

**India Maria Hiluf de Lima**

**Confiabilidade metrológica do Laboratório Antidoping do  
Jockey Club Brasileiro. Estudo de caso: validação de  
método analítico para determinação de cafeína em urina de  
cavalos de corrida.**

**Dissertação de Mestrado**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Metrologia da PUC-Rio. Área de Concentração: Metrologia para Qualidade e Inovação.

Professores Orientadores:

Maurício Nogueira Frota, Ph.D.  
PósMQI/PUC-Rio

Elisabete De Nadai Fernandes, Ph.D.  
Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), Piracicaba, SP

Peter Bode, Ph.D.  
Delft University of Technology, Holanda

Rio de Janeiro, 9 de agosto de 2004.



**INDIA MARIA HILUF DE LIMA**

**Confiabilidade metrológica do Laboratório Antidoping do  
Jockey Club Brasileiro. Estudo de caso: validação de  
método analítico para determinação de cafeína em urina de  
cavalos de corrida.**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Metrologia do Centro Técnico Científico da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada e homologada pela Coordenação Setorial de Pós-Graduação, formalizado pelas respectivas assinaturas.

**Prof. Dr. Maurício Nogueira Frota**

Orientador

Programa de Pós-Graduação em Metrologia

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – PUC-Rio

**Professora Dra. Elisabete De Nadai Fernandes**

Co-Orientadora

CENA

Universidade de São Paulo – SP

**Prof. Dr. Peter Bode**

Delft University of Technology

The Netherlands

**Prof. Dr. Fábio Sileno Tagliaferro**

CENA

Universidade de São Paulo – SP

**Prof. Dr. Ricardo Queiroz Aucélio**

Departamento de Química

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – PUC-Rio

**Professora Dra. Roberta Lourenço Ziulli**

Departamento de Química

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – PUC-Rio

**Coordenação Setorial de Pós-Graduação:**

**Prof. José Eugênio Leal**

Coordenador Setorial de Pós-Graduação do

Centro Técnico Científico (PUC-Rio)

Rio de Janeiro, 09 de agosto de 2004

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, da autora e do Professor orientador.

### **India Maria Hiluf de Lima**

Licenciatura em Química pelo Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em 1980. Professora efetiva do Magistério Estadual. Professora multiplicadora do Projeto Fundação – Setor Química – Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Auxiliar de ensino do Departamento de Química da Universidade Santa Úrsula. Química analista III e Gerente da Qualidade do Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro.

### Ficha Catalográfica

Lima, India Maria Hiluf de

Confiabilidade metrológica do Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro. Estudo de caso: validação de método analítico para determinação de cafeína em urina de cavalos de corrida / India Maria Hiluf de Lima; orientadores: Maurício Nogueira Frota, Elisabete De Nadai Fernandes, Peter Bode. – Rio de Janeiro: PUC-Rio, Programa de Pós-Graduação em Metrologia para Qualidade e Inovação, 2004.

197 p. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Metrologia para a Qualidade e Inovação.

Inclui referências bibliográficas.

1. Metrologia – Teses. 2. Laboratório Antidoping. 3. Confiabilidade metrológica. 4. Metrologia química. 5. Dopagem. 6. Cafeína. 7. Qualidade laboratorial. 8. Atividade turfística. I. Frota, Maurício Nogueira II. Bode, Peter III. Fernandes, Elisabete De Nadai. IV. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Metrologia para a Qualidade e Inovação. V. Título.

CDD: 389.1

Aos meus saudosos pais e aos meus tios Dulce e Pedro.

## Agradecimentos

A Deus, pelo presente da vida.

À minha filha, Fernanda pelo seu amor.

Ao meu orientador, Professor e amigo Maurício Frota pela confiança, dedicação, orientação técnico-científica e incentivo irrestritos.

Aos co-orientadores Dr<sup>a</sup> Elisabete De Nadai Fernandes (CENA/USP) e Dr. Peter Bode (Delft-University/Holanda) pelas relevantes contribuições científicas e por agregarem a visão externa e internacional no desenvolvimento deste trabalho pioneiro no Brasil.

