2019). A coleta do fluido oral é realizada de forma não-invasiva, e pode ser efetuada através de coleta passiva, expectoração e com o auxílio de dispositivos. É considerada simples e rápida, o que dispensa a necessidade de um profissional altamente especializado, e está menos suscetível a adulterações, quando comparado a urina (De Campos *et al.*, 2022; Desrosiers; Huestis, 2019; Mali; Karpe; Kadam, 2011). Considerando as vantagens citadas, o fluido oral vem sendo empregado principalmente nos cenários de verificação do uso de drogas no trânsito e no ambiente de trabalho (Desrosiers; Huestis, 2019). No entanto, algumas desvantagens incluem a influência do gênero, idade, estado de saúde, ciclo circadiano, dieta, uso de medicamentos e tabagismo na composição do fluido oral (De Campos *et al.*, 2022). Ademais, a quantidade de amostra disponível é limitada, e, se usado algum tipo de dispositivo de coleta, as concentrações podem ser alteradas por interações com os tampões e materiais absorventes utilizados na confecção dos mesmos (Cohier; Mégarbane; Roussel, 2017; Peters *et al.*, 2017).

1.1.3 Preparo de amostra para análises toxicológicas

Antes de ser realizada a análise de uma matriz biológica em um instrumento analítico, a mesma deve ser submetida a um preparo de amostra. O preparo de amostras é considerado uma etapa fundamental no processo analítico, correspondendo a cerca de 60% do tempo de análise e estando relacionada com aproximadamente 30% dos erros (Câmara, 2022). Os objetivos principais desta etapa são a compatibilidade da amostra com a instrumentação analítica, a remoção de potenciais compostos interferentes presentes na amostra e o aumento da concentração dos analitos (Bi *et al.*, 2024). A etapa de preparo de amostras pode ser dividida em três sub etapas, sendo que não necessariamente todas necessitam ser realizadas, o que depende do tipo de amostra e finalidade de análise. O primeiro procedimento é o pré-tratamento da amostra, que visa tornar a amostra compatível com o preparo a ser realizado. O pré-tratamento inclui processos de filtração, centrifugação, hidrólise, seja ela ácida, básica ou enzimática, e ajuste de pH. A segunda sub etapa é a extração propriamente dita, que busca recuperar os analitos presentes na amostra. Em diversos estudos, o processo de extração é tratado como um sinônimo de preparo de amostra, visto que é a sub etapa mais importante. Na etapa de extração, pode ser realizado um passo adicional de *clean-up*, que visa a remoção de compostos que possam influenciar a análise, os chamados interferentes. Por último, em alguns casos é necessária a realização de uma etapa de concentração, que é promovida por meio da evaporação do extrato final sob fluxo de nitrogênio (Câmara, 2022).

A escolha da técnica ideal de preparo de amostra a ser utilizada irá depender primariamente da finalidade da análise, incluindo a matriz que será submetida à análise, os analitos a serem determinados e os níveis de concentração necessários (Câmara, 2022). Diversas técnicas de preparo de amostra já foram descritas na literatura. Entre as técnicas convencionais ou clássicas incluem a extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) e a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*). Estas são técnicas amplamente utilizadas na área da toxicologia e estão presentes na maioria dos laboratórios de rotina e indústria (Castañeda *et al.*, 2024).

A técnica de SPE é baseada na partição do analito entre a amostra onde ele está contido e um sorvente sólido (Martínez-Pérez-Cejuela; Gionfriddo, 2024). É realizada utilizando colunas ou cartuchos que contém o sorvente de forma empacotada. As fases sólidas mais comuns incluem fases de troca iônica, fase reversa, interação hidrofílica (HILIC) ou fase mista. A seleção do cartucho é realizada com base nas características dos analitos que devem ser compatíveis com o sorvente, a quantidade de sorvente, que depende do nível de enriquecimento

necessário e o volume de amostra empregado no protocolo. As etapas do processo de SPE se dividem em: (i) condicionamento, necessário para ajustar o pH da fase sólida e ativar os grupos funcionais para que ocorram as interações; (ii) carregamento da amostra; (iii) lavagem, que visa remover os interferentes que possam ter se ligado ao sorvente; (iv) eluição, onde os analitos serão transferidos da fase sólida para um solvente orgânico. Entre as etapas de lavagem e eluição, é recomendada a secagem do cartucho para remoção da fase aquosa residual. O processo da SPE é inteiramente executado sob vácuo ou utilizando *manifold* de pressão positiva, que irão promover o movimento das soluções pelo cartucho de forma constante. O fluxo utilizado irá depender do tipo de cartucho escolhido. O extrato orgânico obtido após a etapa de eluição pode ser diretamente injetado no sistema analítico ou passar por uma etapa de secagem, tanto para pré-concentração como para torná-lo compatível com o instrumento analítico. Entre as vantagens da SPE pode-se citar a alta seletividade, a produção de extratos com baixa taxa de interferentes e a possibilidade de automação (Jones *et al.*, 2022; Stone, 2017)

A LLE é uma técnica baseada na extração dos analitos de uma fase original aquosa, no caso a amostra, para uma fase aceptora que deverá ser um solvente orgânico com alta afinidade pelos analitos (Martínez-Pérez-Cejuela; Gionfriddo, 2024). O primeiro passo da LLE usualmente consiste na adição de uma solução tampão, que permita que os compostos de interesse se apresentem na forma molecular, onde terão mais afinidade com o solvente orgânico. Também pode ser realizada a adição de sais que promovem o efeito *salting-out*, ou seja, diminuem o teor de água da amostra para que os analitos estejam livres para migrarem para a fase orgânica. Após estes passos, será adicionado um solvente orgânico à amostra, cuja escolha dependerá da polaridade dos analitos. A mistura é então agitada e posteriormente centrifugada, havendo a formação de duas fases imiscíveis. A fase orgânica será coletada e injetada no sistema analítico de forma direta ou passar por secagem como no caso da SPE. A LLE possui muitas vantagens como a capacidade de extração de diversos tipos de analitos, a efetiva remoção de fosfolípidios e o baixo custo (Jones *et al.*, 2022; Stone, 2017).

No entanto, as técnicas convencionais possuem algumas desvantagens. Na SPE, o protocolo é trabalhoso e demanda muito tempo do analista, são necessários cartuchos de extração com custo elevado, grandes volumes de amostra e solvente são utilizados e necessita de equipamentos específicos como sistemas de vácuo e *manifold*. Já na LLE, há um alto consumo de solventes orgânicos tóxicos, o tempo de extração é longo e a técnica não é compatível com a automatização (Bi *et al.*, 2024; Martínez-Pérez-Cejuela; Gionfriddo, 2024). Para solucionar estas limitações apresentadas, foram desenvolvidos procedimentos que utilizam os mesmos princípios das técnicas convencionais, porém em uma escala reduzida, as chamadas

técnicas miniaturizadas ou microextrações. Estas técnicas serão discutidas de forma mais aprofundada no tópico 1.2.1.

1.1.4 Técnicas instrumentais

Devido à complexidade das matrizes biológicas e à possível baixa concentração dos analitos nas mesmas, sua determinação deve ser realizada por técnicas específicas e sensíveis o suficiente. Atualmente, a maioria das análises toxicológicas é realizada utilizando técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas (MS, do inglês *Mass Spectrometry*). A cromatografia é uma técnica de separação dos compostos com base em sua afinidade por uma fase estacionária e a partição destes compostos com a fase móvel. Quando a fase móvel utilizada é um gás, configura-se a técnica de cromatografia gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*), enquanto quando a fase móvel é um líquido, configura-se a técnica de cromatografia líquida (LC, do inglês *Liquid Chromatography*) (Mbughuni; Jannetto; Langman, 2016). Estas técnicas podem ser utilizadas para uma ampla gama de aplicações, sendo capazes de realizarem análises quali e quantitativas, e em modo *targeted*, ou seja, para a identificação de compostos específicos, ou *untargeted*, que identificam todos os compostos presentes na amostra. Além disso, métodos multianalitos podem ser aplicados, o que aumenta o rendimento das análises (Adaway; Keevil; Owen, 2015; Remane; Wissenbach; Peters, 2016; Rentsch, 2016).

No GC, os analitos devem ser volatilizados para serem carregados pela fase móvel gasosa. Dessa forma, os compostos precisam ser termicamente estáveis, voláteis e com baixa polaridade (Rentsch, 2016). Compostos que não se enquadram nesses requisitos podem passar por um processo de derivatização, que realiza a alteração química das moléculas para que essas se tornem mais estáveis e voláteis. Os agentes derivatizantes mais utilizados nas análises toxicológicas atuam por reações de silanização, alquilação ou acilação. Os analitos serão injetados dissolvidos em um solvente e volatilizados na porta de injeção do GC. É possível a realização da análise em modo *split*, onde somente uma porção do solvente é injetada, evitando a contaminação da coluna (Kyle, 2017). A fase estacionária é formada por uma coluna capilar constituída de sílica fundida, onde a fase estacionária recobre o interior da coluna (Hites, 2016). A coluna capilar é armazenada em um forno que é aquecido em temperatura constante, ou com a utilização de um gradiente de temperatura. A fase móvel gasosa é composta por um gás ultrapuro, usualmente hélio ou hidrogênio, que percorre a coluna em um fluxo constante,

usualmente estabelecido pelas características da mesma como diâmetro e comprimento (Kyle, 2017).

Já em LC, os analitos serão conduzidos por uma fase móvel líquida pela fase estacionária. Os componentes principais de um sistema de LC são as bombas de fase móvel, responsáveis por manter um fluxo constante de fase líquida, o injetor, responsável pela introdução da amostra e a coluna cromatográfica, que é a fase estacionária (Basharat *et al.*, 2021). A escolha da coluna cromatográfica é considerada crítica e dependerá das características dos analitos a serem avaliados. Em análises toxicológicas, as fases estacionárias mais utilizadas são as colunas de fase reversa, contendo fases de octadecilsilano (C_{18}), fenil ou derivados de pentafluorofenil (Remane; Wissenbach; Peters, 2016; Rentsch, 2016). Além da escolha da fase estacionária, a fase móvel também pode afetar a performance da análise. Em LC-MS, tampões não-voláteis devem ser evitados, para que os mesmos não precipitem e comprometam o equipamento. O uso de aditivos também deve ser monitorado, pois pode levar à formação de adutos durante a ionização, o que pode dificultar a identificação dos analitos (Rentsch, 2016).

Após a separação por cromatografia, os compostos precisam ser analisados por um detector, sendo os espectrômetros de massas os mais utilizados em análises toxicológicas. A detecção dos compostos na MS é realizada com base na relação massa/carga (m/z). A construção do espectrômetro de massas pode ser dividida em quatro componentes principais: o injetor da amostra, a fonte de ionização, o analisador de massas e o detector. A fonte de ionização será responsável por transformar os analitos em íons e sua escolha determinará o tipo de amostra a ser analisada (líquida, sólida ou gasosa) e a técnica cromatográfica a ser acoplada (Mbughuni; Jannetto; Langman, 2016). Em GC-MS, a ionização comumente utilizada é a ionização por elétrons (EI, do inglês *electron ionization*). Este tipo de ionização é considerada agressiva e produz uma fragmentação extensiva dos íons formados. A EI sempre irá ocorrer com uma energia padrão de 70 eV, o que possibilita que o padrão de fragmentação dos analitos seja sempre o mesmo, permitindo a construção de bibliotecas de espectros de massa (Kyle, 2017). Já em LC-MS, diversas fontes podem ser utilizadas, sendo a mais frequente a fonte de ionização por *electrospray* (ESI). A ionização decorrente da fonte ESI, ao contrário da EI, é considerada branda, pois não é capaz de uma fragmentação significativa (Lynch, 2017; Rentsch, 2016). A ionização ocorre pela aplicação de uma voltagem ao solvente que carrega os analitos. Este solvente é nebulizado com o auxílio de um gás inerte, normalmente nitrogênio, que é capaz de dessolvatar o solvente no processo, restando apenas os íons carregados para seguirem para o analisador de massas (Adaway; Keevil; Owen, 2015). Uma vantagem da ionização ESI é a capacidade de analisar compostos com uma ampla diversidade de polaridades e volatilidades.

No entanto, a presença de compostos menos voláteis pode alterar a dessolvatação, assim afetando a quantidade de íons a serem analisados, processo chamado de supressão de ionização ou efeito matriz (Lynch, 2017; Remane; Wissenbach; Peters, 2016).

O analisador de massas irá determinar a resolução do equipamento utilizado. A resolução é a capacidade do sistema de discriminar dois compostos com m/z parecidos (Mbughuni; Jannetto; Langman, 2016). Os analisadores de massa mais comuns são o quadrupolo, analisador por tempo de voo e por armadilha de íons (*ion trap*). O analisador do tipo quadrupolo é formado por quatro bastões de metal paralelos, distribuídos em uma configuração quadrangular. Enquanto os íons passam pelo meio dos bastões, voltagens são aplicadas aos bastões diagonalmente opostos, criando um campo elétrico capaz de selecionar íons específicos. Os outros íons são desviados da trajetória linear e atingem as paredes do equipamento. Dessa maneira, também são frequentemente chamados de filtros de massa, pois filtram os íons de interesse (Kyle, 2017; Lynch, 2017). Além do uso de um único analisador de massas, o acoplamento de mais de um analisador pode ser realizado, resultando em analisadores híbridos ou *em tandem*. Usualmente, instrumentos híbridos terão maior acurácia e resolução, sendo mais seletivos e sensíveis (Mbughuni; Jannetto; Langman, 2016). O analisador de massas mais utilizado nas análises toxicológicas é o analisador do tipo triplo quadrupolo. Neste analisador, o primeiro quadrupolo é responsável pela seleção de íons precursores, como visto anteriormente. O segundo quadrupolo será uma câmara de colisão, preenchida com um gás inerte como nitrogênio ou argônio. A câmara de colisão será responsável pela fragmentação dos íons precursores, resultando em íons produto. No terceiro quadrupolo, há a seleção dos íons produto de interesse. O par composto pelo íon precursor e seu íon produto formado é chamado de transição (Adaway; Keevil; Owen, 2015; Kyle, 2017; Lynch, 2017).

Dessa maneira, a aquisição dos dados em instrumentos do tipo quadrupolo pode ser realizada de duas maneiras: a análise em *scan*, onde o quadrupolo não irá selecionar nenhum íon específico e todos os compostos presentes na amostra serão analisados, ideal para análises de triagem; e o modo de monitoramento de íon único (SIM, do inglês *Single Ion Monitoring*), onde o quadrupolo seleciona íons específicos, aumentando a especificidade e detectabilidade dos mesmos. Já nas técnicas *em tandem*, dois modos são frequentemente utilizados, o monitoramento de única reação (SRM, do inglês *Single Reaction Monitoring*) que monitora uma transição específica, e o monitoramento de reações múltiplas (MRM, do inglês *Multiple Reaction Monitoring*). O MRM é normalmente o modo mais utilizado nas análises toxicológicas pois permite a análise multianálitos e garante maior sensibilidade pelo aumento da relação sinal/ruído. Nesta técnica, usualmente são monitoradas duas ou três transições por

analito, sendo a mais intensa utilizada para quantificação e as menos intensas utilizadas para qualificação. Além disso, a aquisição de dados pode ser realizada no modo dado-dependente, onde a fragmentação no segundo quadrupolo só ocorrerá quando um analito alcançar uma intensidade pré-estabelecida pelo analista (Adaway; Keevil; Owen, 2015; Kyle, 2017; Lynch, 2017; Mbughuni; Jannetto; Langman, 2016).

1.2 Química Analítica Verde

A Química Analítica Verde (GAC, do inglês *Green Analytical Chemistry*) constitui-se em uma filosofia baseada na Química Verde, desenvolvida com base na crescente preocupação com as questões ambientais durante as últimas décadas (Armenta; Garrigues; De La Guardia, 2008). As práticas baseadas na GAC tem como objetivo tornar as análises laboratoriais mais sustentáveis, reduzindo o impacto ambiental das técnicas. Esta sustentabilidade pode ser atingida por protocolos de redução, reutilização e substituição de equipamentos e reagentes, que se estendem a todo o processo analítico. Além disso, a GAC preconiza uma maior segurança do operador, pela diminuição da exposição do mesmo a produtos potencialmente tóxicos e que possam comprometer sua saúde (Płotka-Wasyłka; Namieśnik, 2019).

No ano de 2013, Gałuszka, Migaszewski e Namieśnik (2013) sintetizaram os conceitos da GAC em uma série de doze princípios práticos, que atualmente são as diretrizes utilizadas para o desenvolvimento de métodos verdes. Cada um dos princípios aborda um passo essencial do processo analítico compreendido desde a amostragem até o descarte dos reagentes utilizados. Os primeiros princípios são relacionados à amostragem, onde é afirmada a necessidade de métodos de amostragem direta. Como exemplos desse tipo de amostragem podemos citar as matrizes secas, onde a amostra já está pronta para o processamento. Dessa maneira, etapas como a centrifugação de amostras, para obtenção de plasma por exemplo, e de aliquotagem da amostra para posterior análise são evitadas. Essa abordagem é interessante, pois diminui o tempo de pré tratamento das amostras e potencialmente contaminação biológica do operador (Fabris; Yonamine, 2021). Adicionalmente, é recomendado o uso do menor volume e número de amostras possível. Esse conceito também é de extrema importância para as análises toxicológicas, visto que, em muitos casos, a quantidade de amostra é extremamente limitada como nas análises *post mortem*, ou o volume é reduzido como no caso de coleta na população pediátrica (De Campos *et al.*, 2022, Wagmann; Jacobs; Meyer, 2022).

Os princípios seguintes estão relacionados com a configuração da metodologia. Os princípios tratam do uso de técnicas de detecção ou quantificação *in situ*, usualmente relacionadas com o uso de técnicas de análise direta como a espectrometria de massas utilizando ionização ambiente. Isso está altamente relacionado aos gastos de tempo e dinheiro com acondicionamento e transporte das amostras. Em um cenário ideal, as análises deveriam ser realizadas no próprio ambiente de coleta, no entanto, isso também traz uma série de custos adicionais como a disponibilidade de instrumentação analítica e operadores qualificados (Rankin-Turner; Sears; Heaney, 2023). Caso a análise não possa ser executada de maneira direta, é sugerido que o preparo da amostra seja realizado de forma *online*, ou seja, integrado ao instrumento analítico que realiza a análise. Isso evitaria possíveis perdas entre estas duas etapas, principalmente no caso de analitos instáveis e economizaria tempo, além de não necessitar a presença de um operador para realizar este processo (Armenta *et al.*, 2019). Esse princípio vem de encontro com o que trata sobre a automatização de processos, principalmente relacionado com a etapa de preparo de amostra. Um processo automatizado minimiza a quantidade de erros aleatórios, reduz a exposição do operador aos reagentes e as amostras, e possibilita o preparo de várias amostras ao mesmo tempo, aumentando o rendimento total do processo (Birk *et al.*, 2021; Ma *et al.*, 2023).

No entanto, os princípios mais investigados, pelo alto número de publicações, são àqueles que se referem a miniaturização de métodos, redução de resíduos, substituição de reagentes evitando o uso de compostos tóxicos e aumento da segurança do operador (Gałuszka; Migaszewski; Namieśnik, 2013). Devido a sua importância, estes princípios serão discutidos nos próximos subtópicos “Técnicas de preparo de amostra verdes” e “Materiais alternativos e biossorventes”. Recentemente, o conceito de Toxicologia Analítica Verde foi desenvolvido, que busca aplicar as ideias da GAC na área da toxicologia analítica, visto que, muitas vezes, nem todos princípios são aplicáveis às análises toxicológicas. Neste cenário, uma importância maior é dada à economia de tempo e recursos, à análise multianalitos, à análise de múltiplas amostras ao mesmo tempo possibilitada por técnica semi ou completamente automatizadas, o custo-benefício da análise e a sustentabilidade da mesma (Meirelles *et al.*, 2022).

Alguns desafios ainda necessitam ser enfrentados para que os processos analíticos se tornem sustentáveis por completo. Entre eles pode-se citar o alto uso de materiais consumíveis plásticos, como tubos, ponteiras e placas. O uso de dispositivos plásticos possibilita uma série de vantagens como o baixo custo de aquisição e, por se tratar de um material descartável, o uso único, o que limita as chances de contaminação entre as amostras a serem analisadas. No entanto, a geração de resíduo plástico contaminado que precisa passar por um processo de

descarte especial não se enquadra em técnica que segue os princípios da GAC. Atualmente, algumas empresas promovem programas de reciclagem, no entanto, a oferta é baixa e não cobre todos os tipos de resíduos gerados. A melhor opção continua sendo em esforços que buscam reduzir o consumo destes materiais durante o preparo de amostra (Armenta *et al.*, 2019; Martínez-Pérez-Cejuela; Gionfriddo, 2024).

1.2.1 Técnicas de preparo de amostra verdes

Conforme visto anteriormente, a etapa de preparo de amostra é considerada uma das mais críticas da fase analítica, dessa maneira também é a que mais contribui para o impacto ambiental e a segurança do operador. Dessa maneira, o desenvolvimento das técnicas de preparo de amostra verdes foi necessário para resolver algumas questões das técnicas clássicas de preparo de amostra, tornando os métodos alinhados com os princípios da GAC (Esteve-Turrillas; Garrigues; De La Guardia, 2024). Entre as limitações das técnicas clássicas que precisavam ser resolvidas pode-se citar os altos volumes de amostra e de reagentes necessários, o alto custo, a complexidade e tempo de análise necessários, devido a múltiplos passos no protocolo, e a dificuldade de automatização. Diferentes abordagens foram desenvolvidas para superar estes desafios, no entanto, particular sucesso foi atingido pelas técnicas miniaturizadas ou microextrações (Birk *et al.*, 2021; Kokosa; Przyjazny, 2022).

As microextrações são técnicas que foram desenvolvidas com base nos princípios das técnicas clássicas, porém em uma escala reduzida. Dessa forma, temos microextrações baseadas em fase líquida, que utilizam os princípios da LLE, e microextrações baseadas em fase sólida, que são uma versão reduzida da SPE. A redução da escala permite a redução da quantidade de amostra utilizada, da quantidade de solventes e sorventes, e da quantidade de resíduo gerado no final do processo. Além disso, são usualmente técnicas mais simples e diretas, que não necessitam do uso de equipamentos sofisticados, o que diminui o consumo de energia utilizado durante o preparo de amostras e também o custo individual da análise (Armenta *et al.*, 2019; He; Concheiro-Guisan, 2019). É importante ressaltar que o desenvolvimento de tais técnicas somente foi possível pois os equipamentos analíticos utilizados para a determinação dos compostos também se tornaram mais sensíveis com os avanços tecnológicos (Kokosa; Przyjazny, 2022).

Entre as microextrações que se baseiam em fase líquida, as mais utilizadas em análises toxicológicas são a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *Dispersive*

Liquid-Liquid Microextraction) e a microextração em fase líquida suportada por fibra oca (HF-LPME, do inglês *Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction*), no entanto diversos tipos de configurações já foram desenvolvidas. Na DLLME, um solvente extrator com características apolares será previamente misturado com um solvente de polaridade intermediária. O solvente dispersor é responsável por dissipar o solvente extrator na amostra aquosa, aumentando a superfície de contato e a eficiência da extração. A mistura dos solventes é usualmente adicionada de forma rápida à amostra, com a formação de microgotas do solvente extrator (Câmara *et al.*, 2022). Após a mistura, a amostra pode ser agitada em vórtex, colocada em ultrassom ou adicionada de surfactantes para facilitar a dispersão do solvente. Por fim, haverá a recuperação do solvente extrator que pode ser realizada através de centrifugação ou solidificação da gota. A principal desvantagem da técnica é o uso frequente de solventes extratores tóxicos, no entanto, novos materiais vêm sendo desenvolvidos para substituí-los sem prejuízo de eficiência (He; Concheiro-Guisan, 2019).

Já na HF-LPME, a extração é auxiliada pelo uso de uma membrana de polipropileno de fibra oca. A HF-LPME pode ocorrer de dois modos diferentes, em duas ou três fases. Na extração em duas fases, a membrana estará impregnada com um solvente extrator, também presente em seu lúmen. A fibra é mantida em contato com a amostra aquosa e os analitos serão transferidos da amostra para o solvente contido na fibra com base no coeficiente de partição. No modo de três fases, o lúmen da membrana é preenchido com uma solução aceptora, enquanto seus poros são impregnados com um solvente. Quando a membrana é inserida na amostra, neste caso a fase doadora, os analitos irão migrar para a mesma por afinidade com o solvente e acabam passando para a fase aceptora. É importante que a fase doadora tenha um pH que permita que os analitos estejam em sua forma neutra ou molecular para que eles tenham a capacidade de translocação para a membrana. A fase aceptora terá um pH que promova a ionização dos os analitos, dificultando a movimentação dos mesmos, sendo estes confinados a este líquido (Alsharif *et al.*, 2017). Entre as vantagens desse tipo de preparo pode-se citar a alta seletividade e o *clean-up* eficiente, devido à barreira física imposta pela fibra, o que resulta em um menor efeito matriz. Além disso, altos fatores de enriquecimento são atingidos. No entanto, algumas dificuldades encontradas são a baixa recuperação dos analitos e a falta de padronização, pois usualmente o processo de preparo e selamento da membrana é executado de maneira manual (Venson; Korb; Cooper, 2019).

Em comparação com as extrações em fase líquida, as microextrações baseadas em fase sólida possuem uma compatibilidade maior com sistemas de automação, visto que não necessitam de processos de centrifugação para separação das fases. Além disso, utilizam

quantidades mínimas de solventes, o que garante a segurança do operador pelo não-uso de compostos voláteis (Jagirani; Soyak, 2024). Entre as microextrações que se baseiam em fase sólida, destacam-se a microextração por sorvente empacotado (MEPS, do inglês *Microextraction by Packed Sorbent*) e a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid Phase Microextraction*), no entanto, existe uma alta variedade de técnicas já desenvolvidas. A MEPS é considerada a alternativa mais similar à SPE, visto que as etapas do protocolo são as mesmas, ou seja, condicionamento, carregamento da amostra, limpeza e eluição. No entanto, na MEPS, o sorvente está empacotado dentro de uma seringa ou como um cartucho acoplado à mesma. Essa configuração permite o duplo fluxo da amostra e dos solventes, o que resulta em maior interação com a fase sólida e maiores eficiências de extração (Birk *et al.*, 2021; He; Concheiro-Guisan, 2019). Entre as principais vantagens da MEPS se tem a reutilização do sorvente para múltiplas análises, o que diminui consideravelmente o custo e a quantidade de resíduo gerado nesta técnica (Soares *et al.*, 2023).

Na SPME, o sorvente responsável pela extração dos analitos recobre uma fibra de sílica fundida. A extração pode ser realizada no modo de imersão direta ou *headspace*. Na imersão direta, a fibra é mantida diretamente em contato com a amostra líquida, para que ocorra a interação entre o sorvente e os analitos. No modo de *headspace*, a fibra entrará em contato apenas com o *headspace*, podendo ser utilizada para amostras líquidas, sólidas ou gasosas. No entanto, na última configuração, é imprescindível que os analitos sejam voláteis, para que migrem para o *headspace*. Após essa etapa que é considerada a extração propriamente dita, os analitos serão dessorvidos do sorvente com o auxílio de um solvente de dessorção, ou através de dessorção térmica, frequentemente utilizada em análises por GC, onde a dessorção é realizada na porta de injeção do instrumento (Badawy *et al.*, 2022; Leszczyńska, *et al.*, 2024). As fibras de SPME podem ser reutilizadas para múltiplas análises, no entanto são de construção frágil, sendo necessário cuidado ao manuseá-las. Além disso, uma grande vantagem é o uso da SPME para análises *in vivo*, através da exposição direta a tecidos ou fluidos biológicos (Leszczyńska, *et al.*, 2024; Soares *et al.*, 2023). No entanto, algumas técnicas de microextração ainda são pouco utilizadas por conta da necessidade de dispositivos específicos como fibras, cartuchos ou membranas. Dessa forma, técnicas que dispensam estes materiais são mais acessíveis nos laboratórios analíticos como é o caso do QuEChERS (acrônimo para *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) e da extração em fase sólida dispersiva (dSPE, do inglês *dispersive Solid Phase Extraction*).

1.2.1.1 QuEChERS

A extração do tipo QuEChERS foi desenvolvida por Anastassiades *et al.* (2003), inicialmente sendo empregada na análise de pesticidas em amostras vegetais e de alimentos. O procedimento é composto por duas etapas, sendo a primeira uma extração do tipo líquido-líquido, e a segunda uma etapa de purificação ou *clean-up* (Dybowski; Dawidowicz, 2018). Na primeira etapa, há a adição de um solvente orgânico e de um sal à amostra a ser extraída. Nesta etapa irá ocorrer a partição do analito da fase aquosa da amostra, para a fase orgânica. Esta partição será facilitada pelo sal devido ao efeito *salting-out*, onde o sal é capaz de “sequestrar” as moléculas de água, permitindo que o analito livre migre para a fase orgânica. O extrato obtido na primeira etapa seguirá para a segunda etapa onde são adicionados um sorvente e um sal ao mesmo. Nesta etapa, ocorre uma etapa de dSPE, cujo objetivo é a remoção de potenciais interferentes do extrato (Perestrelo *et al.*, 2019).

O solvente mais utilizado na primeira fase da extração é a acetonitrila, devido à capacidade de extrair uma alta gama de substâncias de interesse e baixa co-extração de compostos lipofílicos constituintes da amostra. Além disso, a separação entre as fases aquosa e orgânica é mais eficiente (Perestrelo *et al.*, 2019; Schmidt; Snow, 2016). Já os sais mais empregados são o cloreto de sódio e o sulfato de magnésio, utilizados desde o protocolo original. O cloreto de sódio é responsável por reduzir a presença de interferentes polares, auxiliando na seletividade da técnica. Já o sulfato de magnésio é capaz de auxiliar na recuperação de analitos devido a melhora da partição entre a amostra e o solvente (Schmidt; Snow, 2016). Na etapa de dSPE, os sorventes mais utilizados são a amina primária-secundária (PSA) e o C₁₈. O PSA é mais eficaz na remoção de ácidos graxos e açúcares, enquanto o C₁₈ é responsável pela remoção de lipídios em geral (Da Silva *et al.*, 2021; Pouliopoulos *et al.*, 2018). Na dSPE pode haver, opcionalmente, a adição de sais com o objetivo de eliminar moléculas de água que possam ter restado na fase orgânica (Schmidt; Snow, 2016). No entanto, o método é considerado versátil, justamente pela possibilidade de uso de diferentes solventes, sais e sorventes, que podem se adequar aos objetivos da análise (Santana-Mayor *et al.*, 2023).