Ao Fernando, pela paciência, companheirismo e dedicação em todos os momentos dessa jornada.

Às minhas irmãs Agnes, Aline e Angela e a todos meus amigos que me apoiaram e estimularam.

À secretária do Pós-MQI Eliane Albernaz, que neste momento deixa o Programa para assumir novas responsabilidades na Universidade, e à nova secretaria Márcia Ribeiro, pelo apoio administrativo e dedicação pessoal.

À direção do Jockey Club Brasileiro, em especial ao Doutor Ítalo Rodrigues por terem percebido a relevância da presente pesquisa de mestrado que contribuiu para aprimoramento da confiabilidade metrológica do Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB).

À minha chefe imediata, Marta Tozzi, Gerente do LAD/JCB, pelo incentivo permanente e contribuições técnico-científicas, liberando-me em regime de tempo parcial para desenvolvimento desta pesquisa de mestrado. Aos colegas do Laboratório Antidoping, Adhemar, Eunice, Lúcia, Carla, Jair, Anete, Andreia e Evellyn pela parceria, amizade e por suprirem a minha falta.

À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) e ao Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT) pelo apoio institucional do Fundo Setorial Verde-Amarelo

(Convênio FINEP/MCT no. 22.01.0692.00, Referência 1974/01), articulado no contexto de uma cooperação celebrada entre o Jockey Club Brasileiro, por intermédio do seu Laboratório Antidoping; a Sociedade Brasileira de Metrologia e a Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, por intermédio do seu Programa de Pós-Graduação em Metrologia, disponibilizando recursos financeiros, infra-estrutura laboratorial e competência técnico-científica que tornou possível o desenvolvimento desta dissertação de mestrado. Por tratar-se de um problema cuja solução requeria conhecimentos avançados de metrologia, normalização e qualidade, a presente pesquisa de Mestrado foi enquadrada dentre os dez projetos-piloto previstos no escopo do referido Convênio celebrado com a FINEP/MCT.

Aos amigos Glória Maurício, Alexandre Rodrigues, Olívia Pinto, Miguel Christino, Elizete Rangel e Marcos José pelo carinho e parceria durante o curso.

Ao Dr. Yves Bonnaire do *Laboratoire LAB – Controle Antidopage (França)* pela cooperação técnica estabelecida com o Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro, em cujo contexto foi autorizado o uso do método analítico “ALCALINS SUR C18”.

Aos professores da banca examinadora.

Ao designer André Leonardo pelo suporte gráfico.

Aos colegas da PUC-Rio.

## Resumo

Lima, India Maria Hiluf de. **Confiabilidade metrológica do Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro. Estudo de caso: validação de método analítico para determinação de cafeína em urina de cavalos de corrida.** Rio de Janeiro, 2004. 197p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Metrologia. Área de concentração: Metrologia para Qualidade e Inovação. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio).

A presente pesquisa de mestrado relaciona-se ao desenvolvimento e à validação de um método analítico para detecção de substâncias proibidas em matrizes biológicas de cavalos de corrida e seu impacto na confiabilidade metrológica de serviços laboratoriais voltados à atividade turfística visando (i) a especificação de desempenho de um laboratório antidoping capacitado para identificar a presença de substâncias proibidas acordadas pela “indústria de carreiras de cavalo”; (ii) a adequação às condições brasileiras dos métodos analíticos aplicáveis à determinação antidoping em matrizes biológicas de animais em competição e (iii) a definição de um padrão de excelência harmonizado aos critérios da *International Federation of Horseracing Authorities* entendidos como instrumentos para a conquista do credenciamento do laboratório antidoping e subsequente participação em acordos internacionais de reconhecimento mútuo. Para fundamentar o desenvolvimento da pesquisa, o trabalho considerou como estudo de caso o *Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro* (LAD/JCB).

Original no seu escopo, o trabalho contribui para ampliar a abrangência da atividade de acreditação laboratorial no Brasil tendo em vista tratar-se de uma nova categoria de laboratório de ensaio ainda não existente na matriz laboratorial credenciada cuja confiabilidade laboratorial foi desenvolvida à luz dos critérios da norma internacional ISO/IEC 17025.