Dessa maneira, a eficiência da técnica de QuEChERS será influenciada pelas propriedades físico-químicas dos analitos a serem investigados, da composição da matriz na qual os analitos estão contidos, e do tipo de solvente, sais e sorventes utilizados (Perestrelo *et al.*, 2019). Adicionalmente, pode ser promovida a adição de soluções tampão à primeira etapa da extração, o que previne a degradação de algumas substâncias mais instáveis e aumenta a gama de substâncias passíveis de análise (González-Curbelo *et al.*, 2015; Schmidt; Snow,

2016). Outros fatores que podem influenciar a extração dos analitos e modular a recuperação da técnica são a razão entre a quantidade de amostra e solvente, o tempo e a temperatura de extração, a quantidade de reagentes utilizada e o pH do meio (González-Curbelo *et al.*, 2015; Perestrelo *et al.*, 2019; Santana-Mayor *et al.*, 2023). É possível a análise de amostras sólidas, no entanto, as mesmas precisam passar por um processo de homogeneização ou fragmentação, para aumentar a superfície de contato com o solvente (González-Curbelo *et al.*, 2015). Além disso, amostras complexas podem ser pré-preparadas com auxílio de técnicas de digestão e hidrólise enzimática para que sejam compatíveis com o protocolo de QuEChERS (Santana-Mayor *et al.*, 2023). Adicionalmente, uma maior eficiência de extração pode ser obtida com o auxílio de ultrassom, que possibilita um maior contato entre a amostra e o solvente (Perestrelo *et al.*, 2019).

As principais vantagens desta técnica são a simplicidade e segurança do protocolo, a flexibilidade, o baixo custo, a alta seletividade, a rapidez do protocolo, o baixo uso de solventes potencialmente nocivos e a minimização dos resíduos gerados (Dybowski; Dawidowicz, 2018; Kim *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2025). Em relação à LLE tradicional, o extrato formado é mais límpido e a separação entre as fases aquosa e orgânica é mais visível, visto que a formação de emulsões é dificultada pelo uso de sais. Já em relação à SPE, a principal vantagem do QuEChERS é a dispensa do uso de equipamentos específicos como o manifold e bomba de vácuo, e uma maior facilidade de operação da técnica, visto que não se necessita da atenção constante do analista. Além disso, todos os dispositivos utilizados na técnica são de uso único, o que reduz a chance de ocorrer uma possível contaminação (Anzilotti; Odoardi; Strano-Rossi, 2014; Usui *et al.*, 2012). Adicionalmente, como o extrato final é usualmente composto por acetonitrila, a técnica é facilmente compatível com análise por LC-MS ou GC-MS (Perestrelo *et al.*, 2019). Atualmente, existem vários kits comerciais disponíveis que já possuem os sais e sorventes na quantidade necessária para a extração, sendo dispensada a etapa de pesagem dos mesmos (Anzilotti; Odoardi; Strano-Rossi, 2014; González-Curbelo *et al.*, 2015). A principal desvantagem é a dificuldade de automatização do procedimento, sendo este realizado de forma majoritariamente manual (González-Curbelo *et al.*, 2015; Santana-Mayor *et al.*, 2023).

Diversas modificações do método original de QuEChERS já foram reportadas na literatura, justamente pelas modificações de reagentes. Além disso, versões miniaturizadas da técnica permitem a análise de baixos volumes de amostra e estão de acordo com os princípios da GAC (Perestrelo *et al.*, 2019; Santana-Mayor *et al.*, 2023). Alguns autores reportam o uso apenas da primeira etapa do protocolo de QuEChERS, sendo este preparo denominado de mini-QuEChERS. A redução do protocolo é benéfica, visto que o mesmo se torna mais rápido e

direto e há um consumo menor de reagentes, no entanto, visto que não se tem a etapa de clean-up, o extrato final pode apresentar maior quantidade de interferentes, o que leva a um maior efeito matriz (Da Silva *et al.*, 2021).

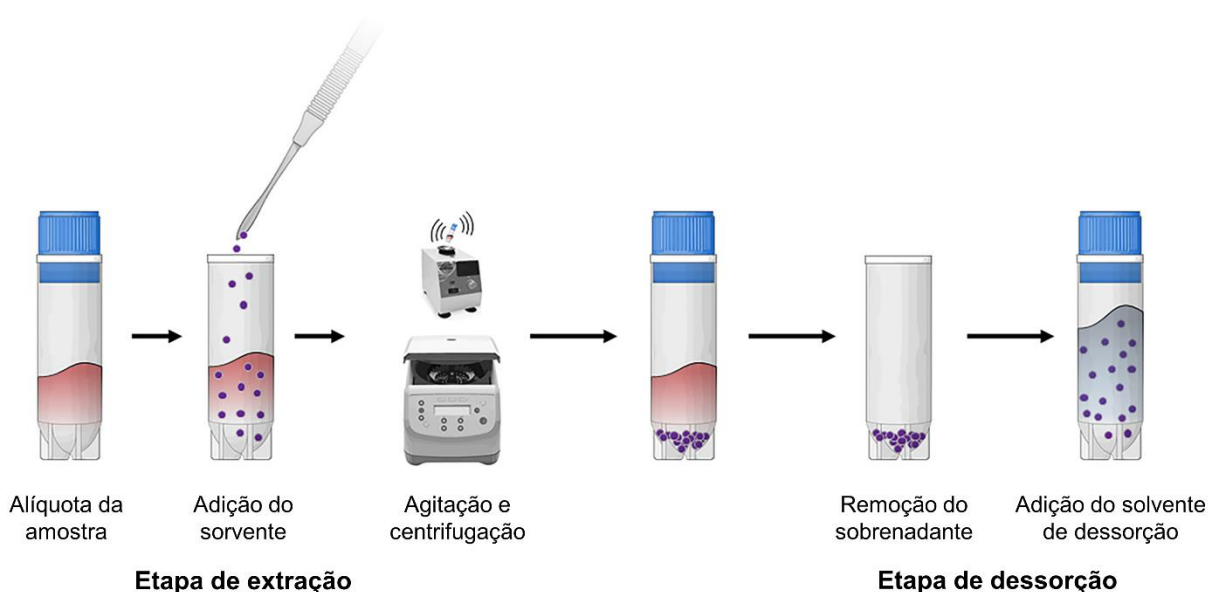
Apesar do protocolo original de QuEChERS ter sido desenvolvido para a análise de pesticidas em alimentos, atualmente a técnica é empregada para diversos tipos de analitos e matrizes de interesse da toxicologia. Entre as matrizes avaliadas pode-se citar o sangue, soro, urina, cabelos e unhas, sendo a primeira a mais utilizada. Entre os analitos avaliados destacam-se medicamentos de diferentes classes incluindo antidepressivos, antipsicóticos, benzodiazepínicos e opióides, e drogas de abuso com seus respectivos produtos de biotransformação (Anzilotti; Odoardi; Strano-Rossi, 2014; Da Silva *et al.*, 2021; Dybowski; Dawidowicz, 2018; Kim *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2025; Pouliopoulos *et al.*, 2018). Este preparo se torna particularmente interessante para amostras forenses, pois resulta em extratos limpos mesmo em matrizes degradadas ou coaguladas e permite métodos multianalitos, importantes em casos de baixo volume de amostra disponível (Pouliopoulos *et al.*, 2018; Schmidt; Snow, 2016; Usui *et al.*, 2012).

1.2.1.1 Extração em fase sólida dispersiva

Com o desenvolvimento da técnica de QuEChERS, também houve a criação da dSPE, que no contexto citado, tinha a função de realizar o *clean-up* da amostra (Anastassiades *et al.*, 2003). No entanto, como a dSPE tinha a capacidade de reter compostos, em teoria, os mesmos poderiam ser desorvidos em uma solução específica. Dessa maneira, a técnica de dSPE se tornou um tipo de técnica de extração (Socas-Rodríguez *et al.*, 2015). Na literatura, os termos microextração em fase sólida dispersiva (DSPME, do inglês *Dispersive Solid Phase Microextraction*) ou extração em fase micro-sólida dispersiva (D-μSPE, do inglês *Dispersive Micro Solid Phase Extraction*) também são encontrados, que usualmente são considerados sinônimos (Chisvert; Cárdenas; Lucena, 2019; Ghorbani *et al.*, 2020). A DSPME foi desenvolvida por Tsai *et al.* (2009) para a análise de antimicrobianos em amostras de água e leite, e usa os mesmos princípios da dSPE, apenas com uma escala reduzida, ou seja, menores quantidades de reagentes. Dessa maneira, para fins de esclarecimento, durante este texto o termo dSPE será utilizado para se referir às duas técnicas, visto que a DSPME é uma subcategoria da dSPE.

A técnica de dSPE é dividida em duas etapas principais, sendo a primeira a fase da extração, onde um sorvente é adicionado à amostra e agitado por um período de tempo específico. Nesta etapa, os analitos dissolvidos na amostra irão interagir com o sorvente e serão adsorvidos pelo mesmo. Esta mistura é posteriormente centrifugada para que haja a separação das fases, e o sobrenadante é descartado. O sorvente segue para a segunda etapa do processo, a dessorção, onde uma solução de dessorção é adicionada ao sorvente, sendo a mistura novamente agitada e centrifugada. Nesta etapa, os analitos que haviam sido confinados no sorvente poderão migrar para a solução de dessorção. O sobrenadante restante poderá ser injetado no instrumento analítico ou passar por uma etapa subsequente de pré-concentração (Ghorbani *et al.*, 2019; Tsai *et al.*, 2009). Uma representação do procedimento de dSPE pode ser encontrada na Figura 5.

Figura 5 – Etapas do procedimento da extração em fase sólida dispersiva.



Fonte: Adaptado de Birk *et al.*, 2023

É importante destacar que em extrações baseadas no uso de uma fase sólida ou sorvente, há a ocorrência do processo de adsorção, ou seja, a aderência física ou ligação entre íons e moléculas do sorvente com aquelas do sorbato, no caso os analitos (Fomina; Gadd, 2014). As interações físicas se dão quando o sorvente possui uma estrutura porosa, e os analitos irão ocupar os poros disponíveis. A eficiência da extração ficará condicionada à estrutura, tamanho e, principalmente, número de poros do sorvente. Já a adsorção química irá ocorrer de duas maneiras: (i) através de forças intermoleculares como ligações de hidrogênio, forças de Van der

Waals e interações π - π ; (ii) através de ligações iônicas e covalentes entre o sorvente e o analito. As interações químicas ocorrem entre os grupos funcionais do sorvente e do analito, sendo que a quantidade de grupos funcionais irá modular a eficiência da extração (Ghorbani *et al.*, 2020).

Maiores eficiências de extração na dSPE são atingidas com um aumento da quantidade de sorvente utilizado, pois mais sítios ficam disponíveis para a adsorção, com o aumento da concentração inicial de analito e com uma maior taxa de dispersão (Ghorbani *et al.*, 2019). A dispersão eficiente será essencial, pois há o aumento da superfície de contato entre o analito e o sorvente e pode ser afetada por características do sorvente, como a tendência à aglomeração. No entanto, algumas técnicas podem ser utilizadas para auxiliar na dispersão como agitação mecânica por vórtex ou ultrassom, e dispersão química, usualmente realizada com agente efervescentes que irão gerar bolhas capazes de dispersar o sorvente. O uso do vórtex é a alternativa mais acessível por ser um equipamento barato e de simples manuseio. Já o ultrassom é atualmente o procedimento mais utilizado por sua alta eficiência na desagregação das partículas (Chisvert; Cárdenas; Lucena, 2019; Ghorbani *et al.*, 2019).

Desta forma, os parâmetros a serem otimizados na dSPE incluem a massa de sorvente, a quantidade de amostra, que irá determinar a quantidade de analito presente e o tempo das etapas de extração e dessorção, que irão modular a dispersão do sorvente. Outros parâmetros incluem o pH da amostra, o tipo e volume de solução de dessorção e o tipo de sorvente utilizado (Ghorbani *et al.*, 2020; Sefaty *et al.*, 2021). A solução de dessorção é usualmente constituída por solventes orgânicos como acetonitrila, etanol e metanol de forma pura ou como misturas. Sua escolha deve levar em consideração a possibilidade da degradação do sorvente, tornando o mesmo impedido de ser reutilizado (Fomina; Gadd, 2014; Sefaty *et al.*, 2021). Quanto ao tipo de sorvente, ele deve ter preferencialmente boa seletividade, estabilidade química e térmica e capacidade de reutilização, além de ser capaz de se dispersar de forma uniforme na amostra (Ghorbani *et al.*, 2020). O tipo de analito a ser extraído também deve ser considerado durante a escolha do sorvente, visto que a eficiência está condicionada à capacidade de interação entre os mesmos. Na maioria dos métodos, são utilizadas opções comerciais como C₁₈, PSA, e sorventes de troca iônica (Chisvert; Cárdenas; Lucena, 2019; Sefaty *et al.*, 2021; Socas-Rodríguez *et al.*, 2015; Tsai *et al.*, 2009). Opções mais modernas e de acordo com os princípios da Química Analítica Verde são discutidas no tópico 1.2.2.

As principais vantagens da técnica de dSPE incluem sua simplicidade, rapidez e alta eficiência, pelo aumento da superfície de contato entre sorvente e analito (Ghorbani *et al.*, 2020). Além disso, oferece uma grande versatilidade de aplicações pois o sorvente pode ser facilmente modificado. Adicionalmente, a dSPE não necessita de nenhum dispositivo

específico para ser realizada como fibras, seringas ou cartuchos, tornando a técnica mais barata em comparação com outras opções de técnicas verdes (Ghorbani *et al.*, 2019). Como o sorvente não está empacotado como na SPE, problemas com a permeabilidade da sorvente são evitados, permitindo a análise de amostras que contenham materiais sólidos. Além disso, a etapa de condicionamento do sorvente é, por muitas vezes, dispensável (Castañeda *et al.*, 2024). Entre as desvantagens, a principal é a dificuldade de recuperação do sorvente quando em solução, normalmente realizada por centrifugação, o que dificulta a automação da técnica. Na etapa de recuperação do sorvente, podem também ocorrer perdas devido a processos de filtração, diminuindo as taxas de recuperação dos analitos (Martínez-Pérez-Cejuela; Gionfriddo, 2024). No entanto, esse fator pode ser superado pelo uso de partículas magnéticas como sorventes. Nesta configuração, uma barra magnética pode ser utilizada tanto para favorecer a dispersão das partículas, quanto para aglomeração do sorvente na fase de recuperação (Chisvert; Cárdenas; Lucena, 2019).

1.2.2 Materiais alternativos e bio-sorventes

Com o objetivo de tornar as metodologias analíticas mais sustentáveis, diversos materiais vêm sendo desenvolvidos para substituir reagentes clássicos empregados nas técnicas de preparo de amostra. Além das características nocivas dos reagentes clássicos ou comercialmente disponíveis, para o operador e o meio ambiente, como toxicidade e não-degradabilidade, os mesmos podem possuir um custo elevado, o que encarece a análise como um todo. Além disso, possuem seletividade limitada, visto que foram desenvolvidos para serem aplicados em cenários diversos e na maioria dos casos, não podem ser reutilizados. Os substitutos aos reagentes clássicos são denominados de materiais alternativos, materiais verdes ou materiais inteligentes (Armenta *et al.*, 2021; Carasek *et al.*, 2025).

Os materiais alternativos podem ser novos solventes, empregados como substitutos dos solventes orgânicos em técnicas de extração baseadas em interações líquido-líquido. Os solventes tradicionais comumente possuem alta volatilidade, sendo potencialmente prejudiciais para a saúde do operador, além de necessitarem de um tratamento adequado para o descarte, o que torna o processo mais custoso (Martínez-Pérez-Cejuela; Gionfriddo, 2024). Entre os principais solventes verdes se destacam os líquidos iônicos (ILs, do inglês *Ionic Liquids*) e os solventes eutéticos profundos (DESSs, do inglês *Deep Eutectic Solvents*). Os ILs consistem em sais com baixo ponto de fusão e são compostos por um cátion orgânico e um ânion orgânico ou

inorgânico. Tem como vantagem a pressão de vapor não-significativa, estabilidade térmica e versatilidade, no entanto são inflamáveis e apresentam um certo grau de toxicidade. Outra opção são os DES, formados pela mistura eutética entre compostos aceptores de hidrogênio e doadores de hidrogênio, que isolados se apresentam em estado sólido, mas na mistura formam uma fase líquida homogênea. Possuem uma menor toxicidade e menor custo de síntese quando comparados aos ILs. Além disso, uma subclasse dos DES são os chamados NADES, ou solventes eutéticos profundos naturais, onde os compostos envolvidos possuem origem natural, como polissacarídeos e aminoácidos (Câmara *et al.*, 2022, Martínez-Pérez-Cejuela; Gionfriddo, 2024).

Em técnicas de extração que se baseiam na interação da amostra com uma fase sólida, esta fase sólida é composta por um sorvente, sendo os mais comuns são o C₁₈, PSA e sorventes de troca iônica (Richter, 2022). No entanto, novas alternativas de sorventes estão sendo desenvolvidas para se enquadrar nos princípios da Química Analítica Verde e também para melhorar a seletividade e recuperação das técnicas. Dessa maneira, estes materiais devem ser preferencialmente renováveis, reutilizáveis, não-tóxicos, com alta superfície de adsorção e biodegradáveis (Castañeda *et al.*, 2024; Jagirani; Soylak, 2024; Pacheco-Fernández *et al.*, 2020). Os sorventes verdes podem ser classificados quanto a sua origem, sendo ela sintética ou natural. Os principais exemplos de sorventes sintéticos são os polímeros molecularmente impressos (MIPs, do inglês *Molecularly Imprinted Polimers*), as nanopartículas (NPs) e as estruturas metalorgânicas (MOFs, do inglês *Metal Organic Frameworks*) (Carasek *et al.*, 2025; Castañeda *et al.*, 2024; Jagirani; Soylak, 2024; Ma *et al.*, 2023).

Os MIPs são sorventes altamente seletivos, pois sua síntese é realizada pela polimerização em torno de uma molécula que serve como molde. Dessa maneira, o MIP possui alta especificidade de interação para aquela molécula específica ou uma classe de moléculas que apresentam o mesmo núcleo. Outras vantagens deste sorvente incluem um baixo custo de síntese e estabilidade química (Ma *et al.*, 2023). Os MOFs são formados pela ligação de íons metálicos a compostos orgânicos formando materiais altamente porosos. São considerados sorventes estáveis química e termicamente, e possuem alta área de superfície pela grande presença de poros (Jagirani; Soylak, 2024; Ma *et al.*, 2023). A área superficial também é destaque das NPs, visto o seu tamanho reduzido, o que possibilita uma grande superfície de contato com a amostras. As NPs podem ser constituídas de diversos tipos de material, no entanto as de maior interesse são as que apresentam características magnéticas, o que facilita a recuperação do sorvente na amostra, permitindo a automação do processo (Schwarz *et al.*, 2024). No entanto, apesar das características positivas dos sorventes verdes, deve-se considerar

a quantidade e potencial toxicidade dos reagentes empregados no processo de síntese, dessa maneira, sorventes naturais podem se tornar uma opção mais ambientalmente agradável (Pacheco-Fernández *et al.*, 2020).

Os sorventes naturais, também chamados de biossorventes, são aqueles que possuem uma origem natural ou biológica, sendo de alta disponibilidade, baixo custo, pouco tóxicos, renováveis e biodegradáveis por natureza (Jagirani; Soylak, 2024; Ma *et al.*, 2023). Dessa maneira, possuem características ideais para aplicação em escala industrial, devido principalmente à facilidade de obtenção (Fomina; Gadd, 2014). Pela sua composição química, podem ser classificados em sorventes inorgânicos, com a argila como sorvente mais explorado, e sorventes orgânicos (Richter, 2022). Os sorventes orgânicos podem ter diferentes origens como a biomassa microbiana, derivada de bactérias, fungos e microalgas; as algas marinhas; os resíduos industriais, como produtos remanescentes de processos de fermentação e fabricação de alimentos; os resíduos da agricultura como cascas, caules e folhas diversas; os resíduos naturais como cascas de árvores, cortiça e serragem; resíduos de origem animal como lã ou penas (Bi *et al.*, 2024; Fomina; Gadd, 2014). Entre os biossorventes mais utilizados na literatura podemos citar a cortiça, diatomáceas, algodão, pólen, cascas de frutas como coco e banana e cereais como amendoim e arroz (Fomina; Gadd, 2014; Godage; Gionfriddo, 2020; Mafra *et al.*, 2019; Ma *et al.*, 2023). Grande parte dos resíduos utilizados como biossorventes se apresentam de maneira granulada ou em pó, por passarem por processos industriais, mas também podem ter a conformação de fibras, consideradas mais flexíveis e versáteis (Bi *et al.*, 2024).

Os biossorventes possuem suas propriedades extrativas devido à presença de biopolímeros, sendo os polissacarídeos os mais importantes. Os polissacarídeos possuem diversos grupamentos funcionais em sua composição, o que permite a interação com analitos, fundamental para o processo de adsorção. Dessa maneira, também é possível realizar o isolamento dos biopolímeros, e empregá-los como sorventes. (Fomina; Gadd, 2014; Godage; Gionfriddo, 2020; Pacheco-Fernández *et al.*, 2020). Dentre os mais relevantes, temos a celulose, lignina e suberina, que são extraídas de material vegetal; a quitosana e seu derivado quitina, obtidos de crustáceos e paredes celulares de fungos; e o alginato e agarose, extraídos de algas marinhas (Godage; Gionfriddo, 2020; Pacheco-Fernández *et al.*, 2020). Adicionalmente, apesar de os biossorventes já possuírem propriedades de adsorção intrínsecas, como mencionado anteriormente, podem passar por processos que aumentem sua performance. Usualmente, são utilizados processos de funcionalização como oxidação, esterificação, crosslinking e copolimerização (Godage; Gionfriddo, 2020; Richter, 2022). Além disso, o material pode ser

modificado através de técnicas de pirólise e ativação, formando compostos de carbono nanoporoso, como o biochar e o carvão ativado (Mafra *et al.*, 2019; Richter, 2022).

1.2.2.1 Cortiça

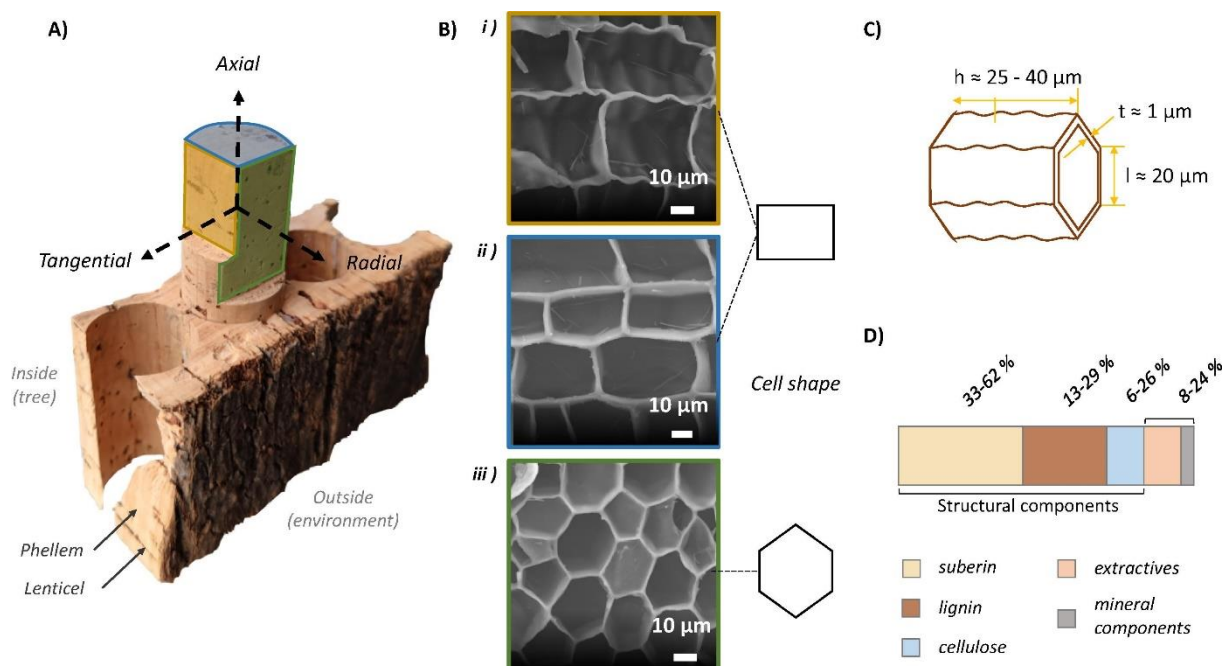
A cortiça é um tecido vegetal presente nas cascas de árvores do gênero *Quercus*, as chamadas cascas ricas em cortiça, sendo a árvore de maior representatividade o sobreiro (*Quercus suber*) (Sen *et al.*, 2020). A cortiça necessita de clima moderadamente quente e árido para seu desenvolvimento, e sua árvore é capaz de resistir a períodos de seca (Aroso *et al.*, 2017). Devido a estas características, o clima mediterrâneo é ideal para o crescimento das árvores, sendo Portugal o principal país produtor de cortiça, responsável por cerca de 55% do cultivo mundial (Teixeira, 2022). A produção anual estimada deste produto é de 200 mil toneladas (Rego *et al.*, 2023). A colheita da cortiça é considerada uma produção sustentável, visto que a cada ciclo de extração, a árvore possui a capacidade de renovar a camada de cortiça (Carriço; Ribeiro; Marto, 2018). Cada ciclo de extração vai ocorrer entre 9 a 12 anos do último ciclo, tempo necessário para que haja a criação de uma nova camada de cortiça. Contudo, o primeiro ciclo extrativo só irá ocorrer quando a árvore possuir cerca de 20 a 25 anos de idade. Nesta primeira colheita, o produto obtido é chamado de “cortiça virgem”, e não possui nenhuma aplicação comercial. A segunda colheita gerará a chamada “primeira cortiça reprodutiva”, e também possui aplicações limitadas. É somente a partir do terceiro ciclo extrativo que a cortiça, agora chamada de “amadia”, será encaminhada para uso industrial, principalmente na produção de rolhas (Aroso *et al.*, 2017; Duarte; Bordado, 2015). A árvore do sobreiro possui vida média de 200 a 250 anos, sendo assim, após a espera de 40 a 45 para a primeira cortiça comercial ser obtida, podem ser realizados cerca de 13 a 18 ciclos extrativos (Aroso *et al.*, 2017; Carriço; Ribeiro; Marto, 2018). A colheita da cortiça usualmente ocorre durante o verão europeu, nos meses de junho a julho, quando as células felogênicas estão totalmente funcionais (Rego *et al.*, 2023).

A composição química da cortiça é majoritariamente dominada pela presença de polímeros naturais como a suberina, que representa cerca de 23 a 50%, a lignina, que representa em torno de 17 a 36%, e a celulose e hemicelulose, que juntos somam até 20% da composição total (Sen *et al.*, 2020; Teixeira, 2022; Verdum; Jové, 2024). Além disso, 11 a 18% da cortiça é composta pelos extrativos. Nesta fração, se encontram os lipídios em maior proporção, como ácidos graxos e esteróis, mas também compostos fenólicos e triterpenos (Costa *et al.*, 2019;

Rego *et al.*, 2023; Teixeira, 2022; Verdum; Jové, 2024). Em menor proporção, cerca de 1 a 3%, se encontram os componentes inorgânicos, majoritariamente minerais, sendo o cálcio, fósforo, sódio, magnésio e potássio os mais presentes (Sen *et al.*, 2020; Teixeira, 2022; Verdum; Jové, 2024). No entanto, diferenças na composição podem ser observadas pela variação em alguns fatores como a origem geográfica da cortiça, o estado fisiológico da árvore geradora, as condições de solo, temperatura e precipitação do local de crescimento, a variabilidade genética das árvores e a idade das mesmas (Aroso *et al.*, 2017; Duarte; Bordado, 2015; Verdum; Jové, 2024). Adicionalmente, é necessário considerar que diferenças de composição podem ser atribuídas aos métodos de análise utilizados, uma vez que pode haver variação em sua eficiência (Verdum; Jové, 2024). Embora existam poucos dados sobre a comparação da composição química de cortiças provenientes de diferentes regiões geográficas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos percentuais de seus principais constituintes (Costa *et al.*, 2019).

Estruturalmente, a cortiça é composta por células hexagonais, cuja parede celular é composta por três camadas. A camada mais interna é uma lamela constituída por lignina, a camada medial é composta pela suberina e por ceras, enquanto a camada mais externa é constituída de polissacarídeos como a celulose e a hemicelulose (Duarte; Bordado, 2015). O interior da célula é composto por ar, pois a célula perde seu citoplasma durante o processo de crescimento (Aroso *et al.*, 2017). Dependendo do corte histológico utilizado, é possível a visualização da organização das células em forma de colmeia ou parede de tijolos, o que pode ser observado na Figura 6.

Figura 6 – Visualização da estrutura da cortiça nos diferentes planos de corte



Fonte: Chanut *et al.*, 2022.

Devido a todas as propriedades químicas e estruturais da cortiça já citadas, algumas características são conferidas, que explicam o seu uso industrial. Entre elas, pode-se citar a leveza do material, justificada pela baixa densidade; a impermeabilidade; a resistência à atividade microbiana, visto que possui um baixo teor de umidade, sendo, por muitas vezes, considerada inerte biologicamente; a alta resistência, que permite a completa recuperação do material após compressão, exibindo propriedades de amortecimento; e a capacidade de atuar como isolante térmico e acústico, pela baixa condutividade térmica e resistência a combustão e pela baixa impedância acústica (Aroso *et al.*, 2017; Carriço; Ribeiro; Marto, 2018; Duarte; Bordado, 2015).

A principal aplicação da cortiça é na fabricação de rolhas, com uma produção estimada de aproximadamente 40 mil unidades por dia somente em Portugal (Silva *et al.*, 2020). Em virtude das características já mencionadas, a cortiça é atualmente empregada na confecção de materiais isolantes em construções e componentes de peças industriais, e também utilizada em revestimentos e materiais para artesanato (Duarte; Bordado, 2015). Entre as aplicações emergentes, pode-se citar a extração dos compostos fenólicos e terpenos para a aplicação na indústria cosmética e farmacêutica, devido a suas propriedades antioxidantes e antiinflamatórias (Duarte; Bordado, 2015; Rego *et al.*, 2023). A biomassa da cortiça também

pode ser empregada na produção de combustíveis e energia, através da queima do material (Sen *et al.*, 2020). No entanto, a produção de rolhas e conglomerados de cortiça gera uma grande quantidade de pó durante os processos de moagem, corte e finalização dos produtos, podendo corresponder a até 25% do conteúdo total de cortiça extraído (Carriço; Ribeiro; Marto, 2018; Santás-Miguel *et al.*, 2025). Por apresentar granulometria muito fina, esse pó não pode ser utilizado nas aplicações tradicionais da cortiça, sendo, portanto, classificado como resíduo do processo produtivo (Aroso *et al.*, 2017).

Devido aos custos com o descarte do pó de cortiça, este material vem sendo estudado para a aplicação como material adsorvente (Silva *et al.*, 2020). O uso da cortiça como material adsorvente já foi muito empregado na remoção de poluentes em matrizes aquosas, incluindo compostos como agrotóxicos, metais pesados e medicamentos (De Aguiar *et al.*, 2019; Domingues *et al.*, 2005, Santás-Miguel *et al.*, 2025; Silva *et al.*, 2020). A adsorção dos compostos ocorre predominantemente na parte externa das células da cortiça, uma vez que seu interior é composto majoritariamente por ar. Dessa forma, a eficiência da adsorção tende a ser maior quando se utilizam partículas menores de cortiça, devido ao aumento da área superficial disponível para interação (Filipe-Ribeiro; Cosme; Nunes, 2018). A interação no processo de adsorção ocorre predominantemente por meio de interações iônicas e ligações de hidrogênio entre os analitos e os constituintes da cortiça, como lignina, suberina, celulose e hemicelulose, os quais apresentam diversos grupos funcionais capazes de estabelecer interações químicas específicas (Santás-Miguel *et al.*, 2025). Entre os fatores que podem influenciar o processo de adsorção se destaca a temperatura, que será responsável por reduzir a viscosidade da solução contendo o substrato, o que aumenta a taxa de difusão do mesmo, além de potencialmente influenciar na abertura dos poros da cortiça (De Aguiar *et al.*, 2019). Adicionalmente, o pH irá modular a adsorção, no entanto será dependente do tipo de analito que está sendo avaliado (Santás-Miguel *et al.*, 2025; Silva *et al.*, 2020). Não obstante, pré-tratamentos da cortiça também podem ser empregados, como impregnação de solventes, soluções ácidas ou básicas e tratamentos térmicos (Filipe-Ribeiro; Cosme; Nunes, 2018).