No contexto do desenvolvimento são ainda discutidos aspectos relevantes relacionados ao sistema da gestão laboratorial; expressão das incertezas de medição associadas à determinação antidoping em consonância a práticas e procedimentos internacionalmente consensados; capacitação de pessoal técnico especializado; rastreabilidade ao Sistema Internacional de Unidades (SI) e validação e adequação de metodologias analíticas utilizadas em laboratórios antidoping.

Atenção particular é direcionada ao “*Methode Alcalins Sur C-18*”, desenvolvido pelo “*Laboratoire LAB-Contrôle antidopage*” da França, aplicável a determinação da presença de substâncias dopantes em matrizes biológicas

(urina) de cavalos de corrida, utilizado como método fonte para o desenvolvimento de um método alternativo adequado às condições laboratoriais do Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro e moldado à detecção de substâncias dopantes mais freqüentes na atividade turfística brasileira.

Tendo a cafeína sido estatisticamente identificada a substância mais presente nas análises realizadas pelo Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro ao longo de seus sete anos de atuação, o “*Methodo Alcalins Sur C-18*” foi adequado e validado para sua determinação analítica. À pesquisa desenvolvida atribuem-se, também, créditos pela introdução de um novo atributo na validação qualitativa da metodologia, denominado “valor-limite de determinação”, subsidiando a determinação de uma faixa de concentração, para que resultados incorretos (“falso-positivos” e “falso-negativos”) não constem de laudos emitidos.

Adicionalmente à adequação e validação do método analítico desenvolvido, a pesquisa de mestrado contribuiu não apenas para atribuir visibilidade a uma nova categoria de laboratórios, mas, principalmente, para preparar o *Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro* para demonstrar sua competência técnica como estratégia de conquista de um credenciamento internacionalmente reconhecido.

A presente pesquisa de mestrado voltada ao equacionamento de um problema inédito no Brasil de interesse da indústria relacionada à atividade turfística desenvolveu-se no contexto do Convênio FINEP/MCT no. 22.01.0692.00, Referência 1974/01, que aportou recursos do Fundo Setorial Verde Amarelo para direcionar o esforço de pesquisa em metrologia para a solução de dez projetos-piloto de interesse da indústria. No caso específico da presente pesquisa intitulada ***Confiabilidade metrológica do Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro. Estudo de caso: validação de método analítico para determinação de cafeína em urina de cavalos de corrida*** colaboraram o Programa de Pós-Graduação em Metrologia da PUC-Rio, o Laboratório Antidoping do Jockey Club Brasileiro, o Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP), a Sociedade Brasileira de Metrologia (SBM) e a Delft University of Technology da Holanda (TUDELFF), que somam esforços para consolidar no país uma nova área em Metrologia em Química.

Adicionalmente a disponibilização de um método analítico para detecção da substância cafeína, adequado e validado às condições do LAD/JCB, a pesquisa contribuiu com a proposição de uma nova técnica para preparo e



fracionamento de amostras que impacta na redução de incertezas da cromatografia da cafeína, notadamente pelo ajuste no padrão interno (diazepam), inclusive racionalizando a prática experimental.

### **Palavras-chave**

Laboratório antidoping; confiabilidade metrológica; adequação e validação de métodos analíticos; metrologia química; dopagem; qualidade laboratorial; cafeína; atividade turfística.

## Abstract

Lima, India Maria Hiluf de. **Metrological reliability of the Antidoping Laboratory of the Brazilian Jockey Club. Study case: validation of analytical method for determination of caffeine in urine of race horses.** Rio de Janeiro, 2004. 197 pages. Master's Degree Paper – Graduate Program in Metrology for Quality and Innovation. PUC-Rio (Rio de Janeiro Pontifical Catholic University).

This Master's Degree dissertation addresses the development in adjustment and validation and the metrological reliability of laboratory services covering horseracing activities. The work includes (i) the specification of the performance of an antidoping laboratory capable of identifying the presence of forbidden substances, as defined by the "horse-racing industry"; (ii) the validation of analytical methods applicable in doping tests of biological matrices of competing animals to Brazilian laboratories conditions, and (iii) the definition of a standard of excellence in harmony with the criteria of the International Federation of Horseracing Authorities as the tools utilized for the accreditation of the antidoping laboratory and the subsequent participation in international agreements of mutual recognition. In order to validate the methodology, the Brazilian Jockey Club Antidoping Laboratory (LAD/JCB) was used as a study-case.

Original in its scope, this work contributes towards the widening of the accreditation of laboratories in Brazil, considering the fact this new category of testing laboratories is still nonexistent within the Brazilian network of accredited testing laboratories which considers the international standard ISO/IEC 17025 as the basic criteria.

With regard to development, some relevant aspects are still being discussed in relation to the laboratory management system: the unreliability of the measurements for the determination of doping, in view of internationally accepted practices and procedures; qualification of specialized technical personnel; traceability of SI (the International Unit System) and the validation and adjustment of analytical methodologies utilized in antidoping laboratories.

Special attention is dedicated to "*Methodes Alcalins Sur C-18*", developed by *Laboratoire LAB-Contrôle Antidopage* in France, applicable to the determination of the presence of doping substances in the biological matrix (urine) of

racehorses, used as method source for the development of an alternative method adjusted to the Antidoping Laboratory of the Brazilian Jockey Club conditions and molded to detection of the more frequents doping substances in the brazilian horserancing activities.

Having the caffeine been the doping substance statistically identified as the most frequent in the tests carried out by the Brazilian Jockey Club Antidoping Laboratory, along its seven years of services, the “*Methodo Alcalins Sur C-18*” was adapted and validated for its analytical determinations. The applied research carried out was also credited with the introduction of a new attribute to the methodology qualitative validation, designated as “limit-value for determination”, which provides key-information for the determination of a concentration band, in order that incorrect results (“false-positive” and “false-negative”) do not appear in the laboratory reports usually issued.

Besides the adaptation and validation of the analytical method thus developed, this Master’s Degree dissertation contributes not only towards greater visibility of a new category of laboratories, but mainly to the preparation of the Brazilian Jockey Club Antidoping Laboratory to demonstrate its technical capacity as a policy and strategy for becoming in the near future an internationally recognized accredited laboratory.

The present M.Sc. Dissertation addresses the metrological reliability of antidoping laboratories, a pioneering issue in Brazil, aiming at the solution of a problem related to the horse-racing industry. It was developed under the financial support of the FINEP/MCT Agreement no. 22.01.0692.00, Reference 1974/01 (*Green-Yellow governmental Sectoral Fund*) which droved research cooperative efforts in metrology to the solution of ten pilot-projects. In this case specifically, cooperated to the development of the M.Sc. research entitled **Metrological reliability of the Antidoping Laboratory of the Brazilian Jockey Club. Study case: validation of analytical method for determination of caffeine in urine of race horses** the following institutions: Post-Graduate Program in Metrology of PUC-Rio; the Antidoping Laboratory of JCB, Agriculture Nuclear Center of University of São Paulo (CENA/USP); the Brazilian Society of Metrology and the Delft University of Technology from Netherlands, closely cooperating to consolidate a new area of research in Metrology applied to Chemistry.

Besides the availability of an analytical method applicable to the determination of caffeine, adapted and validated to the Antidoping Laboratory of the Brazilian Jockey club conditions, the research contributes with a new technique in samples preparations and divisions that impacts in the uncertainties

reduction of caffeine's chromatography, specially for the adjustment in the internal standard (diazepan), also rationalizing the experimental practice.

### **Key-Words**

Antidoping laboratory; metrological reliability; adjustment and validation of analytical methods; chemical metrology; doping; laboratory quality; caffeine; horse racing activity.