Por conta do êxito da cortiça como sorvente na remoção de poluentes, direcionou-se a pesquisa para sua utilização potencial em técnicas de extração em fase sólida. A cortiça já foi empregada como sorvente em diferentes técnicas de preparo de amostra, sendo pelo uso do pó de cortiça ou o filme de cortiça. Algumas técnicas incluem a microextração por barra adsorvente (BAμE, do inglês *Bar Adsorptive Microextraction*), a extração em ponteiros descartáveis (DPX, do inglês *Disposable Pipette Extraction*) e a SPME (Dias *et al.*, 2015; Mafra *et al.*, 2018; Morés *et al.*, 2021; Morelli *et al.*, 2020; Oenning *et al.*, 2017). A maioria dos artigos é concentrada na

aplicação em análises ambientais, no entanto metodologias para análises toxicológicas já foram reportadas como na determinação de fármacos em humor vítreo e urina, e do produto de biotransformação do Δ^9 -THC, o 11-nor-9-carboxi- Δ^9 -THC, em urina (Mafra *et al.*, 2018; Morés *et al.*, 2021; Ossanes *et al.*, 2023).

1.2.2.2 Resíduo de malte

O resíduo de malte (BSG, do inglês *Brewer's Spent Grain*) é considerado o principal resíduo da produção de cerveja. Este resíduo é produzido na primeira etapa da produção cervejeira, a chamada brassagem. Nesta etapa, há a formação do mosto, que é filtrado e separado para o seguimento do processo (Castro; Colpini, 2021). O resíduo remanescente é o BSG, composto pelas cascas, partes do pericarpo e endosperma dos grãos de malte (Chanzu; Onyari; Shiundu, 2019; Emmanuel; Nganyira; Shao, 2022). Estima-se que a cada 100 L de cerveja, são produzidos 20 kg de BSG (Allegretti *et al.*, 2022). Em 2020, a produção mundial de cerveja foi de 1,82 bilhões de hectolitros de cerveja, o que gerou cerca de 36,4 milhões de toneladas de BSG (Zeko-Pivač *et al.*, 2022). O Brasil possui a terceira maior produção de cerveja do mundo, sendo produzidos anualmente cerca de 14,1 bilhões de litros da bebida, gerando em torno de 2,8 milhões de toneladas de BSG (De Araújo *et al.*, 2021). Por ser um resíduo da indústria cervejeira, a produção de BSG é constante ao longo do ano, o que pode gerar problemas por falta de descarte (Kezerle *et al.*, 2018).

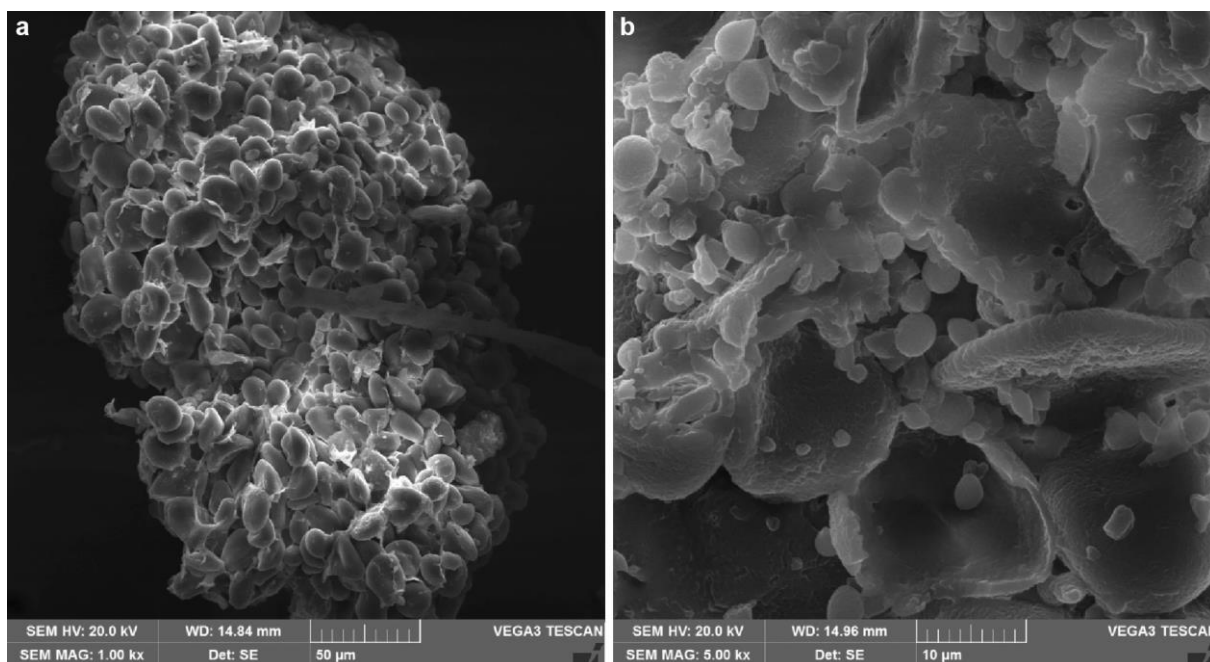
A composição química do BSG é complexa, com majoritária presença de polímeros naturais hemicelulose, que representam entre 19 e 45% do resíduo, a celulose, com percentuais entre 15 a 28%, e a lignina, cuja presença é estimada entre 3 e 28% (Ikram *et al.*, 2017; Zeko-Pivač *et al.*, 2022). O BSG também possui um significativo conteúdo de proteínas, entre cerca de 15 a 25%, sendo principalmente insolúveis como as hordeínas, proteínas de armazenamento e as glutelinas, proteínas estruturais (Niemi *et al.*, 2012). Dessa forma, o material pode ser considerado uma fonte de aminoácidos essenciais e não-essenciais (Ikram *et al.*, 2017; Kezerle *et al.*, 2018). Os lipídios estão presentes em menor proporção, cerca de 5 a 11%, sendo encontrados na forma de triglicerídeos (55%), ácidos graxos livres (30%), fosfolipídios (9%) e diglicerídeos (6%) (Niemi *et al.*, 2012). Em relação aos micronutrientes, vitaminas como ácido fólico, niacina, biotina, colina, entre outras também fazem parte da composição do BSG (Ikram *et al.*, 2017; Musatto; Dragone; Roberto, 2006). Compostos inorgânicos como os minerais estão presentes em menor quantidade, sendo os principais o cálcio, magnésio, fósforo, sódio, potássio

e ferro. Outros componentes presentes são os compostos fenólicos, que são substâncias com potencial bioativo, com significativa presença dos ácidos p-cumárico, ferúlico, vanílico, hidroxibenzóico e sirínico (Ikram *et al.*, 2017; Zeko-Pivač *et al.*, 2022).

O perfil químico do BSG pode, contudo, ser alterado por alguns fatores intrínsecos ao malte, como as condições empregadas no cultivo do malte e sua época de colheita (Musatto, 2013). No entanto, a principal fonte de variabilidade da composição é a variedade do malte empregado, ou seja, se ele é do tipo *pilsen*, *ale*, *lager*, entre outros (Robertson *et al.*, 2010). Além disso, as condições do próprio processo de brassagem também podem influenciar a composição química do resíduo. Entre estes fatores, se destacam as condições da brassagem como temperatura e proporção dos insumos, e os aditivos que são adicionados no processo, como a goma arábica, propileno glicol alginato, polipeptídeos e minerais como ferro, zinco e níquel (Zeko-Pivač *et al.*, 2022). Diferenças na composição também foram observadas dependendo do tipo de procedimento de conservação utilizado para o BSG (Santos *et al.*, 2003). Apesar disso, alguns estudos demonstram não haver diferenças significativas para diferentes lotes de BSG adquiridos da mesma cervejaria e entre diferentes cervejarias (Robertson *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2003).

Em relação à morfologia do BSG, ele se apresenta como uma superfície áspera, composto por partículas laminares e granulares (Castro; Colpini, 2021). Há em sua estrutura a presença de macro e microporos, o que é interessante, pois permite a adsorção de diferentes tipos de substâncias (De Araújo *et al.*, 2021). Além do tamanho, o formato dos poros também é irregular, por vezes se organizando em canais (Costa *et al.*, 2023). Quando realizado o difratograma do BSG através de difração de raio X, é possível observar a característica amorfa do material (De Araújo *et al.*, 2021). Os achados morfológicos do BSG podem ser observados na Figura 7.

Figura 7 – Imagens de microscopia eletrônica que mostram a estrutura porosa do BSG.



Fonte: Castro *et al.*, 2021.

O BSG é considerado um resíduo justamente pelo seu alto teor de umidade, ou seja, está sujeito à rápida contaminação microbiológicas, com vida útil de prateleira em torno de 7 a 10 dias (Ikram *et al.*, 2017). Dessa forma, a principal aplicação do BSG é na suplementação de rações para animais, principalmente gado, mas também podendo ser utilizado na criação de frangos, porcos e até peixes. Isso ocorre principalmente pelo alto teor de fibras e proteínas encontrados em sua composição, sendo alguns dos benefícios esperados o ganho de peso e aumento da produção de leite. Não é necessário nenhum tipo de processamento do BSG para essa aplicação, se tornando uma alternativa simples e de baixo custo para os produtores (Bachmann; Calvete; Féris, 2022; Emmanuel; Nganyira; Shao, 2022; Musatto; Dragone; Roberto, 2006; Mussatto, 2014). No entanto, quando se trata da preservação deste resíduo, é necessária a realização da secagem, que por meio da eliminação da umidade, reduz o volume e risco de contaminação, possibilitando o armazenamento (Ikram *et al.*, 2017). A autoclavagem do material também pode ser realizada para armazenamento a longo prazo, no entanto já foram relatadas mudanças na composição do BSG através desta técnica, portanto a secagem continua sendo o processo mais recomendado (Puligundla; Mok, 2021).

Diversas outras aplicações do BSG já foram exploradas na literatura. Além da incorporação do BSG na alimentação de animais, ele também pode ser empregado como suplemento alimentar humano pela grande quantidade de fibras e compostos fenólicos, sendo

normalmente adicionado em produtos à base de farinha como biscoitos, salgadinhos e pães. A principal desvantagem do uso do BSG para este fim é a coloração e sabor remanescentes, que podem afetar o sensorial do alimento (Emmanuel; Nganyira; Shao, 2022; Musatto; Dragone; Roberto, 2006). Além do uso do BSG inalterado, os compostos bioativos presentes em sua composição como os compostos fenólicos podem ser utilizados como aditivos alimentares (Ikram *et al.*, 2017; Musatto, 2013). O BSG também pode ser utilizado como remediador de solos, devido à presença de nitrogênio e fósforo em sua composição. Outra aplicação é o uso do BSG como substrato para a produção de energia na forma de biogás, no entanto, se faz necessário um pré-tratamento do material para maior rendimento (Bachmann; Calvete; Féris, 2022). Ademais, derivados de BSG também podem ser utilizados para a produção de etanol, sendo uma alternativa na produção de combustível (Emmanuel; Nganyira; Shao, 2022; Musatto, 2013). O BSG também é um material que pode ser valorizado em aplicações biotecnológicas, aumentando o valor agregado do resíduo. Nestes processos, o BSG é utilizado como substrato para o cultivo de microrganismos como fungos e bactérias, que serão responsáveis pela produção de enzimas como amilases, celulasas e proteases, e também de ácido orgânicos como ácido cítrico e ácido lático através de fermentação (Puligundla; Mok, 2021).

No entanto, a principal aplicação do BSG de interesse toxicológico é o uso como material adsorvente. As propriedades de adsorção do BSG são decorrentes principalmente pelo alto teor dos polímeros naturais (celulose, hemicelulose e lignina) que possuem uma grande quantidade de grupamentos do tipo carboxila e hidroxila, que interagem com as substâncias através de doação de elétrons (Bachmann *et al.*, 2023). Os principais fatores que pode modular o processo de adsorção são: o pH do meio; o tempo de contato entre o BSG e a amostra; a concentração inicial do substrato a ser adsorvido; a temperatura do sistema; a quantidade de sorvente utilizada; e o tamanho de partícula do BSG (Bachmann *et al.*, 2024; Chanzu; Onyari; Shiundu, 2019; Costa *et al.*, 2023; Izinyon *et al.*, 2016; Kezerle *et al.*, 2018). De forma geral, uma maior quantidade de sorvente será benéfica para uma maior adsorção, visto que mais sítios de interação estão disponíveis. Similarmente, quanto maior a concentração inicial do substrato, mais rapidamente os sítios do sorvente serão ocupados, o que diminui a adsorção (Bachmann *et al.*, 2024; Chanzu; Onyari; Shiundu, 2019). Em relação ao tamanho da partícula, as menores possuem uma taxa de adsorção maior, justamente pelo aumento da área de superfície, o que possibilita maior contato com os substratos (Chanzu; Onyari; Shiundu, 2019). Quanto ao tempo de contato, avalia-se que seja um fator relevante até que todos os sítios de interação do sorvente estejam ocupados e o equilíbrio do sistema seja atingido (Izinyon *et al.*, 2016). A influência do

pH será majoritariamente dependente do tipo de substrato a ser adsorvido, não possuindo tanta relação com o sorvente (De Araújo *et al.*, 2021; Wierzba; Kłos, 2019).

As propriedades adsorventes do BSG já foram estudadas de forma exitosa para a remoção de poluentes de amostras aquosas. Entre os compostos avaliados pode-se citar substâncias inorgânicas como metais pesados, incluindo manganês, níquel, cobre, zinco, cádmio, chumbo e cromo (Bachmann *et al.*, 2023; Wierzba; Kłos, 2019). Também há estudos que avaliam a adsorção de compostos orgânicos, principalmente investigando corantes como o azul de metileno, azul reativo 5G, amarelo tartrazina, vermelho Congo e verde malaquita, mas também com a cafeína, substância considerada um marcador da ação antropogênica no ambiente (Bachmann *et al.*, 2023; Bachmann *et al.*, 2024; Chanzu; Onyari; Shiundu, 2019; Costa *et al.*, 2023; De Araújo *et al.*, 2021; Kezerle *et al.*, 2018). Como adsorvente, o BSG pode ser reutilizado, após ciclos de dessorção com auxílio de ultrassom, adição de ácidos ou oxidação térmica. Todavia, estes processos se repetidos por múltiplos ciclos conduzem ao bloqueio dos poros ou a desintegração química do BSG, o que diminui a eficiência da adsorção (Bachmann *et al.*, 2024; Wierzba; Kłos, 2019).

Modificações do BSG também podem ser realizadas para aumentar a capacidade adsorviva do material. Estas modificações podem ser físicas ou químicas, ou através da combinação dos dois modos (Bachmann *et al.*, 2023). O tratamento mais comum é a carbonização ou pirólise do material, produzindo o *biochar*, um tipo de carvão vegetal. Este material irá possuir uma estrutura com poros de tamanhos variados, o que aumenta a área de superfície do BSG (Cancelliere *et al.*, 2019). No processo de formação do *biochar*, a temperatura da pirólise e taxa de aquecimento serão os fatores determinantes para o rendimento, a estrutura e as propriedades do composto resultante (Bachmann; Calvete; Féris, 2022; Osman *et al.*, 2020). Os mecanismos de adsorção do *biochar* são considerados complexos, pois há a possível ocorrência de interações físicas e químicas entre o material e os substratos, o que pode explicar sua alta capacidade adsorviva (Xi *et al.*, 2014).

1.2.3 Ferramentas para avaliação do perfil verde

Com o surgimento do termo Química Analítica Verde e a expansão de seus princípios, diversos estudos começaram a relatar seus métodos como verdes, ou até afirmar que os métodos em questão eram mais verdes que seus antecessores. No entanto, estas classificações eram baseadas apenas no julgamento dos autores, sendo, muitas vezes, subjetivas, visto que não se

sabia quais os parâmetros que estavam sendo levados em consideração para tal afirmação. Dessa maneira, ferramentas foram criadas contendo recomendações específicas de quais parâmetros deveriam ser avaliados, e fornecendo uma maneira de calcular o caráter verde do método. Assim, comparações mais apropriadas poderiam ser realizadas entre diferentes metodologias, pois estavam embasadas em um valor quantitativo (Sajid; Płotka-Wasyłka, 2022; Shi *et al.*, 2023).

A ferramenta considerada como pontapé inicial para essa nova maneira de avaliação foi criada em 1997, com o nome de *Chemical Hazard Evaluation for Management Strategies* (CHEMS-1). Seu objetivo principal era calcular a toxicidade dos materiais usados nos métodos analíticos, tanto em relação aos operadores quanto ao meio ambiente. O cálculo levava em consideração dados de toxicidade aguda e crônica de químicos, sua carcinogenicidade, biodegradabilidade, volatilidade, entre outros (Swanson *et al.*, 1997). Desde então, diversos outros algoritmos foram desenvolvidos, sendo os mais utilizados, o *Analytical Eco-Scale*, o *Green Analytical Procedure Index* (GAPI) e o *Analytical Greenness calculator* (AGREE) (Sajid; Płotka-Wasyłka, 2022).

O AGREE foi criado em 2020, justamente para melhorar os sistemas métricos utilizados até então, visto que nenhum deles explorava todos os doze princípios da Química Analítica Verde. A ferramenta também tem como objetivo oferecer uma plataforma intuitiva para seus usuários, estando disponível gratuitamente para download. A resposta final do algoritmo será um número entre 0 e 1, sendo 0 aquele método que não possui características verdes, e 1 sendo o mais verde possível que o método pode ser. Sendo assim, o cálculo final do índice é composto por doze fatores, cujas respostas são transformadas em funções matemáticas para se adequarem a uma escala de 0 até 1. O AGREE está associado com a avaliação do processo analítico como um todo, desde a amostragem até o descarte dos resíduos (Pena-Pereira; Wojnowski; Tobiszewski, 2020).

No entanto, os autores sentiram a necessidade de avaliar de forma mais detalhada um dos pontos críticos do processo analítico, a etapa de preparo de amostra. Dessa maneira, em 2022, foi criada a ferramenta AGREEprep, abreviatura de *Analytical greenness metric for sample preparation*. Nesta ferramenta, dez critérios relacionados ao preparo de amostra são avaliados para formar o escore final, que da mesma maneira que no AGREE, vai de 0 até 1. A cada um dos critérios, é atribuído um peso padrão, o que permite que critérios chave tenham mais impacto sobre o valor final. Entre os critérios chave se destacam o uso de reagentes verdes, a quantidade de resíduo gerado e a energia consumida durante todo o processo de preparo da amostra. Os resultados obtidos pelo AGREE e AGREEprep usualmente possuem boa

concordância, no entanto métodos que obrigatoriamente necessitam de um preparo de amostra tendem a ter mais escores pelo AGREEprep, visto que o AGREE irá pontuar positivamente um método de análise direta em detrimento a um que passe pela etapa de preparo. Assim como o AGREE, a ferramenta está disponível para uso online e offline de maneira gratuita (Wojnowski *et al.*, 2022).

Recentemente, outras ferramentas têm se estabelecido como opções interessantes, pois consideram no cálculo do escore alguns parâmetros de performance analítica das metodologias. Este é o caso do sistema BAGI (*Blue applicability grade index*). No BAGI, dez parâmetros são avaliados, podendo ser atribuídos quatro tipos de pontuação (10, 7,5, 5 ou 2,5). Quanto mais próximo de 100 pontos o método somar, significa que ele possui mais características verdes. Em relação às outras ferramentas já mencionadas, podemos citar dois principais parâmetros adicionais, sendo o primeiro a finalidade de análise. Dessa forma, métodos apenas qualitativos recebem uma pontuação menor e métodos quantitativos confirmatórios recebem a maior pontuação. Isso se deve ao fato de que o último não necessita de uma análise posterior para confirmação, reduzindo tempo e gastos de análise. Em segundo, o BAGI também pontua os métodos com base no número de analitos identificados e/ou quantificados em uma mesma análise. Métodos para somente um composto recebem a menor pontuação, enquanto métodos multianalitos com mais de 15 substâncias recebem o maior escore (Manousi *et al.*, 2023).

Outra ferramenta disponível é o algoritmo RGB 12, que se baseia no conceito da “Química Analítica Branca”. Nesta plataforma, os parâmetros do método analítico são avaliados através de três componentes, verde, azul e vermelho, cuja soma resulta na cor branca. Cada componente é composto por quatro parâmetros individuais. O componente verde tem relação com a sustentabilidade dos métodos, avaliando a quantidade de reagentes, a toxicidade dos mesmos, a quantidade de resíduo gerada e a energia empregada no processo. O componente azul avalia critérios práticos como tempo e dinheiro gastos, infraestrutura necessária e operacionalidade. Já o componente vermelho é relacionado com a performance da metodologia e leva em consideração o escopo do método, os limites de detecção e quantificação e dados de precisão e exatidão (Nowak, Wietecha-Posłuszny e Pawliszyn, 2021).

Dessa maneira, o desenvolvimento da GAC como conceito pode ofertar uma série de vantagens para as análises toxicológicas, que possuem particularidades acentuadas como a diversidade de analitos e a complexidade de matrizes biológicas. Através da aplicação dos princípios da GAC, é possível desenvolver métodos que usem menores volumes de amostra, principalmente pela aplicação de técnicas de preparo verdes. Ademais, a evolução dos materiais alternativos que visam substituir os solventes e sorventes tradicionais permitem a extração de

múltiplos analitos em uma mesma técnica de preparo, o que se torna uma vantagem em métodos de *screening*. Contrariamente, em função da possibilidade de modulação de suas propriedades, os materiais alternativos podem possuir seletividade aumentada para uma substância ou grupo de interesse. Estes benefícios metodológicos que incluem maior eficiência, sensibilidade e seletividade, são complementados por características sustentáveis como menor consumo de energia, gasto de tempo e produção de resíduos tóxicos, assim como um aumento na segurança do analista. No entanto, as aplicações dos princípios da GAC nas análises toxicológicas para certas classes de analitos e matrizes complexas ainda são limitadas, sendo uma área promissora para pesquisa e desenvolvimento.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver metodologias analíticas baseadas na Química Analítica Verde para a determinação de substâncias psicoativas em amostras biológicas no contexto das análises toxicológicas clínicas e forenses.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão da literatura existente focada na aplicação de conceitos da Química Analítica Verde nas análises forenses;
- Desenvolver, otimizar e validar uma metodologia baseada em DSPME utilizando cortiça como biosorvente, para a determinação de catinonas sintéticas e outras drogas sintéticas em amostras de sangue post mortem;
- Avaliar a técnica de DSPME baseada em cortiça utilizando ferramentas para a caracterização do perfil verde.
- Aplicar o método de DSPME com cortiça a amostras suspeitas de intoxicação por drogas sintéticas e NSPs, provenientes do Departamento de Perícias Laboratoriais do Instituto Geral de Perícias do Rio Grande do Sul;
- Desenvolver, otimizar e validar uma metodologia baseada em DSPME utilizando resíduo de malte como biosorvente, para a determinação de antidepressivos em amostras de urina;
- Aplicar o método de DSPME com resíduo de malte a amostras clínicas suspeitas de intoxicação por antidepressivos, provenientes do CIT-RS;
- Realizar uma avaliação da possível variabilidade de performance entre lotes do resíduo de malte de diferentes origens no protocolo de DSPME para análise de antidepressivos em urina.
- Avaliar o custo de produção do BSG e compará-lo com o de outros sorventes comerciais.
- Desenvolver e validar uma metodologia baseada em QuEChERS para a determinação dos isômeros de hexahidrocanabinol (9R-HHC e 9S-HHC) em amostras de fluido oral.

- Investigar a estabilidade estendida dos isômeros 9R-HHC e 9S-HHC nas amostras fluido oral e em soluções.

3 ARTIGOS

3.1 Artigo I

O manuscrito *Green chemistry: Developments and perspectives for sample treatment in forensic methodologies* apresenta uma revisão de literatura sobre a aplicação de técnicas da Química Analítica Verde no preparo de amostras advindas de cenários forenses. Neste artigo, são discutidas as principais técnicas de microextração utilizadas para amostras forenses, incluindo a SPME, MEPS, DLLME e HF-LPME. Adicionalmente, são discutidos os principais materiais alternativos empregados nestas técnicas, tanto solventes como ILs, DESs e solventes de hidrofilicidade comutável, como sorbentes incluindo MIPs, NPs e biossorventes. O artigo está publicado na revista *WIREs Forensic Science* (ISSN Eletrônico 2573-9468, fator de impacto 2.6, 2024) no Volume 5, Fascículo 6, no ano de 2023, e pode ser acessado pelo seguinte link: <https://doi.org/10.1002/wfs2.1497>.

Received: 25 January 2023 | Revised: 22 May 2023 | Accepted: 5 June 2023
DOI: 10.1002/wfs2.1497

ADVANCED REVIEW



WILEY

Green chemistry: Developments and perspectives for sample treatment in forensic methodologies

Leticia Birk | Bruno Pereira dos Santos | Patricia de Souza Schwarz | Sarah Eller | Tiago Franco de Oliveira

Graduate Program in Health Sciences,
Federal University of Health Sciences of
Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

Correspondence

Tiago Franco de Oliveira, Graduate
Program in Health Sciences, Federal
University of Health Sciences of Porto
Alegre, Porto Alegre, RS 90050-170,
Brazil.
Email: oliveira@ufcspa.edu.br

Funding information

Coordenação de Aperfeiçoamento de
Pessoal de Nivel Superior

Edited by: Sarah Wille, Editor

Abstract

In recent years, the environmental implications of advancements in various scientific fields, including analytical chemistry, have become a subject of increasing concern. As a result, the concept of “Green Analytical Chemistry” has been developed, comprising a set of practices designed to reduce the use of toxic chemicals. In the field of analytical, minimizing chemical usage presents a significant challenge, as several sample preparation methods inherently require the utilization of large quantities of solvents. However, this challenge can be addressed through the implementation of both single and combined strategies. One of these strategies is the miniaturization of methods applying the principles of classic liquid–liquid and solid phase extractions in a smaller scale of reagents and samples. In addition, the conventional reagents used in sample preparation can be replaced with green solvents and sorbents. The utilization of miniaturized techniques in forensic toxicology has been widely adopted. Despite this, there remain numerous unexplored applications due to the vast diversity of analytes and biological matrices available. Therefore, implementing green chemistry practices can provide numerous benefits, including enhanced worker safety, reduced waste, and cost savings.

This article is categorized under:

Toxicology > Analytical
Toxicology > Drug Analysis
Toxicology > Post-Mortem

KEYWORDS

forensic toxicology, green analytical chemistry, miniaturized methods

1 | INTRODUCTION

The worldwide focus on progress and achievements in industries, technology, and science several years ago has led to concerns about their environmental and health implications, which in turn has resulted in the need for sustainable alternatives. One such area where this is evident is in analytical chemistry, where the need for environmentally friendly methods has led to the development of Green Analytical Chemistry (GAC) (Namieśnik, 2001). In 2013, Gałuszka et al. defined the 12 principles of GAC represented by the mnemonic SIGNIFICANCE. These principles were related to four

main components that include the use of a reduced volume and number of replicates in the sample, using miniaturized, automated, or direct techniques and reducing derivatization processes in methods and instruments, replacing toxic reagents with renewable sources for the safety of the operator, and properly treating chemical waste before returning it to the environment (Gatuszka et al., 2013). More recently, López-Lorente et al. (2022) discussed “Green sample preparation” which recommends a series of propositions to be followed when direct analysis cannot be achieved and a sample preparation technique must be employed for a sensitive analysis (López-Lorente et al., 2022).

Sample treatment is considered a bottleneck in the process of adopting GAC practices. Many samples have a great complexity and/or the presence of minimum quantities of the analytes. Therefore, a sample preparation procedure becomes unavoidable. In these cases, it is highly recommended the use of miniaturized and automated techniques because the scale of reagents and samples is reduced, as well as the exposition of the operator and the generation of waste (Armenta et al., 2019). Additionally, the replacement of reagents for greener alternatives, and recovery of reagents in order to reutilization and decontamination of the generated waste is also encouraged by the GAC principles (Armenta et al., 2008). In recent years, some metrics have been developed in order to quantify the green character of an analytical methodology. These metrics are valuable when comparing the status of current methods with their green replacement. Among all developed metrics, GAPI and AGREE are the most used ones because they can be applied to most analytical procedures. Some advantages also include the possibility of evaluating the greenness of each individual step of the technique. Therefore, they allow a comprehensive visualization of the steps that need further development (Sajid & Plotka-Wasyłka, 2022).

In a forensic toxicology scenario, the concept of the GAC involves using alternative sample preparation methods to improve the clean-up of samples and the detectability of drugs and other toxic substances. This minimizes the use of toxic solvents and reagents, reduces waste generation, and increases the efficiency of analytical procedures. Additionally, GAC is also being used to develop new forensic markers that can be used to link suspects to crime scenes, identify body fluids, and establish the time of death. Considering instrumental technologies, these proposed new methods must be compatible with increasingly popular techniques such as mass spectrometry, allowing for high sensitivity and specificity and the ability to analyze a wide range of compounds, or bioanalytical methods, such as enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and PCR, or non-destructive analytical methods and portable analytical instruments. Despite the importance of these approaches, some researchers still focus only on classical sample techniques.

2 | MICROEXTRACTION SAMPLE PREPARATION TECHNIQUES

An important achievement for GAC in the toxicology field was the development of miniaturized methods to be an alternative to classic extraction procedures such as solid phase extraction (SPE) and liquid-liquid extraction (LLE). Microextraction techniques such as solid-phase microextraction (SPME) and liquid-phase microextraction (LPME), have a long history in forensic toxicology and are considered valuable tools for the detection of drugs and other toxic substances successfully applied in various matrices such as blood, urine, and hair (He & Concheiro-Guisan, 2019; Venson et al., 2019). Table 1 presents published studies employing the main microextractions with application in the forensic scenario. Additionally, new liquid and solid extraction phases have emerged reducing the use of toxic reagents and solvents in forensic toxicology. These green solvents and sorbents include amphiphilic molecules, ionic liquids, deep eutectic solvents, molecularly imprinted polymers, metal-organic frameworks, and covalent organic frameworks. These green alternatives can be used in microextraction techniques to improve efficiency and reduce the environmental impact of sample preparation. Another trend in sample preparation is the use of chip-based devices, which is a relatively unexplored technique for the determination of drugs of abuse. These microfluidic devices use small amounts of fluids, resulting in low consumption of reagents and solvents, as well as reduced extraction time (Birk et al., 2021). These chip-based devices show great potential in forensic toxicology and are worth exploring further.

2.1 | Solid-phase microextraction

SPME was the first developed miniaturized sample preparation method, introduced by Arthur and Pawliszyn in 1990 (Arthur & Pawliszyn, 1990). It is based on the exposure of a fused silica fiber coated with a polymer to the dispersed volatile and semi-volatile compounds from a sample. The target substances will adhere to the fiber by adsorption and subsequently, desorption is performed using solvent or heat. The most common use of SPME is in headspace analysis

TABLE 1 Published studies employing SPME, MEPS, DILLME, and HF-LPME for analysis of drugs of abuse and pharmaceuticals in biological matrices.

Microextraction	Solvent or sorbent type	Analytes	Sample type	Sample amount	LODs	LOQs	Instrumentation	Reference
SPME	Polydimethylsiloxane	Amphetamines, opiates, and cocaine and metabolites	Hair	10 mg	0.13–0.20 ng/mg	0.4–0.6 ng/mg	GC-MS	Aleksa et al., 2012
SPME	Polydimethylsiloxane	Codeine, morphine, and 6-monoacetylmorphine	Hair	10 mg	0.002–0.005 ng/mg	0.005–0.01 ng/mg	GC-MS	Moller et al., 2010
SPME	Carboxen/polydimethylsiloxane	Ethyl glucuronide	Hair	10–50 mg	NP	2.8 pg/mg	GC-MS/MS	Agius et al., 2010
SPME	Polydimethylsiloxane	Venlafaxine	Postmortem whole blood	500 µL	3 ng/mL	10 ng/mL	GC-NPD	Mastrogiani et al., 2012
SPME	Polydimethylsiloxane/divinylbenzene	α-PVP	Postmortem whole blood	50 µL	0.5 ng/mL	1 ng/mL	GC-MS	Salito et al., 2013
SPME	Polydimethylsiloxane	GHB, ketamine, MDMA, and methamphetamine	Urine	500 µL	100 ng/mL	500 ng/mL	GC-MS	Brown et al., 2007
SPME tips	C18	Cocaine and metabolites	Plasma	50 µL	0.5 ng/mL	5 ng/mL	LC-MS/MS	Lizot et al., 2020
SPME tips	C18	Valproic acid	Serum	50 µL	NP	10 µg/mL	GC/MS	Schaefer et al., 2021
SPME tips	Polydimethylsiloxane/divinylbenzene	Amphetamines and synthetic cathinones	Urine	1000 µL	5–10 ng/mL	25–100 ng/mL	GC/MS	Alsenedi & Morrison, 2018
MEPS	C8/SCX	Classic drugs and new substances psychoactives	Oral fluid	300 µL	NP	0.5–10 ng/mL	LC-MS/MS	Ares et al., 2017
MEPS	C8/SCX	Tricyclic antidepressants	Oral fluid	1000 µL	0.01–0.04 ng/mL	0.03–0.14 ng/mL	LC-MS/MS	Woźniakiewicz et al., 2014
MEPS	C18	Drugs of abuse	Oral fluid	120 µL	0.2–2 ng/mL	1–30 ng/mL	LC-MS/MS	Montesano et al., 2015
MEPS	C18	Synthetic cannabinoids	Oral fluid	480 µL	10–20 ng/mL	30–60 ng/mL	GC-MS	Sorribes-Soriano et al., 2021
MEPS	C8/SCX	Cannabinoids	Plasma	250 µL	NP	0.1 ng/mL	GC-MS/MS	Rosado et al., 2017
MEPS	C8/SCX	Citalopram, fluoxetine, mirtazapine, paroxetine, and sertraline	Plasma	400 µL	NP	10–25 ng/mL	HPLC-UV	Chaves et al., 2010

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

Microextraction	Solvent or sorbent type	Analytes	Sample type	Sample amount	LODs	LOQs	Instrumentation	Reference
MEPS	C8/SCX	Cocaine and metabolites, opiates and synthetic cathinones	Plasma	200 µL	5–25 ng/mL	25–50 ng/mL	HPLC-PDA	Fernández et al., 2017
MEPS	C8/SCX	Ramifenitil	Plasma	20 µL	0.02 ng/mL	0.05 ng/mL	LC-MS/MS	Said et al., 2011
MEPS	C8	Risperidone and 9-hydroxyrisperidone	Plasma, urine and saliva	50–100 µL	0.7–1 ng/mL	2–3 ng/mL	HPLC-UV	Mandrioli et al., 2011
MEPS	C8/SCX	Cannabinoids	Urine	250 µL	1–5 ng/mL	5–10 ng/mL	GC-MS	Rosendo et al., 2022
MEPS	C18	Synthetic opioids	Urine	200 µL	0.1 ng/mL	1 ng/mL	LC-MS/MS	Da Cunha et al., 2020
MEPS	C8/SCX	Codeine, morphine, and 6-monoacetylmorphine	Whole blood	250 µL	5 ng/mL	5 ng/mL	GC-MS/MS	Prata et al., 2019
DLLME	Chloroform and acetonitrile	Amphetamine-type stimulants	Oral fluid	50 µL	20 ng/mL	20 ng/mL	LC-MS/MS	Kahl et al., 2021
DLLME	Chloroform and acetonitrile	Drugs of abuse	Plasma	500 µL	13.9–28.5 ng/mL	46.2–94.9 ng/mL	HPLC-PDA	Fernández et al., 2015
DLLME	Tetrachloride and acetonitrile	Amiripryline, clomipramine, and thioridazine	Urine	5000 µL	3–8 ng/mL	10–25 ng/mL	HPLC-UV	Xiong et al., 2009
DLLME	Dichloromethane and methanol	Amphetamine-type stimulants	Urine	5000 µL	0.05–0.1 ng/mL	1 ng/mL	GC-MS	Cunha et al., 2016
DLLME	Chloroform and acetonitrile	Cocaine adulterants	Urine	4000 µL	NP	180 ng/mL	HPLC-UV	Da Silva et al., 2019
DLLME	Chlorobenzene and methanol	Fentanyl	Urine	800 µL	10 ng/mL	50 ng/mL	GC-MS	Gardner et al., 2015
DLLME	Chloroform and methanol	Amphetamines-type stimulants and synthetic cathinones	Whole blood and urine	2000 µL	1–50 ng/mL	2–50 ng/mL	GC-MS	Mercieca et al., 2018
DLLME	Chloroform and methanol	Drugs of abuse and other psychotropic drugs	Whole blood	500 µL	0.05–2 ng/mL	0.2–10 ng/mL	LC-MS/MS	Fischella et al., 2015
DLLME	Chloroform and methanol	New substances psychoactives	Whole blood	500 µL	0.2–2 ng/mL	5 ng/mL	LC-MS/MS	Odoardi et al., 2015
DLLME	Chloroform and methanol	Synthetic cannabinoids	Whole blood and urine	2000 µL	1–5 ng/mL	5 ng/mL	GC-MS	Mercieca et al., 2020

TABLE 1 (Continued)

Microextraction	Solvent or sorbent type	Analytes	Sample type	Sample amount	LODs	LOQs	Instrumentation	Reference
HF-LPME	Di- <i>n</i> -hexyl ether	Amphetamine, methamphetamine, and MDMA	Hair	50 mg	0.01 ng/mg	0.2 ng/mg	GC-MS	Madia et al., 2022
HF-LPME	Di- <i>n</i> -hexyl ether	Cocaine and metabolites	Hair	50 mg	0.03–0.4 ng/mg	0.05–0.5 ng/mg	GC-MS	Pego et al., 2017
HF-LPME	Butyl acetate	Cannabinoids	Hair	10 mg	0.5–15 pg/mg	1–20 pg/mg	GC-MS	Emídio et al., 2010
HF-LPME	<i>n</i> -Octanol	Cocaine, cocaethylene, and norcocaine	Human breast milk	500 µL	6 ng/mL	12 ng/mL	GC-MS	de Oliveira Silveira et al., 2016
HF-LPME	Di- <i>n</i> -hexyl ether and 1-nonanol	Benzodiazepines	Urine	2000 µL	0.1–15 ng/mL	0.5–30 ng/mL	GC-MS	De Bairros et al., 2015
HF-LPME	Di- <i>n</i> -hexyl ether	THC-COOH	Urine	1000 µL	1.5 ng/mL	2 ng/mL	GC-MS	De Souza Eller et al., 2016
HF-LPME	Toluene	Amphetamine-type stimulants, ketamine, meperidine, and methadone	Urine and whole blood	1000 µL	0.5–5 ng/mL	3–15 ng/mL	GC-MS	Meng et al., 2015
HF-LPME	Dodecane	Antidepressants	Whole blood	500 µL	10 ng/mL	20 ng/mL	GC-MS	dos Santos et al., 2014

Abbreviations: DLLME, dispersive liquid–liquid microextraction; HF-LPME, hollow fiber liquid-phase microextraction; GC-MS, gas chromatography–mass spectrometry; GC-MS/MS, gas chromatography–tandem mass spectrometry; HPLC-UV, high performance liquid chromatography–UV–Visible detector; HPLC-PDA, high performance liquid chromatography–photodiode array detector; LC-MS/MS, liquid chromatography–tandem mass spectrometry; LODs, limits of detection; LOQs, limits of quantitation; MEPS, microextraction by packed sorbent; SPME, solid phase microextraction.

(HS-SPME), where the fiber is inserted into a sealed flask containing the sample and heated to release the volatile compounds into the headspace above the sample. The compounds are then desorbed from the fiber and analyzed using a variety of techniques, such as gas chromatograph (GC) associated with different detectors. For HS-SPME, the minimum requirement for the analytes is volatility since they need to adsorb to the fiber in the gaseous phase. When molecules are not volatile or thermally stable, approaches such as derivatization reactions can be employed (Agius et al., 2010; Moller et al., 2010). However, the use of derivatization reagents may not align with the principles of GAC due to the high risk these chemicals pose to both the environment and operators (Galuszka et al., 2013).

In GC systems, a considerable advantage is the possibility to automate the extraction procedure using automatic injectors, turning the process more efficient. On the other hand, HS-SPME or SPME fibers have a high associated acquisition cost, which can lead to a more expensive analysis. However, fibers can be reused for several cycles, and it is recommended that reusability should be a parameter to be evaluated in the validation process (Bojko et al., 2012; Kataoka & Saito, 2011). The types of fibers most commonly used are polydimethylsiloxane fibers, which may be mixed with other phases, such as divinylbenzene or carboxen. More recently, new phases have been developed to improve extraction efficiency, selectivity, and durability. An example is the employment of Molecularly Imprinted Polymers (MIPs), which are discussed in Section 4.1 of this article (Spietelun et al., 2013).

SPME has a wide range of applicability in the field of forensics, as it can be used to analyze various types of substances and biological matrices. Saito et al. (2013) demonstrated a method for the quantification of α -pyrrolidinovalerophenone (α -PVP), a synthetic cathinone, in postmortem whole blood samples using HS-SPME and GC coupled to mass spectrometry (GC-MS). Different types of fibers were tested, and the lowest limit of quantification (LLOQ) obtained was 0.5 ng/mL. The method was successfully applied in a fatal case, with α -PVP concentrations of 486 ng/mL (Saito et al., 2013). In 2012, Mastrogianni et al. developed a method for analyzing venlafaxine in postmortem whole blood samples using gas chromatography with a nitrogen phosphorous detector. They optimized various extraction variables, such as fiber type, salt amount, temperature, and extraction time, to achieve the highest response (Mastrogianni et al., 2012).

Recently, the combination of SPME with liquid desorption has been applied to liquid chromatography (LC) due to the availability of SPME tips made mostly of the octadecylsilane phase. Using SPME tips, Lizot et al. (2020) carried out the simultaneous quantification of cocaine and its metabolites in plasma specimens, performing the analysis by liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Only a 50 μ L sample was necessary, which was diluted with a buffer before being exposed to fibers. After that, the fiber was desorbed in the mobile phase (acidified methanol) and subsequently injected into the analytical system. The limits of detection (LODs) and LLOQs found for the tested analytes were 0.5 and 5 ng/mL. In addition, a key metric evaluated was the fiber's reusability, and it was determined that using them is more than seven times as cost-effective and environmentally friendly (Lizot et al., 2020).

2.2 | Microextraction by packed sorbent

Microextraction by packed sorbent (MEPS) is a sample preparation technique introduced in 2004 as a miniaturized alternative to SPE and is generally used for the extraction and concentration of trace amounts of compounds from liquid samples. In MEPS, a sample is injected through a micro syringe into the packed column, and the target compounds are adsorbed onto the sorbent material. The compounds can then be eluted from the column and analyzed using various techniques. Like SPE, cartridges with different sorbent materials are commercially available, allowing the evaluation of diverse analytes and the remodeling of classic SPE methods (Silva et al., 2014). The amount of sorbent is minimal (<10 mg) when compared to a conventional SPE cartridge, making it a greener extraction method. In addition, the cartridges are reusable and can support up to 50–100 extractions (Fernández et al., 2017). However, it is extremely important to evaluate the efficiency of decontamination cycles of sorbent material during the analytical development process to ensure that they are effective. Another major benefit of MEPS is the possibility to automate the entire process by using semi-automatic syringes or autosamplers, this allows for the direct injection of the extracted compounds directly into the analytical system. Variables such as the number of cycles in each extraction stage and the elution speed in the syringe can significantly influence the analytical response, therefore the evaluation of these parameters is recommended (Da Cunha et al., 2020; Rosendo et al., 2022).

Due to the diversity of synthesized or commercial phases, MEPS has applicability in several areas of forensic toxicology, enabling the analysis of different biological matrices. Depending on the matrix, sample pre-treatment may be required such as when working with whole blood (Prata et al., 2019). Excellent sensitivity results have been reported

using MEPS, having LODs or LLOQs lower than 1 ng/mL. This characteristic is essential in several analyses, for example, of cannabinoids in plasma or blood, antidepressants in oral fluid, and synthetic opioids in different matrices (Da Cunha et al., 2020; Rosado et al., 2017; Said et al., 2011; Woźniakiewicz et al., 2014).

2.3 | Dispersive liquid–liquid microextraction

Dispersive liquid–liquid microextraction (DLLME) is a relatively new and efficient method for sample preparation, which is based on the addition of a small volume of an extraction solvent to a larger volume of a disperser solvent, followed by the rapid mixing of the two solvents in the sample. This results in the formation of small droplets of the extraction solvent within the disperser solvent, which are then used to extract the target analytes. Generally, the disperser solvent is most often consisting of acetonitrile or methanol the extraction solvent should have a high solubility for the target analytes and low solubility for the matrix components. Commonly used extraction solvents include chloroform, dichloromethane, and diethyl ether solvents (Zgoła-Grzeskowiak & Grzeskowiak, 2011). However, more sustainable, and less toxic options have been applied, as demonstrated in Section 3 of this article (Spietelun et al., 2014). It is also important to note that the selection of the disperser solvent and the extraction solvent will depend on the nature of the sample and the target analytes. The solubility of the analytes in the solvents, the polarity, and the stability of the analytes are some of the factors that need to be considered when choosing the solvents.

The DLLME extracted analytes can then be easily transferred to a chromatographic or spectrophotometric instrument for analysis. When analyzed by GC, the organic extract can be injected directly into the system, eliminating an extra drying step (Cunha et al., 2016; Gardner et al., 2015). DLLME has wide versatility, with good results for illicit drugs, pharmaceuticals, and other xenobiotics analysis in different biological matrices, being a great alternative to classical LLE (Fernández et al., 2015; Fisichella et al., 2015; Gardner et al., 2015). Despite the vast number of substances and/or classes of substances that can be analyzed employing this microextraction, DLLME is a pH-dependent extraction. This means that the selectivity of the technique can be modulated in order to be more suitable for one specific analyte or group of analytes. This feature can be assessed both as an advantage or a disadvantage, depending on the need for a broad or specific analysis. Therefore pH is a commonly optimized parameter in published studies (Jain & Singh, 2016). In some protocols, the use of DLLME in blood samples may require the separate addition of the disperser solvent to promote protein precipitation. This was described by Odoardi et al. (2015) for the analysis of synthetic cannabinoids, synthetic cathinone, and other stimulants in blood samples by LC–MS/MS (Odoardi et al., 2015).

Despite the green characteristics of DLLME, in some cases, high sample amounts are needed to achieve the required sensitivity levels (Cunha et al., 2016; Mercieca et al., 2020). On the other hand, the use of sensitive analytical methodologies allows the employment of small amounts of samples, as performed by Kahl et al. (2021) for the quantification of amphetamine-type stimulants in oral fluid (Kahl et al., 2021).

2.4 | Hollow fiber liquid-phase microextraction

Hollow fiber liquid-phase microextraction (HF-LPME) is a microextraction technique it involves using a hollow fiber made of polypropylene, which has a porous surface. The fiber is filled with a solvent, which serves as the acceptor phase. The sample, which contains the analytes, is then brought into contact with the porous surface of the hollow fiber. The pores on the fiber surface allow the analytes to pass through and into the solvent inside the fiber. This process of extraction is facilitated by the difference in the chemical properties of the analytes and the solvent. Once the extraction is complete, the solvent containing the extracted analytes can be removed from the fiber and analyzed. The extracted solvent can then be directly injected into a GC or dried and resuspended for LC analysis, depending on the volatility of the solvent used (Venson et al., 2019).

HF-LPME can be configured in different ways, and these configurations can be classified into two main categories: two-phase and three-phase. In a two-phase configuration, the sample (donor) and the solvent (acceptor) are in separate phases, and the hollow fiber serves as the physical interface between them. The analytes are extracted from the sample into the solvent through the porous surface of the hollow fiber. In a three-phase configuration, an acid or base is added to the lumen of the fiber, so that the analyte remains ionized in the solvent being unable to return to the donor phase, creating an ionic trap. The three-phase configuration tends to generate a better enrichment and clean-up of the extract (De Souza Eller et al., 2016; Venson et al., 2019).

A considerable disadvantage of LPME is the lack of automation and the need for well-trained operators to perform the technique. Furthermore, low analyte recovery rates are associated with HF-LPME, sometimes requiring larger volumes of samples (De Baires et al., 2015). To increase the sensitivity and efficiency of the extraction, parameters such as pH, type, and volume of the acceptor solvent, agitation time, and salting out effect can be optimized (Emídio et al., 2010).

In the forensic context, HF-LPME has been used heavily for the analysis of drugs of abuse such as cocaine, cannabinoids, and amphetamine-type stimulants in hair samples (Emídio et al., 2010; Madia et al., 2022; Pego et al., 2017). Other matrices have already been studied for the analysis of recreational drugs and medications, including urine, whole blood, and even human breast milk (De Baires et al., 2015; De Oliveira Silveira et al., 2016; De Souza Eller et al., 2016).

3 | GREEN SOLVENTS

The use of liquid-phase microextraction techniques represents a significant advancement in reducing the volume of organic solvents used in sample preparation. However, some of these methods are still based on the use of volatile solvents, which can be harmful to the operator. In recent years, new methods that utilize green options such as ionic liquids, deep eutectic solvents, switchable hydrophilicity solvents, and supramolecular solvents have emerged. These solvents offer the possibility of modification for specific applications, making them a more versatile and safer alternative (Carasek et al., 2021). A compilation of techniques using green solvents in the forensic scenario is presented in Table 2.

3.1 | Ionic liquids

Ionic liquids (ILs) are a salt formed by the mixture of an organic cation and an organic or inorganic anion. Some desired features of ILs when compared to classical organic solvents are low vapor pressure and non-flammability. Additionally, there is the possibility of functionalizing diverse groups in order to modulate ILs selectivity (Clark et al., 2018). Among different ILs already described in the literature, magnetic ILs represent a hot topic in microextraction techniques due to their easy recovery, which facilitates automation (González-Martín et al., 2022). Besides all these great features, ILs are poorly biodegradable and several studies are being made to determine their potential toxicity to microorganisms, plants, and animals (Gonçalves et al., 2021).

ILs are mainly applied for forensic sciences applications as the extraction solvent in DLLME. In two papers published by De Boeck et al., IL-DLLME was employed for the determination of antidepressants and benzodiazepines in whole blood samples, followed by LC-MS/MS analysis. LOQs for most antidepressants were 10 ng/mL, while benzodiazepines presented LOQs varying between 2 and 50 ng/mL. For both classes of pharmaceuticals, good recoveries were encountered with values over 50%–130%, which is higher than most microextraction and protein precipitation methods (De Boeck et al., 2017; De Boeck et al., 2018).

3.2 | Deep eutectic solvents

In comparison with ILs, deep eutectic solvents (DESs) have a simpler and cheaper synthesis exhibiting great potential for application in forensic toxicology analyses. DESs are a eutectic mixture of a hydrogen bond acceptor (HBA) and a hydrogen bond donor (HBD) obtained by hydrogen bonding. The properties of DESs are similar to ILs, also including their liquid form at ambient temperature and great versatility due to the countless compounds that can act as HBA and HBD. On the other hand, some drawbacks can be cited such as the possibility of thermal degradation when DESs are heated for long periods and the high consumption of energy in their synthesis, depending on the utilized approach (Abbott et al., 2003; Farooq et al., 2020).

Compounds of forensic interest such as antidepressants were previously determined with the use of DESs. DES was applied as the extraction solvent in DLLME coupled to GC-MS detection for the analysis of four antidepressants in urine. LLOQs varied between 24 and 41 pg/mL, while enrichment factors were between 122 and 147. The method was fully validated and proved its application by the analysis of four real urine samples (Mohebbi et al., 2019). Furthermore, DES was also employed as an elution solvent for dispersive solid phase extraction (DSPE) in the determination of

TABLE 2 Green solvents based techniques for analysis of drugs of abuse and pharmaceuticals in biological matrices.

Green solvent classification	Solvent	Extraction method	Analytes	Sample type	Sample amount	LODs	LOQs	Instrumentation	Reference
Ionic liquid	1-Butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate (BMIm PF ₆)	DLLME	Benzodiazepines and Z-drugs	Whole blood	1 mL	0.003–3.49 ng/mL	2–50 ng/mL	LC–MS/MS	De Boeck et al., 2017
Ionic liquid	1-Butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate (BMIm PF ₆)	DLLME	Antidepressants	Whole blood	1 mL	0.78–35.15 ng/mL	10–250 ng/mL	LC–MS/MS	De Boeck et al., 2018
Deep eutectic solvent	Menthol–decanoic acid	DLLME (SFO–DLPME)	Antidepressants	Urine	5 mL	13–25 pg/mL	24–41 pg/mL	GC–MS	Mohebbi et al., 2019
Deep eutectic solvent	ChCl: 4-chlorophenol	DSPE	Antidepressants	Urine and plasma	2.5 mL; 1 mL	8–15 pg/mL; 32–60 pg/mL	27–49 pg/mL; 108–191 pg/mL	GC–MS	Mohebbi et al., 2018
Deep eutectic solvent	Coumarin: thymol	EME	Atenolol, ephedrine, metoprolol, rivastigmine, fluoxetine, and amitriptyline	Urine	11 mL	6–9 ng/mL	19–29 ng/mL	HPLC–DAD	Abbasi et al., 2022
Switchable hydrophilicity solvent	Dipropylamine	HLLME	Citalopram, desipramine, and clozapine	Serum, breast milk, and wastewater ^a	7 mL	0.3–1 ng/mL	2.5–5 ng/mL	GC–FID	Behpour et al., 2020
Switchable hydrophilicity solvent	N,N-dimethylcyclohexylamine	HLLME	Antidepressants	Urine	0.25 mL	0.02–0.88 ng/mL	0.05–2.92 ng/mL	GC–MS	Oeming et al., 2020
Switchable hydrophilicity solvent	Dipropylamine	HLLME	Methamphetamine	Urine	4 mL	1.5 ng/mL	5 ng/mL	GC–MS	Shahvandi et al., 2018
Switchable hydrophilicity solvent	N,N-dimethylcyclohexylamine	HLLME	MDA, MDMA, and NBOMes	Whole blood	0.5 mL	0.1–1 ng/mL	0.1–1 ng/mL	LC–MS/MS	Scheid et al., 2022
Supramolecular solvents	1-Hexanol + tetrahydrofuran	–	Phenethylamines	Oral fluid	0.675 mL	1.32–2.94 ng/mL ^b	4.39–9.80 ng/mL ^b	LC–MS/MS	Accioni et al., 2020

(Continues)

TABLE 2 Green solvents based techniques for analysis of drugs of abuse and pharmaceuticals in biological matrices.

Green solvent classification	Solvent	Extraction method	Analytes	Sample type	Sample amount	LODs	LOQs	Instrumentation	Reference
Ionic liquid	1-Butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate (BMIm PF ₆)	DLLME	Benzodiazepines and Z-drugs	Whole blood	1 mL	0.003–3.49 ng/mL	2–50 ng/mL	LC–MS/MS	De Boeck et al., 2017
Ionic liquid	1-Butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate (BMIm PF ₆)	DLLME	Antidepressants	Whole blood	1 mL	0.78–35.15 ng/mL	10–250 ng/mL	LC–MS/MS	De Boeck et al., 2018
Deep eutectic solvent	Menthol–decanoic acid	DLLME (SFO–DLPME)	Antidepressants	Urine	5 mL	13–25 pg/mL	24–41 pg/mL	GC–MS	Mohebbi et al., 2019
Deep eutectic solvent	ChCl: 4-chlorophenol	DSPE	Antidepressants	Urine and plasma	2.5 mL; 1 mL	8–15 pg/mL; 32–60 pg/mL	27–49 pg/mL; 108–191 pg/mL	GC–MS	Mohebbi et al., 2018
Deep eutectic solvent	Coumarin: thymol	EME	Atenolol, ephedrine, metoprolol, rivastigmine, fluoxetine, and amitriptyline	Urine	11 mL	6–9 ng/mL	19–29 ng/mL	HPLC–DAD	Abbasi et al., 2022
Switchable hydrophilicity solvent	Dipropylamine	HLLME	Citalopram, desipramine, and clozapine	Serum, breast milk, and wastewater ^a	7 mL	0.3–1 ng/mL	2.5–5 ng/mL	GC–FID	Behpour et al., 2020
Switchable hydrophilicity solvent	N,N-dimethylcyclohexylamine	HLLME	Antidepressants	Urine	0.25 mL	0.02–0.88 ng/mL	0.05–2.92 ng/mL	GC–MS	Oeming et al., 2020
Switchable hydrophilicity solvent	Dipropylamine	HLLME	Methamphetamine	Urine	4 mL	1.5 ng/mL	5 ng/mL	GC–MS	Shahvandi et al., 2018
Switchable hydrophilicity solvent	N,N-dimethylcyclohexylamine	HLLME	MDA, MDMA, and NBOMes	Whole blood	0.5 mL	0.1–1 ng/mL	0.1–1 ng/mL	LC–MS/MS	Scheid et al., 2022
Supramolecular solvents	1-Hexanol + tetrahydrofuran	–	Phenethylamines	Oral fluid	0.675 mL	1.32–2.94 ng/mL ^b	4.39–9.80 ng/mL ^b	LC–MS/MS	Accioni et al., 2020

(Continues)

TABLE 2 (Continued)

Green solvent classification	Solvent	Extraction method	Analytes	Sample type	Sample amount	LODs	LOQs	Instrumentation	Reference
Supramolecular solvents	1-Hexanol + tetrahydrofuran	–	Benzodiazepines	Urine	3 mL	0.16–0.63 ng/mL	0.50–2.01 ng/mL	LC–MS/MS	Caballero-Casero, Mihretu, & Rubio, 2022
Supramolecular solvents	1-Hexanol + tetrahydrofuran	–	Amphetamines, cocaine related drugs, and opioids	Hair	25 mg	–	0.5–1.1 pg/mg	LC–MS/MS	Caballero-Casero, Beza, & Rubio, 2022

^aLOD and LOQ were determined using spiked water samples.

^bLOQ.

Abbreviations: DLLME, dispersive liquid–liquid microextraction; DSPE, dispersive solid-phase extraction; EME, electromembrane extraction; GC–FID, gas chromatography flame ionization detection; GC–MS, gas chromatography–mass spectrometry; HLLME, homogeneous liquid–liquid microextraction; LC–MS/MS, liquid chromatography–tandem mass spectrometry; LODs, limits of detection; LOQs, limits of quantitation; SFO-DLPME, floating organic droplets-dispersive liquid phase microextraction.

antidepressants in urine and plasma samples by GC–MS. LLOQs were also low, varying from 27 to 49 pg/mL for urine and 108 to 191 pg/mL for plasma (Mohebbi et al., 2018). Despite those good results, one limitation of both studies is the use of great volumes of samples (1 mL for plasma and 2.5–5 mL for urine).

Another method of utilizing DES involves its application as a liquid membrane for the purpose of electromembrane extraction. This approach was done by Abbasi et al. (2022) in order to completely eliminate the use of organic solvents in sample preparation. Extraction was done in urine samples for several compounds including some of the forensic interests such as ephedrine, amitriptyline, and fluoxetine. DES-based electromembrane extraction presented higher recovery rates than other configurations of electromembranes. LOQs were satisfactorily ranging from 19 to 29 ng/mL and enrichment factors varied between 114 and 139 (Abbasi et al., 2022).

3.3 | Switchable hydrophilicity solvents

Switchable hydrophilicity solvents (SHSs) were introduced by Jessop et al. in 2010, with the description of the use of *N,N,N'*-tributylpentanamide. An SHS is a solvent with the capacity of switching between a hydrophilic and hydrophobic state. This modulation is achieved by the addition and withdrawal of some triggers such as CO₂ or acid and base. Therefore, the solvent in the hydrophilic form is mixed with the aqueous sample for the extraction of analytes and switched to its hydrophobic form to be recovered and analyzed (Alshana et al., 2020; Jessop et al., 2010). A representative scheme of these characteristics of SHS is illustrated in Figure 1. Due to these reversibility capabilities, SHSs are considered “smart” solvents and their main advantage is the exclusion of several steps of addition and removal of organic solvents as performed in classic techniques. This way, several steps of the extraction procedure can be done with a minimal solvent amount. These solvents are considered less toxic for the operator when compared to organic solvents, but some were predicted to have ecotoxicity. Additionally, the extraction of acidic and basic compounds cannot be performed by the same SHSs, therefore, in some cases, the same sample must be analyzed twice (Alshana et al., 2020; Vanderveen et al., 2018).

Some SHS were already employed for forensic toxicology purposes such as in a technique that combines electromembrane extraction and SHS-homogeneous liquid–liquid microextraction (HLLME) for the determination of antidepressants in serum, breast milk, and wastewater. Extraction conditions were evaluated using water spiked with the analytes (citalopram, desipramine, clozapine, and trimipramine) and dipropylamine was employed as the SHS. After optimization, samples of serum, breast milk, and wastewater were spiked with three concentrations (25, 50, and 250 ng/mL) and analyzed by gas chromatography–flame ionization detection. Recoveries ranged between 65.6% and 93.7%, proving that it can be potentially applied to real samples (Behpour et al., 2020).

Antidepressants were also evaluated in urine samples by SHS-HLLME in association with GC–MS. In this method, the SHS used was *N,N*-dimethylcyclohexylamine, and LOQs ranged between 0.05 and 2.92 ng/mL for fluoxetine, nortriptyline, amitriptyline, imipramine, desipramine, and sertraline. Five real urine samples were analyzed in order to prove the method's applicability, being positive for amitriptyline (207–4828 ng/mL) and nortriptyline (326–3333 ng/mL) (Oenning et al., 2020). A method for the determination of methamphetamine in urine samples was developed by

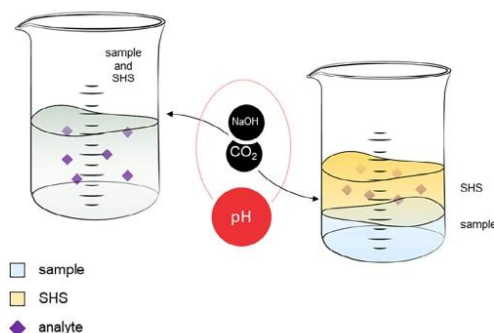


FIGURE 1 Schematic representation of the switchable hydrophilicity solvent-homogeneous liquid–liquid extraction.