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>23</b>
1.1. Contextualização	24
1.2. O papel da metrologia na atividade turfística	28
1.3. O Jockey Club Brasileiro: breve histórico	30
1.4. A gênese do cavalo puro sangue inglês	32
1.5. Laboratórios antidoping e agentes dopantes	34
<b>2. FUNDAMENTOS DA CONFIABILIDADE METROLÓGICA E A ATIVIDADE TURFÍSTICA NO CONTEXTO INTERNACIONAL</b>	<b>36</b>
2.1. A atividade turfística no contexto da prática internacional	38
2.2. A formalização e o reconhecimento da confiabilidade metrológica	41
2.3. Ensaio de proficiência: um elemento crítico da confiabilidade metrológica	42
<b>3. CONTROLE DE DOPAGEM NA ATIVIDADE TURFÍSTICA</b>	<b>45</b>
3.1. Medicação terapêutica versus doping	45
3.1.1. Medicação terapêutica	46
3.1.2. Doping: aspectos etimológicos	47
3.2. Contaminantes exógenos	49
3.3. Legislação e limites de tolerância	50
3.4. Substâncias dopantes controladas no LAD/JCB	53
3.5. Métodos analíticos	53
3.5.1. Métodos analíticos empregados no LAD/JCB: descrição sucinta	54
3.5.2. Proposição de um novo método adequado ao LAD/JCB	57
<b>4. PROCESSAMENTO DE MATRIZES BIOLÓGICAS PARA ANÁLISE ANTIDOPING</b>	<b>58</b>
4.1. A coleta de amostras de matrizes biológicas	59
4.2. Armazenagem das amostras	62
4.3. Registro das amostras	64
4.4. Identificação das amostras de matriz biológica	64
<b>5. FASE 1 DA PESQUISA: DIAGNÓSTICO DOS AGENTES DOPANTES MAIS FREQUENTES NOS ENSAIOS DO LAD/JCB</b>	<b>65</b>

<b>6. ELEMENTOS DA CONFIABILIDADE METROLÓGICA EM LABORATÓRIOS ANTIDOPING</b>	<b>68</b>
6.1. Sistema de gestão laboratorial	69
6.2. Validação de metodologias analíticas	70
6.2.1. Fatores críticos convencionais	72
6.2.2. Proposição de um novo fator crítico para validação de metodologias analíticas	75
6.3. Controle de equipamentos e instrumentos de medição	76
6.4. Rastreabilidade ao Sistema Internacional de Unidades (SI)	81
6.5. Fontes de erros freqüentes em laboratórios de ensaio	82
<b>7. FASE 2 DA PESQUISA: DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DA SUBSTÂNCIA DOPANTE CAFEÍNA</b>	<b>86</b>
7.1. Caracterização sucinta do Methode ALCALINS SUR C18	86
7.2. Formulação do Método ALCAC-18	89
7.3. Aplicação do Método ALCAC-18 para determinação da cafeína	89
7.3.1. A Substância dopante cafeína	90
7.3.2. O processo de coleta de amostras de urina	91
7.3.3. Preparo da solução estoque padrão de cafeína	91
7.3.4. Padrão interno para validação do método analítico	92
7.3.5. Extração das amostras	93
7.3.5.1. Reagentes	93
7.3.5.2. Instrumentação utilizada	93
7.3.5.3. Purificação e ajuste de pH das amostras	94
7.3.5.4. Técnica de extração por fase sólida	94
7.3.6. Procedimento analítico de separação e detecção das amostras	95
7.3.6.1. Gás de arraste utilizado na cromatografia	95
7.3.6.2. Análise cromatográfica	95
7.4. Qualificação do Método ALCAC-18	96
<b>8. FASE 2 DA PESQUISA: VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PROPOSTO PARA DETERMINAÇÃO DO AGENTE DOPANTE CAFEÍNA</b>	<b>97</b>
8.1. Desenvolvimento experimental	97
8.2. Resultados da validação do método analítico proposto para determinação do agente dopante cafeína	98
8.2.1. Validação: estudo do fator crítico seletividade (especificidade)	98
8.2.2. Validação: estudo do fator crítico limite de detecção	106
8.2.3. Validação: estudo do fator crítico linearidade	112

8.2.4. Validação: estudo do fator crítico exatidão	115
8.2.5. Validação: estudo do fator crítico precisão	119
8.2.5.1. Estudo do fator crítico repetitividade	119
8.2.5.2. Estudo do fator crítico reprodutibilidade	122
8.2.6. Validação: estudo do fator crítico recuperação	128
8.2.7. Validação: estudo do fator crítico robustez	131
8.2.8. Proposição de um novo fator crítico de validação: o valor-limite de determinação	135
8.3. Valor-limite de determinação: estimativa da incerteza da medição	138
<b>9. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES</b>	<b>142</b>
<b>10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>146</b>
<b>11. BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTAR</b>	<b>149</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>153</b>

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Certificado de participação do LAD/JCB no Programa de Proficiência da Association of Official Racing Chemists (AORC).	44
<b>Figura 2.</b> Colocação do lacre no frasco plástico.	60
<b>Figura 3.</b> Identificação com etiqueta de prova ou contraprova.	60
<b>Figura 4.</b> Malotes de plástico para prova e contraprova.	61
<b>Figura 5.</b> Livro de registros das etiquetas.	61
<b>Figura 6.</b> Câmara frigorífica para armazenagem de amostra (provas) $-5^{\circ}\text{C} < T < +5^{\circ}\text{C}$ .	63
<b>Figura 7.</b> Câmara frigorífica para armazenagem de contraprova. $-20^{\circ}\text{C} < T < -15^{\circ}\text{C}$ .	63
<b>Figura 8.</b> Elementos da Confiabilidade Metrológica.	69
<b>Figura 9.</b> Região de falso-positivo e falso-negativo de cafeína na amostra analisada e o valor-limite de determinação.	75
<b>Figura 10.</b> Componentes do Cromatógrafo a gás.	77
<b>Figura 11.</b> Sistema sensor-forno-controlador de temperatura.	79
<b>Figura 12.</b> Estrutura hierárquica da lógica da rastreabilidade de padrões.	81
<b>Figura 13.</b> Diagrama de causa e efeito aplicado na identificação de fontes de erro e controle de processos de análises.	84
<b>Figura 14.</b> Fórmula estrutural da cafeína.	90
<b>Figura 15.</b> Extração por fase sólida com equipamento denominado cuba a vácuo.	94
<b>Figura 16.</b> Sistema cromatógrafo a gás / espectrômetro de massas.	95
<b>Figura 17.</b> Espectro de massas da substância dopante cafeína.	98
<b>Figura 18-a.</b> Cromatograma de Íons Totais da Amostra A (branco de urina).	100
<b>Figura 18-b.</b> Espectro de massas relativo à amostra A e sua comparação com dados de referência da Biblioteca AORC.	100
<b>Figura 19-a.</b> Cromatograma de Íons Totais da Amostra B (branco de urina).	101
<b>Figura 19-b.</b> Espectro de massas relativo à amostra B e sua comparação com dados de referência da Biblioteca AORC.	101
<b>Figura 20-a.</b> Cromatograma de Íons Totais da Amostra C (branco de urina).	102
<b>Figura 20-b.</b> Espectro de massas relativo à amostra C e sua comparação com dados de referência da Biblioteca AORC.	102
<b>Figura 21-a.</b> Cromatograma de Íons Totais da Amostra D (branco de urina).	103