SHS-HLLME with the use of dipropylamine. The LOD was 1.5 ng/mL using GC-MS analyses and the method was applied to three real samples with concentrations ranging from <LOD to 244.70 ng/mL (Shahvandi et al., 2018). SHS-HLLME was further employed for the determination of MDMA, MDA, and NBOMes in postmortem blood samples with detection by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. LOD and LOQs were between 0.1 and 1 ng/mL and four real samples were analyzed, being positive for MDA and MDMA with concentrations ranging from 31.76 to 61.60 ng/mL and 6.91 to 68.20 ng/mL, respectively (Scheid et al., 2022).

3.4 | Supramolecular solvents

Supramolecular solvents (SUPRAS) are liquids formed by the phenomena of coacervation. This process is induced by physicochemical modifications such as pH or temperature alterations to a suspension of the amphiphile, which contains supramolecular aggregates. These aggregates began to grow, forming droplets, which will separate as a liquid phase (SUPRAS). As happens to other described green solvents, SUPRAS properties are tunable depending on the properties of the amphiphile. This characteristic represents a great advantage in the development of new analytical methodologies because of the capability of extracting a great diversity of compounds. However, the green features of these solvents are prejudiced by the need of toxic organic solvents for their synthesis (Armenta et al., 2021; Rubio, 2020).

SUPRAS were recently employed for the determination of phenethylamines in oral fluid samples. The procedure was simple and able to achieve LODs ranging between 1.32 and 2.94 ng/mL by using LC-MS/MS as separation and detection technique. Nevertheless, good recoveries were found with values around 100%, while matrix effects were negligible (Accioni et al., 2020). Also, hexanol based-SUPRAS were applied for the extraction of 11 benzodiazepines in urine samples, followed by detection by LC-MS/MS. LOQs were considered satisfactory, ranging between 0.5 and 2.01 ng/mL, which were sufficient to quantify the selected benzodiazepines in 13 real samples, being one sample positive for alprazolam (5.2 ng/mL) and four positives for lorazepam (32–74 ng/mL) (Caballero-Casero, Mihretu, & Rubio, 2022).

Caballero-Casero et al. in 2022 demonstrated the application of the SUPRAS in solid matrices, with the analysis of several compounds in hair samples. Drugs of abuse were evaluated including cocaine related compounds, amphetamines, and opioids. The quantification was performed by LC-MS/MS and LOQs were between 0.5 and 1.1 pg/mg, values that are below the recommended cut-offs for these substances. Additionally, recoveries were found to be close to 100%. The application of the method was evaluated through the analysis of a hair control material, having satisfactory results (Caballero-Casero, Beza, & Rubio, 2022).

4 | GREEN SORBENTS

Sorbent-based extraction techniques became one viable sustainable alternative for sample analysis. Manufactured sorbents that can be synthesized by means of green chemistry techniques, for example, molecularly imprinted polymers (MIPs), nanoparticles, and metal-organic frameworks are some of the interests of this research field, as well as natural sorbents such as biopolymers. The use of most of these sorbents is not very employed in human samples analysis yet, but it can be a useful alternative in further method development. Compiled data regarding the application of green sorbents in forensic analysis is presented in Table 3.

4.1 | Molecularly imprinted polymers

Molecularly imprinted polymers (MIPs) are selective synthetic materials inspired by molecular recognition of some biological processes such as drug-receptor. They have been developed for several uses, one of them being as sorbents in extraction methods such as SPME and SPE (Madikizela & Chimuka, 2016). The aim of the employment of MIPs is the high selectivity for target molecules due to the molecular sites produced in the synthesis. Usually, the polymers are prepared by precipitation polymerization, using the target or a similar molecule as a template for the site. In toxicology, a highly selective MIP was used to extract tramadol in urine and plasma samples using SPE and further analysis by HPLC-UV. The extraction procedure consisted of conditioning MIPs with 1 mL methanol and 1 mL deionized water at a neutral pH. After loading 2 mL of the tramadol spiked sample, the cartridge was washed with acetone followed by

TABLE 3 Green sorbents based techniques for analysis of drugs of abuse and pharmaceuticals in biological matrices.

Green sorbent classification	Sorbent	Extraction method	Analytes	Sample type	Sample amount	LODs	LOQs	Instrumentation	Reference
Nanoparticle	Fe ₃ O ₄ @mTiO ₂	DSPE	Estazolam, zolpidem, clozapine, triazolam, alprazolam, nimetazepam, meperidine, methadone	Blood	0.1 mL	0.05–0.33 ng/mL	0.14–1.03 ng/mL	LC–MS/MS	Yang et al., 2021
Nanoparticle	Fe ₃ O ₄ @PPy	D-μ-SPE	Citalopram, sertraline	Plasma, urine	6.0 mL	0.2–1.0 μg/mL	–	HPLC	Asgharzadeh et al., 2015
Nanoparticle	Fe ₃ O ₄ @ZrO ₂ @N-cetylpyridinium	SPE	Amitriptyline, nortriptyline	Plasma	0.5 mL	0.04–0.08 ng/mL	0.37–0.27 ng/mL	HPLC–UV	Zare et al., 2015
Nanoparticle	Fe ₃ O ₄ C/MNPs	MSPE	Ephedrine, methamphetamine	Urine	5.0 mL	15–20 ng/mL	52.8–70.12 ng/mL	HPLC–UV	Taghvi & Hamishehkar, 2017
Natural sorbents	Cork	DPX	Carbamazepine, diazepam	Urine	0.158 mL	1.5–3 ng/mL	5 to 10 ng/mL	HPLC–DAD	Mafra et al., 2018
Natural sorbents	Cork	DSPE	Ethylone, MDA, MDM, N-ethylpentylone, 25b-NBOMe, 25c-NBOMe, 25i-NBOMe, fentanyl, pentylone, LSD, cathinone, mephedrone, PCP, 25-NBOH	Blood	0.2 mL	–	0.5–5 ng/mL	LC–MS/MS	Birk et al., 2022
Natural sorbent	Bract	SPME	Estrone, estradiol, ethinyl estradiol, estriol	Urine	1.5 mL	0.03–3.03 μg/mL	0.1–10 μg/mL	HPLC–FLD	Do Carmo et al., 2019
Natural sorbent	Cork	DPX	THC-COOH	Urine	0.7 mL	0.22 ng/mL	0.73 ng/mL	GC–FID	Morés et al., 2021
Molecularly imprinted polymers	–	SPE	Tramadol	Plasma, Urine	2.0 mL	3–1.2 μg/mL	12–5 μg/mL	HPLC	Azodi-Dellami et al., 2010
Molecularly imprinted polymers	–	SPE	Synthetic cathinones	Blood	0.2 mL	0.015–0.15 ng/mL	–	LC–MS/MS	Murakami et al., 2018
Molecularly imprinted polymers	–	SPE	NPS	Oral fluid	1.0 mL	0.03–1.3 μg/mL	–	LC–MS/MS	Sorribes-Soriano et al., 2019
Molecularly imprinted polymers	–	μ-SPE	Cannabinoids	Plasma, urine	0.1–1.0 mL	0.11–0.17 ng/mL	0.36–0.57 ng/mL	LC–MS/MS	Sánchez-González et al., 2017

(Continues)

TABLE 3 (Continued)

Green sorbent classification	Sorbent	Extraction method	Analytes	Sample type	Sample amount	LODs	LOQs	Instrumentation	Reference
Molecularly imprinted polymers	–	μ-SPE	Synthetic cannabinoids	Urine	1.0 mL	0.032–0.748 ng/mL	0.107–0.720 μg/mL	LC-MS/MS	Sánchez-González et al., 2018
Molecularly imprinted polymers	–	SPE	Cocaine	Oral fluid	0.5 mL	18 μg/mL	60 μg/mL	IMS	Sorribes-Soriano et al., 2017
Molecularly imprinted polymers	–	–	Cocaine, benzoylecgonine	Hair	50 mg	0.01–0.02 ng/mg	0.07, 0.04 ng/mg	HPLC-DAD	Thibert et al., 2012

Abbreviations: C/MNPs, carbon coated magnetic nanoparticles; DPX, disposable pipette extraction; dSPE, dispersive solid phase extraction; D-μ-SPE, dispersive micro-solid phase extraction; GC-FID, gas chromatography–flame ionization detector; HPLC-FLD, high performance liquid chromatography with fluorescence detector; HPLC-PDA, high performance liquid chromatography–photodiode array detector; HPLC-UV, high performance liquid chromatography–UV–Visible detector; IMS, ion mobility spectrometry; LC-MS/MS, liquid chromatography–tandem mass spectrometry; LODs, limits of detection; LOQs, limits of quantitation; μ-SPE, micro-solid phase extraction; SPME, solid phase microextraction.

elution with 3×1 mL of 10% acetic acid in methanol. The authors obtained a LOD of 3 $\mu\text{g/mL}$ and a LOQ of 12 $\mu\text{g/mL}$ in plasma samples. For urine, the LOD was 1.2 $\mu\text{g/mL}$ and LOQ was 5 $\mu\text{g/mL}$. Recovery rates were above 81% (Azodi-Deilami et al., 2010).

In 2018, Murakami et al. extracted 11 synthetic cathinones from urine and whole blood samples exploiting a molecularly imprinted polymer solid-phase extraction cartridge. The study was developed using SPE as the extraction technique and LC-MS/MS as the detection method. The cartridge was activated with 1 mL of methanol followed by addition of the sample. Posteriorly, distilled water and a mixture of acetonitrile/water was used for washing the cartridge. The analytes were eluted with formic acid/methanol after drying the cartridge prior to analysis by LC-MS/MS. The intra-day recoveries were between 52.4% and 73.6% and inter-day recoveries were in a range of 60.1%–79.5% at 10 ng/mL. Obtained LOD levels ranged from 0.015 to 0.15 ng/mL (Murakami et al., 2018).

The extraction of amphetamine, methamphetamine, and NPS was evaluated using developed amphetamine-like MIPS, applying SPE prior to UPLC-MS analysis. The LOD obtained by the authors varied from 0.03 to 1.3 $\mu\text{g/mL}$ in oral fluid samples. Recovery values ranged from 80% to 120% (Sorribes-Soriano et al., 2019). Other studies have used the technique in human biological samples for the extraction of cannabinoids and synthetic cannabinoids (Sánchez-González et al., 2017, 2018), cocaine (Sorribes-Soriano et al., 2017), and benzoylecgonine (Thibert et al., 2012).

Despite the fact that extraction techniques utilizing MIP use low volumes of organic solvents, the synthesis of those polymers includes solvents in high quantities, surfacing the necessity to discuss green strategies as an option. In that scope, the use of alternative solvents can overcome original disadvantages. Supercritical carbon dioxide (scCO_2), ILs, and DES are some of the alternatives for MIP synthesis currently being studied and capable of fulfilling GAC principles.

4.2 | Nanoparticles

Multiple nanoparticles have been studied as sorbents to extraction methods, especially in the scope of water contaminants removal. The most common nanoparticles are magnetic, silica, titanium dioxide, and zinc oxide. They are versatile materials and worthy of exploitation since their synthesis allows adaptations according to the target substance. The nanoparticle size can vary from 1 to 100 nanometers generating a high surface area. This is possible because when in nanometers, a high percentage of a particle's atoms is located on the surface facilitating the interaction between the nanoparticle and other compounds. Those features are responsible for their high adsorptive capacity. It is also possible to increase the binding sites using coating techniques with complex reagents that are able to interact with the analytes. This technique prevents the formation of agglomerates that may reduce the surface area, thus the adsorption capacity (Agarwal et al., 2019; Ghaemi et al., 2015; Jadhav et al., 2019; Weldegebreial, 2020).

Yang et al. (2021) used magnetic-modified nanoparticles for the detection of eight drugs in human blood, obtaining recovery rates of 79.5%–99.9% and LOQs of 0.14–1.03 ng/mL (Yang et al., 2021). Polypyrrole/magnetic nanoparticles composite was evaluated as a sorbent for dispersive micro-solid-phase extraction of antidepressant drugs from biological fluids in the work of Asgharinezhad et al. (2015). The LODs were obtained in the range of 0.2–1.0 $\mu\text{g/mL}$ for citalopram and 0.3–0.7 $\mu\text{g/mL}$ for sertraline. The percent of extraction recoveries were in the range of 93.4%–99%, and 94%–98.4% for citalopram and sertraline, respectively. The applicability of the method was successfully confirmed by the extraction and determination of both analytes in human urine and plasma samples (Asgharinezhad et al., 2015).

Amitriptyline and nortriptyline were also evaluated utilizing extraction with nanoparticles in the research by Zare et al. (2015) where water-dispersible core-shell nanoparticles (NPs) of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{ZrO}_2@\text{N-cetylpyridinium}$ were applied in magnetic solid phase extraction (MSPE) technique prior to HPLC-UV analysis. LOD values were of 0.04 ng/mL for amitriptyline and 0.08 ng/mL for nortriptyline, while LOQs were 0.37 and 0.27 ng/mL for amitriptyline and nortriptyline, respectively (Zare et al., 2015).

Taghvimi and Hamishehkar (2017) used carbon coated magnetic nanoparticles as sorbent for the extraction of methamphetamine and ephedrine from urine samples, and the results indicated that those nanoparticles could be applied for the simultaneous determination of these drugs of abuse (Taghvimi & Hamishehkar, 2017). The current literature data suggest that the use of nanoparticles as sorbents in the extraction of biological matrices demonstrates high recovery rates and low LOQs. Despite these promising results, the field of research in this area is still being developed and can be further explored for several applications.

It is important to acknowledge that the production of nanomaterials through chemical synthesis can have negative environmental impacts due to the use of potentially harmful and toxic reagents. However, to mitigate these effects, the

concept of green synthesis of nanomaterials has been developed, which utilizes environmentally friendly, non-toxic, and safe reagents in the synthesis process (Marteel et al., 2003). Additionally, biological specimens such as viruses, bacteria, fungi, plants, and their derivatives can be employed as reducing and capping agents in the formation of nanoparticles. Gomez-Bolivar et al. (2019) documented the synthesis and characterization of palladium nanoparticles using bacteria cells from *Desulfovibrio desulfuricans* and *Escherichia coli* (Gomez-Bolivar et al., 2019). Also, magnetic nanoparticles were already synthesized using seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) extract (Yew et al., 2016). These studies illustrate how microbial and plant metabolites can not only serve as cost-effective means of waste reduction but also as stabilizing agents in the fabrication of nanomaterials.

4.3 | Natural sorbents

As cited before, bio-based materials can be used for the sustainable synthesis of nanomaterials. However, they also possess high adsorbent properties because of the high variety of functional sites, being cheaper and more effective for the removal of elements from aqueous solutions (Godage & Gionfriddo, 2020). Recently, their use as sorbents for biological sampling preparation has been expanded. Bio-based sorbents that can be used for extraction methods debated in this article are constituted from polysaccharides, commonly chitin, lignin, and suberin (Hokkanen et al., 2016). The most frequent biopolymer is cellulose, either isolated from plant tissues or obtained from unrefined plant products (e.g., tree bark, cork). The main advantages of these materials are their biodegradability, versatility, and easy functionalization (Pacheco-Fernández et al., 2020).

The use of cork in forensic toxicology assays is seen in the study of Mafra et al. (2018) where pharmaceuticals were extracted by disposable pipette extraction from urine samples. The authors obtained a recovery range of 65%–117% and the LLOQs varied from 5 to 10 µg/L (Mafra et al., 2018). Later on, in 2022, Birk et al. used cork as a sorbent in DSPE to determine new psychoactive substances (NPS) in postmortem blood samples, with LLOQs between 0.5 and 5 ng/mL (Birk et al., 2022). A schematic representation of the DSPE technique is illustrated in Figure 2.

Do Carmo et al. (2019) evaluated bract, a composed of lignin, cellulose, and hemicellulose as sorbent phase for SPME in a 96 well-plate configuration, in order to extract estrone, estradiol, ethinyl estradiol, and estriol from human urine samples. They used 1.5 mL of diluted urine and 300 µL of methanol for the desorption of the analytes. The recovery rates varied from 71% to 107%. The LODs obtained were in a range of 0.03–3.03 µg/mL and LOQs were 0.1–10 µg/mL (Do Carmo et al., 2019).

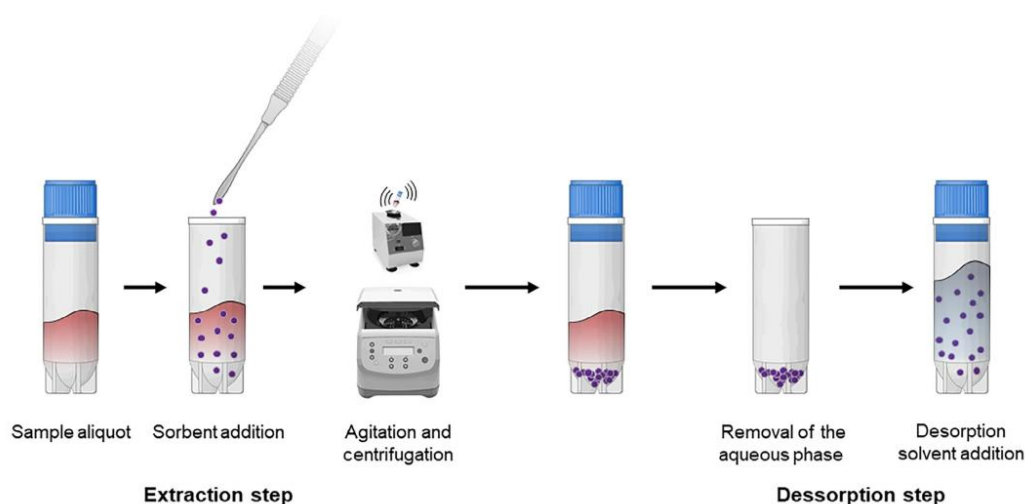


FIGURE 2 Schematic representation of the dispersive solid-phase microextraction technique.

The extraction of 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid from urine samples was performed using natural extraction phases in the disposable pipette. Morés et al. (2021) evaluated in this study different biosorbents, including cork, moringa and bract. The best results were found with the employment of cork as extraction phase. The LOD obtained was 0.21 ng/mL and LOQ 0.73 ng/mL while the recoveries varied from 96% to 108%. The method was further applied to real case samples (Morés et al., 2021).

The use of natural sorbents as extraction phases in biological samples analysis for forensic purposes is still an innovative field with scarce literature. However, demonstrate the potential for improvement and broad applicability. A lot of aspects concerning the stability of techniques and uniformity of materials is yet to be further studied.

5 | DISCUSSION

As previously demonstrated, there are multiple approaches that can be implemented to convert traditional forensic analysis techniques into more environmentally friendly alternatives. In terms of method miniaturization, research has been conducted on compounds of forensic interest, such as pharmaceuticals and drugs of abuse, including new psychoactive substances, in a range of biological matrices. However, the application of green solvents and sorbents in these techniques is limited. Most studies are limited to demonstrating the feasibility of a particular approach, resulting in a restricted quantity of analytes being measured and limited matrix diversity. Urine is commonly used as the matrix of choice for new green methodologies applications due to its lower complexity, high analyte concentrations, ease of sampling, and prior knowledge. However, this preference results in a lack of application of green methods in more complex matrices commonly analyzed in forensic laboratories such as whole blood, vitreous humor, hair, and tissue. Furthermore, many studies do not fully validate the methods in biological samples, and the applicability in real-world samples is often limited. It is important to consider the use of green methods in more complex matrices to expand the scope of analysis and improve the technological impact of forensic analysis.

Despite the mentioned issues, green techniques in analytical chemistry and toxicology have been gaining popularity in recent years due to their numerous advantages. Additionally, the reduction of the use of reagents is a critical aspect in a world with limited natural resources. Traditional methods such as LLE and SPE are known to consume large amounts of organic solvents, silica-based sorbents, and plastic materials. Miniaturization of these methods results in a significant reduction of these components, enabling the possibility of automation in simpler configurations. Automation not only reduces the use of disposable items but also improves the sensitivity and precision of the method by eliminating operation errors (Medina et al., 2019; Wang & Pumera, 2021).

Additionally, modern microextractions, such as fabric-phase solid extraction (FPSE) and capsule phase microextraction (CPME), can be further explored as green alternatives for forensic purposes. Therefore, there is a need for additional studies capable of demonstrating their applicability for the analysis of diverse compounds in complex matrices (D'Ovidio et al., 2022). Overall, the advancement of green techniques in analytical chemistry is a positive step toward resource conservation. Utilizing natural and renewable materials can reduce the dependency on synthetic and non-renewable materials and also minimize the carbon footprint associated with the extraction process. Additionally, the use of environmentally-friendly materials in the extraction process can also help to increase the sustainability of the extraction process.

The utilization of natural and renewable materials that possess environmentally-friendly attributes in the extraction phase has been receiving increasing attention in recent years. These materials possess unique physicochemical properties that make them suitable for the extraction of psychoactive substances from various biological matrices. Research has revealed several innovative applications of these sorbents, particularly in the context of DSPE and MEPs microextraction techniques. Carbon nanotubes, metal and covalent-organic frameworks, restricted-access materials and a few natural sorbents such as cotton and wood are examples of sorbents that have been applied in techniques for the analysis of water, soil and water samples. However, their applicability for biological matrices is restricted to substances that do not present forensic relevance. Considering their extraction potential, more studies should be developed expanding the use of those sorbents in this field. Additionally, biobased solvents are considered a current trend with possible applications in liquid based extractions (Tobiszewski, 2019). Consequently, the study of natural materials as extraction phases in combination with various microextraction techniques is an area of increasing research interest in the near future.

Nevertheless, the reduction of reagents and their replacement for green alternatives provides for a decrease in chemical waste, less exposure to toxic reagents by the analyst, as well as a strong impact on the total cost of the analysis. This

last feature is of extreme importance for forensic laboratories in developing countries. In these locations, resources for forensic investigations are limited which can lead to a decrease in casework analysis and, consequently, sub-notification of intoxication events and substance misuse. Cost-effective methodologies contribute to the development of forensic analysis in these countries and a better understanding of regional and global casework patterns.

Lastly, the integration of new technologies, such as 3D printing and robotics, has the potential to significantly enhance the development and advancement of GAC in the forensic field. These technologies can facilitate the use of novel materials and components, thus expanding the range of possibilities for forensic applications.

6 | CONCLUSION

GAC practices consist of a series of advantages over classical methods resulting in simple and low-cost techniques that are safer for the operator and the environment. These concepts are increasingly emerging in the forensic toxicology scenario; however, there are countless applications to be further developed regarding compounds of forensic interest and multiple biological matrices. Lastly, we believe that the implementation of the principles of green analytical chemistry is a one-way ticket for forensic toxicology laboratories.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Leticia Birk: Conceptualization (supporting); visualization (equal); writing – original draft (equal). **Bruno Pereira dos Santos:** Conceptualization (supporting); visualization (equal); writing – original draft (equal). **Patricia de Souza Schwarz:** Conceptualization (supporting); visualization (equal); writing – original draft (equal). **Sarah Eller:** Conceptualization (equal); supervision (supporting); visualization (equal); writing – review and editing (equal). **Tiago Franco de Oliveira:** Conceptualization (equal); project administration (lead); supervision (lead); visualization (equal); writing – review and editing (lead).

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to acknowledge the financial support from the Coordination of Improvement of Personal Higher Education, Brazil (CAPES—Finance Code 001).

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare no conflicts of interest.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data sharing is not applicable to this article as no new data were created or analyzed in this study.

ORCID

Leticia Birk  <https://orcid.org/0000-0002-9229-5840>

Bruno Pereira dos Santos  <https://orcid.org/0000-0002-7624-5966>

Patricia de Souza Schwarz  <https://orcid.org/0000-0003-0370-7602>

Sarah Eller  <https://orcid.org/0000-0003-2200-6959>

Tiago Franco de Oliveira  <https://orcid.org/0000-0003-2594-8415>

RELATED WIREs ARTICLES

[An overview of sample preparation in forensic toxicology](#)

FURTHER READING

- Hashemi, B., Zohrabi, P., & Shamsipur, M. (2018). Recent developments and applications of different sorbents for SPE and SPME from biological samples. *Talanta*, 187, 337–347. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.05.053>
- Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 354(6348), 56–58. <https://doi.org/10.1038/354056a0>
- Li, W. K., & Shi, Y. P. (2019). Recent advances and applications of carbon nanotubes based composites in magnetic solid-phase extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118, 652–665. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.039>
- Murtada, K., de Andrés, F., Rios, A., & Zougagh, M. (2018). Determination of antidepressants in human urine extracted by magnetic multiwalled carbon nanotube poly (styrene-co-divinylbenzene) composites and separation by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 39(14), 1808–1815. <https://doi.org/10.1002/elps.201700496>

REFERENCES

- Abbasi, H., Abbasi, S., Haeri, S. A., Rezayati, S., & Heravi, M. R. P. (2022). Electromembrane extraction using biodegradable deep eutectic solvents and agarose gel as green and organic solvent-free strategies for the determination of polar and non-polar bases drugs from biological samples: A comparative study. *Analytica Chimica Acta*, 1222, 339986. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339986>
- Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., Rasheed, R. K., & Tambyrajah, V. (2003). Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. *Chemical Communications*, 1, 70–71. <https://doi.org/10.1039/B210714G>
- Accioni, F., Nieddu, M., Corona, P., & Boatto, G. (2020). Hexanol-based supramolecular solvents tool for the determination of 11 illicit phenethylamines in oral fluid by LC–MS/MS. *Journal of Analytical Toxicology*, 44, 15–21. <https://doi.org/10.1093/jat/bkz039>
- Agarwal, P., Gupta, R., & Agarwal, N. (2019). Advances in synthesis and applications of microalgal nanoparticles for wastewater treatment. *Journal of Nanotechnology*, 2019, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2019/7392713>
- Agius, R., Nadulski, T., Kahl, H. G., Schröder, J., Dufaux, B., Yegles, M., & Pragst, F. (2010). Validation of a headspace solid-phase microextraction–GC–MS/MS for the determination of ethyl glucuronide in hair according to forensic guidelines. *Forensic Science International*, 196(1–3), 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.07.023>
- Aleksa, K., Walasek, P., Fulga, N., Kapur, B., Gareri, J., & Koren, G. (2012). Simultaneous detection of seventeen drugs of abuse and metabolites in hair using solid phase micro extraction (SPME) with GC/MS. *Forensic Science International*, 218(1–3), 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.10.002>
- Alsenedi, K. A., & Morrison, C. (2018). Determination of amphetamine-type stimulants (ATSS) and synthetic cathinones in urine using solid phase micro-extraction fibre tips and gas chromatography–mass spectrometry. *Analytical Methods*, 10(12), 1431–1440. <https://doi.org/10.1039/C8AY00041G>
- Alshana, U., Hassan, M., Al-Nidawi, M., Yilmaz, E., & Soylak, M. (2020). Switchable-hydrophilicity solvent liquid–liquid microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 131, 116025. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116025>
- Ares, A. M., Fernández, P., Regenjo, M., Fernández, A. M., Carro, A. M., & Lorenzo, R. A. (2017). A fast bioanalytical method based on microextraction by packed sorbent and UPLC–MS/MS for determining new psychoactive substances in oral fluid. *Talanta*, 174, 454–461. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.06.022>
- Armenta, S., Esteve-Turrillas, F. A., Garrigues, S., & de la Guardia, M. (2021). Smart materials for sample preparation in bioanalysis: A green overview. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 21, 100411. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100411>
- Armenta, S., Garrigues, S., & de la Guardia, M. (2008). Green analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(6), 497–511. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.05.003>
- Armenta, S., Garrigues, S., Esteve-Turrillas, F. A., & de la Guardia, M. (2019). Green extraction techniques in green analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116, 248–253. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.016>
- Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. (1990). Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, 62(19), 2145–2148. <https://doi.org/10.1021/ac00218a019>
- Asgharinezhad, A. A., Karami, S., Ebrahimzadeh, H., Shekari, N., & Jalilian, N. (2015). Polypyrrole/magnetic nanoparticles composite as an efficient sorbent for dispersive micro-solid-phase extraction of antidepressant drugs from biological fluids. *International Journal of Pharmaceutics*, 494(1), 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.08.001>
- Azodi-Deilami, S., Abdouss, M., & Hasani, S. A. (2010). Preparation and utilization of a molecularly imprinted polymer for solid phase extraction of tramadol. *Central European Journal of Chemistry*, 8(4), 861–869. <https://doi.org/10.2478/s11532-010-0059-2>
- Behpour, M., Nojavan, S., Asadi, S., & Shokri, A. (2020). Combination of gel-electromembrane extraction with switchable hydrophilicity solvent-based homogeneous liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography for the extraction and determination of antidepressants in human serum, breast milk and wastewater. *Journal of Chromatography A*, 1621, 461041. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461041>
- Birk, L., Eller, S., & De Oliveira, T. F. (2022). Expanding the use of cork as biosorbent through the determination of new psychoactive substances in postmortem blood samples. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 34(3), S24. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2022.06.013>
- Birk, L., Santos, S. O., Eller, S., Merib, J., & Oliveira, T. F. (2021). Determinations of new psychoactive substances in biological matrices with focus on microextraction techniques: A review of fundamentals and state-of-the-art extraction methods. *Forensic Toxicology*, 39, 350–367. <https://doi.org/10.1007/s11419-021-00582-x>
- Bojko, B., Cudjoe, E., Gómez-Ríos, G. A., Gorynski, K., Jiang, R., Reyes-Garcés, N., Risticvic, S., Silva, E. A., Togunde, O., Vuckovic, D., & Pawliszyn, J. (2012). SPME–Quo vadis? *Analytica Chimica Acta*, 750, 132–151. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.06.052>
- Brown, S. D., Rhodes, D. J., & Pritchard, B. J. (2007). A validated SPME–GC–MS method for simultaneous quantification of club drugs in human urine. *Forensic Science International*, 171(2–3), 142–150. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.10.015>
- Caballero-Casero, N., Beza, G. N., & Rubio, S. (2022). Supramolecular solvent-based sample treatment workflow for determination of multi-class drugs of abuse in hair by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1673, 463100. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463100>
- Caballero-Casero, N., Mihretu, N. D., & Rubio, S. (2022). Interference-free method for determination of benzodiazepines in urine based on restricted-access supramolecular solvents and LC–MS–MS. *Journal of Analytical Toxicology*, 46, 285–294. <https://doi.org/10.1093/jat/bkab023>
- Carasek, E., Bernardi, G., Morelli, D., & Merib, J. (2021). Sustainable green solvents for microextraction techniques: Recent developments and applications. *Journal of Chromatography A*, 1640, 461944. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.461944>
- Chaves, A. R., Leandro, F. Z., Carris, J. A., & Queiroz, M. E. C. (2010). Microextraction in packed sorbent for analysis of antidepressants in human plasma by liquid chromatography and spectrophotometric detection. *Journal of Chromatography B*, 878(23), 2123–2129. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.06.023>

- Clark, K. D., Emaus, M. N., Varona, M., Bowers, A. N., & Anderson, J. L. (2018). Ionic liquids: Solvents and sorbents in sample preparation. *Journal of Separation Science*, 41(1), 209–235. <https://doi.org/10.1002/jssc.201700864>
- Cunha, R. L., Lopes, W. A., & Pereira, P. A. P. (2016). Determination of free (unconjugated) amphetamine-type stimulants in urine samples by dispersive liquid–liquid microextraction and gas chromatography coupled to mass spectrometry (DLLME-GC-MS). *Microchemical Journal*, 125, 230–235. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.11.017>
- da Cunha, K. F., Rodrigues, L. C., Huestis, M. A., & Costa, J. L. (2020). Miniaturized extraction method for analysis of synthetic opioids in urine by microextraction with packed sorbent and liquid chromatography—Tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1624, 461241. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461241>
- da Silva, P. R., Sena, L. C. S., Silva, R. P. L., de Santana, D. C. A. S., & de Santana, F. J. M. (2019). Determination of cocaine adulterants in human urine by dispersive liquid–liquid microextraction and high-performance liquid chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411, 3447–3461. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-01797-z>
- de Bairos, A. V., de Almeida, R. M., Pantaleão, L., Barcellos, T., e Silva, S. M., & Yonamine, M. (2015). Determination of low levels of benzodiazepines and their metabolites in urine by hollow-fiber liquid-phase microextraction (LPME) and gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). *Journal of Chromatography B*, 975, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.10.040>
- De Boeck, M., Dubrulle, L., Dehaen, W., Tytgat, J., & Cuypers, E. (2018). Fast and easy extraction of antidepressants from whole blood using ionic liquids as extraction solvent. *Talanta*, 180, 292–299. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.12.044>
- De Boeck, M., Missotten, S., Dehaen, W., Tytgat, J., & Cuypers, E. (2017). Development and validation of a fast ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction procedure combined with LC-MS/MS analysis for the quantification of benzodiazepines and benzodiazepine-like hypnotics in whole blood. *Forensic Science International*, 274, 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.12.026>
- de Oliveira Silveira, G., Belitsky, I. T., Loddi, S., de Oliveira, C. D. R., Zucoloto, A. D., Fruchtagarten, L. V. G., & Yonamine, M. (2016). Development of a method for the determination of cocaine, cocaethylene and norcocaine in human breast milk using liquid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Forensic Science International*, 265, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.01.007>
- de Souza Eller, S. C. W., de Oliveira, F., & Yonamine, M. (2016). Measurement uncertainty for the determination of amphetamines in urine by liquid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Forensic Science International*, 265, 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.01.012>
- do Carmo, S. N., Merib, J., & Carasek, E. (2019). Bract as a novel extraction phase in thin-film SPME combined with 96-well plate system for the high-throughput determination of estrogens in human urine by liquid chromatography coupled to fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, 1118–1119, 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.04.037>
- dos Santos, M. F., Ferri, C. C., Seulin, S. C., Leyton, V., Pasqualucci, C. A. G., Munoz, D. R., & Yonamine, M. (2014). Determination of antidepressants in whole blood using hollow-fiber liquid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Forensic Toxicology*, 32, 214–224. <https://doi.org/10.1007/s11419-014-0226-9>
- D'Ovidio, C., Bonelli, M., Rosato, E., Tartaglia, A., Ulusoy, H. İ., Samanidou, V., Furton, K. G., Kabir, A., Ali, I., Savini, F., Locatelli, M., & de Grazia, U. (2022). Novel applications of microextraction techniques focused on biological and forensic analyses. *Separations*, 9(1), 18. <https://doi.org/10.3390/separations9010018>
- Emídio, E. S., de Menezes Prata, V., De Santana, F. J. M., & Dórea, H. S. (2010). Hollow fiber-based liquid phase microextraction with factorial design optimization and gas chromatography–tandem mass spectrometry for determination of cannabinoids in human hair. *Journal of Chromatography B*, 878(24), 2175–2183. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.06.005>
- Farooq, M. Q., Abbasi, N. M., & Anderson, J. L. (2020). Deep eutectic solvents in separations: Methods of preparation, polarity, and applications in extractions and capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 1633, 461613. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461613>
- Fernández, P., González, M., Regenjo, M., Ares, A. M., Fernández, A. M., Lorenzo, R. A., & Carro, A. M. (2017). Analysis of drugs of abuse in human plasma using microextraction by packed sorbents and ultra-high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1485, 8–19. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.01.021>
- Fernández, P., Regenjo, M., Bermejo, A. M., Fernández, A. M., Lorenzo, R. A., & Carro, A. M. (2015). Analysis of drugs of abuse in human plasma by dispersive liquid–liquid microextraction and high-performance liquid chromatography. *Journal of Applied Toxicology*, 35(4), 418–425. <https://doi.org/10.1002/jat.3035>
- Fisichella, M., Odoardi, S., & Strano-Rossi, S. (2015). High-throughput dispersive liquid/liquid microextraction (DLLME) method for the rapid determination of drugs of abuse, benzodiazepines and other psychotropic medications in blood samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and application to forensic cases. *Microchemical Journal*, 123, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.05.009>
- Gałuszka, A., Migaszkowski, Z., & Namieśnik, J. (2013). The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 50, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>
- Gardner, M. A., Sampsel, S., Jenkins, W. W., & Owens, J. E. (2015). Analysis of fentanyl in urine by DLLME-GC-MS. *Journal of Analytical Toxicology*, 39(2), 118–125. <https://doi.org/10.1093/jat/bku136>
- Ghaemi, N., Madaeni, S. S., Daraei, P., Rajabi, H., Zinadini, S., Alizadeh, A., Heydari, R., Beygzadeh, M., & Ghousivand, S. (2015). Polyethersulfone membrane enhanced with iron oxide nanoparticles for copper removal from water: Application of new functionalized Fe₃O₄ nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, 263, 101–112. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.10.103>
- Godage, N. H., & Gionfriddo, E. (2020). Use of natural sorbents as alternative and green extractive materials: A critical review. *Analytica Chimica Acta*, 1125, 187–200.

- Gomez-Bolivar, J., Mikheenko, I. P., Macaskie, L. E., & Merroun, M. L. (2019). Characterization of palladium nanoparticles produced by healthy and microwave-injured cells of *Desulfovibrio desulfuricans* and *Escherichia coli*. *Nanomaterials*, 9(6), 857. <https://doi.org/10.3390/nano9060857>
- Gonçalves, A. R. P., Paredes, X., Cristino, A. F., Santos, F. J. V., & Queirós, S. G. P. (2021). Ionic liquids—A review of their toxicity to living organisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 5612. <https://doi.org/10.3390/ijms22115612>
- González-Martin, R., Lodoso-Ruiz, E., Rodríguez, M. J. T., & Pino, V. (2022). Magnetic ionic liquids in analytical microextraction: A tutorial review. *Journal of Chromatography A*, 1685, 463577. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463577>
- He, Y., & Concheiro-Guisan, M. (2019). Microextraction sample preparation techniques in forensic analytical toxicology. *Biomedical Chromatography*, 33(1), e4444. <https://doi.org/10.1002/bmc.4444>
- Hokkanen, S., Bhatnagar, A., & Sillanpää, M. (2016). A review on modification methods to cellulose-based adsorbents to improve adsorption capacity. *Water Research*, 91, 156–173. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.01.008>
- Jadhav, S. A., Garud, H. B., Patil, A. H., Patil, G. D., Patil, C. R., Dongale, T. D., & Patil, P. S. (2019). Recent advancements in silica nanoparticles based technologies for removal of dyes from water. *Colloid and Interface Science Communications*, 30, 100181. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2019.100181>
- Jain, R., & Singh, R. (2016). Applications of dispersive liquid–liquid micro-extraction in forensic toxicology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 75, 227–237. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.07.007>
- Jessop, P. G., Phan, L., Carrier, A., Robinson, S., Dürr, C. J., & Harjani, J. R. (2010). A solvent having switchable hydrophilicity. *Green Chemistry*, 12(5), 809–814. <https://doi.org/10.1039/b926885e>
- Kahl, J. M. M., da Cunha, K. F., Rodrigues, L. C., de Oliveira Chinaglia, K., Oliveira, K. D., & Costa, J. L. (2021). Quantification of amphetamine and derivatives in oral fluid by dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 196, 113928. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.113928>
- Kataoka, H., & Saito, K. (2011). Recent advances in SPME techniques in biomedical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 54(5), 926–950. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.12.010>
- Lizot, L. D. L. F., da Silva, A. C. C., Bastiani, M. F., Maurer, T. F., Hahn, R. Z., Perassolo, M. S., & Antunes, M. V., Linden, R. (2020). Simultaneous determination of cocaine and metabolites in human plasma using solid phase micro-extraction fiber tips C18 and UPLC–MS/MS. *Journal of Analytical Toxicology*, 44(1), 49–56. <https://doi.org/10.1093/jat/bkz042>
- López-Lorente, Á. I., Pena-Pereira, F., Pedersen-Bjergaard, S., Zuin, V. G., Ozkan, S. A., & Psillakis, E. (2022). The ten principles of green sample preparation. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 148, 116530. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116530>
- Madia, M. A., de Oliveira, L. O., Baccule, N. S., Sakurada, J. Y., Scanferla, D. T., Agüera, R. G., Moreira, P. P., Bando, E., Junior, M. M., Marchioni, C., & Mossini, S. A. (2022). Amphetamine, methamphetamine, and MDMA in hair samples from a rehabilitation facility: Validation and applicability of HF-LPME-GC–MS. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 119, 107212. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2022.107212>
- Madikizela, L. M., & Chimuka, L. (2016). Determination of ibuprofen, naproxen and diclofenac in aqueous samples using a multi-template molecularly imprinted polymer as selective adsorbent for solid-phase extraction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 128, 210–215. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.05.037>
- Mafra, G., Spudeit, D., Brognoli, R., Merib, J., & Carasek, E. (2018). Expanding the applicability of cork as extraction phase for disposable pipette extraction in multiresidue analysis of pharmaceuticals in urine samples. *Journal of Chromatography B*, 1102, 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.10.021>
- Mandrioli, R., Mercolini, L., Lateana, D., Boncompagni, G., & Raggi, M. A. (2011). Analysis of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in human plasma, urine and saliva by MEPS-LC-UV. *Journal of Chromatography B*, 879(2), 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.11.033>
- Marteel, A. E., Davies, J. A., Olson, W. W., & Abraham, M. A. (2003). Green chemistry and engineering: Drivers, metrics, and reduction to practice. *Annual Review of Environment and Resources*, 28, 401–428. <https://doi.org/10.1146/annurev.energy.28.011503.163459>
- Mastrogrianni, O., Theodoridis, G., Spagou, K., Violante, D., Henriques, T., Pouliopoulos, A., Psaroulis, K., Tsoukali, H., & Raikos, N. (2012). Determination of venlafaxine in post-mortem whole blood by HS-SPME and GC-NPD. *Forensic Science International*, 215(1–3), 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.05.008>
- Medina, D. A. V., Cabal, L. F. R., Lanças, F. M., & Santos-Neto, Á. J. (2019). Sample treatment platform for automated integration of micro-extraction techniques and liquid chromatography analysis. *HardwareX*, 5, e00056. <https://doi.org/10.1016/j.ohx.2019.e00056>
- Meng, L., Zhang, W., Meng, P., Zhu, B., & Zheng, K. (2015). Comparison of hollow fiber liquid-phase microextraction and ultrasound-assisted low-density solvent dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of drugs of abuse in biological samples by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 989, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.02.039>
- Mercieca, G., Odoardi, S., Cassar, M., & Rossi, S. S. (2018). Rapid and simple procedure for the determination of cathinones, amphetamine-like stimulants and other new psychoactive substances in blood and urine by GC–MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 149, 494–501. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.024>
- Mercieca, G., Odoardi, S., Mestria, S., Cassar, M., & Strano-Rossi, S. (2020). Application of ultrasound-assisted liquid–liquid microextraction coupled with gas chromatography and mass spectrometry for the rapid determination of synthetic cannabinoids and metabolites in biological samples. *Journal of Separation Science*, 43(14), 2858–2868. <https://doi.org/10.1002/jssc.202000181>
- Mohebbi, A., Farajzadeh, M. A., Nemat, M., Sarhangi, N., & Afshar Mogaddam, M. R. (2019). Development of green sodium sulfate-induced solidification of floating organic droplets–dispersive liquid phase microextraction method: Application to extraction of four antidepressants. *Biomedical Chromatography*, 33(11), e4642. <https://doi.org/10.1002/bmc.4642>

- Mohebbi, A., Yari pour, S., Farajzadeh, M. A., & Afshar Mogaddam, M. R. (2018). Combination of dispersive solid phase extraction and deep eutectic solvent-based air-assisted liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry as an efficient analytical method for the quantification of some tricyclic antidepressant drugs in biological fluids. *Journal of Chromatography A*, 1571, 84–93. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.08.022>
- Moller, M., Aleksa, K., Walasek, P., Karaskov, T., & Koren, G. (2010). Solid-phase microextraction for the detection of codeine, morphine and 6-monoacetylmorphine in human hair by gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Science International*, 196(1–3), 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.12.046>
- Montesano, C., Simeoni, M. C., Curini, R., Sergi, M., Lo Sterzo, C., & Compagnone, D. (2015). Determination of illicit drugs and metabolites in oral fluid by microextraction on packed sorbent coupled with LC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407, 3647–3658. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8583-8>
- Morés, L., Borges, G. R., Kitamura, R. O. S., Eller, S., de Oliveira, T. F., Carasek, E., & Merib, J. (2021). Assessment of a natural extraction phase in disposable pipette extraction coupled with the sub-minute determination of 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in human urine by fast-GC-FID. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 20, 100390. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.05.045>
- Murakami, T., Iwamuro, Y., Ishimaru, R., Chinaka, S., & Hasegawa, H. (2018). Molecularly imprinted polymer solid-phase extraction of synthetic cathinones from urine and whole blood samples. *Journal of Separation Science*, 41(24), 4506–4514. <https://doi.org/10.1002/jssc.201800874>
- Namieśnik, J. (2001). Green analytical chemistry—some remarks. *Journal of Separation Science*, 24(2), 151–153. [https://doi.org/10.1002/1615-9314\(20010201\)24:2<151::AID-JSSC151>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1615-9314(20010201)24:2<151::AID-JSSC151>3.0.CO;2-4)
- Odoardi, S., Fischella, M., Romolo, F. S., & Strano-Rossi, S. (2015). High-throughput screening for new psychoactive substances (NPS) in whole blood by DLLME extraction and UHPLC-MS/MS analysis. *Journal of Chromatography B*, 1000, 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.07.007>
- Oenning, A. L., Birk, L., Eller, S., de Oliveira, T. F., Merib, J., & Carasek, E. (2020). A green and low-cost method employing switchable hydrophilicity solvent for the simultaneous determination of antidepressants in human urine by gas chromatography-mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography B*, 1143, 122069. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122069>
- Pacheco-Fernández, I., Allgaier-Díaz, D. W., Mastellone, G., Cagliero, C., Díaz, D. D., & Pino, V. (2020). Biopolymers in sorbent-based microextraction methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 125, 115839.
- Pego, A. M. F., Roveri, F. L., Kuninari, R. Y., Leyton, V., Mizziara, I. D., & Yonamine, M. (2017). Determination of cocaine and its derivatives in hair samples by liquid phase microextraction (LPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Forensic Science International*, 274, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.12.024>
- Prata, M., Ribeiro, A., Figueirinha, D., Rosado, T., Oppolzer, D., Restolho, J., Araújo, A. R. T. S., Costa, S., Barroso, M., & Gallardo, E. (2019). Determination of opiates in whole blood using microextraction by packed sorbent and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1602, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.05.021>
- Rosado, T., Fernandes, L., Barroso, M., & Gallardo, E. (2017). Sensitive determination of THC and main metabolites in human plasma by means of microextraction in packed sorbent and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 1043, 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.09.007>
- Rosendo, L. M., Rosado, T., Oliveira, P., Simão, A. Y., Margalho, C., Costa, S., Passarinho, L. A., Barroso, M., & Gallardo, E. (2022). The determination of cannabinoids in urine samples using microextraction by packed sorbent and gas chromatography-mass spectrometry. *Molecules*, 27(17), 5503. <https://doi.org/10.3390/molecules27175503>
- Rubio, S. (2020). Twenty years of supramolecular solvents in sample preparation for chromatography: Achievements and challenges ahead. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412, 6037–6058. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02559-y>
- Said, R., Pohanka, A., Andersson, M., Beck, O., & Abdel-Rehim, M. (2011). Determination of remifentanyl in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry utilizing micro extraction in packed syringe (MEPS) as sample preparation. *Journal of Chromatography B*, 879(11–12), 815–818. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.02.002>
- Saito, T., Namera, A., Osawa, M., Aoki, H., & Inokuchi, S. (2013). SPME-GC-MS analysis of α -pyrrolidinovaleorophenone in blood in a fatal poisoning case. *Forensic Toxicology*, 31(2), 328–332. <https://doi.org/10.1007/s11419-013-0183-8>
- Sajid, M., & Plotka-Wasyłka, J. (2022). Green analytical chemistry metrics: A review. *Talanta*, 238(2), 123046. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.123046>
- Sánchez-González, J., Odoardi, S., Bermejo, A. M., Bermejo-Barrera, P., Romolo, F. S., Moreda-Piñeiro, A., & Strano-Rossi, S. (2018). Development of a micro-solid-phase extraction molecularly imprinted polymer technique for synthetic cannabinoids assessment in urine followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1550, 8–20. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.03.049>
- Sánchez-González, J., Salgueiro-Fernández, R., Cabarcos, P., Bermejo, A. M., Bermejo-Barrera, P., & Moreda-Piñeiro, A. (2017). Cannabinoids assessment in plasma and urine by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry after molecularly imprinted polymer microsolid-phase extraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(5), 1207–1220. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-0046-3>
- Schaefer, V. D., Lizot, L. D. L. F., Hahn, R. Z., Schneider, A., Antunes, M. V., & Linden, R. (2021). Simple determination of valproic acid serum concentrations using BioSPME followed by gas chromatography-mass spectrometric analysis. *Journal of Chromatography B*, 1167, 122574. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122574>
- Scheid, C., Eller, S., Oenning, A. L., Carasek, E., Merib, J., & de Oliveira, T. F. (2022). Application of homogeneous liquid-liquid microextraction with switchable hydrophilicity solvents to the determination of MDMA, MDA and NBOMes in postmortem blood samples. *Journal of Analytical Toxicology*, 46(7), 776–782. <https://doi.org/10.1093/jat/bkab100>

- Shahvandi, S. K., Banitaba, M. H., & Ahmar, H. (2018). Development of a new pH assisted homogeneous liquid–liquid microextraction by a solvent with switchable hydrophilicity: Application for GC–MS determination of methamphetamine. *Talanta*, 184, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.02.115>
- Silva, C., Cavaco, C., Perestrelo, R., Pereira, J., & Câmara, J. S. (2014). Microextraction by packed sorbent (MEPS) and solid-phase microextraction (SPME) as sample preparation procedures for the metabolomic profiling of urine. *Metabolites*, 4(1), 71–97. <https://doi.org/10.3390/metabo4010071>
- Sorribes-Soriano, A., Esteve-Turrillas, F. A., Armenta, S., Amorós, P., & Herrero-Martínez, J. M. (2019). Amphetamine-type stimulants analysis in oral fluid based on molecularly imprinting extraction. *Analytica Chimica Acta*, 1052, 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.11.046>
- Sorribes-Soriano, A., Esteve-Turrillas, F. A., Armenta, S., de la Guardia, M., & Herrero-Martínez, J. M. (2017). Cocaine abuse determination by ion mobility spectrometry using molecular imprinting. *Journal of Chromatography A*, 1481, 23–30.
- Sorribes-Soriano, A., Verdeguer, J., Pastor, A., Armenta, S., & Esteve-Turrillas, F. A. (2021). Determination of third-generation synthetic cannabinoids in oral fluids. *Journal of Analytical Toxicology*, 45(4), 331–336.
- Spietelun, A., Marcinkowski, Ł., de la Guardia, M., & Namieśnik, J. (2013). Recent developments and future trends in solid phase microextraction techniques towards green analytical chemistry. *Journal of Chromatography A*, 1321, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.10.030>
- Spietelun, A., Marcinkowski, Ł., de la Guardia, M., & Namieśnik, J. (2014). Green aspects, developments and perspectives of liquid phase microextraction techniques. *Talanta*, 119, 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.10.050>
- Taghvi, A., & Hamishehkar, H. (2017). Carbon coated magnetic nanoparticles as a novel magnetic solid phase extraction adsorbent for simultaneous extraction of methamphetamine and ephedrine from urine samples. *Journal of Chromatography B*, 1041, 113–119.
- Thibert, V., Legeay, P., Chapuis-Hugon, F., & Pichon, V. (2012). Synthesis and characterization of molecularly imprinted polymers for the selective extraction of cocaine and its metabolite benzoylecgonine from hair extract before LC–MS analysis. *Talanta*, 88, 412–419. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.11.009>
- Tobiszewski, M. (2019). Analytical chemistry with biosolvents. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411, 4359–4364. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-01732-2>
- Vanderveen, J. R., Geng, J., Zhang, S., & Jessop, P. G. (2018). Diamines as switchable-hydrophilicity solvents with improved phase behaviour. *RSC Advances*, 8, 27318–27325. <https://doi.org/10.1039/C8RA05751F>
- Venson, R., Korb, A. S., & Cooper, G. (2019). A review of the application of hollow-fiber liquid-phase microextraction in bioanalytical methods—A systematic approach with focus on forensic toxicology. *Journal of Chromatography B*, 1108, 32–53. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.01.006>
- Wang, L., & Pumera, M. (2021). Recent advances of 3D printing in analytical chemistry: Focus on microfluidic, separation, and extraction devices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 135, 116151. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116151>
- Weldegebriael, G. K. (2020). Synthesis method, antibacterial and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles for azo dyes in wastewater treatment: A review. *Inorganic Chemistry Communications*, 120, 108140. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2020.108140>
- Woźniakiewicz, M., Wietecha-Postuszny, R., Moos, A., Wiczorek, M., Knihnicki, P., & Kościelniak, P. (2014). Development of microextraction by packed sorbent for toxicological analysis of tricyclic antidepressant drugs in human oral fluid. *Journal of Chromatography A*, 1337, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.02.037>
- Xiong, C., Ruan, J., Cai, Y., & Tang, Y. (2009). Extraction and determination of some psychotropic drugs in urine samples using dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 49(2), 572–578. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2008.11.036>
- Yang, F., Ma, K., Cao, Y., & Ni, C. (2021). Improved liquid–liquid extraction by modified magnetic nanoparticles for the detection of eight drugs in human blood by HPLC–MS. *RSC Advances*, 11(32), 19874–19884. <https://doi.org/10.1039/d1ra01530c>
- Yew, Y. P., Shameli, K., Miyake, M., Kuwano, N., Bt Ahmad Khairudin, N. B., Bt Mohamad, S. E., & Lee, K. X. (2016). Green synthesis of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles using seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) extract. *Nanoscale Research Letters*, 11(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1498-2>
- Zare, F., Ghaedi, M., & Daneshfar, A. (2015). Solid phase extraction of antidepressant drugs amitriptyline and nortriptyline from plasma samples using core-shell nanoparticles of the type Fe₃O₄@ZrO₂@N-cetylpyridinium, and their subsequent determination by HPLC with UV detection. *Microchimica Acta*, 182, 1893–1902.
- Zgola-Grześkowiak, A., & Grześkowiak, T. (2011). Dispersive liquid–liquid microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(9), 1382–1399. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.04.014>

How to cite this article: Birk, L., dos Santos, B. P., Schwarz, P. S., Eller, S., & de Oliveira, T. F. (2023). Green chemistry: Developments and perspectives for sample treatment in forensic methodologies. *WIREs Forensic Science*, e1497. <https://doi.org/10.1002/wfs2.1497>

3.2 Artigo II

O manuscrito *A novel method for the determination of synthetic cathinones and related substances in postmortem blood samples using cork-based dispersive solid-phase microextraction prior to LC-MS/MS analysis* descreve uma nova metodologia para a análise de catinonas sintéticas e outras drogas sintéticas em sangue total. O protocolo empregado é baseado em DSPME, utilizando o pó de cortiça como sorvente. O método apresentado foi otimizado através de técnicas multivariadas e posteriormente validado de acordo com guias internacionais, para garantir sua confiabilidade. O presente método foi aplicado a amostras de casos *post mortem*, advindas do Departamento de Perícias Laboratoriais do Instituto Geral de Perícias do Rio Grande do Sul, que eram suspeitas de intoxicação por drogas sintéticas e NSPs. O artigo está publicado na revista *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (ISSN Eletrônico 1618-2650, fator de impacto 3.8, 2024), no ano de 2025, e pode ser acessado pelo seguinte link: <https://doi.org/10.1007/s00216-025-05907-y>. O artigo completo não pôde compor o corpo da tese por conta de direitos autorais da revista, visto que foi publicado somente para assinantes da mesma.

3.3 Artigo III

O manuscrito *Brewer's spent grain as a potential sorbent for toxicology methods: Application to antidepressant analysis in urine* descreve uma nova metodologia para a determinação de antidepressivos em amostras de urina. Esta metodologia é baseada na técnica de DSPME, e tem como sorvente utilizado, o BSG, que é um material de fonte renovável, de fácil acesso e baixo custo, características alinham esta nova metodologia com os princípios da GAC. O método desenvolvido foi devidamente otimizado utilizando técnicas multivariadas e validado seguindo guia internacional de validação para análise de substâncias em matrizes biológicas, a fim de garantir a sua confiabilidade. Posteriormente, o método foi aplicado em amostras de casos de intoxicação atendidos pelo CIT-RS. O artigo está publicado na revista *Journal of Pharmaceutical and Bioanalytical Analysis* (ISSN Eletrônico 1873-264X, fator de impacto 3.1, 2024) no Volume 254, número 116564, no ano de 2025, e pode ser acessado pelo seguinte link: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2024.116564>. O artigo completo não pôde compor o corpo da tese por conta de direitos autorais da revista, visto que foi publicado somente para assinantes da mesma.

3.4 Artigo IV

O manuscrito *Evaluation of batch-to-batch variability of Brewer's Spent Grain sorbent for the determination of antidepressants in urine* descreve a avaliação da possível variabilidade de resposta de diversos lotes de BSG provenientes de diferentes origens. No artigo, oito lotes foram avaliados em uma técnica de DSPME para a análise de antidepressivos em urina. A resposta de cada um dos lotes foi comparada para cada analito dentro da mesma amostra. As amostras de urina utilizadas foram provenientes de casos de intoxicação do CIT-RS. Além disso, uma análise de custo do material BSG foi realizada e comparada com os principais sorventes comerciais. O artigo está em revisão para submissão na forma de *Short communication* à revista *Journal of Pharmaceutical and Bioanalytical Analysis* (ISSN Eletrônico 1873-264X, fator de impacto 3.1, 2024) não podendo ser aqui publicado considerando a potencialidade de publicação.

3.5 Artigo V

O manuscrito *Long-term stability of (9R)-hexahydrocannabinol and (9S)-hexahydrocannabinol in oral fluid* descreve uma metodologia para a determinação dos isômeros do HHC, 9R-HHC e 9S-HHC em amostras de fluido oral. O método é baseado na extração por QuEChERS e determinação por GC-MS e foi devidamente validado seguindo guia internacional de validação para análise de substâncias em matrizes biológicas, a fim de garantir a sua confiabilidade. Adicionalmente, foi realizada a investigação da estabilidade estendida (90 dias) dos isômeros 9R-HHC e 9S-HHC nas amostras de fluido oral em quatro condições de temperatura (-80°C, -20°C, 4°C e 20°C). A estabilidade dos isômeros 9R-HHC e 9S-HHC também foi avaliada em soluções de acetonitrila e metanol, em duas condições de temperatura (-20°C e 4°C). O artigo está em revisão para submissão à revista *Journal of Analytical Toxicology* (ISSN Eletrônico 1945-2403, fator de impacto 2.6, 2024), não podendo ser aqui publicado considerando a potencialidade de publicação.

4 CONCLUSÃO

Em quase 20 anos desde que o conceito da GAC foi estabelecido, foi observado um significativo progresso no desenvolvimento de estratégias que aplicam seus princípios nas técnicas analíticas. Entre estas, há um particular enfoque no desenvolvimento de técnicas de preparo de amostra verdes e na substituição dos reagentes clássicos por materiais alternativos e inteligentes. No entanto, apesar deste progresso, o conceito da GAC ainda é pouco explorado na área das análises toxicológicas, com poucas aplicações sendo encontradas para amostras biológicas e analitos de interesse toxicológico quando em comparação a outras áreas da química analítica.

Neste trabalho, a técnica de DSPME foi aplicada de forma eficiente para a extração de drogas de abuso sintéticas e NSPs em sangue total utilizando cortiça como sorvente, e para a extração de antidepressivos em urina utilizando o BSG como sorventes. Tanto a cortiça como o BSG são resíduos que iriam para descarte e foram reaproveitados nestas técnicas analíticas, o que caracteriza um caráter sustentável, além de conferir um baixo custo ao processo. De acordo com a literatura disponível, este foi o primeiro trabalho que aplicou o biosorvente cortiça para preparo de amostras de sangue, assim como também foi o primeiro trabalho a aplicar o BSG como sorvente em DSPME para as análises toxicológicas.

Também se aplicou eficientemente a técnica de QuEChERS para a extração de isômeros do canabinoide sintético HHC em amostras de fluido oral. A estabilidade do 9R-HHC e 9S-HHC foi investigada, sendo o primeiro estudo que faz essa avaliação para estes analitos em amostras de fluido oral. Tanto a DSPME quanto o QuEChERS são técnicas de preparo de amostra simples, que podem ser executadas sem investimentos em equipamentos e dispositivos específicos, sendo acessíveis para laboratórios que não possuem grande aporte financeiro.

É importante ressaltar que as técnicas aqui discutidas são alternativas simples, baratas e sustentáveis às técnicas clássicas de preparo de amostras, sem o ônus da eficiência, visto que atingiram a sensibilidade e especificidade necessárias para o escopo das análises. Além disso, as técnicas foram aplicadas a amostras de casos reais de suspeita de intoxicação, o que demonstra sua aplicabilidade na rotina laboratorial. Dessa maneira, espera-se que os dados descritos neste trabalho auxiliem na expansão das aplicações da GAC às análises toxicológicas e na disseminação da necessidade do desenvolvimento de métodos sustentáveis que beneficiem tanto a população, quanto o meio-ambiente.

5 REFERÊNCIAS

ADAMOWICZ, Piotr. Blood concentrations of synthetic cathinones. **Clinical Toxicology**, v. 59, n. 7, p. 648-654, 2021.

ADAMOWICZ, Piotr. Blood concentrations of synthetic cannabinoids. **Clinical toxicology**, v. 59, n. 3, p. 246-251, 2021.

ADAWAY, Joanne E.; KEEVIL, Brian G.; OWEN, Laura J. Liquid chromatography tandem mass spectrometry in the clinical laboratory. **Annals of clinical biochemistry**, v. 52, n. 1, p. 18-38, 2015.

ALBANO, Giuseppe Davide *et al.* Toxicological findings of self-poisoning suicidal deaths: a systematic review by countries. **Toxics**, v. 10, n. 11, p. 654, 2022.