<b>Figura 21-b.</b> Espectro de massas relativo à amostra D e sua comparação com dados de referência da Biblioteca AORC.	103
<b>Figura 22-a.</b> Cromatograma de Íons Totais da Amostra E (branco de urina).	104
<b>Figura 22-b.</b> Espectro de massas relativo à amostra E e sua comparação com dados de referência da Biblioteca AORC.	104
<b>Figura 23.</b> Espectro de massas relativo à substância cafeína e sua comparação com dados de referência da Biblioteca AORC.	106
<b>Figura 24.</b> Espectrogramas típicos da validação do fator crítico limite de detecção (24-a: resposta binária positiva e 24-b: resposta binária negativa).	108
<b>Figura 25.</b> Razão entre íons versus concentração (ng/mL), indicando as barras dos componentes da incerteza propagada, devido ao desvio padrão de cada íon.	111
<b>Figura 26.</b> Curvas de correlação do estudo do fator crítico Linearidade.	114
<b>Figura 27.</b> Curvas de correlação do estudo do fator crítico Exatidão.	117
<b>Figura 28.</b> Razão entre íons versus concentração de cafeína (ng/mL), indicando as barras dos componentes da incerteza propagada, devido ao desvio padrão de cada íon no primeiro dia de análise.	126
<b>Figura 29.</b> Razão entre íons versus concentração de cafeína (ng/mL), indicando as barras dos componentes da incerteza propagada, devido ao desvio padrão de cada íon no segundo dia de análise.	127
<b>Figura 30.</b> Representação do valor da recuperação e incerteza total combinada para os dois dias de análise.	130
<b>Figura 31.</b> Razão entre íons versus concentração de cafeína (ng/mL), indicando as barras dos componentes da incerteza propagada, devido ao desvio padrão de cada íon.	134
<b>Figura 32.</b> Concentração de cafeína (ng/mL) em urina versus resposta cromatográfica do íon 194.	135
<b>Figura 33.</b> Probabilidade versus Concentração de cafeína (ng/mL) em urina de cavalo puro-sangue inglês.	140
<b>Figura 34.</b> Condição ideal caracterizada pela inexistência de zonas de “falso-positivos” e “falso-negativos” em análises qualitativas.	141
<b>Figura 35.</b> Diferentes regiões que caracterizam a “faixa de não confiança” e as “faixas de confiança” em análises qualitativas.	141

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1.</b> Precisão do fluxo do gás de arraste e do volume de injeção do injetor automático.	81
<b>Tabela 2.</b> Síntese dos resultados das Tabelas I-3 e I-4.	111
<b>Tabela 3.</b> Média das razões entre os íons 194, 109 e 67 e componentes das incertezas associadas devido ao desvio padrão.	111
<b>Tabela 4.</b> Área do íon 194 subtraído o valor da área respectiva no “branco” de urina.	114
<b>Tabela 5.</b> Síntese dos resultados dos valores da Exatidão.	120
<b>Tabela 6.</b> Síntese dos resultados das Tabelas I-11 e I-12.	125
<b>Tabela 7.</b> Síntese dos resultados das Tabelas I-13 e I-14.	125
<b>Tabela 8.</b> Média das razões entre os íons 194, 109 e 67 e componentes das incertezas associadas devido ao desvio padrão no primeiro dia de análise.	125
<b>Tabela 9.</b> Média das razões entre os íons 194, 109 e 67 e componentes das incertezas associadas devido ao desvio padrão no segundo dia de análise.	126
<b>Tabela 10.</b> Síntese dos resultados das Tabelas I-19 e I-20.	134
<b>Tabela 11.</b> Média das razões entre os íons 194, 109 e 67 e componentes das incertezas associadas devido ao desvio padrão.	134
<b>Tabela 12.</b> Síntese dos resultados das Tabelas I-3 e I-4.	139
<b>Tabela 13.</b> Concentrações e probabilidades associadas a cada concentração.	140
<b>Tabela A-1.</b> Substâncias proibidas relacionadas segundo suas ações farmacológicas.	154
<b>Tabela I-1.</b> Teste de rejeição de resultados (Teste de Grubbs).	165
<b>Tabela I-2.</b> Teste Q- Critério de Dixon.	166
<b>Tabela I-3.</b> Íons característicos da cafeína: Medições e Cálculos Estatísticos. Dados originais.	167
<b>Tabela I-4.</b> Íons característicos da cafeína: Medições e Cálculos Estatísticos. Dados corrigidos.	170
<b>Tabela I-5.</b> Cálculo da exatidão para as cinco concentrações indicadas.	173
<b>Tabela I-6.</b> Cálculo da exatidão para as cinco concentrações indicadas.	176
<b>Tabela I-7.</b> Teste de rejeição de resultados (Teste de Grubbs).	179
<b>Tabela I-8.</b> Teste Q - Critério de Dixon.	180
<b>Tabela I-9.</b> Teste de rejeição de resultados (Teste de Grubbs).	181
<b>Tabela I-10.</b> Teste Q - Critério de Dixon.	182
<b>Tabela I-11.</b> Íons característicos da cafeína: Medições e Cálculos Estatísticos. Dados originais.	183