ALLEGRETTI, Chiara *et al.* Towards a complete exploitation of brewers' spent grain from a circular economy perspective. **Fermentation**, v. 8, n. 4, p. 151, 2022.

ALSHARIF, Ali Mohamed Ali *et al.* Efficiency of hollow fiber liquid-phase microextraction chromatography methods in the separation of organic compounds: a review. **Journal of chromatographic science**, v. 55, n. 3, p. 378-391, 2017.

ALVES, Vera L. *et al.* The synthetic cannabinoids phenomenon: from structure to toxicological properties. A review. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 359-382, 2020.

ALZU'BI, Ayman *et al.* The synthetic cannabinoids menace: a review of health risks and toxicity. **European Journal of Medical Research**, v. 29, n. 1, p. 49, 2024.

AMBROZIAK, Katarzyna; ADAMOWICZ, Piotr. Simple screening procedure for 72 synthetic cannabinoids in whole blood by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Forensic toxicology**, v. 36, p. 280-290, 2018.

ANASTASSIADES, Michelangelo *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC international**, v. 86, n. 2, p. 412-431, 2003.

ANZILLOTTI, Luca; ODOARDI, Sara; STRANO-ROSSI, Sabina. Cleaning up blood samples using a modified “QuEChERS” procedure for the determination of drugs of abuse and benzodiazepines by UPLC–MSMS. **Forensic Science International**, v. 243, p. 99-106, 2014.

ARMENTA, Sergio; GARRIGUES, Salvador; DE LA GUARDIA, Miguel. Green analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 6, p. 497-511, 2008.

ARMENTA, Sergio *et al.* Green extraction techniques in green analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 116, p. 248-253, 2019.

ARMENTA, Sergio *et al.* Smart materials for sample preparation in bioanalysis: A green overview. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 21, p. 100411, 2021.

AROSO, Ivo M. *et al.* Cork: current technological developments and future perspectives for this natural, renewable, and sustainable material. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 12, p. 11130-11146, 2017.

AZAB, Sonya MS *et al.* Epidemiology of acute poisoning in children presenting to the poisoning treatment center at Ain Shams University in Cairo, Egypt, 2009–2013. **Clinical toxicology**, v. 54, n. 1, p. 20-26, 2016.

BACHMANN, Suyanne Angie Lunelli; CALVETE, Tatiana; FÉRIS, Liliana Amaral. Potential applications of brewery spent grain: Critical an overview. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 1, p. 106951, 2022.

BACHMANN, Suyanne Angie Lunelli *et al.* Low-cost adsorbents prepared from brewer's spent grain for pollutants removal. **Emergent Materials**, v. 6, n. 2, p. 741-753, 2023.

BACHMANN, Suyanne Angie Lunelli *et al.* Caffeine removal using brewery's spent grain modified with H₃PO₄: experimental observation and statistical analysis. **Discover Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 11, 2024.

BADAWY, Mohamed EI *et al.* A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. **Analytical Sciences**, v. 38, n. 12, p. 1457-1487, 2022.

BAGGOTT, Matthew J. *et al.* Effects of the psychedelic amphetamine MDA (3, 4-methylenedioxyamphetamine) in healthy volunteers. **Journal of Psychoactive Drugs**, v. 51, n. 2, p. 108-117, 2019.

BASHARAT, Rabia *et al.* Ultra Performance Liquid Chromatography (Mini-Review). **Oriental Journal of Chemistry**, v. 37, n. 4, 2021.

BERGEN, Helen *et al.* A comparative study of non-fatal self-poisoning with antidepressants relative to prescribing in three centres in England. **Journal of affective disorders**, v. 123, n. 1-3, p. 95-101, 2010.

BI, Mengxin *et al.* Natural fibers as sustainable and renewable materials for green sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 180, p. 117894, 2024.

BIRK, Letícia *et al.* Determinations of new psychoactive substances in biological matrices with focus on microextraction techniques: a review of fundamentals and state-of-the-art extraction methods. **Forensic Toxicology**, v. 39, n. 2, p. 350-367, 2021.

BIRK, Letícia *et al.* Green chemistry: Developments and perspectives for sample treatment in forensic methodologies. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Forensic Science**, v. 5, n. 6, p. e1497, 2023.

BIRK, Leticia *et al.* Detection and quantitation of the semi-synthetic cannabinoid hexahydrocannabinol in seized samples from Scottish prisons. **Forensic Chemistry**, v. 42, p. 100640, 2025.

BOTTINELLI, Charline *et al.* Identification and quantification of both isomers of hexahydrocannabinol, (9 R)-hexahydrocannabinol and (9 S)-hexahydrocannabinol, in three different matrices by mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 38, n. 7, p. e9711, 2024.

BRASIL. Ministério da Justiça e Segurança Pública. Polícia Federal. Diretoria Técnico Científica Instituto Nacional de Criminalística. **Relatório 2023 - Drogas Sintéticas**. Brasília, 2024. Disponível em: https://www.gov.br/pf/pt-br/acao-a-informacao/estatisticas/diretoria-tecnico-cientifica-ditec/relatorio-de-quimica-forense-2023/drogas_sinteticas_2023_versao_finalassinadoassinado.pdf. Acesso em: 19 de abr. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998**. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Brasília, 1998. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1998/prt0344_12_05_1998_rep.html Acesso em: 4 de dez. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. **III Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira (LNUD)**, 2017. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/34614>. Acesso em: 11 de nov. 2024.

BRASIL. Presidência da República. Casa Civil. Subchefia para Assuntos Jurídicos. **Lei 12.760, de 20 de dezembro de 2012**. Altera a Lei nº 9.503, de 23 de setembro de 1997, que institui o Código de Trânsito Brasileiro. Brasília, 2012. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2012/lei/112760.htm. Acesso em: 5 de abr. 2025

BRENT, David A. Antidepressants and suicidality. **Psychiatric Clinics**, v. 39, n. 3, p. 503-512, 2016.

BRODY, Debra J.; GU, Qiuping. Antidepressant use among adults: United States, 2015-2018. **NCHS Data Brief**, n. 377, 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/nchs/data/databriefs/db377-H.pdf>. Acesso em 25 de abr. 2025.

CÂMARA, José S. *et al.* Green extraction techniques as advanced sample preparation approaches in biological, food, and environmental matrices: a review. **Molecules**, v. 27, n. 9, p. 2953, 2022.

CANCELLIERE, Rocco *et al.* Biochar from brewers' spent grain: A green and low-cost smart material to modify screen-printed electrodes. **Biosensors**, v. 9, n. 4, p. 139, 2019.

CARASEK, Eduardo *et al.* Recent Trends in the Development of Green Analytical Sample Preparation Methods Using Advanced Materials. **Journal of Separation Science**, v. 48, n. 5, p. e70177, 2025.

CARRIÇO, Catarina; RIBEIRO, H. M.; MARTO, Joana. Converting cork by-products to ecofriendly cork bioactive ingredients: Novel pharmaceutical and cosmetics applications. **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 72-84, 2018.

CASTAÑEDA, Federico N. *et al.* New sorbents for sample pretreatment: Development and applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 180, p. 117924, 2024.

CASTRO, Luiz Eduardo Nochi; COLPINI, Leda Maria Saragiotto. All-around characterization of brewers' spent grain. **European Food Research and Technology**, v. 247, n. 12, p. 3013-3021, 2021.

CHANUT, Julie *et al.* Surface properties of cork: Is cork a hydrophobic material?. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 608, p. 416-423, 2022.

CHANZU, Harry Amuguni; ONYARI, John Mmari; SHIUNDU, Paul Mwanza. Brewers' spent grain in adsorption of aqueous Congo Red and malachite Green dyes: Batch and continuous flow systems. **Journal of hazardous materials**, v. 380, p. 120897, 2019.

CHEN, Shanshan; ZHOU, Wenhua; LAI, Miaojun. Synthetic cathinones: epidemiology, toxicity, potential for abuse, and current public health perspective. **Brain sciences**, v. 14, n. 4, p. 334, 2024.

CHISVERT, Alberto; CÁRDENAS, Soledad; LUCENA, Rafael. Dispersive micro-solid phase extraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 112, p. 226-233, 2019

COHIER, Camille; MÉGARBANE, Bruno; ROUSSEL, Olivier. Illicit drugs in oral fluid: Evaluation of two collection devices. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 41, n. 1, p. 71-76, 2017.

COSTA, Ricardo *et al.* Chemical characterization of cork, phloem and wood from different *Quercus suber* provenances and trees. **Heliyon**, v. 5, n. 12, 2019.

COSTA, Fabíola Melazo Amorim Silva *et al.* Use of brewery spent grains as a biosorbent for reactive blue 5G dye removal: batch and continuous flow studies. **Chemical Engineering Communications**, v. 210, n. 2, p. 147-164, 2023.

COUPLAND, Carol *et al.* Antidepressant use and risk of suicide and attempted suicide or self harm in people aged 20 to 64: cohort study using a primary care database. **BMJ**, v. 350, 2015.

COWANS, Claire *et al.* Uncovering the hidden burden of pharmaceutical poisoning in high-income and low-middle-income countries: A scoping review. **Pharmacy**, v. 11, n. 6, p. 184, 2023.

DARKE, Shane *et al.* Characteristics and circumstances of synthetic cannabinoid-related death. **Clinical toxicology**, v. 58, n. 5, p. 368-374, 2020.

DA SILVA, Cristiane Pires *et al.* Simple extraction of toxicologically relevant psychotropic compounds and metabolites from whole blood using mini-QuEChERS followed by UPLC–MS/MS analysis. **Biomedical Chromatography**, v. 35, n. 9, p. e5142, 2021.

DAZIANI, Gloria *et al.* Synthetic cathinones and neurotoxicity risks: a systematic review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 7, p. 6230, 2023.

DE AGUIAR, Terencio R. *et al.* Study of two cork species as natural biosorbents for five selected pesticides in water. **Heliyon**, v. 5, n. 1, p. e01189, 2019.

DE ARAÚJO, Thiago Peixoto *et al.* Biosorption mechanisms of cationic and anionic dyes in a low-cost residue from brewer's spent grain. **Environmental technology**, v. 42, n. 19, p. 2925-2940, 2021.

DE CAMPOS, Eduardo Geraldo *et al.* Alternative matrices in forensic toxicology: A critical review. **Forensic Toxicology**, v. 40, n. 1, p. 1-18, 2022.

DE OLIVEIRA, Mariana Campello *et al.* Toxicity of synthetic cannabinoids in K2/Spice: A systematic review. **Brain sciences**, v. 13, n. 7, p. 990, 2023.

DESROSIERS, Nathalie A.; HUESTIS, Marilyn A. Oral fluid drug testing: analytical approaches, issues and interpretation of results. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 43, n. 6, p. 415-443, 2019.

DIAS, Adriana Neves *et al.* Use of green coating (cork) in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in water by gas chromatography-electron capture detection. **Talanta**, v. 134, p. 409-414, 2015.

DINIS-OLIVEIRA, Ricardo Jorge; VIEIRA, Duarte Nuno; MAGALHÃES, Teresa. Guidelines for collection of biological samples for clinical and forensic toxicological analysis. **Forensic sciences research**, v. 1, n. 1, p. 42-51, 2016.

DOMINGUES, V. *et al.* Sorption behaviour of bifenthrin on cork. **Journal of Chromatography A**, v. 1069, n. 1, p. 127-132, 2005.

DOS SANTOS, Bruno Pereira *et al.* A comprehensive analysis of legislative strategies for new psychoactive substances: The Brazilian panorama. **Psychoactives**, v. 2, n. 3, p. 242-255, 2023.

DUARTE, Ana Paula; BORDADO, João Carlos. Cork—a renewable raw material: forecast of industrial potential and development priorities. **Frontiers in Materials**, v. 2, p. 2, 2015.

DYBOWSKI, Michal P.; DAWIDOWICZ, Andrzej L. Application of the QuEChERS procedure for analysis of Δ 9-tetrahydrocannabinol and its metabolites in authentic whole blood samples by GC–MS/MS. **Forensic toxicology**, v. 36, p. 415-423, 2018.

EL-MALLAKH, Rif S.; HALPERN, John H.; ABRAHAM, Henry David. Substance Abuse: Hallucinogen-and MDMA-Related Disorders. In: TASMAN *et al.* **Psychiatry**, John Wiley & Sons, 2015. p. 1480-1506.

EMMANUEL, Jovine K.; NGANYIRA, Philimon D.; SHAO, Godlisten N. Evaluating the potential applications of brewers' spent grain in biogas generation, food and biotechnology industry: A review. **Heliyon**, v. 8, n. 10, 2022.

ESTEVE-TURRILLAS, Francesc A.; GARRIGUES, Salvador; DE LA GUARDIA, Miguel. Green extraction techniques in green analytical chemistry: A 2019–2023 up-date. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 170, p. 117464, 2024.

FABRIS, André Luis; YONAMINE, Mauricio. Dried matrix spots in forensic toxicology. **Bioanalysis**, v. 13, n. 18, p. 1441-1458, 2021.

FARRAR, Andrew M. *et al.* Ecstasy, molly, MDMA: What health practitioners need to know about this common recreational drug. **Disease-a-Month**, v. 71, n. 3, p. 101851, 2025.

FILIPE-RIBEIRO, Luís; COSME, Fernanda; NUNES, Fernando M. A simple method to improve cork powder waste adsorption properties: Valorization as a new sustainable wine fining agent. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 7, n. 1, p. 1105-1112, 2018.

FOMINA, Marina; GADD, Geoffrey Michael. Biosorption: current perspectives on concept, definition and application. **Bioresource technology**, v. 160, p. 3-14, 2014.

GAŁUSZKA, Agnieszka; MIGASZEWSKI, Zdzisław; NAMIEŚNIK, Jacek. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78-84, 2013.

GHORBANI, Mahdi *et al.* Dispersive solid phase microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 793-809, 2019.

GHORBANI, Mahdi *et al.* Trends in sorbent development for dispersive micro-solid phase extraction. **Microchemical Journal**, v. 158, p. 105250, 2020.

GILLMAN, P. K. Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. **British journal of pharmacology**, v. 151, n. 6, p. 737-748, 2007.

GLAUSER, Jonathan. Tricyclic antidepressant poisoning. **Cleveland Clinic journal of medicine**, v. 67, n. 10, p. 704-719, 2000.

GODAGE, Nipunika H.; GIONFRIDDO, Emanuela. Use of natural sorbents as alternative and green extractive materials: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1125, p. 187-200, 2020.

GONZÁLEZ-CURBELO, M. Á. *et al.* Evolution and applications of the QuEChERS method. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 169-185, 2015.

GONZÁLEZ-LÓPEZ, M. C. *et al.* Trends in the dispensation of antidepressant drugs over the past decade (2000–2010) in Andalusia, Spain. **Social psychiatry and psychiatric epidemiology**, v. 50, p. 705-712, 2015.

HARMER, Catherine J.; DUMAN, Ronald S.; COWEN, Philip J. How do antidepressants work? New perspectives for refining future treatment approaches. **The Lancet Psychiatry**, v. 4, n. 5, p. 409-418, 2017.

HARTMAN, Rebecca L. *et al.* 3, 4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and metabolites disposition in blood and plasma following controlled oral administration. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 406, p. 587-599, 2014.

HAWTON, Keith *et al.* Toxicity of antidepressants: rates of suicide relative to prescribing and non-fatal overdose. **The British Journal of Psychiatry**, v. 196, n. 5, p. 354-358, 2010.

HE, Yi; CONCEIRO-GUISAN, Marta. Microextraction sample preparation techniques in forensic analytical toxicology. **Biomedical Chromatography**, v. 33, n. 1, p. e4444, 2019.

HILLHOUSE, Todd M.; PORTER, Joseph H. A brief history of the development of antidepressant drugs: from monoamines to glutamate. **Experimental and clinical psychopharmacology**, v. 23, n. 1, p. 1, 2015.

HITES, Ronald A. Development of gas chromatographic mass spectrometry. **Analytical chemistry**, v. 88, n. 14, p. 6955-6961, 2016.

HÖFERT, Lisa *et al.* Quantification of (9R)- and (9S)-hexahydrocannabinol (HHC) via GC–MS in serum/plasma samples from drivers suspected of cannabis consumption and immunological detection of HHC and related substances in serum, urine, and saliva. **Drug testing and analysis**, v. 16, n. 5, p. 489-497, 2024.

HUNDERTMARK, Marica *et al.* Characterising a New Cannabis Trend: Extensive Analysis of Semi-Synthetic Cannabinoid-Containing Seizures From Germany. **Drug Testing and Analysis**, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1002/dta.3886>

IKRAM, Sana *et al.* Composition and nutrient value proposition of brewers spent grain. **Journal of food science**, v. 82, n. 10, p. 2232-2242, 2017.

IZINYON, O. C. *et al.* Performance evaluation of Fe (III) adsorption onto brewers' spent grain. **Nigerian Journal of Technology**, v. 35, n. 4, p. 970-978, 2016.

JAGIRANI, Muhammad Saqaf; SOYLAK, Mustafa. Green sorbents for the solid phase extraction of trace species. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 47, p. 100899, 2024.

JANSSENS, Liesl K. *et al.* Investigation of the intrinsic cannabinoid activity of hemp-derived and semisynthetic cannabinoids with β -arrestin2 recruitment assays—and how this matters for the harm potential of seized drugs. **Archives of Toxicology**, v. 98, n. 8, p. 2619-2630, 2024.

JONES, Sabra *et al.* An overview of sample preparation in forensic toxicology. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Forensic Science**, v. 4, n. 2, p. e1436, 2022.

KEZERLE, Antonija *et al.* Lignocellulosic materials as dye adsorbents: adsorption of methylene blue and Congo red on brewers' spent grain. **Croatica Chemica Acta**, v. 91, n. 1, p. 53-64, 2018.

KIM, Junhee *et al.* Analysis of nicotine metabolites in hair and nails using QuEChERS method followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Molecules**, v. 25, n. 8, p. 1763, 2020.

KING, Aidan; THANACODY, Ruben. Poisoning by antidepressants and antipsychotics. **Medicine**, v. 52, n. 6. p. 369-371, 2024.

KOKOSA, John M.; PRZYJAZNY, Andrzej. Green microextraction methodologies for sample preparations. **Green Analytical Chemistry**, v. 3, p. 100023, 2022.

KROTULSKI, Alex J. *et al.* The detection of novel stimulants in oral fluid from users reporting ecstasy, Molly and MDMA ingestion. **Journal of analytical toxicology**, v. 42, n. 8, p. 544-553, 2018.

KUROPKA, Patryk; ZAWADZKI, Marcin; SZPOT, Paweł. A review of synthetic cathinones emerging in recent years (2019–2022). **Forensic toxicology**, v. 41, n. 1, p. 25-46, 2023.

KYLE, P. B. Toxicology: GC-MS. In: NAIR, Hari; CLARKE, William. **Mass spectrometry for the clinical laboratory**. Academic Press, 2017. p. 131-163.

LA MAIDA, Nunzia *et al.* A review of synthetic cathinone-related fatalities from 2017 to 2020. **Therapeutic drug monitoring**, v. 43, n. 1, p. 52-68, 2021.

LAMBERT, Olivier; BOURIN, Michel. SNRIs: mechanism of action and clinical features. **Expert review of neurotherapeutics**, v. 2, n. 6, p. 849-858, 2002.

LEE, Sangeun *et al.* Simultaneous analysis of 203 drugs of abuse and metabolites in urine samples using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 1256, p. 124524, 2025.

LESZCZYŃSKA, Dagmara *et al.* Recent advances in the use of SPME for drug analysis in clinical, toxicological, and forensic medicine studies. **Talanta**, v. 270, p. 125613, 2024.

LUO, Yan *et al.* National prescription patterns of antidepressants in the treatment of adults with major depression in the US between 1996 and 2015: a population representative survey based analysis. **Frontiers in psychiatry**, v. 11, p. 35, 2020.

LYNCH, K. L. Toxicology: liquid chromatography mass spectrometry. In: NAIR, Hari; CLARKE, William. **Mass spectrometry for the clinical laboratory**. Academic Press, 2017. p. 109-130.

MA, Xue *et al.* A review on recent developments and applications of green sorbents-based solid phase extraction techniques. **Advances in Sample Preparation**, v. 6, p. 100065, 2023.

MAFRA, Gabriela *et al.* Expanding the applicability of cork as extraction phase for disposable pipette extraction in multiresidue analysis of pharmaceuticals in urine samples. **Journal of Chromatography B**, v. 1102, p. 159-166, 2018.

MAFRA, Gabriela *et al.* Returning to nature for the design of sorptive phases in solid-phase microextraction. **Separations**, v. 7, n. 1, p. 2, 2019.

MALI, Nikhil; KARPE, Manisha; KADAM, Vilasrao. A review on biological matrices and analytical methods used for determination of drug of abuse. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 1, n. 6, p. 58-65, 2011.

MANOUSHI, Natalia *et al.* Blue applicability grade index (BAGI) and software: a new tool for the evaluation of method practicality. **Green chemistry**, v. 25, n. 19, p. 7598-7604, 2023.

MARTÍNEZ-PÉREZ-CEJUELA, H.; GIONFRIDDO, E. Evolution of green sample preparation: fostering a sustainable tomorrow in analytical sciences. **Analytical chemistry**, v. 96, n. 20, p. 7840-7863, 2024.

MARASINE, Nirmal Raj *et al.* Use of antidepressants among patients diagnosed with depression: a scoping review. **BioMed research international**, v. 2021, n. 1, p. 6699028, 2021.

MBUGHUNI, Michael M.; JANNETTO, Paul J.; LANGMAN, Loralie J. Mass spectrometry applications for toxicology. **eJIFCC - The electronic Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 27, n. 4, p. 272, 2016.

MCLELLAN, A. Thomas. Substance misuse and substance use disorders: why do they matter in healthcare?. **Transactions of the American Clinical and Climatological Association**, v. 128, p. 112, 2017.

MEIRELLES, Gabriela *et al.* Green Analytical Toxicology for the determination of cocaine metabolites. **Journal of analytical toxicology**, v. 46, n. 9, p. 965-978, 2022.

METHLING, Maximilian *et al.* Toxicological findings in suicides—frequency of antidepressant and antipsychotic substances. **Forensic Science, Medicine and Pathology**, v. 15, p. 23-30, 2019.

MERCIECA, Alexandra L. *et al.* Organic impurity profiling of 3, 4-methylenedioxyamphetamine (MDA) synthesised from helional. **Forensic Science International**, v. 350, p. 111788, 2023.

MEYER, Jerrold S. 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA): current perspectives. **Substance abuse and rehabilitation**, v. 4, p. 83-99, 2013.

MOFFAT, Anthony C.; OSSELTON, M. David; WIDDOP, Brian. **Clarke's analysis of drugs and poisons**. 4 ed. London: Pharmaceutical press, 2011.

MORÉS, Lucas *et al.* Assessment of a natural extraction phase in disposable pipette extraction coupled with the sub-minute determination of 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in human urine by fast-GC-FID. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 20, p. 100390, 2021.

MORELLI, Diogo C. *et al.* Designing a green device to BA μ E: Recycled cork pellet as extraction phase for the determination of parabens in river water samples. **Talanta**, v. 219, p. 121369, 2020.

MUSSATTO, Solange I.; DRAGONE, Giuliano; ROBERTO, Inês Conceicao. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. **Journal of cereal science**, v. 43, n. 1, p. 1-14, 2006.

MUSSATTO, Solange I. Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 7, p. 1264-1275, 2014.

NICHOLS, David E. Entactogens: How the name for a novel class of psychoactive agents originated. **Frontiers in psychiatry**, v. 13, p. 863088, 2022.

NIEMI, Piritta *et al.* Characterization of lipids and lignans in brewer's spent grain and its enzymatically extracted fraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 39, p. 9910-9917, 2012.

NOORDAM, Raymond *et al.* Prescription and indication trends of antidepressant drugs in the Netherlands between 1996 and 2012: a dynamic population-based study. **European journal of clinical pharmacology**, v. 71, p. 369-375, 2015.

NOWAK, Paweł Mateusz; WIETECHEA-POŚLUSZNY, Renata; PAWLISZYN, Janusz. White analytical chemistry: an approach to reconcile the principles of green analytical chemistry and functionality. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 138, p. 116223, 2021.

O'LEARY, Olivia F.; DINAN, Timothy G.; CRYAN, John F. Faster, better, stronger: towards new antidepressant therapeutic strategies. **European journal of pharmacology**, v. 753, p. 32-50, 2015.

O'MAHONY, Brian *et al.* HHC-induced psychosis: a case series of psychotic illness triggered by a widely available semisynthetic cannabinoid. **Irish Journal of Psychological Medicine**, v. 41, n. 3, p. 405-408, 2024.

OENNING, Anderson Luiz *et al.* A new configuration for bar adsorptive microextraction (BA μ E) for the quantification of biomarkers (hexanal and heptanal) in human urine by HPLC providing an alternative for early lung cancer diagnosis. **Analytica Chimica Acta**, v. 965, p. 54-62, 2017.

OSMAN, Ahmed I. *et al.* Upcycling brewer's spent grain waste into activated carbon and carbon nanotubes for energy and other applications via two-stage activation. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 95, n. 1, p. 183-195, 2020.

OSSANES, Daniela Souza *et al.* Cork sheet as an efficient biosorbent for forensic toxicology: Application to vitreous humor analysis. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 47, n. 7, p. 580-587, 2023.

PACHECO-FERNÁNDEZ, Idaira *et al.* Biopolymers in sorbent-based microextraction methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 125, p. 115839, 2020.

PENA-PEREIRA, Francisco; WOJNOWSKI, Wojciech; TOBISZEWSKI, Marek. AGREE—Analytical GREENness metric approach and software. **Analytical chemistry**, v. 92, n. 14, p. 10076-10082, 2020.

PETERS, Frank T. *et al.* Method development in forensic toxicology. **Current pharmaceutical design**, v. 23, n. 36, p. 5455-5467, 2017.

PEREIRA, Vitor Silva; HIROAKI-SATO, Vinícius Antonio. A brief history of antidepressant drug development: from tricyclics to beyond ketamine. **Acta neuropsychiatrica**, v. 30, n. 6, p. 307-322, 2018.

PERESTRELO, Rosa *et al.* QuEChERS-Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. **Analytica chimica acta**, v. 1070, p. 1-28, 2019.

PIEPRZYCA, Ewelina; SKOWRONEK, Rafał; CZEKAJ, Piotr. Toxicological analysis of intoxications with synthetic cathinones. **Journal of analytical toxicology**, v. 46, n. 7, p. 705-711, 2022.

PŁOTKA-WASYLKA, Justyna; NAMIEŚNIK, Jacek (Ed.). **Green analytical chemistry: past, present and perspectives**. Springer, 2019.

POTTS, A. J. *et al.* Synthetic cannabinoid receptor agonists: classification and nomenclature. **Clinical Toxicology**, v. 58, n. 2, p. 82-98, 2020.

POULIOPOULOS, A. *et al.* Quantification of 15 psychotropic drugs in serum and postmortem blood samples after a modified mini-QuEChERS by UHPLC–MS-MS. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 42, n. 5, p. 337-345, 2018.

PULIGUNDLA, Pradeep; MOK, Chulkyoon. Recent advances in biotechnological valorization of brewers' spent grain. **Food Science and Biotechnology**, v. 30, n. 3, p. 341-353, 2021.

RANKIN-TURNER, Stephanie; SEARS, Patrick; HEANEY, Liam M. Applications of ambient ionization mass spectrometry in 2022: An annual review. **Analytical Science Advances**, v. 4, n. 5-6, p. 133-153, 2023.

READ, John; WILLIAMS, James. Adverse effects of antidepressants reported by a large international cohort: emotional blunting, suicidality, and withdrawal effects. **Current drug safety**, v. 13, n. 3, p. 176-186, 2018.

REGO, Liliana *et al.* Quercus suber Bark as a Sustainable Source of Value-Added Compounds: Experimental Studies with Cork By-Products. **Forests**, v. 14, n. 3, p. 543, 2023.

REMANE, Daniela; WISSENBAACH, Dirk K.; PETERS, Frank T. Recent advances of liquid chromatography–(tandem) mass spectrometry in clinical and forensic toxicology—an update. **Clinical biochemistry**, v. 49, n. 13-14, p. 1051-1071, 2016.

RENTSCH, Katharina M. Knowing the unknown—State of the art of LCMS in toxicology. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 84, p. 88-93, 2016.

RICHTER, Pablo. Developing Green Sorbents Derived from Natural Materials for Microextraction and Determination of Emerging Contaminants. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, 2022. DOI: <https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425>

RILEY, Anthony L. *et al.* Abuse potential and toxicity of the synthetic cathinones (ie, “Bath salts”). **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 110, p. 150-173, 2020.

RIO GRANDE DO SUL. Centro Estadual de Vigilância em Saúde. Centro de Informação Toxicológica. **Relatório Anual 2023 - Atendimentos do Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul - (CIT/RS)**. Disponível em: <https://drive.google.com/file/d/1ext4gfb0aEyap8GNucxk0MCWqKpiLKFO/view>. Acesso em: 14 de jan. 2025.

ROBERTSON, James A. *et al.* Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 890-896, 2010.

ROQUE-BRAVO, Rita *et al.* Synthetic cannabinoids: a pharmacological and toxicological overview. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 63, n. 1, p. 187-209, 2023.

ROXBURGH, Amanda *et al.* Trends in MDMA-related mortality across four countries. **Addiction**, v. 116, n. 11, p. 3094-3103, 2021.

SAJID, Muhammad; PŁOTKA-WASYLKA, Justyna. Green analytical chemistry metrics: A review. **Talanta**, v. 238, p. 123046, 2022.

SANTANA-MAYOR, A. *et al.* Updated overview of QuEChERS applications in food, environmental and biological analysis (2020–2023). **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 169, p. 117375, 2023.

SANTÁS-MIGUEL, Vanesa *et al.* Use of Biopowders as Adsorbents of Potentially Toxic Elements Present in Aqueous Solutions. **Materials**, v. 18, n. 3, p. 625, 2025.

SANTOS, M. *et al.* Variability of brewer's spent grain within a brewery. **Food Chemistry**, v. 80, n. 1, p. 17-21, 2003.

SCHMIDT, Michelle L.; SNOW, Nicholas H. Making the case for QuEChERS-gas chromatography of drugs. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 75, p. 49-56, 2016.

SCHWARZ, Patricia *et al.* Development of an innovative analytical method for forensic detection of cocaine, antidepressants, and metabolites in postmortem blood using magnetic nanoparticles. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 416, n. 13, p. 3239-3250, 2024.

SEFATY, Banafsheh *et al.* Determination of tramadol and fluoxetine in biological and water samples by magnetic dispersive solid-phase microextraction (MDSPME) with gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). **Analytical Letters**, v. 54, n. 5, p. 884-902, 2021.

SEN, Ali *et al.* Chemical characterization, bioactive and fuel properties of waste cork and phloem fractions from *Quercus cerris* L. bark. **Industrial Crops and Products**, v. 157, p. 112909, 2020.

SHI, Meiyun *et al.* Overview of sixteen green analytical chemistry metrics for evaluation of the greenness of analytical methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 166, p. 117211, 2023.

SILVA, Bruna *et al.* Waste-based biosorbents as cost-effective alternatives to commercial adsorbents for the retention of fluoxetine from water. **Separation and Purification Technology**, v. 235, p. 116139, 2020.

SOARES, Sofia *et al.* Solid phase-based microextraction techniques in therapeutic drug monitoring. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 4, p. 1055, 2023.

SOCAS-RODRÍGUEZ, Bárbara *et al.* Dispersive solid-phase extraction. In: ANDERSON Jared L. *et al.* **Analytical separation science**, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2015. p. 1525-1570.

STONE, J. Sample preparation techniques for mass spectrometry in the clinical laboratory. In: NAIR, Hari; CLARKE, William. **Mass spectrometry for the clinical laboratory**. Academic Press, 2017. p. 37-62.

SWANSON, Mary B. *et al.* A screening method for ranking and scoring chemicals by potential human health and environmental impacts. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 16, n. 2, p. 372-383, 1997.

TEIXEIRA, Rita Teresa. Cork development: What lies within. **Plants**, v. 11, n. 20, p. 2671, 2022.

TSAI, Wen-Hsien *et al.* Dispersive solid-phase microextraction method for sample extraction in the analysis of four tetracyclines in water and milk samples by high-performance liquid chromatography with diode-array detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 12, p. 2263-2269, 2009.

UJVÁRY, István. Hexahydrocannabinol and closely related semi-synthetic cannabinoids: A comprehensive review. **Drug Testing and Analysis**, v. 16, n. 2, p. 127-161, 2024.

UNODC, United Nations Office for Drugs and Crime. New Psychoactive Substances Portal and International Collaborative Exercise Portal. Disponível em: <https://www.unodc.org/LSS/Home/NPS>. Acesso em: 20 de nov. 2024.

UNODC, United Nations Office for Drugs and Crime. World Drug Report 2023, 2023. Disponível em: <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/world-drug-report-2023.html>. Acesso em 16 de nov. 2024.

USUI, Kiyotaka *et al.* Rapid drug extraction from human whole blood using a modified QuEChERS extraction method. **Legal Medicine**, v. 14, n. 6, p. 286-296, 2012.

VERDUM, María; JOVÉ, Patricia. Novel Sustainable Alternatives for the Study of the Chemical Composition of Cork. **Sustainability**, v. 16, n. 2, p. 575, 2024.

VENSON, Rafael; KORB, Ann-Sophie; COOPER, Gail. A review of the application of hollow-fiber liquid-phase microextraction in bioanalytical methods—A systematic approach with focus on forensic toxicology. **Journal of Chromatography B**, v. 1108, p. 32-53, 2019.

WAGMANN, Lea; JACOBS, Cathy M.; MEYER, Markus R. New psychoactive substances: Which biological matrix is the best for clinical toxicology screening?. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 44, n. 5, p. 599-605, 2022.

WHO, World Health Organization. Depressive disorder (depression). Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>. Acesso em: 13 de mar. 2025.

WIERZBA, Sławomir; KŁOS, Andrzej. Heavy metal sorption in biosorbents—Using spent grain from the brewing industry. **Journal of Cleaner production**, v. 225, p. 112-120, 2019.

WOJNOWSKI, Wojciech *et al.* AGREEprep—analytical greenness metric for sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 149, p. 116553, 2022.

XI, Xinguo *et al.* Removal of the pesticide pymetrozine from aqueous solution by biochar produced from brewer's spent grain at different pyrolytic temperatures. **BioResources**, v. 9, n. 4, p. 7696-7709, 2014.

ZEKO-PIVAČ, Anđela *et al.* The potential of brewer's spent grain in the circular bioeconomy: State of the art and future perspectives. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, v. 10, p. 870744, 2022.

ANEXOS

ANEXO A – Termo do Comitê de Ética I

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento de métodos analíticos para identificação de novas substâncias psicoativas de interesse forense por espectrometria de massas de alta resolução

Pesquisador: TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 17996819.7.0000.5345

Instituição Proponente: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.784.184

Apresentação do Projeto:

As drogas naturais, como maconha e cocaína, foram gradativamente substituídas pelas sintéticas. O recente relatório intitulado “Global Synthetic Drugs Assessment”, publicado pelo United Nations Office on Drugs and Crime - UNODC, revelou que a produção e o consumo de drogas sintéticas têm alcançado números alarmantes, superando os da heroína e cocaína em muitos lugares do mundo. Segundo o relatório global, foram registradas 348 Novas Substâncias Psicoativas (NPS), de 2008 a 2013, mas o número real de NPS disponível no mundo pode ser significativamente superior, dado que esses números refletem apenas relatos de fontes oficiais e não leva em conta fontes não oficiais. As assim chamadas drogas sintéticas são substâncias ou misturas de substâncias psicoativas produzidas por síntese química a partir de substâncias precursoras encontradas ou não na natureza. A dimensão e os padrões de uso dessas substâncias ainda não são claros e, provavelmente, estão sendo subestimados. Diante do exposto, o objetivo desse projeto é o desenvolvimento de metodologias analíticas para a correta identificação de NPSs (etilona, 2,5-dimetoxi-4-bromoanfetamina, 2,5-dimetoxi-4-metilanfetamina, 25CNBOMe, 25B-NBOMe) e outras substâncias psicoativas em matrizes biológicas por espectrometria de massas de alta resolução. As metodologias aqui desenvolvidas serão disponibilizadas para o Departamento de Perícias Laboratoriais do Instituto Geral de Perícias (DPL-IGP) para a posterior

Endereço: Rua Sarmento Leite, 245

Bairro: Sarmento

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3303-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 3.784.184

implementação na rotina laboratorial, objetivando a elucidação e o mapeamento de casos de envolvendo o consumo de NPSs e outras substâncias psicoativas.

Objetivo da Pesquisa:

1) Objetivo Primário:

Desenvolvimento de metodologias analíticas para a correta identificação de NPSs e substâncias psicoativas convencionais em matrizes biológicas por espectrometria de massas de alta resolução, fornecendo assim subsídios para elucidação de casos com suspeita de ocorrência dessa classe de substâncias.

2) Objetivo Secundário:

a) desenvolvimento de métodos multi-analíticos que permitam a análise simultânea em um intervalo curto de tempo, propiciando uma identificação rápida e precisa das substâncias envolvidas em casos suspeitos de NPS;

b) desenvolvimento e validação de estratégias analíticas de screening em cabelo para as classes de substâncias anfetaminas, antidepressivos, antipsicóticos, barbitúricos, benzodiazepínicos e cocaína;

c) desenvolvimento tecnológico adquirido poderá ser facilmente aplicado a outros projetos de pesquisa, contribuindo assim para avanços importantes no que concerne às implicações da toxicologia analítica à ciências forenses;

d) após a validação metodológica, os procedimentos desenvolvidos estarão acessíveis para Departamento de Perícias Laboratoriais do Instituto Geral de Perícias (DPLIGP);

e) para realizar a transferência do know-how as metodologias serão prioritariamente construídas considerando os métodos de rotina e o parque instrumental do DPL-IGP;

f) os dados gerados no trabalho serão tabulados para confecção de artigos científicos construídos em parceria com a equipe do DPL-IGP.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os pesquisadores descrevem que não há riscos para os envolvidos na pesquisa pois as amostras biológicas utilizadas serão oriundas do descarte do laboratório do DPL-IGP. As

amostras terão seu uso liberado pelo responsável do laboratório somente após estarem em posição de descarte. Referem ainda que o possível risco é referente a identificação dos indivíduos, no entanto, os pesquisadores garantem que a identificação dos indivíduos será mantida em anonimato, através da utilização de códigos previamente estabelecidos.

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245

Bairro: Sarmiento

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51) 3303-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 3.784.184

Benefícios:

Não haverá benefícios diretos ao participante da pesquisa, mas o estudo será importante pois será desenvolvido uma metodologia capaz de identificar diferentes substâncias psicoativas em diversas matrizes biológicas que possa ser disponibilizada para os principais serviços de avaliação de intoxicações por drogas de abuso no estado do Rio Grande do Sul. Além disto, espera-se a identificação destes compostos em casos suspeitos possibilitando o mapeamento da distribuição das substâncias elencadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Amostra: amostras biológicas de rotina (sangue, urina, vísceras) ou de oportunidade (humor vítreo e cabelo) disponibilizadas pelo DPL-IGP de casos com suspeita de ocorrência de NPS, passíveis de análises toxicológicas, atendidos pelo Instituto durante o período de vigência do projeto. Atualmente, estas amostras são analisadas na rotina Departamento de Perícias Laboratoriais e descartadas, conforme a legislação vigente (ANVISA, RDC 306/04, CONAMA, RDC 358/05), que por tratar de resíduos do Grupo A1 são submetidos a processos de tratamento em equipamentos que promova a redução de carga microbiana e encaminhados para aterro sanitário licenciado para disposição final destes resíduos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Solicitam a utilização apenas do TCUD, tendo em vista a impossibilidade de obtenção do TCLE, uma vez que se trata de amostras biológicas oriundas do descarte do laboratório do DPL-IGP e que terão seu uso liberado pelo responsável do laboratório somente após estarem em posição de descarte.
- Não encontra-se anexado o termo de compromisso para entrega dos relatórios parciais e final.

Recomendações:

- O projeto somente poderá ter início após sua aprovação na integralidade pelos CEP's envolvidos.
- Solicita-se encaminhar por notificação o termo de compromisso para entrega dos relatórios parciais e final. Como trata-se de um projeto com período de realização abrangente, os relatórios parciais devem ser anuais além do relatório final. Destaca-se a importância da entrega destes relatórios para acompanhamento do CEP, além de possibilitar ao pesquisador, dentro da vigência do mesmo, o envio de qualquer emenda/notificação.
- Data Final de Vigência do Projeto: 01/09/2023.

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245

Bairro: Sarmiento

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3303-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE**



Continuação do Parecer: 3.784.184

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- Os pesquisadores atenderam às solicitações contidas em parecer emitido anteriormente por este CEP.

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o parecer do Relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1401883.pdf	06/11/2019 15:31:08		Aceito
Outros	TCUD.pdf	06/11/2019 15:30:43	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TemoAnuenciaGerLab.pdf	06/11/2019 15:30:30	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_parceria_UFCSPA_IGP.docx	23/07/2019 16:09:50	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	Termo_liberacao_amstras.pdf	23/07/2019 16:09:32	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	Termo_anuencia_instituicao_coparticipante.pdf	23/07/2019 16:09:11	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_Tiago_Oliveira.pdf	23/07/2019 16:06:23	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 19 de Dezembro de 2019

Assinado por:

**Luciane Dalcanale Moussalle
(Coordenador(a))**

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245

Bairro: Sarmiento

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3303-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

ANEXO B – Termo do Comitê de Ética II

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Desenvolvimento de metodologias por espectrometria de massas para toxicologia de emergência

Pesquisador: TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 31992920.3.0000.5345

Instituição Proponente: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.328.757

Apresentação do Projeto:

Resumo:

Ao longo dos últimos anos, os casos de intoxicações têm aumentado no Brasil e no mundo, estando estes principalmente relacionados com exposição a fármacos e drogas de abuso. Assim, é de extrema importância que seja realizada a determinação dos toxicantes para que se proceda o melhor tratamento e manejo correto do paciente. Na toxicologia clínica, a espectrometria de massas (MS) é a metodologia de escolha para a determinação de xenobióticos em matrizes biológicas, já que a partir dela é possível gerar resultados exatos e precisos. A MS é uma técnica analítica de identificação molecular baseada na análise da relação massa carga (m/z) do composto, tendo como resultado a produção de um espectro de massas. Diante do exposto, esta proposta tem como objetivo desenvolver métodos multi-analito para a determinação de fármacos, drogas de abuso e seus produtos de biotransformação por utilizando a espectrometria de massas como técnica analítica, de forma a gerar resultados confiáveis, rápidos e exatos, podendo assim auxiliar no diagnóstico das intoxicações. Os métodos a serem desenvolvidos serão aplicados em amostras provenientes de casos atendidos pelo Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (CIT/RS). A partir da validação analítica, será possível disponibilizar as técnicas desenvolvidas aos serviços de avaliação e controle de intoxicações do Brasil. Ademais, os resultados obtidos através das análises das amostras contribuirão como uma base de dados para o desenvolvimento de novas políticas de toxicovigilância no Rio Grande do Sul e Brasil.

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245

Bairro: Sarmiento

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3303-8804

CEP: 90.050-170

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 4.328.757

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Desenvolver metodologias analíticas para diagnóstico laboratorial de intoxicações utilizando a espectrometria de massas. A partir disso, aplicar os métodos em amostras oriundas de casos atendidos pelo Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul.

Objetivo Secundário:

Desenvolver de métodos para determinação de fármacos e drogas de abuso em sangue e urina por espectrometria de massas; Desenvolver e validar métodos cromatográficos e espectrométricos; Proceder a síntese de novos preparos de amostras; Aplicar o método em amostras de sangue e urina de casos reais cedidas pelo Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (CIT/RS).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O risco à sua saúde dos participantes voluntários da pesquisa será mínimo, uma vez que a coleta de 3 mL de sangue periférico e 10 mL de urina já foi realizada durante o atendimento do caso pelo CIT/RS, na unidade de saúde onde o paciente fora atendido para envio ao laboratório do CIT/RS. A coleta de sangue pode ter alguns efeitos indesejados, como hematomas e dor no local da picada, assim como a coleta de urina pode gerar

constrangimento ao paciente. No entanto, pelo projeto usar amostras de descarte, não será solicitada/realizada nenhuma coleta com pacientes. Além disso, um possível risco será a quebra accidental o sigilo, por meio da utilização dos dados de atendimentos. Para evitar isso, serão tomadas medidas para que essa quebra não venha a ocorrer de forma alguma, tais como identificação das amostras e casos com código numérico próprio, diferente do já existente na rotina do CIT/RS. Nenhum dos pesquisadores terá acesso ao nome dos pacientes ou quaisquer outra informação não citada no projeto. Todas informações serão guardadas em arquivos do tipo Excel ou Word com login e senha, tendo acesso a estes arquivos somente os pesquisadores integrantes deste projeto de pesquisa. Além disso, uma lista mestra com os códigos numéricos das amostras e relação com a numeração própria do CIT/RS será feita e mantida exclusivamente em guarda com a responsável e chefe de divisão do CIT/RS, MSc. Viviane Cristina Sebben.

Benefícios:

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245

Bairro: Sarmiento

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3303-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 4.328.757

Serão desenvolvidas metodologias analíticas para o diagnóstico de intoxicações por fármacos e drogas de abuso. Além disso, serão implementados métodos na rotina do Núcleo de Análise Laboratorial do Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul, assim como poderão ser disponibilizados por outros centros de informação e assistência toxicológica. Por fim, os resultados obtidos através das análises das amostras contribuirão como uma base de dados para o desenvolvimento de novas políticas de toxicovigilância no Rio Grande do Sul e Brasil.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa possui relevância acadêmica e a parceria UFCSPA/CIT, otimizando recursos financeiros e colaborando para formação de recursos humanos atentos às necessidades que não atender indivíduos atendidos pelo Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (CIT/RS) realizaram o uso de pelo menos uma das substâncias (fármacos e drogas de abuso) elencadas no estudo, tendo assim oportunidade de utilização de amostras, antes descartadas, para a confirmações dos resultados da metodologia analítica instrumental em desenvolvimento nessa pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória apresentados foram revisados e encontram-se adequados. A solicitação de dispensa do TCLE foi devidamente justificada através da carta-resposta, onde foi dado todo o esclarecimento sobre as amostras, que já chegam coletadas ao CIT, não havendo possibilidade de contato com o participante; contudo há risco de quebra de sigilo e por isso a equipe adotará código numérico próprio, diferente do já existente na rotina do CIT/RS. Nenhum dos pesquisadores terá acesso ao nome dos pacientes ou quaisquer outra informação não citada no projeto. Todas informações serão guardadas em arquivos do tipo Excel ou Word com login e senha, tendo acesso a estes arquivos somente os pesquisadores integrantes deste projeto de pesquisa. Além disso, uma lista mestra com os códigos numéricos das amostras e relação com a numeração própria do CIT/RS será feita e mantida exclusivamente em guarda com a responsável e chefe de divisão do CIT/RS, MSc. Viviane Cristina Sebben. As amostras durante 3 meses são guardadas como contra-prova. Nenhuma amostra será cedida pelo CIT/RS antes deste período. Após este período, todas amostras são consideradas de descarte, mas não são necessariamente descartadas. O NAL-CIT/RS mantém parte das amostras para uso interno, como uso em controle interno de qualidade, uso em validações de metodologias analíticas, síntese de controles positivos, dentre outros, possibilitando o uso de amostras de casos de 2018 e 2019. Com a quantidade de amostras já guardadas e a média de análises de emergência realizadas por ano, espera-se atingir no mínimo o número de 400 amostras, tendo assim garantia de se alcançar

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245

Bairro: Sarmiento

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3303-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 4.328.757

esse valor.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o parecer do Relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1521315.pdf	15/09/2020 18:31:38		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_corrigido.pdf	15/09/2020 18:31:10	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	15/09/2020 18:30:40	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	Carta_resposta.pdf	15/09/2020 18:30:09	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	TCUD_corrigido.pdf	15/09/2020 18:29:35	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_de_TCLE_corrigido.pdf	15/09/2020 18:29:08	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	Termo_de_anuencia_Central_Analitica.pdf	13/07/2020 10:58:41	BRUNO PEREIRA DOS SANTOS	Aceito
Outros	Declaracao_de_evidente_interesse_publico_e_SUS.pdf	29/04/2020 17:24:59	BRUNO PEREIRA DOS SANTOS	Aceito
Outros	Termo_de_autorizacao_institucional.pdf	29/04/2020 17:23:31	BRUNO PEREIRA DOS SANTOS	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso_entrega_relatorio_semestral_e_final.pdf	29/04/2020 17:22:41	BRUNO PEREIRA DOS SANTOS	Aceito
Outros	Termo_de_anuencia_do_local.pdf	29/04/2020 17:19:14	BRUNO PEREIRA DOS SANTOS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245

Bairro: Sarmiento

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3303-8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 4.328.757

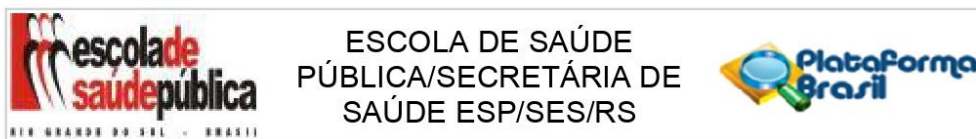
Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 08 de Outubro de 2020

Assinado por:
Fernanda Bordignon Nunes
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Sarmiento Leite ,245
Bairro: Sarmiento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento de metodologias por espectrometria de massas para toxicologia de emergência

Pesquisador: TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 31992920.3.3001.5312

Instituição Proponente: SECRETARIA DA SAUDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.456.985

Apresentação do Projeto:

Trata-se da 1ª versão do projeto pesquisa de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal Ciências da Saúde de Porto Alegre, a ser realizado por Bruno Pereira dos Santos, sob a orientação de Tiago Franco de Oliveira, intitulado "DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS PARA TOXICOLOGIA DE EMERGÊNCIA.

Neste estudo, serão desenvolvidos métodos para a determinação de fármacos e drogas de abuso utilizando a espectrometria de massas como técnica analítica. Serão desenvolvidos e validados métodos utilizando a espectrometria de massas na Central Analítica da UFCSPA e no Núcleo de Análise Laboratorial do CIT/RS.

O tema da pesquisa é relevante para saúde pública. O projeto está bem escrito e claro em seus propósitos.

Objetivo da Pesquisa:

Os pesquisadores apresentaram como objetivo geral da pesquisa:

"Desenvolver metodologias analíticas para diagnóstico laboratorial de intoxicações utilizando a espectrometria de massas. A partir disso, aplicar os métodos em amostras oriundas de casos

Endereço: Av. Ipiranga, 6311, sala 26.

Bairro: Partenon

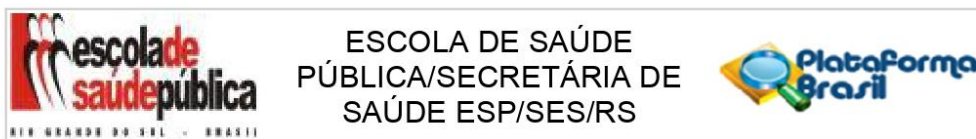
CEP: 90.610-001

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3901-1532

E-mail: ceps-esp@saude.rs.gov.br



Continuação do Parecer: 4.456.985

atendidos pelo Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul".

E, como objetivos específicos:

"Desenvolver de métodos para determinação de fármacos e drogas de abuso em sangue e urina por espectrometria de massas; Desenvolver e validar métodos cromatográficos e espectrométricos; Proceder a síntese de novos preparos de amostras; Aplicar o método em amostras de sangue e urina de casos reais cedidas pelo Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (CIT/RS)".

Os objetivos estão claros e podem ser alcançados por meio dos procedimentos metodológicos descritos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Quanto ao risco, no Formulário de Informações Básicas, os pesquisadores informam:

"O risco à sua saúde dos participantes voluntários da pesquisa será mínimo, uma vez que a coleta de 3 mL de sangue periférico e 10 mL de urina já foi realizada durante o atendimento do caso pelo CIT/RS, na unidade de saúde onde o paciente fora atendido para envio ao laboratório do CIT/RS. A coleta de sangue pode ter alguns efeitos indesejados, como hematomas e dor no local da picada, assim como a coleta de urina pode gerar constrangimento ao paciente. No entanto, pelo projeto usar amostras de descarte, não será solicitada/realizada nenhuma coleta com pacientes. Além disso, um possível risco será a quebra accidental do sigilo, por meio da utilização dos dados de atendimentos. Para evitar isso, serão tomadas medidas para que essa quebra não venha a ocorrer de forma alguma, tais como identificação das amostras e casos com código numérico próprio, diferente do já existente na rotina do CIT/RS. Nenhum dos pesquisadores terá acesso ao nome dos pacientes ou quaisquer outra informação não citada no projeto. Todas informações serão guardadas em arquivos do tipo Excel ou Word com login e senha, tendo acesso a estes arquivos somente os pesquisadores integrantes deste projeto de pesquisa. Além disso, uma lista mestra com os códigos numéricos das amostras e relação com a numeração própria do CIT/RS será feita e mantida exclusivamente em guarda com a responsável e chefe de divisão do CIT/RS, MSc. Viviane Cristina Sebben".

No que se refere aos benefícios, os pesquisadores descrevem no Formulário de Informações Básicas: "Serão desenvolvidas metodologias analíticas para o diagnóstico de intoxicações por

Endereço: Av. Ipiranga, 6311, sala 26.

Bairro: Partenon

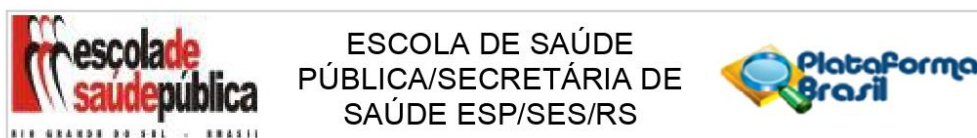
CEP: 90.610-001

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3901-1532

E-mail: ceps-esp@saude.rs.gov.br



Continuação do Parecer: 4.456.985

fármacos e drogas de abuso. Além disso, serão implementados métodos na rotina do Núcleo de Análise Laboratorial do Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul, assim como poderão ser disponibilizados por outros centros de informação e assistência toxicológica. Por fim, os resultados obtidos através das análises das amostras contribuirão como uma base de dados para o desenvolvimento de novas políticas de toxicovigilância no Rio Grande do Sul e Brasil".

Os riscos e os benefícios não estão descritos no projeto detalhado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

"Pacientes intoxicados atendidos pelo Centro Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (CIT/RS), onde fora requisitada a análise toxicológica. Os pacientes são oriundos de hospitais e unidades de saúde de todo o estado do Rio Grande do Sul, onde a equipe médica entra em contato com o Plantão (Núcleo de Atendimento de Urgência - NAU) do CIT/RS, solicitando informação e/ou assistência para um acidente tóxico".

"As amostras (sangue e urina) serão obtidas a partir de amostras de descarte do Núcleo de Análise Laboratorial do Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (NAL-CIT/RS). O NAL-CIT/RS recebe amostras biológicas de pacientes com suspeita de intoxicação internados em diversos serviços de emergência do estado do Rio Grande do Sul. A amostragem do estudo será de conveniência. Serão recolhidas amostras de descarte, podendo ser de pacientes de qualquer idade ou sexo. As amostras a serem utilizados são de casos atendidos entre 01/01/2018 a 31/12/2021. Quanto às amostras de casos futuros, após a análise no NAL-CIT/RS, as amostras serão armazenadas durante três meses como contraprova, para depois serem consideradas amostras de descarte. Ao todo, espera-se um total de 400 amostras, levando em conta ao menos metade das amostras que foram e serão recebidas pelo NAL no período previsto. Juntamente à amostra, serão coletadas informações pertinentes ao caso que possam auxiliar no diagnóstico da intoxicação e otimização da análise, como idade, sexo e peso do paciente, circunstância da exposição, via de exposição, possíveis toxicantes envolvidos e respectivas doses, uso de medicações, manifestações clínicas e exames laboratoriais. As informações serão coletadas dos casos do sistema do CIT/RS (CITonline), os quais são preenchidos pelo Núcleo de Atendimento de Urgência do CIT/RS, de acordo com o contato com a equipe médica. Os dados dos prontuários de

Endereço: Av. Ipiranga, 6311, sala 26.

Bairro: Partenon

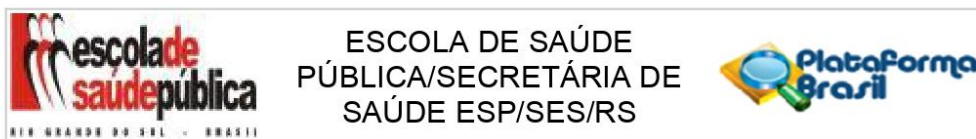
CEP: 90.610-001

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3901-1532

E-mail: ceps-esp@saude.rs.gov.br



Continuação do Parecer: 4.456.985

atendimento são importantes para uma caracterização das amostras a serem utilizadas, para a identificação de condições especiais, como manifestações clínicas não-esperadas, reações adversas de medicamentos e outros casos com relevância clínica e assim averiguar possíveis correlações com os dados analíticos. Por fim, as informações dos casos junto aos resultados da análise toxicológica gerarão dados que servirão como base para ações de toxicovigilância".

"Serão desenvolvidos métodos para a determinação de fármacos e drogas de abuso utilizando a espectrometria de massas como técnica analítica. As análises serão realizadas em sistemas analíticos com métodos de separação, (cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas) ou diretamente no próprio espectrômetro de massas. Os métodos serão validados conforme guias de validação nacionais e internacionais, como o Guideline on bioanalytical method validation (EMA, 2011), e conforme a necessidade da técnica, podendo ser utilizados parâmetros como limite de detecção, limite de quantificação, seletividade, precisão intra e inter-ensaio, exatidão, linearidade, carry over (efeito residual), efeito matriz, robustez e estabilidade dos analitos na matriz. As análises serão realizadas na Central Analítica da UFCSPA e no Núcleo de Análise Laboratorial do CIT/RS".

"Espera-se desenvolver métodos analíticos rápidos e de fácil execução, que sejam capazes de determinar e quantificar analitos de interesse toxicológico em sangue e urina, auxiliando assim no diagnóstico laboratorial de intoxicações. Serão desenvolvidas metodologias analíticas que serão aplicadas na rotina do NAL-CIT/RS, auxiliando assim no diagnóstico de intoxicações no território do Rio Grande do Sul. A partir da validação analítica, será possível disponibilizar as técnicas desenvolvidas aos serviços de avaliação e controle de intoxicações do Brasil. Ademais, os resultados obtidos através das análises das amostras contribuirão como uma base de dados para o desenvolvimento de novas políticas de toxicovigilância no Rio Grande do Sul e Brasil".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta os seguintes documentos:

- Termo de Anuência Institucional (TAI), assinado pela chefe de Divisão CIT/CEVS, Viviane Cristina Sebben;
- Termo Compromisso de Utilização de Dados (TCUD), assinado por Bruno Pereira dos Santos,

Endereço: Av. Ipiranga, 6311, sala 26.

Bairro: Partenon

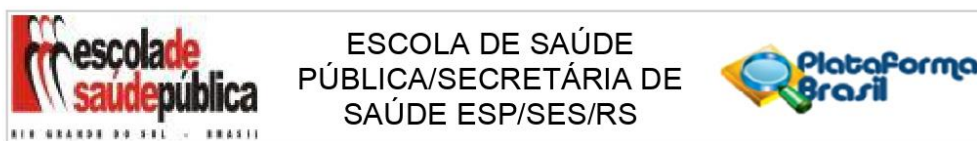
CEP: 90.610-001

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3901-1532

E-mail: ceps-esp@saude.rs.gov.br



Continuação do Parecer: 4.456.985

Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco De Oliveira e Tiago Franco de Oliveira;

-Justificativa para dispensa de TCLE.

Recomendações:

Recomendamos incluir riscos e benefícios no projeto detalhado. Essa recomendação não constitui obstáculo ético.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto está de acordo com as resoluções da Conselho Nacional de Saúde (CNS) e apto a ser realizado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Após 6 meses da data de aprovação deste projeto, o pesquisador responsável deverá apresentar relatório (parcial ou final) da pesquisa a este CEP, na forma de NOTIFICAÇÃO, via Plataforma Brasil. O Formulário para o Relatório de Pesquisa está disponível no site da ESP/Comitê de Ética.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1645718.pdf	05/11/2020 13:31:59		Aceito
Outros	Termo_de_Anuencia_Institucional.pdf	05/11/2020 13:30:47	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_corrigido.pdf	15/09/2020 18:31:10	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	Carta_resposta.pdf	15/09/2020 18:30:09	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	TCUD_corrigido.pdf	15/09/2020 18:29:35	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_de_TCLE_corrigido.pdf	15/09/2020 18:29:08	TIAGO FRANCO DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	Termo_de_anuencia_Central_Analitica.pdf	13/07/2020 10:58:41	BRUNO PEREIRA DOS SANTOS	Aceito
Outros	Declaracao_de_evidente_interesse_publico_e_SUS.pdf	29/04/2020 17:24:59	BRUNO PEREIRA DOS SANTOS	Aceito

Endereço: Av. Ipiranga, 6311, sala 26.

Bairro: Partenon

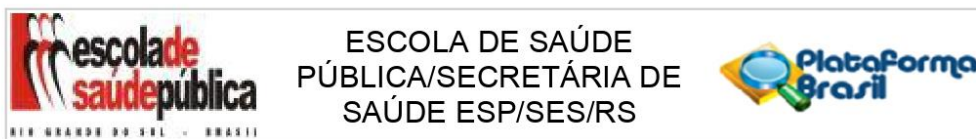
CEP: 90.610-001

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3901-1532

E-mail: ceps-esp@saude.rs.gov.br



Continuação do Parecer: 4.456.985

Outros	Termo_de_autorizacao_institucional.pdf	29/04/2020 17:23:31	BRUNO PEREIRA DOS SANTOS	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso_entrega_relato rio semestral e final.pdf	29/04/2020 17:22:41	BRUNO PEREIRA DOS SANTOS	Aceito
Outros	Termo_de_anuencia_do_local.pdf	29/04/2020 17:19:14	BRUNO PEREIRA DOS SANTOS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 11 de Dezembro de 2020

Assinado por:
Claudia Weyne Cruz
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Ipiranga, 6311, sala 26.

Bairro: Partenon

CEP: 90.610-001

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3901-1532

E-mail: ceps-esp@saude.rs.gov.br