<b>Tabela I-12.</b> Íons característicos da cafeína: Medições e Cálculos Estatísticos. Dados corrigidos.	185
<b>Tabela I-13.</b> Íons característicos da cafeína: Medições e Cálculos Estatísticos. Dados originais.	187
<b>Tabela I-14.</b> Íons característicos da cafeína: Medições e Cálculos Estatísticos. Dados corrigidos.	189
<b>Tabela I-15.</b> Cálculo da recuperação.	191
<b>Tabela I-16.</b> Cálculo da recuperação.	192
<b>Tabela I-17.</b> Teste de rejeição de resultados (Teste de Grubbs).	193
<b>Tabela I-18.</b> Teste Q- Critério de Dixon.	194
<b>Tabela I-19.</b> Íons característicos da cafeína: Medições e Cálculos Estatísticos. Dados originais.	195
<b>Tabela I-20.</b> Íons característicos da cafeína: Medições e Cálculos Estatísticos. Dados corrigidos.	197

## Lista de quadros

<b>Quadro 1.</b> Ilustração artística da chamada do Grande Prêmio Brasil – 2004.	32
<b>Quadro 2.</b> Classificação das substâncias proibidas em função de suas ações farmacológicas.	36
<b>Quadro 3.</b> Lista de substâncias contaminantes ou dopantes em função dos respectivos limites de tolerância predefinidos pela International Federation of Horseracing Authorities (IFHA)	53
<b>Quadro 4.</b> Principais “substâncias proibidas”, total de ensaios realizados nos anos indicados e casos positivos de dopagem detectados nos anos indicados. Diagnóstico referente ao período de 1996 a 2002.	67
<b>Quadro 5.</b> Classificação de erros, características e fontes de erros freqüentes em laboratórios de ensaio.	84
<b>Quadro 6.</b> Síntese dos resultados da validação para o fator crítico Seletividade.	106

## Lista de Abreviaturas e Símbolos

- ABNT – Associação Brasileira de Norma Técnicas
- AORC – Association of Official Racing Chemists
- ARCI – Association of Racing Commissioners International, Inc.
- BIPM – Bureau Internacional de Pesos e Medidas
- CGEM – Sistema cromatógrafo a gás/ espectrômetro de massas
- CGPM – Conferência Geral de Pesos e Medidas
- CITAC – The Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry
- CNC – Código Nacional de Corridas
- EFS – Extração por fase sólida
- IAF – International Accreditation Fórum
- IE – Ionização por impacto de elétrons
- IEC – International Eletrotechnical Comission
- IFHA – International Federation of Horse racing Authorities
- ILAC – International Laboratory Accreditation Cooperation
- INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial.
- INPM – Instituto Nacional de Pesos e Medidas
- INT – Instituto Nacional de Tecnologia
- IPEM – Instituto de Pesos e Medidas do Rio de Janeiro
- IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas
- ISO – Organização Internacional de Padronização (do inglês, “*Inernational Organization for Standardization*”)
- JCB – Jockey Club Brasileiro
- LAD/JCB – Laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro
- NBR – Normas Brasileiras
- NIST – Instituto Nacional para Padrões e Tecnologia dos Estados Unidos (do inglês, “*National Institute for Standards and Technology, USA*”)
- PSI – Puro Sangue Inglês
- rpm – Rotações por minuto
- SI – Sistema Internacional de Unidades
- TR – Tempo de Retenção
- u – Unidade de massa atômica

ucc – unidade indicada pelo cromatógrafo, proporcional aos impactos do íon característico da cafeína captados pelo detector acoplado ao cromatógrafo (visualizados pelas áreas dos picos cromatográficos medidos por integral de área).

ucd – unidade indicada pelo cromatógrafo, proporcional aos impactos do íon característico do padrão interno de diazepam captados pelo detector acoplado ao cromatógrafo (visualizados pelas áreas dos picos cromatográficos medidos por integral de área).

VIM – Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia.