



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA QUÍMICA
E BIOLÓGICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DISCRIMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COCAÍNA E
ADULTERANTES EM DROGAS POR ESPECTROSCOPIA DE
INFRAVERMELHO E RESOLUÇÃO MULTIVARIADA DE
CURVAS**

ADRIANNE FONTINELE DA SILVA

Orientador: Dr. Jorge Jardim Zacca
Coorientador: Prof. Dr. Jez Willian Batista Braga

BRASÍLIA- DF
2016



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA QUÍMICA
E BIOLÓGICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DISCRIMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COCAÍNA E
ADULTERANTES EM DROGAS POR ESPECTROSCOPIA DE
INFRAVERMELHO E RESOLUÇÃO MULTIVARIADA DE
CURVAS**

ADRIANNE FONTINELE DA SILVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Química e Biológica, do Instituto de Química da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Dr. Jorge Jardim Zacca
Coorientador: Prof. Dr. Jez Willian Batista Braga

BRASÍLIA- DF
2016

FOLHA DE APROVAÇÃO

Comunicamos a aprovação da Defesa de Dissertação de Mestrado do (a) aluno (a) **Adriane Fontinele da Silva**, matrícula nº **14/0106723**, intitulada ***“Discriminação e Quantificação de Cocaína e Adulterantes em Drogas por Espectroscopia de Infravermelho e Resolução Multivariada de Curvas”***, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 6 de julho de 2016.

Dr. Jorge Jardim Zacca
Presidente de Banca (INC/DPF)

Prof. Dr. Alexandre Fonseca
Membro Titular (IQ/UnB)

Dr. Márcio Talhavini
Membro Titular (INC/PF)

Profª Drª Ingrid Távora Weber
Membro Suplente (IQ/UnB)

Em 6 de julho de 2016.

Dedico este trabalho a Deus, em primeiro lugar, por me conceder a oportunidade de concluir mais um projeto de vida e ao meu esposo, Michel, pelo incentivo, paciência e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Jorge Jardim Zacca, pela orientação, atenção, confiança, incentivo, paciência e inúmeros conhecimentos transmitidos.

Ao Prof. Dr. Jez Willian Batista Braga, pela orientação, atenção, confiança, incentivo e apoio fundamental no desenvolvimento desse projeto.

Ao Instituto de Química da Universidade de Brasília pela oportunidade de realização do mestrado e ao corpo docente pelos ensinamentos durante o Programa e contribuição para minha formação.

Às direções do Instituto Nacional de Criminalística e à Diretoria Técnico-Científica da Polícia Federal pelos insumos químicos, disponibilidade das instalações físicas, amostras e equipamentos.

A toda equipe do Serviço de Perícias de Laboratório e Balística do Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal pela colaboração, em especial ao perito-chefe Élvio Dias Botelho.

À Tatiane Souza Grobério por ter permitido o uso dos dados de FTIR de 550 amostras de cocaína para validação do método proposto.

À FINEP pelo financiamento de pesquisas que colaboraram com este estudo.

À Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal pela jornada de trabalho de 30h/semanais que possibilitou a realização das atividades deste mestrado.

Aos colegas de curso, especialmente, à Dina Raquel Silva e Karina Ferraz Ferro Costa, pela amizade, incentivo e apoio.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	2
1.1.	Objetivos Específicos.....	2
2.	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO.....	4
3.	RESOLUÇÃO MULTIVARIADA DE CURVAS.....	7
3.1.	Estimativa do número de componentes.....	7
3.2.	Estimativas Iniciais.....	8
3.3.	Imposição de Restrições.....	8
3.4.	Otimização por ALS	9
3.5.	Avaliação do modelo.....	10
4.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
4.1.	Cocaína.....	14
4.2.	Adulterantes e Diluentes da Cocaína	16
4.3.	Técnicas de análise de cocaína, adulterantes e diluentes	17
5.	MATERIAIS E MÉTODOS	22
5.1.	Planejamento de Misturas.....	22
5.1.1.	Pseudocomponentes.....	24
5.2.	Padrões e Reagentes	26
5.3.	Homogeneização da Amostra-Padrão de Cocaína na Forma de Base Livre.....	26
5.4.	Preparo das Misturas	27
5.5.	Amostras Reais	27
5.6.	Equipamentos	29
5.7.	Software	29
5.8.	Seleção de Amostras de Calibração e Validação.....	29
5.9.	Análise dos Dados	31
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6.1	Estimativas das Concentrações.....	34
6.2	Identificação de Adulterantes/Diluentes.....	43
6.3	Identificação e Classificação da Forma Química da Cocaína	44
6.4	Aplicação em um Caso Prático	45
7.	CONCLUSÃO.....	49
8.	REFERÊNCIAS.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Métodos espectroscópicos comuns baseados na radiação eletromagnética ²	4
Tabela 2. Composição das misturas em cada tetraedro.	23
Tabela 3. Composição das misturas complementares.	23
Tabela 4. Limites inferiores de cada componente nas misturas.	24
Tabela 5. Proporções reais (%) de cada componente nas misturas do Tetraedro 1.	25
Tabela 6. Proporções reais (%) de cada componente nas misturas do Tetraedro 2.	25
Tabela 7. Proporções reais (%) de cada componente nas misturas do Tetraedro 3.	26
Tabela 8. Adulterantes analisados em amostras reais.	28
Tabela 9. Composições (% m/m) das amostras reais selecionadas pelo algoritmo Kennard-Stone.	30
Tabela 10. Composição (% m/m) das nove misturas binárias e ternárias usadas na validação.	31
Tabela 11. Quantidade de amostras excluídas no conjunto de calibração de cada composto. ..	37
Tabela 12. Figuras de mérito para o conjunto de calibração e validação.	38
Tabela 13. Valores calculados de TFP, TFN, TSB, TSP e TEF para os adulterantes analisados e o diluente ácido bórico.	43
Tabela 14. TFP, TFN, TSB, TSP e TEF calculados para os adulterantes e o diluente ácido bórico, com os limites de detecção do CG e do método proposto equiparados.	44
Tabela 15. Valores calculados de TFP, TFN, TSB, TSP e TEF para a cocaína.	44
Tabela 16. Porcentagem de acertos, erros, não determinados e inconclusivos na classificação base livre/cloridrato da cocaína.	45
Tabela 17. Comparação entre a concentração estimada e de referência de amostras reais. ...	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas de execução do MCR-ALS.	7
Figura 2. Estrutura química da cocaína.	14
Figura 3. Formação do cloridrato de cocaína.	14
Figura 4. Planejamento centroide simplex ⁵² (adaptado).....	22
Figura 5. Espectro de uma amostra apreendida pela Polícia Civil.	27
Figura 6. Espectro de uma amostra apreendida pela Polícia Federal.	28
Figura 7. Imagem do Espectrômetro de Infravermelho utilizado. Em destaque o acessório de reflectância total atenuada.	29
Figura 8. Descrição detalhada das etapas 1 e 2 de execução do MCR-ALS.....	32
Figura 9. (A) Espectros de infravermelho de cocaína nas formas cloridrato e base livre. (B) Espectros de infravermelho dos adulterantes e diluentes estudados.....	34
Figura 10. Comparação entre os espectros puros reais (---) e estimados por MCR-ALS (---). R ² é o coeficiente de determinação entre o espectro real e o estimado.	35
Figura 11. Resíduo espectral de uma amostra real cuja composição é de 49,1% de cocaína base livre. Os restantes 50,9% são desconhecidos.	37
Figura 12. (A) Espectro puro do levamisol. (B) Espectro de uma mistura de 45% de levamisol, 45% de cafeína, 5% de ácido bórico e 5% de cocaína cloridrato.....	38
Figura 13. À esquerda, gráficos de concentração estimada versus concentração de referência. À direita, gráficos de erro absoluto versus concentração estimada. Calibração (o) e validação (*).	40

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

ATR	Reflectância Total Atenuada (<i>Attenuated Total Reflectance</i>)
ATR-FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Reflectância Total Atenuada (<i>Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
CG-DIC	Cromatografia Gasosa com Detecção por Ionização em Chama
EFA	Análise Evolucionária de Fatores (<i>Evolving Factor Analysis</i>)
FAj	Falta de Ajuste dos Dados
FN	Falso Negativo
FP	Falso Positivo
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
FT-NIRS	Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (<i>Fourier Transform Near Infrared Spectroscopy</i>)
HCA	Análise Hierárquica de Cluster (<i>Hierarchical Cluster Analysis</i>)
IR	Infravermelho (<i>Infrared</i>)
LD	Limite de Detecção
MCR	Resolução Multivariada de Curvas (<i>Multivariate Curve Resolution</i>)
MCR-ALS	Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternados (<i>Multivariate Curve Resolution with Alternating Least-Squares</i>)
NaN	Sem Número (<i>Not a Number</i>)
NIRS	Espectroscopia de Infravermelho Próximo (<i>Near Infrared Spectroscopy</i>)
PCA	Análise de Componentes Principais (<i>Principal Component Analysis</i>)
PCR	Regressão por Componentes Principais (<i>Principal Component Regression</i>)
PeQui	Projeto de Perfil Químico da droga
PF	Polícia Federal
PLS-DA	Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (<i>Partial Least Squares Discriminant Analysis</i>)
R	Reflectância
RMSEC	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração (<i>Root Mean Square Error of Calibration</i>)
RMSEP	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Previsão (<i>Root Mean Square Error of Prediction</i>)
SDV	Desvio Padrão dos Erros de Validação (<i>Standard Deviation of Validation</i>)
SEPLAB/INC/DPF	Serviço de Perícias de Laboratório e Balística do Instituto de Criminalística da Polícia Federal Brasileira

SIMPLISMA	Análise de Mistura Auto-Modelável Iterativa Simples de Usar (<i>SIMPLE-to-use Interactive Self-modeling Mixture Analysis</i>)
SVD	Decomposição em Valores Singulares (<i>Singular Value Decomposition</i>)
SVM-DA	Máquina de Vetor de Suporte para Análise Discriminante (<i>Support Vector Machines Discriminant Analysis</i>)
SWGDRUG	Grupo de Trabalho Científico de Análise de Drogas Apreendidas (<i>Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs</i>)
TEF	Taxa de Eficiência
TFN	Taxa de Falso Negativo
TFP	Taxa de Falso Positivo
TSB	Taxa de Sensibilidade
TSP	Taxa de Especificidade
UNODC	Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (<i>United Nations Office on Drugs and Crime</i>)
VN	Verdadeiro Negativo
VP	Verdadeiro Positivo
μ -FTIR	Micro Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (<i>Micro Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)

RESUMO

O consumo de cocaína é relatado há mais de 2500 anos, porém ao longo do tempo se tornaram evidentes os danos causados por essa substância à sociedade em geral. Atualmente, a cocaína é classificada como uma droga ilícita e, por isso, estudos que deem suporte aos órgãos responsáveis pela repressão ao tráfico de drogas, como a Polícia Federal (PF), em especial à área de inteligência policial, são de extrema relevância. Frequentemente, a cocaína comercializada não se encontra em sua forma pura, mas adicionada de adulterantes e diluentes. Para a análise de amostras apreendidas, o método de referência utilizado é baseado em cromatografia gasosa, cuja sensibilidade e seletividade são indiscutíveis. Entretanto, sua aplicação envolve destruição parcial ou total da amostra, consumo de solventes tóxicos, longo período de análise e treinamento operacional. Com isso, o interesse pelo uso de espectroscopia vibracional tem aumentado. Desse modo, o objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de uma metodologia de análise para amostras de cocaína adulterada e diluída empregando a Espectroscopia de Infravermelho com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR) associada à Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternados (MCR-ALS). Foram analisados 11 compostos puros, sendo 6 adulterantes, 3 diluentes e 2 formas de cocaína (base livre e cloridrato), 55 misturas preparadas em laboratório de acordo com um planejamento experimental e 20 amostras reais para a etapa de calibração. Para a validação, foram analisadas 717 amostras reais. Os resultados obtidos foram satisfatórios, demonstrando que o método proposto possui um grande potencial na classificação da forma química de cocaína e na discriminação de adulterantes e cocaína em amostras reais, fornecendo uma estimativa da concentração.

Palavras-Chave: Cocaína. Espectroscopia. Resolução Multivariada de Curvas.

ABSTRACT

Cocaine use has been reported for more than 2500 years, but along this period of time its damage to society in general became evident. Nowadays, cocaine is classified as an illicit drug and therefore studies which give support to drug repression institutions, such as the Brazilian Federal Police (BFP), particularly in the area of police intelligence are very relevant. Often, trafficked cocaine is not traded in its pure form, but mixed with adulterants and diluents. In the analysis of seized samples, the reference method is based on gas chromatograph whose sensitivity and selectivity are indisputable. However, its application involves partial or total destruction of the sample, use of toxic solvents, long period of analysis and operational training. Thus, the interest in the use of vibrational spectroscopy has increased. This work aims at developing a methodology for both adulterated and diluted cocaine samples employing Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) associated with Multivariate Curve Resolution with Alternating Least-Squares (MCR-ALS). A total of 6 adulterants, 3 diluents and 2 forms of cocaine (base and hydrochloride), 55 mixtures prepared in the laboratory according to a factorial design and 20 seized samples for calibration step have been studied. For validation purposes 717 seized samples were analyzed. The results proved to be satisfactory, showing that the proposed method has a great potential in the classification of the chemical form of cocaine, discrimination of adulterants and cocaine in seized samples, as well as providing an estimate for their concentration.

Keywords: Cocaine. Spectroscopy. Multivariate Curve Resolution.

CAPÍTULO 1

Introdução

1. INTRODUÇÃO

O tráfico de drogas ilícitas e seu consumo causam consequências devastadoras na sociedade, tais como o aumento da violência, mortalidade, dependência química e problemas severos à saúde dos usuários. A cocaína se destaca nesse cenário, sendo uma das drogas ilícitas mais consumidas no Brasil.¹

Frequentemente, a cocaína comercializada não se encontra em sua forma pura, mas misturada com adulterantes e diluentes que visam potencializar seus efeitos psicotrópicos ou reduzir efeitos indesejados, e aumentar o montante da droga, elevando, assim, os lucros do tráfico. O emprego desses adulterantes/diluentes apresenta uma grande variabilidade tornando imprevisíveis os riscos à saúde. Com isso, estudos que deem suporte aos órgãos responsáveis pela repressão do tráfico de drogas, como a Polícia Federal Brasileira (PF), em especial à área de inteligência policial, são de extrema relevância.

Tendo em vista a importância desse tema, essa dissertação apresenta informações sobre o histórico da cocaína, bem como suas propriedades químicas, efeitos no organismo humano, adulterantes e diluentes encontrados na droga e as técnicas de análise mais empregadas. Entre elas, destaca-se a espectroscopia de infravermelho que aliada a modelos quimiométricos demonstra um grande potencial na análise de drogas adulteradas e/ou diluídas, não envolvendo preparo sofisticado das amostras e nem operação técnica complexa. Além disso, os espectrômetros de infravermelho estão amplamente disponíveis na maioria das unidades de polícia científica, o que facilita a implementação e a disseminação dessa metodologia. Portanto, essa dissertação tem como objetivo principal desenvolver um método para a quantificação do teor de cocaína e seus principais adulterantes e diluentes, assim como a determinação da forma química da cocaína (cloridrato ou base livre), empregando a Espectroscopia de Infravermelho associada à Resolução Multivariada de Curvas, que é uma técnica quimiométrica de resolução de sinais, amplamente usada para a análise de misturas. Essa combinação de técnicas para esse propósito ainda não foi relatada na literatura especializada e, por isso, serão estudados o seu comportamento para diversos tipos de amostras de cocaína, suas limitações, principais vantagens apresentadas e a viabilidade da implementação em análise de rotina.

1.1. Objetivos Específicos

- Desenvolver um novo método de análise para amostras de cocaína adulterada e diluída empregando a Espectroscopia de Infravermelho associada à Resolução Multivariada de Curvas.
- Identificar a presença de cocaína e adulterantes/diluentes em amostras apreendidas.
- Fornecer uma estimativa da concentração de cocaína e adulterantes/diluentes majoritários.
- Obter a classificação da forma química da cocaína (base livre ou cloridrato) presente nas amostras.

CAPÍTULO 2
Espectroscopia de Infravermelho

2. ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO

A seguir será apresentada uma breve descrição de aspectos teóricos e instrumentais referentes à espectroscopia de infravermelho, uma vez que esse assunto já se encontra bem definido na literatura científica e livros-texto²⁻⁵.

A espectroscopia é definida como a interação de qualquer tipo de radiação eletromagnética com a matéria.² De acordo com o valor de energia da radiação eletromagnética, as transições entre os estados energéticos de átomos ou moléculas ocorrem diferenciadamente, como apresentado na Tabela 1, dando origem a diversos métodos espectroscópicos.

Tabela 1. Métodos espectroscópicos comuns baseados na radiação eletromagnética².

Método espectroscópico	Comprimento de onda (m)	Tipo de transição
Raios γ	$5 \cdot 10^{-13} - 1,4 \cdot 10^{-10}$	Nuclear
Raios X	$1 \cdot 10^{-11} - 1 \cdot 10^{-8}$	Eletrônica interna
Ultravioleta	$1 \cdot 10^{-8} - 1,8 \cdot 10^{-7}$	Eletrônica de ligação
Ultravioleta-Visível	$1,8 \cdot 10^{-7} - 7,8 \cdot 10^{-7}$	Eletrônica de ligação
Infravermelho e Raman	$7,8 \cdot 10^{-7} - 3 \cdot 10^{-4}$	Rotacional/Vibracional
Micro-ondas	$7,5 \cdot 10^{-4} - 0,375$	Rotacional
Ressonância de spin eletrônico	$3 \cdot 10^{-2}$	Orientação de spin
Ressonância magnética nuclear	0,6 – 10	Orientação de spin

A radiação infravermelha (IR, do inglês *Infrared*) foi descoberta pelo alemão William Herschel, no início do século XIX, e corresponde à parte do espectro eletromagnético situada entre as regiões do visível e das micro-ondas.⁶ Ela se divide em infravermelho próximo ($12.800-4.000 \text{ cm}^{-1}$), infravermelho médio ($4.000-200 \text{ cm}^{-1}$) e infravermelho distante ($200-10 \text{ cm}^{-1}$).²

A energia da radiação IR pode provocar transições vibracionais e rotacionais (infravermelho distante), porém é insuficiente para gerar transições eletrônicas. As transições rotacionais são aquelas em que a molécula se move em torno de seu centro de gravidade, enquanto nas transições vibracionais cada átomo se move individualmente com relação aos demais átomos.³

Para absorver a radiação IR, uma molécula precisa sofrer variação no momento de dipolo como consequência do movimento vibracional ou rotacional.^{4,5} Nessas circunstâncias, o campo elétrico alternado da radiação pode interagir com a molécula e causar variações na amplitude de seus movimentos.²

As vibrações moleculares podem ser classificadas em deformações axiais (ou de estiramento) e deformações angulares (ou dobramento). Uma vibração de deformação axial é um movimento rítmico ao longo do eixo da ligação que faz com que a distância interatômica aumente e diminua alternadamente.⁴ As vibrações de deformação angular correspondem a variações ritmadas de ligações que tem um átomo em comum ou o movimento de um grupo de átomos em relação ao resto da molécula sem que as posições relativas dos átomos do grupo se alterem.⁴

Os espectros no infravermelho médio exibem bandas de absorção estreitas, próximas umas das outras, resultantes das transições entre os vários níveis quânticos vibracionais; as variações nos níveis rotacionais podem também dar origem a uma série de picos para cada estado vibracional; com amostras líquidas e sólidas, contudo, a rotação é frequentemente encoberta ou restringida, e os efeitos dessas pequenas diferenças de energia não são detectados.³ A frequência ou o comprimento de onda de uma absorção depende das massas relativas dos átomos envolvidos nas ligações químicas, das constantes de força de ligações e da geometria das moléculas.⁴

Desse modo, a espectroscopia de infravermelho constitui uma poderosa ferramenta para a identificação de compostos orgânicos e inorgânicos puros porque, com exceção de poucas moléculas homonucleares, todas as espécies moleculares absorvem a radiação IR.⁵ Além disso, com exceção das moléculas quirais no estado cristalino, cada espécie molecular apresenta um espectro único e, com isso, é possível identificar um analito pela equivalência de seu espectro com outro de um composto com estrutura conhecida.³

Atualmente os instrumentos infravermelhos mais comumente encontrados nos laboratórios consistem de espectrômetros equipados com interferômetros e utilizam a transformada de Fourier para gerar o espectro de infravermelho.³ Esse equipamento detecta os comprimentos de onda simultaneamente, onde os sinais em cada número de onda são medidos a partir de um sinal modulado da fonte gerando o interferograma. O interferograma é subsequentemente decodificado pela transformada de Fourier, uma operação matemática realizada pelo computador, o qual é atualmente uma parte integrante de quase todos os espectrômetros.³ Entre as vantagens dos instrumentos com transformada de Fourier estão melhores relações sinal-ruído, determinações de frequência altamente exatas e reprodutíveis e maior resolução.²

A maioria das medidas realizadas em amostras sólidas nestes instrumentos é efetuada no modo transmitância e reflectância, sendo este último especialmente empregado em amostras de difícil manipulação, como filmes poliméricos, alimentos, borrachas e outros. Os espectros de reflexão, embora não sejam idênticos aos de absorção correspondentes, são semelhantes na aparência geral e fornecem a mesma informação.²

Um dos tipos de reflexão amplamente utilizado é a reflexão total atenuada (ATR, do inglês *Attenuated Total Reflectance*). Essa técnica baseia-se no fato de um feixe de luz refletido internamente pela superfície de um meio transmissor penetrar uma pequena distância além da superfície refletora e retornar ao meio transmissor durante o processo de reflexão.⁴ Se um material (amostra) com índice de refração menor do que o do meio transmissor é posto em contato com a superfície refletora, a luz atravessa o material até a profundidade de alguns micrômetros, produzindo, assim, um espectro de absorção.⁵ Uma das maiores vantagens da espectroscopia de ATR é que os espectros de absorção são obtidos rapidamente em uma grande variedade de tipos de amostras, com um mínimo de preparação, pressionando-se as amostras sobre cristais com alto índice de refração.²

CAPÍTULO 3
Resolução Multivariada de Curvas

3. RESOLUÇÃO MULTIVARIADA DE CURVAS

A Resolução Multivariada de Curvas (MCR, do inglês *Multivariate Curve Resolution*) é um método quimiométrico de resolução de sinais que pode fornecer informações qualitativas e quantitativas.⁷ Por meio do processamento de sinais, o MCR recupera valores de intensidade relativa e os espectros puros dos componentes da amostra, a partir de uma matriz de dados experimentais⁸, sendo um grande aliado na análise de misturas.

A equação 1 expressa a decomposição dos dados⁹ de um modo geral:

$$\mathbf{D} = \mathbf{C}\mathbf{S}^T + \mathbf{E} \quad (1)$$

em que \mathbf{D} é a matriz de respostas instrumentais, \mathbf{C} é a matriz de intensidades relativas, \mathbf{S} é uma matriz de espectros puros e \mathbf{E} uma matriz de resíduos.

O MCR-ALS é um tipo de MCR no qual o modelo é resolvido utilizando-se o algoritmo de mínimos quadrados alternantes, que iterativamente ajusta as matrizes \mathbf{C} e \mathbf{S} ao conjunto de dados \mathbf{D} . Para que o método MCR-ALS possa ser aplicado, o sinal analítico deve obedecer a uma relação semelhante à lei de Beer-Lambert, ou seja, os dados devem ter uma relação linear com a concentração.⁸ O algoritmo citado é suportado no ambiente MATLAB[®] e está disponível como ferramenta gratuita na internet¹⁰. Sua execução é realizada seguindo as etapas apresentadas na Figura 1.

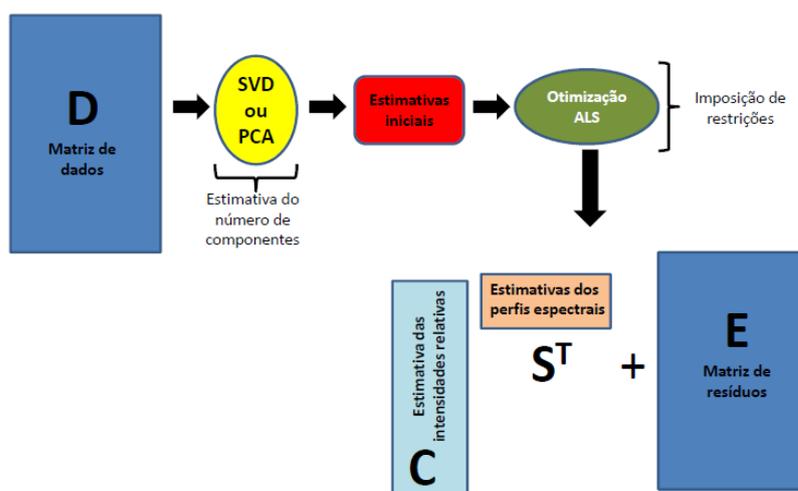


Figura 1. Etapas de execução do MCR-ALS.

3.1. Estimativa do número de componentes

O número de componentes da mistura pode ser inserido manualmente, em casos conhecidos, ou determinado por PCA ou por meio da percentagem de variância explicada por Decomposição em Valores Singulares¹¹ (SVD, do inglês *Singular Value Decomposition*). Para o modelo PCA, observa-se o gráfico de uma componente principal em função das variáveis (comprimentos de onda, por exemplo) e considera-se relevante aquela em que não há apenas ruído. O número de componentes principais relevantes é, idealmente, igual ao número de componentes da mistura.^{8,9}

Essa estimativa pode ser difícil em caso de dados ruidosos ou em casos onde vários compostos apresentam sinais colineares, perfis de concentração muito similares ou espécies em equilíbrio, como é o caso, por exemplo, de espécies em coeluição, que dificilmente podem ser diferenciadas, ou em equilíbrios químicos nos quais as espécies se interconvertem.⁸

3.2. Estimativas Iniciais

As estimativas iniciais do perfil de concentração ou dos espectros são necessárias para o início da iteração por ALS e podem ser obtidas por Análise Evolucionária de Fatores¹² (EFA, do inglês *Evolving Factor Analysis*), por métodos baseados na aproximação da variável pura (PURE) ou pela inserção de perfis de concentração conhecidos. O método EFA é usado em um conjunto de dados onde existe variação sequencial das informações químicas presentes como, por exemplo, no monitoramento de reações.¹³ Já o método PURE, baseia-se na seleção das colunas com as variáveis mais puras de acordo com o número de componentes estimados na amostras utilizando o método SIMPLISMA¹⁴ (do inglês, *SIMPLe-to-use Interactive Self-modeling Mixture Analysis*) e aplica-se a dados que não possuem uma ordenação na direção de \mathbf{C} e \mathbf{S}^T .⁹ É aconselhável selecionar o método para as estimativas iniciais que mais se aproxima do perfil analítico das amostras, evitando-se escolhas aleatórias.⁹

3.3. Imposição de Restrições

Para minimizar a ambiguidade de soluções possíveis, que tem como consequência diferentes resultados para um mesmo conjunto de dados, é possível impor restrições ao sistema baseado em conhecimentos prévios ou em critérios que garantirão sentido físico e químico ao resultado. Alguns exemplos são a não-negatividade, a unimodalidade, a seletividade ou posto local e o sistema fechado ou balanço de massa.

A não-negatividade permite somente soluções maiores ou iguais a zero, já a unimodalidade admite soluções com a presença de apenas um pico máximo no perfil. Ambas as restrições podem ser impostas às matrizes \mathbf{C} ou \mathbf{S} , ou às duas, e podem ser implementadas para um componente isolado ou até mesmo para todos.

A restrição de seletividade ou posto local é utilizada quando se tem a informação prévia que determinado componente está ausente em uma região espectral ou amostra. Neste caso, esta informação é passada ao modelo fazendo com que a intensidade relativa seja igual a zero. Esta restrição é muito útil nos casos onde amostras contendo interferentes são decompostas conjuntamente como amostras de calibração, onde se requer que o perfil de concentração do interferente seja zero.¹⁵

O sistema fechado ou balanço de massa faz com que o sistema obedeça a um critério de conservação de massas. Dessa forma, a soma das concentrações de todas as espécies envolvidas no equilíbrio químico é forçada a ser igual a um valor constante.¹⁶

3.4. Otimização por ALS

A partir das estimativas iniciais e após a definição das restrições que serão impostas, é possível iniciar a etapa de otimização iterativa. Em cada ciclo iterativo as matrizes \mathbf{C} e \mathbf{S}^T são calculadas, sob restrições, nas etapas¹³ seguintes, por mínimos quadrados:

1) Com as matrizes \mathbf{D} e \mathbf{S}^T , por exemplo, é possível calcular \mathbf{C}^* :

$$\mathbf{C}^* = \mathbf{D} \mathbf{S} (\mathbf{S}^T \mathbf{S})^{-1} \quad (2)$$

Sendo $\mathbf{S} (\mathbf{S}^T \mathbf{S})^{-1}$ a pseudo-inversa da matriz \mathbf{S}^T .

2) A partir de \mathbf{D} e \mathbf{C}^* , calcula-se \mathbf{S}^{T*} :

$$\mathbf{S}^{T*} = (\mathbf{C}^T \mathbf{C}^*)^{-1} \mathbf{C}^T \mathbf{D} \quad (3)$$

Sendo $\mathbf{C} (\mathbf{C}^T \mathbf{C})^{-1}$ a pseudo-inversa da matriz \mathbf{C} .

3) Calculam-se os valores da matriz \mathbf{D}^* a partir dos dados obtidos em \mathbf{C}^* e \mathbf{S}^{T*} .

$$\mathbf{D}^* = \mathbf{C}^* \mathbf{S}^{T*} + \mathbf{E}^* \quad (4)$$

4) Realiza-se um teste de convergência nos dados. Repete-se as etapas 1 e 2 até que a falta de ajuste dos dados⁹ (calculada pela Equação 5) entre duas iterações consecutivas seja menor que um valor crítico (geralmente 10^{-6}), tentando-se minimizar ao máximo a matriz de resíduos \mathbf{E} . Se o ALS não convergir, pode-se definir um número máximo de interações como critério de parada.⁷

$$FAj = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (d_{i,j} - \hat{d}_{i,j})^2}{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m d_{i,j}^2}} \quad (5)$$

no qual d_{ij} é um elemento da matriz \mathbf{D} original e \hat{d}_{ij} é o mesmo elemento obtido pelo modelo MCR-ALS.

A qualidade do resultado final do MCR pode ser avaliada comparando a matriz reconstituída \mathbf{D}^* com a matriz \mathbf{D} original. Indicadores dessa qualidade são a percentagem de falta de ajuste (Equação 5) e percentagem de variância explicada (r^2), determinada pela Equação 6. Assim, baixos valores de FAj são requeridos, bem como valores de r^2 o mais próximo possível de 1.⁸ Além de indicadores de qualidade, um dos critérios padronizados no método para o término das iterações é a não variação destes parâmetros após 10 iterações.

$$r^2(\%) = 100 \times \frac{\sum_{ij} \hat{d}_{ij}^2}{\sum_{ij} d_{ij}^2} \quad (6)$$

3.5. Avaliação do modelo

A matriz com os perfis de concentração **C** gerado pelo MCR-ALS corresponde a uma intensidade expressa em unidades relativas de cada espectro puro normalizado, Entretanto, ao serem analisadas amostras de calibração, é possível estabelecer a concentração das amostras desconhecidas por intermédio de uma regressão linear feita entre o perfil de intensidade relativa das amostras de calibração e seus valores de concentração conhecidos, como no modo univariado.¹³ Para avaliar a calibração do modelo proposto são calculados os seguintes parâmetros:

Raiz quadrada do erro médio quadrático de calibração¹⁷ (RMSEC, do inglês *Root Mean Square Error of Calibration*),

$$\text{RMSEC} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{N_{cal}}} \quad (7)$$

onde y_i é a concentração de referência, \hat{y}_i é a concentração estimada e N_{cal} é o número de amostras de calibração.

Limite de detecção¹⁸ (LD),

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S} \quad (8)$$

onde s é a estimativa do desvio padrão da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação e S é a inclinação (“*slope*”) ou coeficiente angular da curva analítica.¹⁸ Para calcular estes dados, uma curva analítica deverá ser feita utilizando a matriz contendo o composto de interesse na faixa de concentração próxima ao limite de detecção.

Ao serem analisadas amostras de validação, é possível avaliar a predição do modelo verificando-se a concordância entre a concentração de referência e os valores de concentração estimados, de acordo com as expressões a seguir:

Raiz quadrada do erro médio quadrático de previsão⁷ (RMSEP, do inglês *Root Mean Square Error of Prediction*),

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{N_{val}}} \quad (9)$$

onde y_i é a concentração de referência, \hat{y}_i é a concentração estimada e N_{val} é o número de amostras no conjunto de validação.

Viés médio¹⁹ (teste para erro sistemático),

$$viés = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)}{N_{val}} \quad (10)$$

Desvio padrão dos erros de validação¹⁹ (SDV, do inglês *Standard Deviation of Validation*),

$$SDV = \sqrt{\sum \frac{[(y_i - \hat{y}_i) - viés]^2}{N_{val} - 1}} \quad (11)$$

Teste-t para avaliar a significância do viés¹⁹,

$$t = \frac{|viés| \sqrt{N_{val}}}{SDV} \quad (12)$$

Caso o valor de t calculado seja menor que o seu valor crítico para ν graus de liberdade ($\nu = N_{val} - 1$), com 95% de confiança, o viés incluído no modelo pode ser considerado insignificante e desprezado.¹⁹

Taxa de Falso Positivo²⁰ (TFP),

$$TFP = \frac{FP}{FP + VN} \times 100 \quad (13)$$

onde, FP (falso positivo) é o número de amostras que apresentam teor estimado de um determinado composto acima do LD calculado para o método proposto, contudo, seu teor real está abaixo do LD do método de referência; VN (verdadeiro negativo) é o número de amostras cujo teor estimado de um determinado componente está abaixo do LD para o método proposto e o seu teor real está abaixo do LD do método de referência. Quanto mais próximo de 0%, melhores são os resultados.

Taxa de Falso Negativo²⁰ (TFN),

$$TFN = \frac{FN}{FN + VP} \times 100 \quad (14)$$

onde, FN (falso negativo) é o número de amostras que apresentam teor estimado de um determinado composto abaixo do LD calculado para o método proposto, contudo, seu teor real

está acima do LD do método de referência; VP (verdadeiro positivo) é o número de amostras cujo teor estimado de um determinado componente está acima do LD para o método proposto e o seu teor real está acima do LD do método de referência. Quanto mais próximo de 0%, melhores são os resultados.

Taxa de Sensibilidade²⁰ (TSB), apresenta a resposta do modelo à presença do analito. Quanto mais próximo de 100%, melhores são os resultados.

$$TSB = \frac{VP}{VP + FN} \times 100 \quad (15)$$

Taxa de Especificidade²⁰ (TSP), apresenta a resposta do modelo à ausência do analito. Quanto mais próximo de 100%, melhores são os resultados.

$$TSP = \frac{VN}{VN + FP} \times 100 \quad (16)$$

Taxa de Eficiência²⁰ (TEF), apresenta a capacidade de desempenho do modelo, considerando os erros obtidos. Quanto mais próximo de 100%, melhores são os resultados.

$$TEF = 100 - (TFP + TFN) \quad (17)$$

CAPÍTULO 4
Revisão Bibliográfica

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Cocaína

A cocaína é um alcaloide, estimulante do sistema nervoso central e anestésico local, extraído de plantas nativas da América do Sul do gênero *Erythroxylum* (*E. novagranatense* e *E. coca*).^{21,22} Sua estrutura química é apresentada na Figura 2, onde o grupo metil carbonila é responsável pela ação tóxica, o grupo benzoil carbonila é responsável pela ação anestésica e a estrutura da ecgonina é o metabólito que se incorpora na corrente sanguínea após o consumo e permanece por até 72 horas.²³

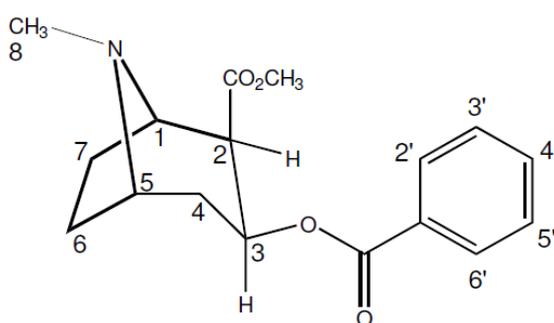


Figura 2. Estrutura química da cocaína.

A cocaína é uma base fraca, capaz de reagir com soluções aquosas de ácidos (Figura 3), orgânicos ou inorgânicos, formando sais, como o cloridrato de cocaína (mais comum) e o sulfato de cocaína.²⁴ A forma de base livre é insolúvel em água e o cloridrato de cocaína é insolúvel em éter etílico, enquanto ambas as formas são solúveis em metanol e clorofórmio.²⁵ A cocaína base livre é muito mais suscetível ao processo de hidrólise, enquanto o cloridrato de cocaína é mais estável.²⁴

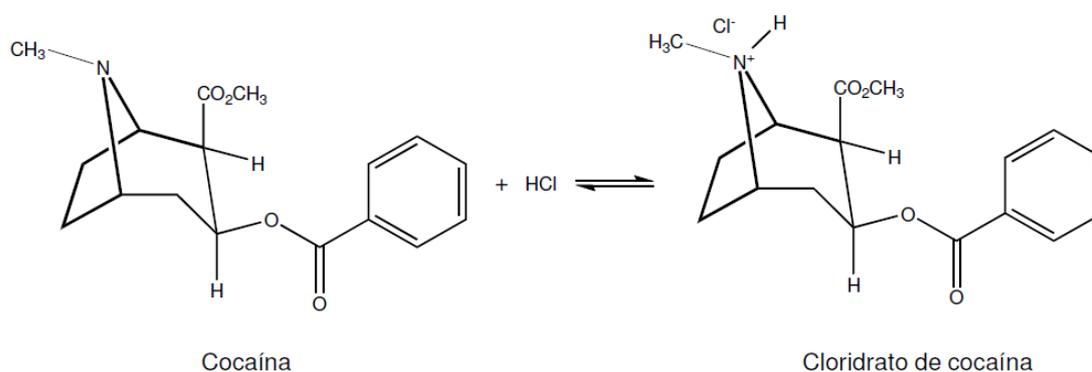


Figura 3. Formação do cloridrato de cocaína.

Várias formas de apresentação da cocaína são encontradas em apreensões.²⁴ Uma delas é a pasta base, cocaína na forma de base livre extraída como primeiro produto das folhas de coca e geralmente prensada para transporte. Outra forma de apresentação é a cocaína base, que é a pasta base refinada, ou seja, aquela que sofreu processos de oxidação ou

lavagens que retiram significativamente os alcaloides cis e trans-cinamoilcocaína. Já o crack é a cocaína na forma de base livre que passou por um processo de fusão, formando pedras não friáveis. A merla, por sua vez, é a cocaína na forma de base livre encontrada como uma pasta branca com alto teor de água (até 70%) e de sais de sódio (sulfato, carbonato, bicarbonato). Por fim, o cloridrato de cocaína é a forma de sal, encontrado como um pó branco destinado à aspiração intranasal ou injeção intravenosa, em função de sua alta solubilidade em água. Essas definições estão de acordo com as adotadas pelo Serviço de Perícias de Laboratório e Balística do Instituto de Criminalística do Departamento de Polícia Federal Brasileira (SEPLAB/INC/DPF) no Projeto de Perfil Químico da droga, denominado PeQui²⁶. Um estudo realizado por Silva Junior et al.²⁷ desmistificou o surgimento de uma nova forma de apresentação da cocaína, conhecida como “oxi”, que se diferenciaria do crack por conter óxido de cálcio e querosene (ou gasolina). Este estudo revelou que as amostras classificadas como “oxi” se tratavam, na realidade, das formas tradicionais de cocaína.

Dependendo da forma de consumo, a cocaína leva diferentes tempos para ser absorvida pelo organismo.²⁴ A sua ação mais evidente ocorre no sistema nervoso central, através de um bloqueio da recaptção da dopamina na fenda sináptica, causando sensações intensas de prazer, euforia, diminuição da necessidade de sono, aumento das sensações sexuais, redução do apetite, estado de hiperatividade com aceleração do pulso, aumento do ritmo respiratório, febre, hipertensão arterial, tremor nas mãos e agitação psicomotora.²⁸

O uso de cocaína fez parte de diversos momentos da história. Embora o alcaloide não tenha sido extraído até a metade do século XIX, foram encontradas em sítios arqueológicos no Peru folhas de coca colocadas junto às tumbas de sepultamento, testemunhando seu uso há mais de 2.500 anos.²⁹ A civilização inca, originária da região de Cuzco, cultivou e estabeleceu o consumo da coca, adotando algumas lendas sobre sua origem: uma delas afirma que a planta concedeu poderes aos homens para vencerem um deus maligno e outra lenda baseia-se no fato de que a planta foi um presente dos deuses para suportar a fome e a fadiga.²⁹

Em 1859, o químico alemão Albert Niemann conseguiu isolar, entre os numerosos alcaloides da folha de coca, o extrato de cocaína, representando o principal deles (80% do total).³⁰ Alguns anos após esse advento, mais precisamente em 1863, foi criada uma bebida que consistia na mistura de folhas de coca com vinho, conhecido como “*Vin Mariani*”, uma referência ao seu inventor, o químico Ângelo Mariani.³⁰ Em 1886, John Styth Pemberton criou um “*soft drink*” isento de álcool, para estar de acordo com os princípios religiosos da sociedade americana do século XIX, mas com cocaína e extrato de noz de cola. Nascia, assim, a Coca-Cola, que incluiu até 1903 a cocaína nos seus ingredientes.³¹

Na medicina, a cocaína se popularizou como um fármaco milagroso. Freud contribuiu de maneira decisiva para a divulgação da nova droga, quando, em 1884, publicou um livro chamado “*Uber coca*” (sobre a cocaína), no qual defendeu seu uso terapêutico como “estimulante, afrodisíaco, anestésico local, assim como indicado no tratamento de asma, doenças consuptivas, desordens digestivas, exaustão nervosa, histeria, sífilis e mesmo o mal-estar relacionado a altitudes”.³² Após quatro anos de sua publicação original, Freud voltou atrás, rendendo-se às evidências de que a “droga milagrosa” tinha uma série de inconvenientes, começando pelo seu potencial de criar dependência.³⁰

Em 1885, um químico, trabalhando para a indústria farmacêutica Parke Davis, revolucionou a produção ao descobrir uma maneira de produzir cocaína semi-refinada nos próprios países onde estavam instaladas as fábricas.³³ Viagens e armazenamento das folhas de coca foram simplificados, os preços caíram, e o consumo de cocaína semi-refinada aumentou substancialmente, tornando-se presente em farmácias, mercearias e bares.³³

Com o abuso do uso de cocaína, os seus efeitos nocivos se tornaram evidentes e acabaram por resultar na regulação e posterior proibição da substância. A Convenção Internacional do Ópio (1912), o *Harrison Act*, de 1914, nos Estados Unidos, ou o Decreto-lei Federal nº 4.292 de 6 de julho de 1921, no Brasil, tornaram a cocaína menos disponível para a população em geral.³⁰ Entre os efeitos nocivos do uso prolongado de cocaína destaca-se a anorexia, perda de peso, comprometimento da memória, alterações da personalidade e comportamentais, paranoia, psicose e alucinações.³⁴

Atualmente, o uso de cocaína é um grave problema social e de saúde pública. Segundo estudos publicados no Relatório Mundial sobre Drogas¹ de 2015, o percentual de usuários de cocaína na América do Sul passou de 0,7% da população no ano de 2010 para 1,2% em 2012, liderado pelo aumento do uso no Brasil. Ainda segundo este estudo, a vulnerabilidade do Brasil está associada à sua localização geográfica (proximidade a países produtores que facilita o tráfico internacional de drogas, principalmente para a Europa) e ao tamanho da população urbana (que propicia maior potencial de consumo).

4.2. Adulterantes e Diluentes da Cocaína

A cocaína ilícita frequentemente é adulterada e diluída para aumentar sua massa, ampliando os lucros do tráfico de drogas. Os adulterantes são definidos como substâncias farmacológicas que podem intensificar os efeitos psicotrópicos da cocaína ou reduzir reações adversas após o seu consumo, como a cefaleia.²⁴ Por outro lado, os diluentes são classificados como substâncias inativas que visam apenas aumentar a massa e o volume da cocaína comercializada, como açúcares e compostos inorgânicos.²⁴

Diversos estudos³⁵⁻⁴² identificaram benzocaína, cafeína, lidocaína, fenacetina, levamisol e aminopirina como os principais adulterantes presentes em amostras de cocaína apreendidas no Brasil, entre 2001 e 2014. De acordo com Maldaner et al.³⁵, o aparecimento de aminopirina deu-se a partir de 2011, em amostras apreendidas no Distrito Federal, e foi sugerida a sua possível associação com a fenacetina durante o processamento da droga. Bernardo et al.³⁶ encontraram resultados positivos na análise qualitativa de carbonatos, bicarbonatos, amido e açúcares em amostras apreendidas no ano de 2001 nos distritos de Alfenas e Varginha, no estado de Minas Gerais.

Os adulterantes e diluentes adicionados à cocaína estão em constante mudança, com variações temporais e geográficas que dificultam as investigações e tornam imprevisíveis os riscos à saúde.^{24,36} Desse modo, o desenvolvimento de metodologias de análise simultânea de cocaína, adulterantes e diluentes é de extrema importância no cenário de investigação policial.

4.3. Técnicas de análise de cocaína, adulterantes e diluentes

Entre as etapas de caracterização de amostras de cocaína apreendidas está a classificação da forma química, como sal (geralmente cloridrato de cocaína) ou base livre, e a determinação de adulterantes e diluentes.⁴³

A técnica comumente utilizada para classificação é baseada no teste de solubilidade realizado com água e éter etílico, seguido por precipitação com ácidos e bases, segundo metodologias recomendadas pela Polícia Federal brasileira⁴⁴, o Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes⁴⁵ (UNODC, do inglês *United Nations Office on Drugs and Crime*) e o Grupo de Trabalho Científico de Análise de Drogas apreendidas⁴⁶ (SWGDRUG, do inglês *Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs*). No entanto, a variedade de matrizes decorrentes das misturas com diferentes diluentes e adulterantes acarretam muitas vezes resultados inconclusivos, que requerem o desenvolvimento de testes mais eficientes.⁴⁷

Recentemente, Rodrigues et al.²¹ construíram um modelo de análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) utilizando as informações geradas pela técnica de espectroscopia de infravermelho com reflectância total atenuada (ATR-FTIR, do inglês *Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) para discriminar a forma química da cocaína em amostras apreendidas no estado de Minas Gerais. A classificação foi satisfatória para amostras com teores de cocaína acima de 20%, pouco adulteradas. Além disso, um modelo supervisionado discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA, do inglês *Partial Least Squares Discriminant Analysis*) foi desenvolvido para classificar as amostras também em função de sua forma química, apresentando taxas de acerto de 97%.

A determinação simultânea de cocaína e seus principais adulterantes/diluentes foi implementada a partir de diversas técnicas instrumentais reportadas na literatura, sendo a cromatografia gasosa^{35-37,39-42} o método mais empregado para essa finalidade. Não há dúvidas de que essa técnica é altamente sensível e seletiva, entretanto, sua aplicação envolve a destruição parcial ou total da amostra, consumo de solventes tóxicos, longo período de análise e de treinamento operacional.⁴⁸

Com isso, o interesse pelo uso de espectroscopia vibracional^{22,43,48,49}, que possibilita a determinação direta de componentes de drogas ilícitas, com o mínimo de etapas de preparação de amostras, tem aumentado, oferecendo alternativas “verdes” para análises de rotina. A combinação dessa técnica com modelos quimiométricos é uma alternativa promissora e simples para tornar possível esse objetivo.

O estudo conduzido por Pérez-Alfonso et al.⁴⁸ determinou cocaína em amostras apreendidas por espectroscopia de infravermelho próximo com transformada de Fourier (FT-NIRS, do inglês *Fourier Transform Near Infrared Spectroscopy*). Um modelo de calibração baseado em mínimos quadrados parciais (PLS) foi construído e os resultados de precisão obtidos foram similares aos gerados pelo método de referência adotado (Cromatografia Gasosa com Detecção por Ionização em Chama, CG-DIC) para um amplo intervalo de concentrações de cocaína. Contudo, nenhuma determinação de adulterante/diluyente foi realizada.

Marcelo et al.⁴⁹ analisaram 513 amostras de cocaína apreendidas no estado do Rio Grande do Sul por espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) para determinar o perfil da cocaína e avaliar alguns produtos farmacêuticos usados como adulterantes. Análise Hierárquica de Cluster (HCA, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*) e PCA foram usados para identificar perfis de adulteração entre as amostras, enquanto PLS-DA e outra ferramenta denominada Máquina de Vetor de Suporte para análise discriminante (SVM-DA, do inglês *Support Vector Machines Discriminant Analysis*) foram usadas para classificar a cocaína entre as formas químicas base livre e cloridrato. Os espectros de padrões de misturas sólidas de cocaína (base livre e cloridrato), fenacetina, lidocaína e cafeína foram analisados por PCA para prever qualitativamente o perfil da cocaína apreendida, com resultados satisfatórios. Os métodos de análise discriminante classificaram corretamente as amostras de cocaína com excelente sensibilidade e especificidade.

Grobério et al.⁴³ apresentaram um método baseado em ATR-FTIR e PLS para quantificar cocaína e seus adulterantes majoritários em amostras apreendidas pela Polícia Federal, entre 2009 e 2013. Os resultados indicaram que o método proposto foi capaz de discriminar a forma química da cocaína, entre cloridrato de cocaína e base livre, e estimar as concentrações de cocaína e dos adulterantes fenacetina, benzocaína, cafeína, lidocaína e aminopirina, com erro médio de predição de 3,0% (m/m), precisão de 2,0% e concentração mínima detectável de cocaína de 11,8% (m/m).

Penido et al.²² compararam as técnicas de espectroscopia Raman e ATR-FTIR associadas à regressão por componentes principais (PCR, do inglês *Principal Component Regression*) na quantificação de misturas binárias de cocaína (na forma de crack) com os adulterantes cafeína, benzocaína e lidocaína e o diluente carbonato de sódio. A espectroscopia Raman demonstrou maior precisão na análise quantitativa, com maiores coeficientes de correlação obtidos entre as concentrações estimadas e reais e menores erros de predição. A cafeína foi o composto que alcançou os melhores resultados ($r^2 = 0,98$ e erro = 7%), enquanto o carbonato de sódio apresentou o maior erro de predição (14%) e o menor coeficiente de correlação (0,92).

Não foram encontrados na literatura estudos reportando a quantificação simultânea de cocaína e outros diluentes (ácido bórico, amido e bicarbonatos). Da mesma forma, não foram identificadas publicações envolvendo a aplicação da espectroscopia de infravermelho associada à técnica quimiométrica de Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternados (MCR-ALS, do inglês *Multivariate Curve Resolution with Alternating Least-Squares*) em análise forense, que será avaliada neste trabalho. Contudo, alguns estudos demonstraram o potencial destas técnicas combinadas na quantificação de amostras diversas, tais como agrícolas⁵⁰, combustíveis⁵¹ e tintas⁹.

Azzouz e Tauler⁵⁰ apresentam uma aplicação do MCR-ALS na quantificação de diferentes analitos em amostras farmacêuticas e agrícolas, empregando a técnica de espectroscopia na região do UV-Visível para o primeiro tipo de amostra e espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIRS, do inglês *Near Infrared Spectroscopy*) para o segundo tipo, que será detalhada nesta revisão.

A amostra agrícola consistia no “azevém”, erva forrageira da família das gramíneas. Foram determinados os conteúdos de umidade e proteína e escolhidos aleatoriamente espectros oriundos de 125 amostras para calibração e 46 para validação. Os valores de concentração de referência de umidade e proteína estimados se mostraram entre 4,86 a 13,33% (m/m) para umidade e entre 6,53 a 21,70% (m/m) para proteína.

Para a determinação de umidade, obteve-se um valor de raiz quadrada do erro médio quadrático de previsão (RMSEP, do inglês *Root Mean Square Error of Prediction*) de 0,358 e coeficiente de determinação (r^2) de 0,964 e Bias (erro sistemático) igual a 0,043. Já para a determinação de proteína, o menor de RMSEP obtido foi de 0,808, o valor de r^2 encontrado de 0,983 e Bias igual a 0,046, indicando a validade do método para a aplicação nesse tipo de produto.

Em outro trabalho, Oliveira et al.⁵¹ descrevem duas aplicações do MCR-ALS em análise quantitativa. A primeira para a determinação da concentração de biodiesel em blendas por NIRS e a segunda para a determinação do antioxidante sintético N,N'-Di-sec-butil-*p*-fenilenodiamina presente em misturas de biodiesel usando espectroscopia UV-visível. Apenas a primeira aplicação será destacada, por se tratar de espectroscopia de infravermelho.

Foram preparados dois lotes de blendas contendo a mistura de diesel puro e biodiesel proveniente de soja. O primeiro lote era composto por 30 amostras que foram submetidas ao envelhecimento natural por 3 meses antes da análise. O segundo lote era composto por 8 amostras preparadas e analisadas no mesmo dia que o primeiro lote. A porcentagem de biodiesel determinada nas amostras foi de 0 a 20,5% (v/v). Dois terços dessas amostras foram empregadas na calibração e o restante na validação.

Os espectros recuperados pelo MCR-ALS para diesel e biodiesel demonstraram boa similaridade com os espectros de referência ($r^2=0,999$). A regressão linear entre a concentração de referência e a concentração predita pelo MCR-ALS foi igual a 0,992 e erro de 4,85%. Os resultados mostraram ser satisfatórios mesmo quando comparados com a técnica de PLS.

O estudo conduzido por Mas et al.⁹ apresenta a aplicação da micro espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (μ -FTIR, do inglês *Micro Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) aliada ao MCR-ALS para a identificação e quantificação de aglutinantes usados na produção de tintas medievais. Foram reproduzidas em laboratório 42 formulações de tintas medievais empregadas na calibração, sendo 21 amostras usando o pigmento *vermillion* (tinta vermelha) e 21 amostras com o pigmento *lapis-lazuli* (tinta azul). As formulações continham, também, misturas de três aglutinantes que podem ter sido, potencialmente, usados em tintas medievais: *parchment glue*, *egg white* e *egg yolk*, em diferentes proporções, seguindo um planejamento experimental. Amostras históricas provenientes de manuscritos medievais dos séculos XII e XIII produzidas em mosteiros portugueses também foram analisadas, sendo 83 amostras de tinta vermelha e 54 amostras de tinta azul.

Os resultados de coeficiente de correlação entre os espectros resolvidos das amostras históricas e o espectro puro de cada aglutinante nas amostras preparadas, para ambos os pigmentos, foram satisfatórios para *parchment glue* e *egg white* e insatisfatórios para *egg yolk*, uma vez que nenhum dos espectros resolvidos em amostras históricas se correlacionou com o

espectro puro deste composto. Os resultados obtidos para o coeficiente de correlação na calibração para a tinta vermelha foram 0,92, 0,96 e 0,97, respectivamente para *parchment glue*, *egg white* e *egg yolk*. Já para a tinta azul, os resultados foram iguais a 0,83, 0,90 e 0,92 para os mesmos aglutinantes. Os resultados mais baixos para tinta azul são explicados pela maior interferência de outros componentes que impedem a distinção entre o aglutinante *parchment glue* e *egg white*.

Diante dos trabalhos apresentados, que demonstram a viabilidade da combinação das técnicas de espectroscopia de infravermelho e MCR-ALS, será avaliada a aplicação destas técnicas na análise de amostras de cocaína adulterada e diluída, verificando-se o comportamento, limitações e as melhores condições de trabalho do método proposto, além de sua utilidade como ferramenta de inteligência policial.

CAPÍTULO 5
Materiais e Métodos

5. MATERIAIS E MÉTODOS

Todas as análises realizadas no desenvolvimento deste trabalho foram executadas no SEPLAB/INC/DPF em Brasília, Distrito Federal.

5.1. Planejamento de Misturas

Foram selecionados os adulterantes e diluentes mais encontrados nas apreensões de cocaína feitas pela PF³⁵. São eles: aminopirina, benzocaína, cafeína, fenacetina, levamisol e lidocaína; e ácido bórico, amido e bicarbonato de sódio. Além disso, fez parte das misturas a cocaína na forma de base livre e na forma de cloridrato, alternadamente.

O modelo utilizado no planejamento foi o centroide simplex⁵² para o estudo de misturas contendo quatro componentes, que possui o formato de um tetraedro (Figura 4), onde os vértices representam os componentes puros, as arestas do tetraedro representam misturas binárias, as faces misturas ternárias e o interior do tetraedro contém misturas dos quatro componentes.

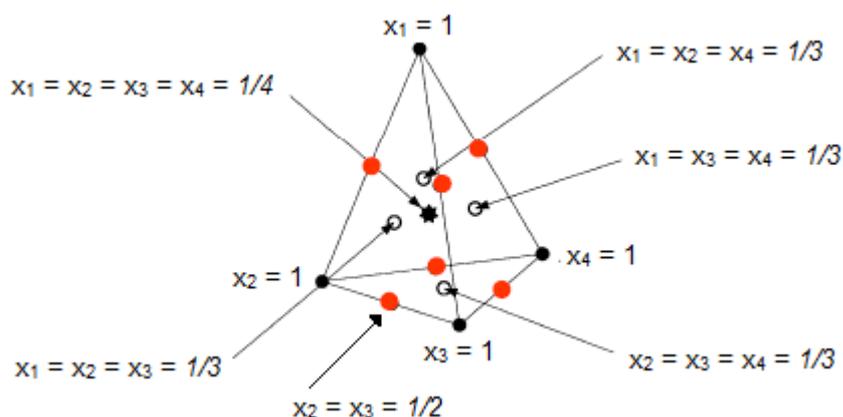


Figura 4. Planejamento centroide simplex⁵² (adaptado).

A Tabela 2 mostra a proporção de cada componente em uma mistura, onde x_1 , x_2 , x_3 e x_4 representam as frações mássicas das substâncias e n o número sequencial da mistura a ser preparada, totalizando 15 misturas para cada tetraedro. A soma das proporções dos componentes das misturas⁵² obedecem a Equação 18, onde q é o número de componentes, neste caso igual a 4.

$$\sum_{i=1}^q x_i = 1 \quad (18)$$

Para o estudo realizado, utilizaram-se três tetraedros contendo, cada um, dois adulterantes, um diluente e uma forma química da cocaína (base livre ou cloridrato) distintos, totalizando 45 misturas. O primeiro tetraedro foi composto por cafeína, levamisol, ácido bórico e cocaína cloridrato; o segundo por aminopirina, benzocaína, bicarbonato de sódio e cocaína

base livre e o terceiro por fenacetina, lidocaína, amido e cocaína base livre. A cocaína sob a forma de base livre encontra-se presente em dois tetraedros com o propósito de melhor representar sua incidência no total de apreensões efetuadas pela PF²⁶. A escolha dos componentes de cada tetraedro foi baseada no artigo publicado por Maldaner et. al³⁵ que mostra a incidência majoritária dos adulterantes em cada forma química da cocaína.

Para abranger uma maior faixa de concentração para cada componente e conferir maior robustez ao modelo, foram adicionadas 10 misturas complementares, binárias e ternárias, onde os componentes predominantes em amostras contendo cocaína na forma de base livre foram misturados com cocaína na forma cloridrato e vice-versa. A Tabela 3 apresenta os componentes dessas misturas e sua respectiva proporção.

Tabela 2. Composição das misturas em cada tetraedro.

<i>n</i>	<i>x</i> ₁	<i>x</i> ₂	<i>x</i> ₃	<i>x</i> ₄
1	1	0	0	0
2	0	1	0	0
3	0	0	1	0
4	0	0	0	1
5	0,5	0,5	0	0
6	0	0,5	0,5	0
7	0	0	0,5	0,5
8	0,5	0	0	0,5
9	0,5	0	0,5	0
10	0	0,5	0	0,5
11	0,333	0,333	0,333	0
12	0,333	0,333	0	0,333
13	0,333	0	0,333	0,333
14	0	0,333	0,333	0,333
15	0,25	0,25	0,25	0,25

Tabela 3. Composição das misturas complementares.

<i>n</i>	Componente / proporção		
1	Levamisol / 0,15	Lidocaína / 0,225	Cocaína cloridrato / 0,625
2	Levamisol / 0,15	Fenacetina / 0,625	Cocaína base livre / 0,225
3	Cafeína / 0,625	Fenacetina / 0,15	Aminopirina / 0,225
4	Lidocaína / 0,50	Benzocaína / 0,25	Aminopirina / 0,25
5	Aminopirina / 0,40	Benzocaína / 0,40	Cocaína cloridrato / 0,20
6	Levamisol / 0,625	Ácido bórico / 0,15	Aminopirina / 0,225
7	Aminopirina / 0,50	Ácido bórico / 0,50	-
8	Benzocaína / 0,50	Bicarbonato de sódio / 0,50	-
9	Amido / 0,65	Cocaína cloridrato / 0,35	-
10	Ácido bórico / 0,70	Cocaína base livre / 0,30	-

5.1.1. Pseudocomponentes

As proporções apresentadas na Tabela 2 estão descritas em termos de pseudocomponentes, ou seja, estão codificadas. Para o cálculo das proporções reais, representadas por c_i , aplica-se a Equação 19, que utiliza uma proporção mínima (>0) estabelecida para cada componente na mistura, denominada limite inferior e representada por a_i .⁵²

$$x_i = \frac{(c_i - a_i)}{1 - \sum_{i=1}^q a_i} \quad (19)$$

Onde:

x_i , é a proporção em termos de pseudocomponentes;

a_i , é o limite inferior para o componente i ;

q , é o número de componentes.

Os limites inferiores estabelecidos em cada tetraedro são apresentados na Tabela 4 e visam representar melhor o universo de amostras de cocaína adulteradas e diluídas encontradas em apreensões policiais. Na prática, é incomum que amostras de droga apreendidas apresentem pureza em torno de 100% em termos de cocaína e seus adulterantes e diluentes. Dessa forma, considerou-se que, abaixo do valor mínimo de 5%, adulterações, diluições e teores de cocaína não são significativos. No caso da cocaína base livre, utilizaram-se limites inferiores diferentes nos tetraedros 2 e 3. Isso foi feito no intuito de abranger faixas de concentração de cocaína diferentes nos planejamentos utilizados.

Tabela 4. Limites inferiores de cada componente nas misturas.

Tetraedro 1		Tetraedro 2		Tetraedro 3	
Componente	Limite inferior	Componente	Limite inferior	Componente	Limite inferior
Cafeína	0,05	Aminopirina	0,05	Fenacetina	0,05
Levamisol	0,05	Benzocaína	0,05	Lidocaína	0,05
Ácido Bórico	0,05	Bicarbonato de sódio	0,05	Amido	0,10
Cocaína Cloridrato	0,05	Cocaína Base Livre	0,30	Cocaína Base Livre	0,10

Estes limites mínimos também impõem limites máximos para os componentes. Assim, as Tabelas 5, 6 e 7 apresentam as proporções reais calculadas para cada tetraedro expressas em porcentagem (%).

Tabela 5. Proporções reais (%) de cada componente nas misturas do Tetraedro 1.

Tetraedro 1				
<i>n</i>	Levamisol	Cafeína	Ácido Bórico	Cocaína Cloridrato
1	85,0	5,0	5,0	5,0
2	5,0	85,0	5,0	5,0
3	5,0	5,0	85,0	5,0
4	5,0	5,0	5,0	85,0
5	45,0	45,0	5,0	5,0
6	45,0	5,0	45,0	5,0
7	45,0	5,0	5,0	45,0
8	5,0	45,0	45,0	5,0
9	5,0	45,0	5,0	45,0
10	5,0	5,0	45,0	45,0
11	31,7	31,7	31,7	5,0
12	31,7	5,0	31,7	31,7
13	31,7	31,7	5,0	31,7
14	5,0	31,7	31,7	31,7
15	25,0	25,0	25,0	25,0

Tabela 6. Proporções reais (%) de cada componente nas misturas do Tetraedro 2.

Tetraedro 2				
<i>n</i>	Benzocaína	Bicarbonato de Sódio	Aminopirina	Cocaína Base Livre
16	60,0	5,0	5,0	30,0
17	5,0	60,0	5,0	30,0
18	5,0	5,0	60,0	30,0
19	5,0	5,0	5,0	85,0
20	32,5	32,5	5,0	30,0
21	32,5	5,0	32,5	30,0
22	32,5	5,0	5,0	57,5
23	5,0	32,5	32,5	30,0
24	5,0	32,5	5,0	57,5
25	5,0	5,0	32,5	57,5
26	23,3	23,3	23,3	30,0
27	23,3	5,0	23,3	48,3
28	23,3	23,3	5,0	48,3
29	5,0	23,3	23,3	48,3
30	18,8	18,8	18,8	43,8

Tabela 7. Proporções reais (%) de cada componente nas misturas do Tetraedro 3.

Tetraedro 3				
<i>n</i>	Amido	Fenacetina	Lidocaína	Cocaína Base Livre
31	80,0	5,0	5,0	10,0
32	10,0	75,0	5,0	10,0
33	10,0	5,0	75,0	10,0
34	10,0	5,0	5,0	80,0
35	45,0	40,0	5,0	10,0
36	45,0	5,0	40,0	10,0
37	45,0	5,0	5,0	45,0
38	10,0	40,0	40,0	10,0
39	10,0	40,0	5,0	45,0
40	10,0	5,0	40,0	45,0
41	33,3	28,3	28,3	10,0
42	33,3	5,0	28,3	33,3
43	33,3	28,3	5,0	33,3
44	10,0	28,3	28,3	33,3
45	27,5	22,5	22,5	27,5

5.2. Padrões e Reagentes

Os padrões de aminopirina (100%), benzocaína (99%), fenacetina (99,8%), cloridrato de tetramisol (100%) e cloridrato de lidocaína monohidratado (99%) foram adquiridos da Sigma-Aldrich®. O padrão de cafeína (98,5%), por sua vez, foi adquirido da Acros Organics®. Como padrão de cocaína base livre (94,4%) e cocaína cloridrato (93,7%) foram selecionadas amostras reais de maior pureza, quantificadas de acordo com o método desenvolvido pelo SEPLAB/INC/DPF para determinação de cocaína, cinamoilcocaínas e fármacos adulterantes por CG-DIC^{27,53}.

Os diluentes ácido bórico (99,8%), amido (100%) e bicarbonato de sódio (99,7%) foram utilizados na forma de reagentes P.A. adquiridos da ACS, JT Baker e Synth, respectivamente.

5.3. Homogeneização da Amostra-Padrão de Cocaína na Forma de Base Livre

Para homogeneização de amostras de cocaína sob a forma de base livre foram utilizados um almofariz e pistilo de porcelana. Foram adicionadas pequenas quantidades de nitrogênio líquido (aproximadamente 5 mL) para a vitrificar a amostra. Em seguida, a amostra vitrificada foi macerada até a obtenção de um pó fino e homogêneo e armazenada em frasco plástico com tampa, conforme determina procedimento operacional do SEPLAB/INC/DPF^{27,53}.

5.4. Preparo das Misturas

A pesagem dos padrões e reagentes foi realizada em uma balança analítica *Mettler Toledo*, modelo *XP-205-Excellence Plus*. Para a pesagem de uma mistura, utilizou-se uma única cápsula de porcelana, onde, após a pesagem do primeiro componente, a balança era tarada e, em seguida, era realizada a pesagem do segundo composto e assim sucessivamente. Após a pesagem, as misturas foram homogeneizadas com auxílio de um pistilo de porcelana e, prontamente, armazenadas em tubos plásticos com tampa rosqueável e mantidas em dessecador.

As misturas que continham os adulterantes aminopirina e levamisol foram pesadas, conforme proporção descrita no planejamento (Tabelas 3, 5, 6 e 7), para uma massa total de, aproximadamente, 250 mg, enquanto as demais misturas obtiveram massa total de, aproximadamente, 500 mg. Essa diferença existiu em função da menor quantidade disponível para os padrões citados. Os valores pesados foram anotados e recalcularam-se as proporções das misturas, levando-se em consideração, também, a pureza dos padrões e reagentes.

5.5. Amostras Reais

Foram selecionadas 178 amostras oriundas de apreensões realizadas pelas Polícias Civis dos estados do Acre, Bahia, Goiás e São Paulo, entre 2014 e 2015. Dessas apreensões, 143 amostras continham cocaína na forma de base livre e 35 continham cocaína na forma de cloridrato, classificadas em análise prévia por FTIR e testes de solubilidade. Estas amostras se caracterizam por possuírem maior nível de adulteração e menores teores de cocaína. A Figura 5 é representativa do espectro normalizado de uma amostra real, cuja composição é de 19,9% (m/m) de cocaína base livre e 18,7% (m/m) de fenacetina. Os restantes 61,4% (m/m) correspondem a compostos desconhecidos ou não analisados pelo método de referência (CG-DIC) como, por exemplo, substâncias inorgânicas.

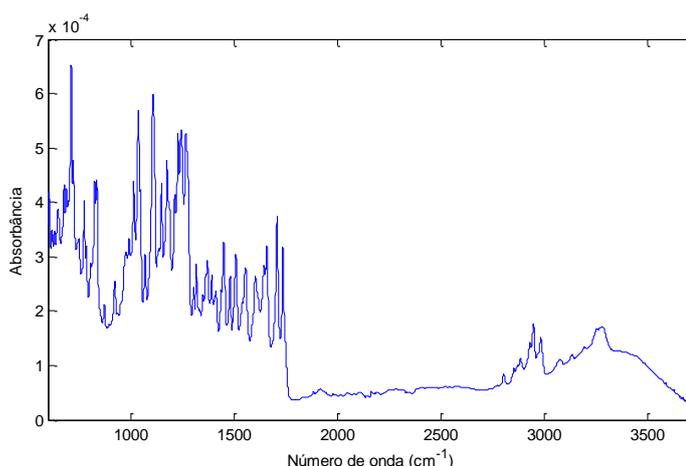


Figura 5. Espectro de uma amostra apreendida pela Polícia Civil.

Dentre as amostras provenientes da PF, foram escolhidas 550 amostras apreendidas em sete estados, incluídos no escopo do projeto de Perfil Químico da Droga (denominado

PeQui): Acre, Amazonas, Distrito Federal, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e São Paulo, entre 2009 e 2013. Desse total, 412 amostras continham cocaína na forma de base livre e 138 continham cocaína na forma de cloridrato, classificadas em análise prévia por testes de solubilidade de acordo com a metodologia recomendada pela Polícia Federal²⁵. Esse grupo de amostras, por estar associado predominantemente a apreensões de grande volume por parte da PF em áreas de fronteira, apresenta geralmente maior pureza em cocaína. A Figura 6 exemplifica o espectro normalizado de uma amostra cuja composição é de 70,2% (m/m) de cocaína base livre e 0,54% (m/m) de levamisol. Os restantes 29,26% (m/m) que completam a composição centesimal não são conhecidos.

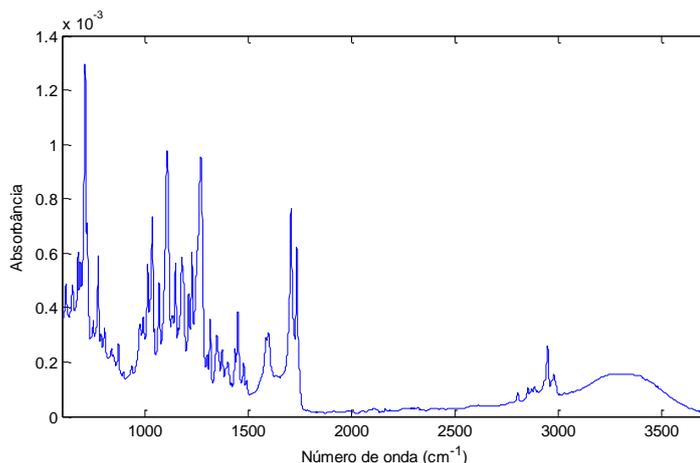


Figura 6. Espectro de uma amostra apreendida pela Polícia Federal.

A Tabela 8 apresenta os adulterantes analisados nas amostras reais, bem como a porcentagem de ocorrência de cada adulterante no conjunto total de amostras e o intervalo de concentração determinado por CG-DIC⁵³, adotado como método de referência.

Para a cocaína na forma de base livre o intervalo de concentração (% m/m) encontrado foi de 19,9 a 87,0 e para a cocaína na forma de cloridrato foi de 30,1 a 99,9. Por não serem rotineiramente quantificados nos laboratórios da PF, os diluentes ácido bórico, amido e bicarbonato de sódio não tiveram seus teores determinados nessas amostras.

Tabela 8. Adulterantes analisados em amostras reais.

Adulterantes	Número de amostras	% de ocorrência nas amostras	Faixa de concentração (%(m/m))
Aminopirina	60	8,4	1,0-6,6
Benzocaína	29	4,0	1,0-7,9
Cafeína	21	2,9	1,0-22,5
Fenacetina	323	44,4	1,0-54,1
Levamisol	433	60,4	1,0-29,2
Lidocaína	22	3,1	1,0-17,4

5.6. Equipamentos

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo gasoso, *Agilent Technologies* 6890N, com detector por ionização em chama. As condições cromatográficas foram as seguintes: volume de injeção de 0,1 mL; razão de Split de 50:1; coluna cromatográfica DB1-MS, temperatura do injetor de 280°C, temperatura do detector de 320°C. O hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min. Os resultados foram cedidos pelo SEPLAB/INC/DPF.

As análises espectroscópicas, foram realizadas em espectrômetro de infravermelho com Transformada de Fourier, Thermo Scientific, modelo Nicolet iS10, equipado com o acessório de reflectância total atenuada (SMART iTR), usando um cristal de diamante. As medições foram obtidas no modo de reflectância (R) com o acessório coberto por uma pequena quantidade das amostras. Os espectros foram coletados entre 4000 e 600 cm^{-1} , no modo 16 varreduras, com resolução de 4,0 cm^{-1} . O *background* foi registrado antes da aquisição dos espectros e um teste negativo foi realizado entre cada medida para verificar se o cristal estava devidamente limpo. A Figura 7 mostra o equipamento utilizado com destaque para o acessório de reflectância total atenuada.



Figura 7. Imagem do Espectrômetro de Infravermelho utilizado. Em destaque o acessório de reflectância total atenuada.

5.7. Software

A análise dos dados por MCR-ALS foi realizada através da MCR Toolbox (versão 2.0) disponibilizada por Jamout e Tauler¹⁰, suportada em ambiente MATLAB® (versão 7.12, R2011a).

5.8. Seleção de Amostras de Calibração e Validação

O conjunto de dados de calibração foi formado pelos espectros puros dos onze compostos analisados (ácido bórico, amido, aminopirina, benzocaína, bicarbonato de sódio, cafeína, cocaína base livre, cocaína cloridrato, fenacetina, levamisol e lidocaína), pelas 55 misturas previamente preparadas e por 20 amostras reais originárias da Polícia Civil, que estão

entre as amostras citadas na seção 5.5. Essas amostras foram selecionadas pelo algoritmo Kennard-Stone⁵⁴. O princípio deste algoritmo é a seleção de um número predefinido de amostras, distribuídas uniformemente no espaço, que represente todas as fontes possíveis de variância dos dados.⁵⁵ Desse modo, a primeira amostra selecionada é aquela com a maior distância a partir do centro dos dados, a amostra seguinte novamente é selecionada por apresentar a maior distância a partir do último ponto, e assim por diante, até completar o número de amostras predefinidas para o conjunto de calibração.^{56,57} As composições (% m/m) das amostras selecionadas são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9. Composições (% m/m) das amostras reais selecionadas pelo algoritmo Kennard-Stone.

Amostra	Aminopirina	Benzocaína	Cafeína	Cocaína Base Livre	Cocaína Cloridrato	Fenacetina	Levamisol	Lidocaína
1	0,0	0,0	41,7	0,0	18,4	1,3	0,0	3,5
2	0,6	0,0	0,0	73,4	0,0	1,2	0,0	0,0
3	0,0	55,1	0,0	26,4	0,0	0,8	0,0	0,0
4	0,0	0,0	0,0	0,0	72,1	0,0	23,9	0,0
5	0,0	0,0	0,7	0,0	32,7	0,0	0,0	0,0
6	0,0	0,0	0,0	43,3	0,0	42,4	0,0	0,0
7	0,0	0,0	0,0	53,4	0,0	0,0	0,0	0,0
8	0,0	0,0	0,0	14,7	0,0	81,0	0,0	0,0
9	0,0	0,0	32,7	0,0	33,2	0,0	0,0	8,5
10	0,0	0,0	0,0	0,0	22,5	0,0	0,0	0,0
11	0,0	0,0	31,9	39,0	0,0	0,0	0,0	4,8
12	0,0	0,0	0,0	0,0	29,0	0,0	6,2	48,6
13	0,0	0,0	0,0	20,0	0,0	13,0	0,0	0,0
14	0,3	27,7	0,0	42,8	0,0	12,1	0,0	0,0
15	0,0	0,0	2,2	0,0	42,8	0,0	0,0	0,0
16	0,0	0,0	0,0	49,1	0,0	0,0	0,0	0,0
17	0,0	0,0	0,0	0,0	47,2	0,0	0,0	0,0
18	0,0	0,0	0,0	74,2	0,0	9,2	0,0	0,0
19	0,0	0,0	26,9	0,0	53,5	0,0	12,6	0,0
20	0,0	0,0	0,0	30,4	0,0	36,2	0,0	0,0

O conjunto de dados de validação foi constituído por 717 amostras reais, oriundas das Polícias Cíveis e Polícia Federal, e 9 misturas binárias e ternárias preparadas e cedidas pelo SEPLAB/INC/DPF, cujas composições (% m/m) estão descritas na Tabela 10. Estas misturas tornaram possível validar o diluente ácido bórico.

Tabela 10. Composição (% m/m) das nove misturas binárias e ternárias usadas na validação.

Mistura	Ácido Bórico	Cocaína Base Livre	Cocaína Cloridrato
1	50	25	25
2	50	5	45
3	50	45	5
4	50	0	50
5	75	0	25
6	90	0	10
7	50	50	0
8	75	25	0
9	90	10	0

5.9. Análise dos Dados

Para a análise quimiométrica, os espectros foram redefinidos em escala de absorvância (Equação 20). Após análise visual, foi selecionado o intervalo de números de onda de 600 a 3726 cm^{-1} , visto que as demais regiões do espectro não influenciaram significativamente na diferenciação dos compostos em estudo.

$$A = \log\left(\frac{1}{R}\right) \quad (20)$$

Em seguida, realizou-se o pré-processamento dos espectros pelo método de normalização por comprimento de vetor unitário^{58,59}. Essa normalização é feita dividindo cada valor experimental (x_{ij}) pela raiz quadrada da soma dos quadrados de todos os demais valores experimentais correspondentes a uma mesma amostra (Equação 21). O objetivo é reduzir a influência de variações indesejadas presentes no conjunto de dados.^{58,59}

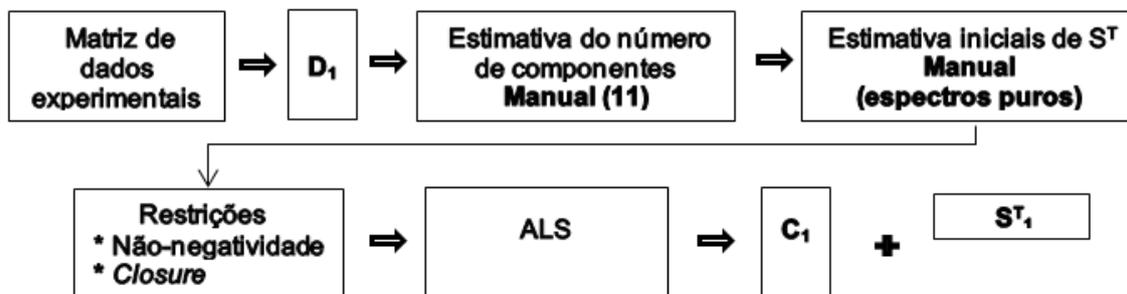
$$x' = \frac{x_{ij}}{\sqrt{\sum_{j=1}^p x_{ij}^2}} \quad (21)$$

Na execução do MCR-ALS, o número de componentes é conhecido a priori e foi fixado como sendo igual a 11. As estimativas iniciais dos espectros foram constituídas pelos espectros puros dos onze compostos a serem analisados. Foram realizados testes com a aplicação das restrições de não-negatividade e *closure*.

O MCR-ALS foi executado em duas partes. A primeira etapa consistiu da resolução apenas da matriz de calibração (\mathbf{D}_1), gerando as matrizes de concentração relativa (\mathbf{C}_1) e a matriz espectral (\mathbf{S}^T_1). Na segunda etapa, uniram-se as matrizes de calibração (\mathbf{D}_1) e de validação (\mathbf{D}_2), como dados de entrada, e fixaram-se as matrizes \mathbf{C}_1 e \mathbf{S}^T_1 obtidas na primeira

resolução, de modo que o algoritmo manteve os resultados anteriores da calibração e resolveu apenas a matriz de validação. Para tanto, adicionou-se à matriz C_1 o número de linhas correspondentes ao número de amostras de validação, preenchidas com a expressão NaN (do inglês *Not a Number*), dando origem a matriz C_{sel} . A Figura 8 detalha a execução das etapas das etapas citadas.

Etapa 1:



Etapa 2:

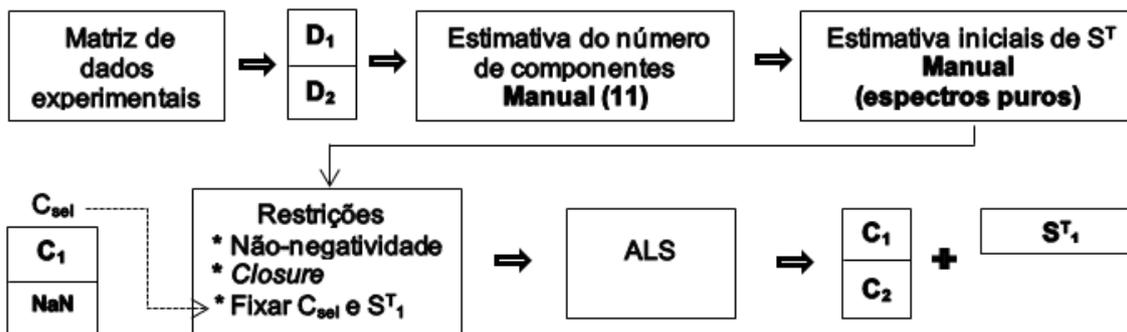


Figura 8. Descrição detalhada das etapas 1 e 2 de execução do MCR-ALS.

Esse procedimento foi realizado para que as amostras de validação não alterassem a resolução do conjunto de calibração devido à possível presença de substâncias desconhecidas.

CAPÍTULO 6
Resultados e Discussão

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros de infravermelho da cocaína cloridrato e cocaína base livre são apresentados na Figura 9A. A cocaína cloridrato possui uma banda de estiramento N-H característica da formação do sal cloridrato, localizada em 2500 cm^{-1} . Essa mesma banda de absorção não é identificada no espectro da cocaína base livre, onde, por outro lado, são encontradas bandas de intensidade média entre 3000 e 2800 cm^{-1} , sendo em 2945 cm^{-1} o pico mais intenso.²¹

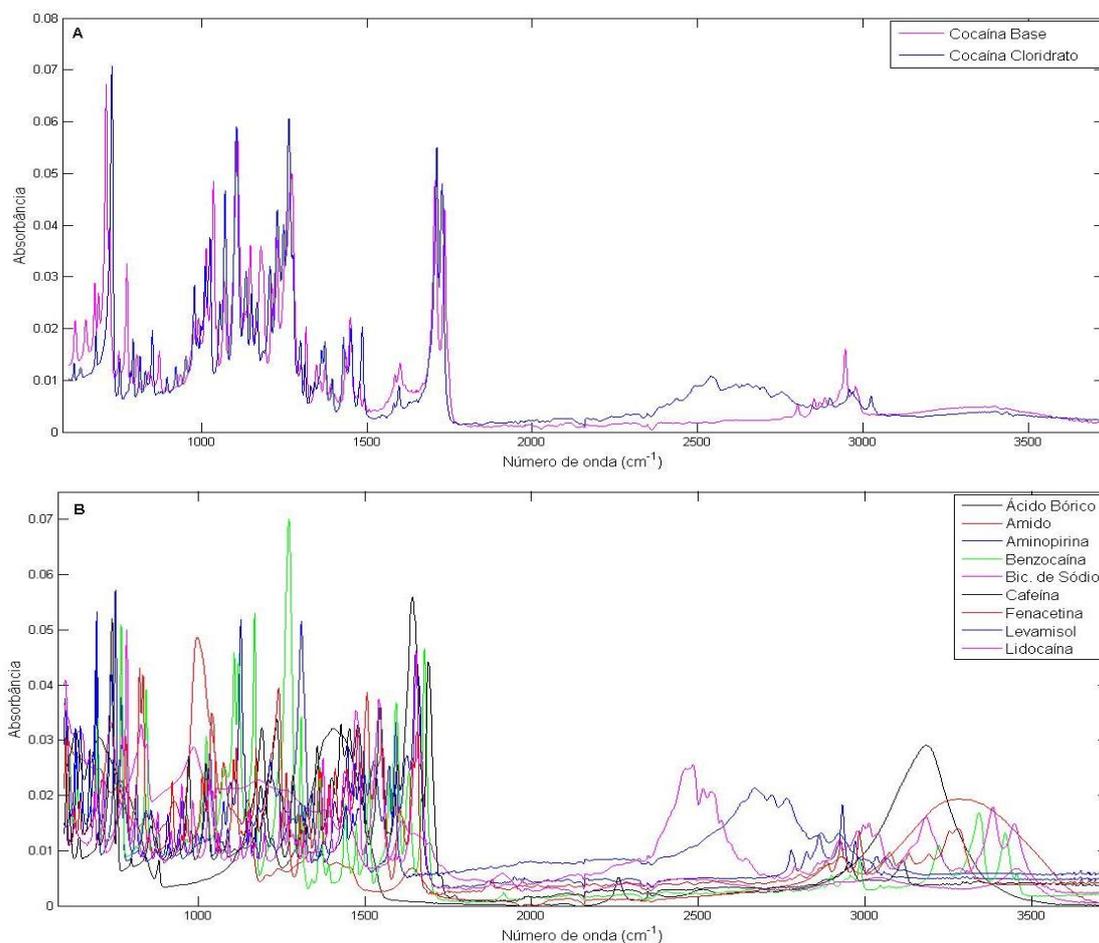


Figura 9. (A) Espectros de infravermelho de cocaína nas formas cloridrato e base livre. (B) Espectros de infravermelho dos adulterantes e diluentes estudados.

A Figura 9B mostra os espectros puros dos adulterantes e diluentes estudados, no qual é possível observar claramente áreas de sobreposição entre eles e bandas de absorção nas regiões características das formas de cocaína, o que dificulta a análise destes compostos sem um pré-tratamento da amostra ou por abordagens univariadas. Com isso, a aplicação da análise quimiométrica por meio do MCR-ALS é uma alternativa na resolução de espectros de misturas e será discutida adiante em quatro seções: estimativas das concentrações, identificação de adulterantes, identificação e classificação da forma de cocaína e aplicação em um caso prático.

6.1 Estimativas das Concentrações

Após a execução da primeira etapa do MCR-ALS descrita na seção 5.9, na qual se utilizou apenas o conjunto de calibração, observou-se que a aplicação da restrição *closure* não

resultou em diferenças significativas na resolução do algoritmo e optou-se pela exclusão desta restrição. Após essa alteração, o MCR-ALS foi executado novamente para o conjunto de calibração e obteve-se como resultado a matriz de intensidades relativas (C) e a matriz dos espectros estimados (S^T). Com a matriz S^T , realizou-se a comparação entre os espectros puros estimados pelo MCR-ALS e os espectros experimentais adquiridos por ATR-FTIR de cada composto analisado, bem como o cálculo do coeficiente de determinação obtido entre eles, que podem ser vistos na Figura 10.

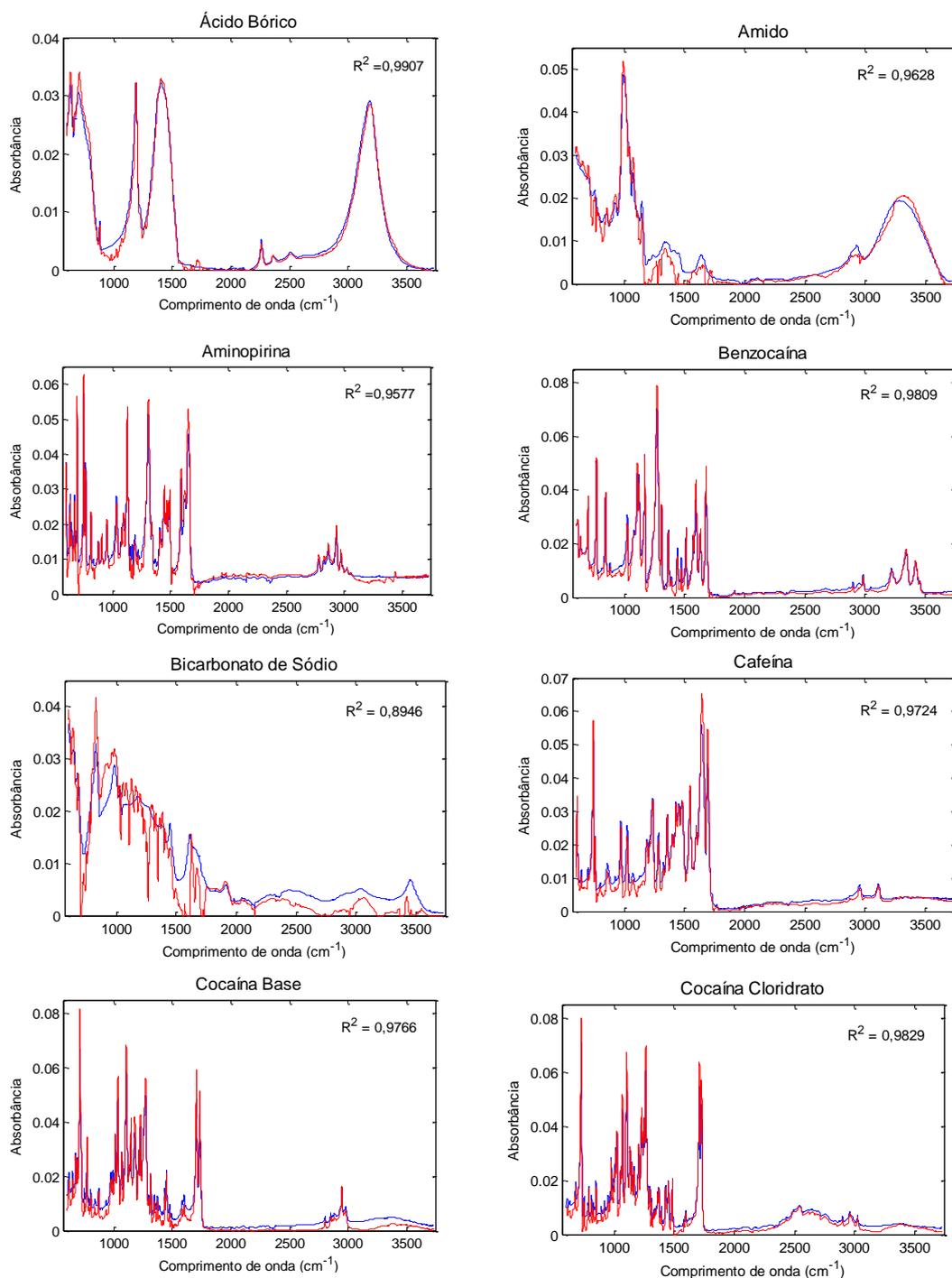


Figura 10. Comparação entre os espectros puros reais (—) e estimados por MCR-ALS (—). R² é o coeficiente de determinação entre o espectro real e o estimado.

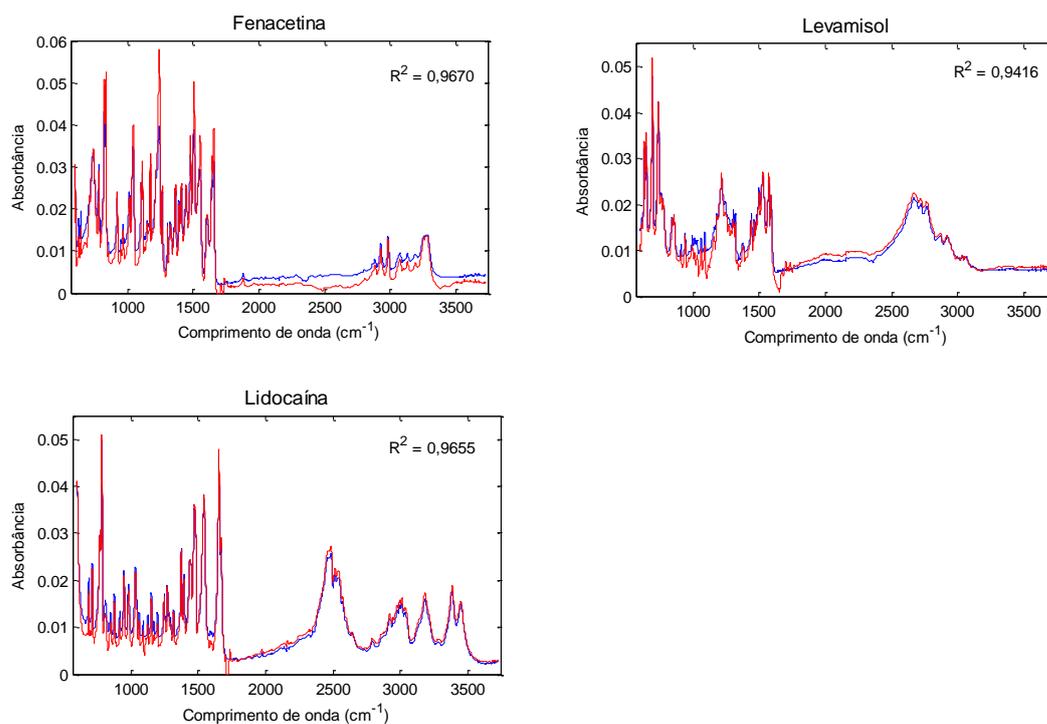


Figura 10. Comparação entre os espectros puros reais (—) e estimados por MCR-ALS (—). R^2 é o coeficiente de determinação entre o espectro real e o estimado.

Os coeficientes de determinação entre os espectros puros experimentais e os estimados por MCR-ALS foram satisfatórios, com o valor mínimo de 0,8946, demonstrando a concordância entre eles e a capacidade do algoritmo em resolver os espectros puros para as misturas estudadas. O menor valor de coeficiente de determinação foi obtido para o bicarbonato de sódio. Uma possível explicação é a ausência de picos característicos deste composto. Contudo, há alguns máximos e mínimos coincidentes, embora com intensidades diferentes.

Para realizar as determinações quantitativas, foram feitas as regressões lineares entre as intensidades relativas (**C**) e as concentrações de referência das amostras de calibração, para todos os compostos estudados. Com isso, foram determinados os valores de concentração ajustados dessas amostras e, pela subtração das concentrações de referência, obtiveram-se os erros absolutos. Amostras que apresentaram erro absoluto maior do que 15% (m/m) na fase de calibração foram excluídas como amostras anômalas (do inglês *outliers*), sendo que o nível médio de erro observado para esse tipo de amostra foi de 23,4%. A presença de *outliers* no conjunto de calibração pode ser causada por erros de amostragem na realização das medidas por ATR, homogeneização das amostras, entre outros, influenciando na construção do modelo por alterar os coeficientes de regressão. A Tabela 11 mostra a quantidade de amostras excluídas para cada componente analisado.

Após a exclusão de *outliers*, observou-se que as amostras reais inseridas no conjunto de calibração apresentavam um erro sistemático para alguns compostos. Esse fato era esperado por se tratarem de amostras não controladas que podem conter produtos de degradação e substâncias que não foram analisadas neste trabalho. Diante disso, calculou-se

o valor de viés médio para essas amostras nos 11 compostos estudados separadamente e subtraiu-se este valor das concentrações estimadas das amostras reais presentes na calibração e, posteriormente, na validação.

Tabela 11. Quantidade de amostras excluídas no conjunto de calibração de cada composto.

Composto	Nº de amostras excluídas	Composto	Nº de amostras excluídas
Ácido Bórico	0	Cocaína Base Livre	4
Amido	3	Cocaína Cloridrato	1
Aminopirina	0	Fenacetina	1
Benzocaína	2	Levamisol	0
Bicarbonato de sódio	0	Lidocaína	1
Cafeína	2		

Como pode ser visto na Tabela 12, que também apresenta as figuras de mérito calculadas após a execução da segunda etapa do MCR-ALS (incluindo o conjunto de calibração e validação), os valores de viés médio da calibração mais significativos foram para cocaína base livre (5,06% m/m) e levamisol (-2,07% m/m). No caso da cocaína base livre, conforme citado anteriormente, isso se deve à utilização de um conjunto de amostras não controlado em que a presença de compostos desconhecidos pode ter ocasionado o viés observado. A Figura 11 mostra o resíduo espectral de uma amostra real utilizada na calibração cuja composição é de 49,1% (m/m) de cocaína base livre. Os restantes 50,9% (m/m) não são conhecidos. Uma tentativa de identificação de compostos desconhecidos na amostra poderia ser obtida por intermédio da comparação desse tipo de resíduo com uma biblioteca de espectros.

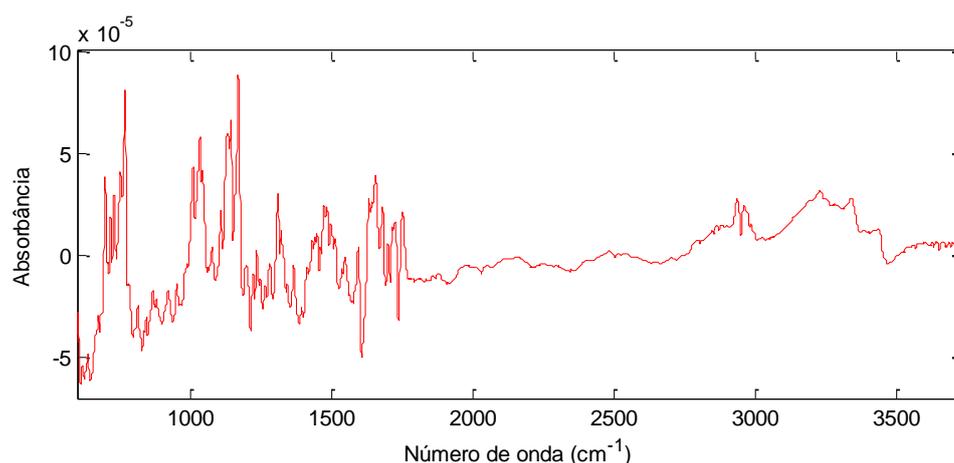


Figura 11. Resíduo espectral de uma amostra real cuja composição é de 49,1% de cocaína base livre. Os restantes 50,9% são desconhecidos.

No caso do viés observado para o levamisol, o planejamento experimental adotado (tetraedro 1) acarretou a ocorrência desse composto em coincidência com a cafeína. Resultados experimentais (Figura 12) demonstram que a absorvidade molar do levamisol é inferior à da cafeína. Esse fato pode explicar o valor de erro sistemático de calibração obtido.

Não foram calculados os valores de viés médio da calibração para ácido bórico, amido e bicarbonato de sódio, uma vez que estes compostos não foram analisados nem quantificados nas amostras reais por uma limitação do método de referência (CG-DIC).

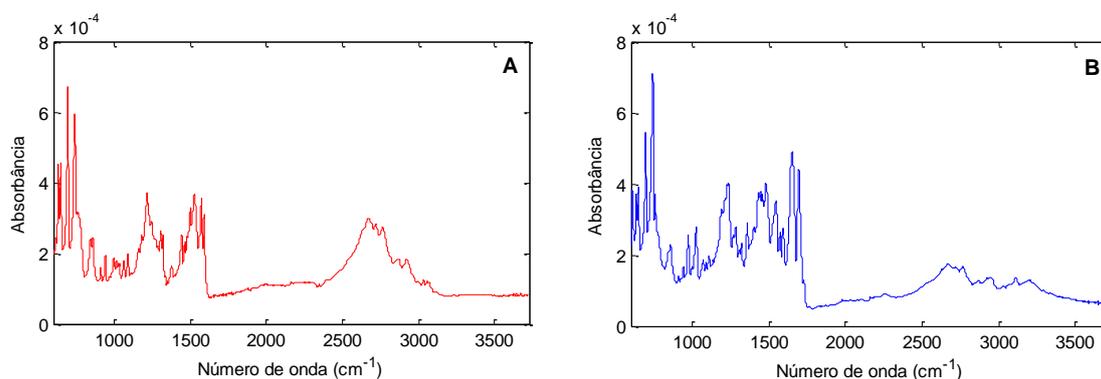


Figura 12. (A) Espectro puro do levamisol. (B) Espectro de uma mistura de 45% de levamisol, 45% de cafeína, 5% de ácido bórico e 5% de cocaína cloridrato.

As regressões lineares entre os perfis de intensidades relativas das amostras de calibração (gerado pelo MCR-ALS) e os valores de concentrações conhecidos, de cada composto estudado, resultaram em valores de R^2 de calibração entre 0,94 e 0,99, que são satisfatórios para a análise de misturas, considerando a simplicidade na manipulação das amostras e o total de 11 compostos analisados simultaneamente. Além disso, os valores de RMSEC encontrados foram menores do que 5,0 (% m/m), indicando um erro aceitável na estimativa da concentração dessas amostras. Ademais, os limites de detecção obtidos para os compostos em estudo variaram de 5,8 a 14,1 (% m/m), valores que atendem ao propósito da

Tabela 12. Figuras de mérito para o conjunto de calibração e validação.

Compostos	RMSEC ^a	RMSEP ^a	LD ^a	R^2 calibração	R^2 validação	viés médio cal ^b	t viés, val ^c
Ácido Bórico	2,8	10,2	8,4	0,9830	0,8305	*	3,00
Amido	2,9	*	8,7	0,9610	*	*	*
Aminopirina	1,9	2,1	5,8	0,9855	0,1833	-0,35	14,50
Benzocaína	2,3	2,7	6,9	0,9619	0,2343	1,61	15,90
Bicarbonato de Sódio	6,4	*	19,1	0,8774	*	*	*
Cafeína	2,7	2,1	8,1	0,9789	0,4984	-0,17	1,50
Cocaína Base Livre	4,7	10,1	14,1	0,9422	0,9330	5,06	1,21
Cocaína Cloridrato	4,4	5,2	11,3	0,9555	0,9827	0,48	6,78
Fenacetina	4,1	3,6	12,4	0,9416	0,9450	-0,84	1,97
Levamisol	4,0	5,3	12,0	0,9516	0,2159	-2,07	15,20
Lidocaína	3,0	1,5	8,9	0,9685	0,1924	-0,92	2,50

^a medida em % (m/m), ^b viés médio da calibração medido em % (m/m), ^c teste t para o viés médio da validação, *valores não calculados. R^2 da calibração é o coeficiente de determinação entre a intensidade relativa e a concentração de referência das amostras de calibração. R^2 da validação é o coeficiente de determinação entre a concentração estimada por MCR-ALS e a concentração de referência das amostras de validação.

análise de compostos majoritários. Apenas para o bicarbonato de sódio obteve-se um menor valor de R^2 da calibração (0,88), um maior erro médio de calibração (RMSEC igual a 6,7% m/m) e maior LD calculado (19,1% m/m), o que já era esperado devido à menor concordância entre o espectro estimado pelo MCR-ALS e o espectro puro deste composto.

Ao analisar o conjunto de validação, levando em consideração o fato de que não houve a exclusão de *outliers* para essas amostras, verifica-se que os coeficientes de determinação obtidos entre as concentrações estimadas pelo MCR-ALS e as concentrações de referência (R^2 da validação) foram satisfatórios para cocaína base livre, cocaína cloridrato e fenacetina, com valores iguais a 0,93, 0,98 e 0,94, respectivamente. Esses compostos foram os que estiveram presentes em um maior número de amostras e com uma faixa de concentração mais ampla que os demais, como é possível verificar nas Figuras 13M, 13O e 13Q. Para ácido bórico, o valor obtido foi um pouco menor (0,83), resultado da menor quantidade de amostras validadas (somente 9 amostras preparadas em laboratório) com apenas três níveis de concentração avaliados (50, 75 e 90% m/m). Não foi validado um número maior de amostras devido ao fato desse diluente não ser rotineiramente analisado em amostras reais no SEPLAB/INC por uma limitação do método de referência (CG-DIC) e por um problema de funcionamento ocorrido no equipamento de FTIR que impossibilitou a análise de novas amostras preparadas em laboratório. Essas mesmas circunstâncias impossibilitaram a validação dos diluentes amido e bicarbonato de sódio.

Para os adulterantes aminopirina, benzocaína, cafeína, levamisol e lidocaína os valores de R^2 da validação encontrados foram menores do que 0,50. Esses baixos valores podem ser explicados pelas baixas concentrações e intervalo de concentrações muito restrito para esses adulterantes nas amostras de validação, como é possível se constatar nas Figuras 13E, 13G, 13K, 13S e 13U. Para exemplificar, nota-se que entre as amostras que apresentam incidência destes compostos apenas 7% delas no caso da aminopirina e 14% no caso da benzocaína possuem teores maiores do que 5% (m/m). Com isso, não há um intervalo de concentração amplo o suficiente, como ocorre nos dados de calibração, gerando baixos valores de R^2 .

Apesar de baixos valores de R^2 de validação, os adulterantes aminopirina, benzocaína, cafeína, levamisol e lidocaína apresentaram também baixos valores de RMSEP, o que é desejável, sendo iguais a 2,1, 2,7, 2,1, 5,3 e 1,5% (m/m), respectivamente. Esse fato indica que o modelo estima bem baixos teores desses adulterantes nas amostras de validação, sendo os valores de RMSEP próximos aos de RMSEC. Para a cocaína base livre, entretanto, o RMSEP calculado é quase o dobro do RMSEC. Contudo, deve-se destacar que não foram excluídos *outliers* nas amostras de validação que contribuem para o aumento do erro. Caso as amostras que apresentaram erros absolutos acima de 20% fossem retiradas, o valor de RMSEP seria reduzido a 8,3% (m/m) para cocaína base livre. Para ácido bórico, o valor de RMSEP obtido foi o triplo do RMSEC. Esse fato pode ser explicado pelo pequeno número de amostras analisadas na etapa de validação, acarretando que a presença de uma amostra com erro alto possua alta influência no valor final de RMSEP. Para os demais compostos, os valores de RMSEP variam de 3,6 a 5,2% (m/m), sendo este último valor referente à cocaína cloridrato, o que é aceitável diante da ampla faixa de concentração estudada.

A Figura 13 ilustra os resultados das regressões lineares feitas entre as concentrações estimadas pelo MCR-ALS e as concentrações de referência tanto para as amostras de calibração quanto de validação, bem como os erros absolutos calculados. Para amido e bicarbonato de sódio, em substituição aos gráficos de erros absolutos, são apresentadas as concentrações estimadas para cada amostra de validação.

O valor de erro absoluto encontrado para aminopirina, benzocaína e lidocaína nas amostras de validação atingiu valores em torno de 5% (m/m) para a maior parte das amostras, enquanto para ácido bórico, cafeína, fenacetina e levamisol o erro observado é por volta de 15% (m/m) e para cocaína base livre e cocaína cloridrato alcançou 20% (m/m), com a presença clara de *outliers* que influenciam na elevação do erro. Contudo, apenas 38 amostras apresentaram erros acima de 20% para cocaína base livre, por exemplo, representando apenas 5,3% do total de amostras. Nas Figuras 13F, 13H, 13L, 13T e 13V, nota-se uma tendência linear nos gráficos de erros absolutos das amostras de validação, que é explicada pelo fato de existirem muitas amostras com teor igual ou bem próximo de zero. Ao se calcular o erro absoluto pela subtração da concentração estimada pela concentração de referência e, sendo esta igual à zero, o resultado é igual à própria concentração estimada. Nessas circunstâncias, plotar o valor do erro absoluto contra a concentração estimada, equivale ao mesmo que estar plotando um valor contra ele mesmo, gerando a tendência linear que é observada.

Ainda analisando os gráficos de erro absoluto presente na etapa de validação, observa-se que, para alguns compostos, a ocorrência de erro sistemático permaneceu, mesmo após a subtração do viés médio encontrado nas amostras utilizadas na etapa de calibração. Para avaliar a significância do viés médio obtido na validação foi utilizado o teste-t recomendado na ASTM E1655-12 com 95% de confiança, sendo seu valor crítico igual a 1,96. Apenas para a cafeína, cocaína base livre e fenacetina o viés incluído no modelo pode ser considerado insignificante, para os demais compostos foram encontrados valores calculados maiores que o t crítico. Esse fato pode ser explicado por terem sido avaliados os valores de viés de apenas 20 amostras reais na calibração que demonstraram ser pouco representativos diante do conjunto de mais de 700 amostras reais de validação. Para uma aplicação prática, o valor de viés médio encontrado na validação pode ser subtraído das concentrações estimadas.

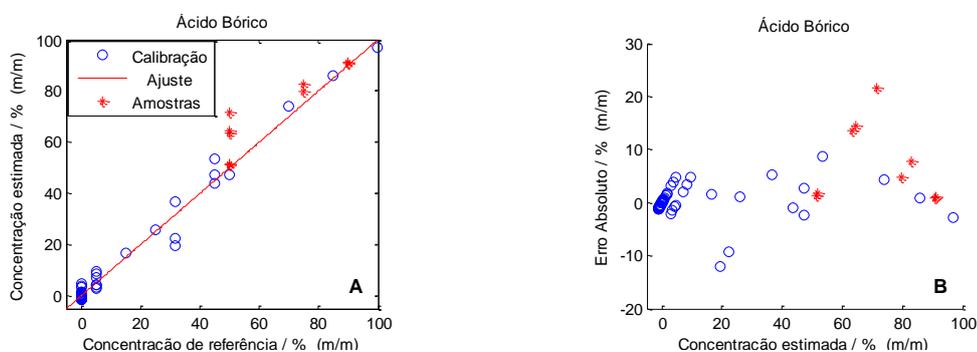


Figura 13. À esquerda, gráficos de concentração estimada versus concentração de referência. À direita, gráficos de erro absoluto versus concentração estimada. Calibração (o) e validação (*).

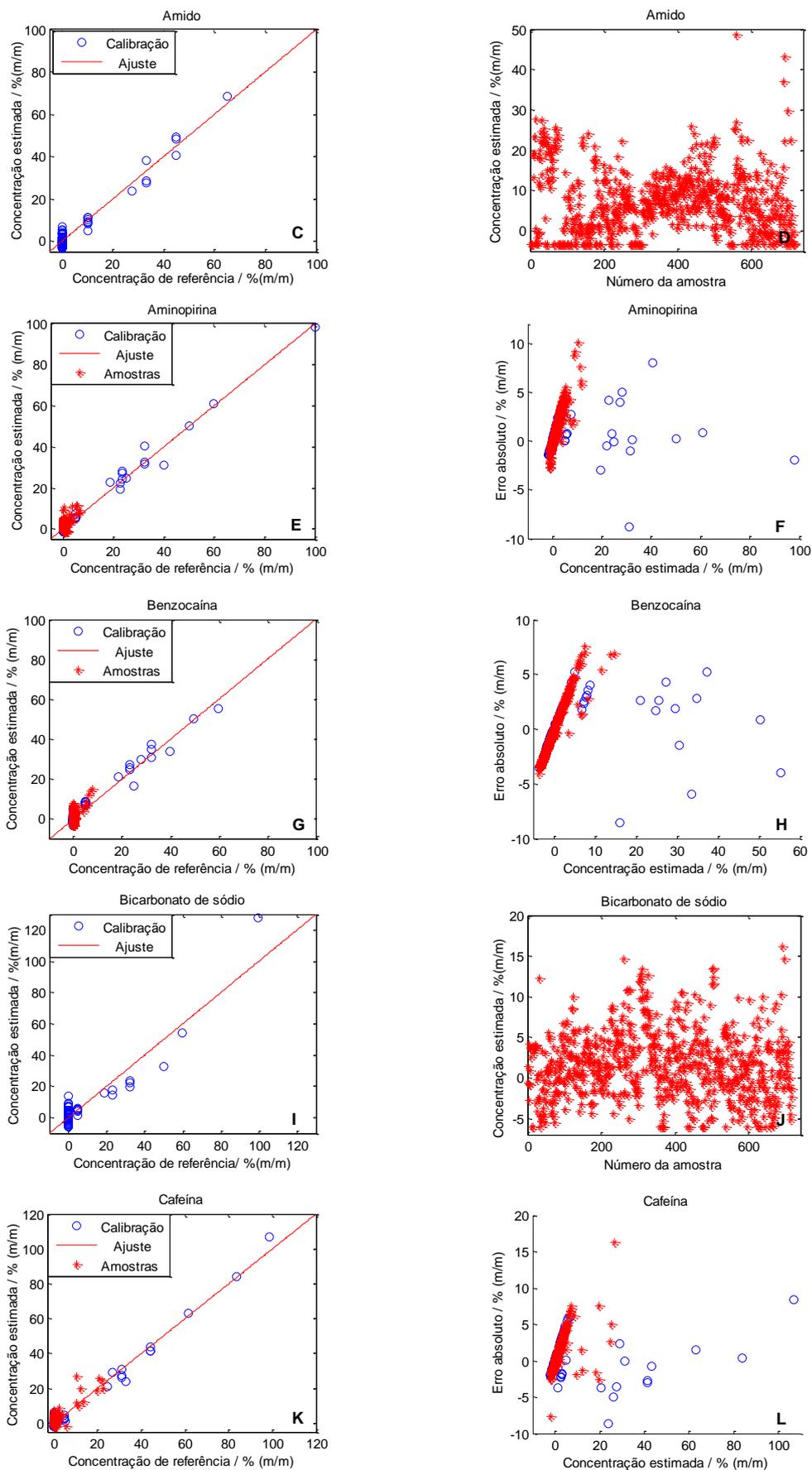


Figura 13. À esquerda, gráficos de concentração estimada *versus* concentração de referência. À direita, gráficos de erro absoluto *versus* concentração estimada. Calibração (o) e validação (*).

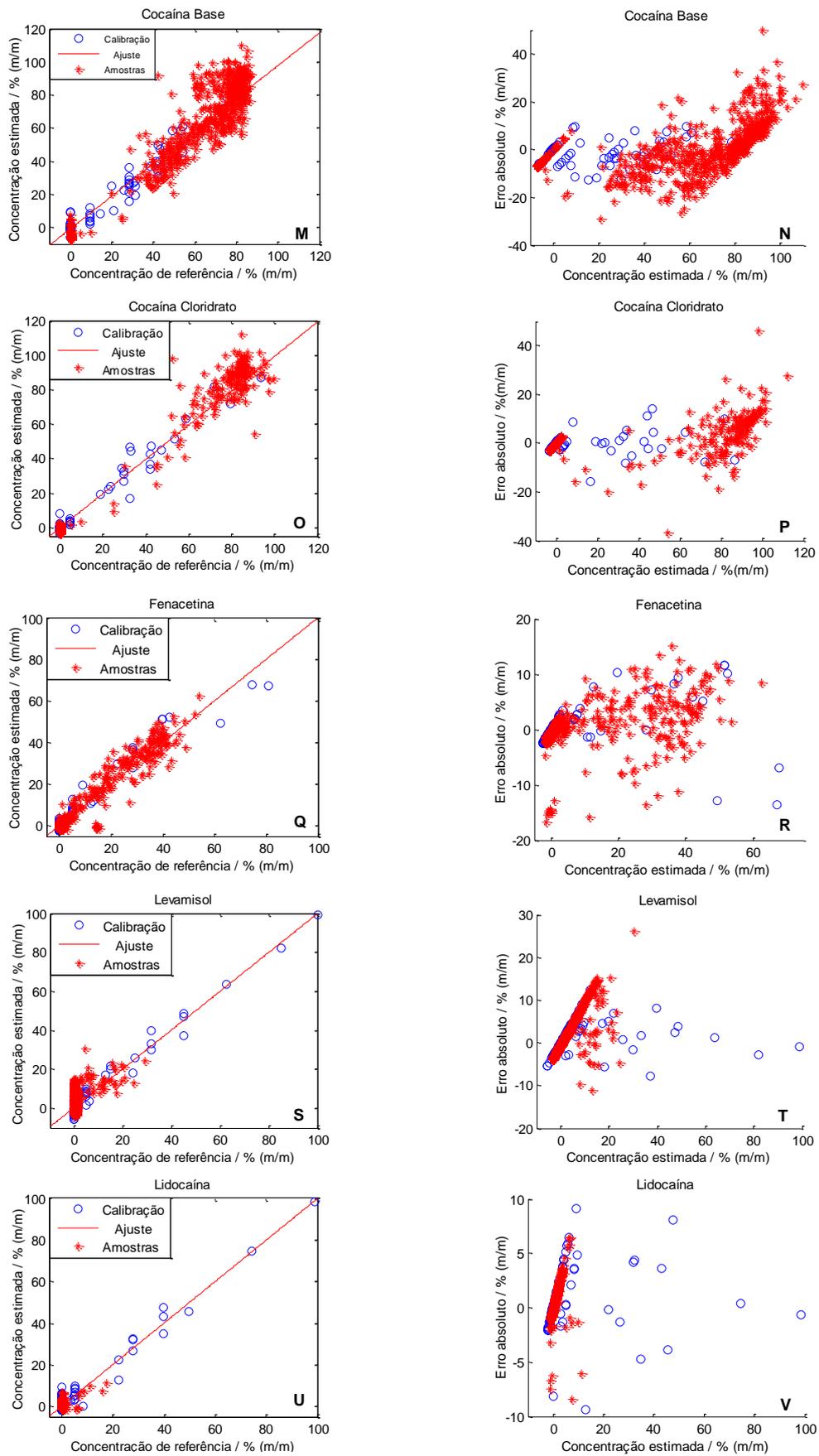


Figura 13. À esquerda, gráficos de concentração estimada versus concentração de referência. À direita, gráficos de erro absoluto versus concentração estimada. Calibração (o) e validação (*).

6.2 Identificação de Adulterantes/Diluentes

A Tabela 13 apresenta as taxas de falso negativo (TFN) e falso positivo (TFP), taxas de seletividade (TST), taxas de especificidade (TSP) e taxas de eficiência (TEF) calculadas para os adulterantes e o diluente ácido bórico. Quanto menores forem a TFN e TFP maior a eficiência do método, bem como maiores TST, TSP e TEF's.

Tabela 13. Valores calculados de TFP, TFN, TSB, TSP e TEF para os adulterantes analisados e o diluente ácido bórico.

Adulterante	Taxa de falso positivo (%)	Taxa de falso negativo (%)	Taxa de sensibilidade (%)	Taxa de especificidade (%)	Taxa de eficiência (%)
Ácido Bórico	0	0	100	100	100
Aminopirina	0,44	77,14	22,86	99,56	22,42
Benzocaína	0,28	50	50	99,72	49,72
Cafeína	0	41,18	58,82	100	58,82
Fenacetina	0	35,71	64,29	100	64,29
Levamisol	3,85	28,57	71,43	96,15	67,58
Lidocaína	0	83,33	16,67	100	16,67

Com relação a TFP e TFN, para o diluente ácido bórico, ambas foram iguais a 0%, o que é um ótimo resultado, porém, deve ser visto com cautela já que foram validadas apenas 9 amostras com teores acima de 50% (m/m). Para a aminopirina, a TFP calculada foi de 0,44% e a TFN foi de 77%. O elevado valor deste último parâmetro pode ser explicado pelo fato de o LD do método de referência (CG-DIC) ser bem pequeno (~1% como limite prático) e o LD do método proposto para aminopirina ser igual a 5,8%, fazendo com que amostras com teores próximos ao LD do método de referência não sejam detectadas pelo método proposto, resultando no aumento do número de falsos negativos. Esta mesma justificativa se aplica à benzocaína, cafeína, fenacetina, levamisol e lidocaína que apresentam baixas TFP, porém TFN entre 29 e 83%.

As taxas de seletividade (TST) são complementares e inversamente proporcionais às TFN. Como os valores de TFN foram altos para os adulterantes, pelos motivos já discutidos no parágrafo anterior, as TST's alcançaram no máximo 71%, que é o caso do levamisol. Do mesmo modo, as taxas de especificidade (TSP) são complementares e inversamente proporcionais às TFP. Como os valores de TFP foram pequenos, as TSP's alcançaram excelentes valores (acima de 96%). O diluente ácido bórico obteve os melhores resultados de TST e TSP devido às TFN e TFP serem iguais à zero.

A taxa de eficiência (TEF) leva em consideração a subtração da TFP e TFN de 100%. Logo, os baixos valores encontrados para os adulterantes (16,67% para a lidocaína, por exemplo) são consequência das altas TFN's. O ácido bórico permanece como exceção pelos motivos já discutidos.

Uma forma mais favorável de analisar o desempenho na identificação de adulterantes/diluentes seria aquela em que o método de referência possuísse limites de

detecção idênticos ao método proposto. Assim procedendo, as taxas calculadas assumiriam os valores apresentados na Tabela 14, onde as taxas de falso negativo obtidas são bem menores que as anteriores. No caso do levamisol, a TFN altera-se pouco de um valor de 28,57% para 22,22%. A baixa absorvidade molar do levamisol pode ter contribuído para essa relativa insensibilidade da TFN com relação à variação do limite de detecção, visto que, abaixo de determinados teores, o modelo não foi capaz de identificar esse composto. No caso da lidocaína, há uma queda pronunciada da TFN de 83,33% para 33,33%, valor esse considerado ainda elevado para padrões forenses. Esse número alto de falsos negativos pode estar associado à grande incidência de amostras de baixa concentração (abaixo do LD = 8,9%) nas amostras de validação.

Tabela 14. TFP, TFN, TSB, TSP e TEF calculados para os adulterantes e o diluente ácido bórico, com os limites de detecção do CG e do método proposto equiparados.

Adulterante	Taxa de falso positivo (%)	Taxa de falso negativo (%)	Taxa de sensibilidade (%)	Taxa de especificidade (%)	Taxa de eficiência (%)
Ácido Bórico	0	0	100	100	100
Aminopirina	1,26	0	100	98,74	98,74
Benzocaína	0,56	0	100	99,44	99,44
Cafeína	0,14	0	100	99,86	99,86
Fenacetina	1,45	7,23	92,77	98,55	91,32
Levamisol	6,01	22,22	77,78	93,99	71,77
Lidocaína	0	33,33	66,67	100	66,67

6.3 Identificação e Classificação da Forma Química da Cocaína

A Tabela 15 apresenta as taxas de falso negativo (TFN) e falso positivo (TFP), taxas de seletividade (TST), taxas de especificidade (TSP) e taxas de eficiência (TEF) calculadas para a cocaína base livre e cocaína cloridrato. Ambas as formas de cocaína apresentaram TFP iguais a 0%, o que é um excelente resultado, pois, uma alta ocorrência de falsos positivos implica, no âmbito legal, na criminalização de um inocente. As TFN calculadas para cocaína base livre e cloridrato foram iguais a 0,7 e 1,8%, também ótimos resultados, pois, uma alta ocorrência de falsos negativos implica, no âmbito legal, na liberdade de um culpado. Como a TFN e TFP foram excelentes, também obtiveram-se ótimas TST, TSP e TEF para ambas as formas de cocaína.

Tabela 15. Valores calculados de TFP, TFN, TSB, TSP e TEF para a cocaína.

Forma da cocaína	Taxa de falso positivo (%)	Taxa de falso negativo (%)	Taxa de sensibilidade (%)	Taxa de especificidade (%)	Taxa de eficiência (%)
Base Livre	0	0,7	99,27	100	99,27
Cloridrato	0	1,8	98,22	100	98,22

A Tabela 16 apresenta outros parâmetros calculados para medir a qualidade da classificação da forma química da cocaína (base livre ou cloridrato), são eles: porcentagem de

acertos, de erros, de não determinados e de inconclusivos. A porcentagem de acertos se refere às amostras que apresentaram teor acima do LD para uma forma de cocaína e menor para a outra forma, resultando na presença de uma única forma de cocaína que corresponde exatamente à classificação de referência. A porcentagem de erros se refere às amostras que apresentaram teor acima do LD para uma forma de cocaína e menor para a outra forma, resultando na presença de uma única forma de cocaína que corresponde a uma classificação diferente da referência. A porcentagem de não determinados se refere às amostras que apresentaram teor abaixo do LD para ambas as formas de cocaína, não sendo classificadas nem como base livre nem como cloridrato pelo método proposto. Por fim, a porcentagem de inconclusivos se refere às amostras que apresentaram teor acima do LD para ambas as formas de cocaína, sendo classificadas como base livre e cloridrato simultaneamente.

Tabela 16. Porcentagem de acertos, erros, não determinados e inconclusivos na classificação base livre/cloridrato da cocaína.

Parâmetro	Porcentagem (%)
Acertos	99,6
Erros	0,0
Não determinados	0,4
Inconclusivos	0,0

A porcentagem de acertos da classificação da forma química de cocaína obtida (99,6%) demonstra a potencial aplicabilidade do método proposto para este fim. Não houve erros de classificação, nem resultados inconclusivos. Apenas 0,4% das classificações não foram determinadas e, ao se identificar as amostras pertencentes a esse grupo, observou-se que se tratavam de misturas binárias de cocaína com ácido bórico, onde, para um percentual menor ou igual a 25% de cocaína base livre, esta não era identificada. O mesmo ocorreu para um percentual menor ou igual a 10% de cocaína cloridrato.

6.4 Aplicação em um Caso Prático

Foram analisadas pelo método proposto sete amostras reais desconhecidas *a priori*. Para tanto, executou-se o MCR-ALS, semelhantemente ao modo aplicado às amostras de validação (etapa 2, Figura 8), onde se uniu a matriz de calibração e a matriz de dados experimentais dessas amostras.

Os resultados obtidos para as estimativas de concentração são mostrados na Tabela 17, bem como a comparação com as concentrações de referência. As concentrações de referência dos diluentes ácido bórico, amido e bicarbonato de sódio não foram mensuradas por limitações do método de referência e, por isso, estão descritas com a sigla n.d. (não determinada) na Tabela citada.

Tabela 17. Comparação entre a concentração estimada e de referência de amostras reais.

Amostra	Á. Bórico (LD: 8,4) ^a		Amido (LD: 8,7) ^a		Aminopirina (LD: 5,8) ^a		Benzocaína (LD: 6,9) ^a	
	Real	Estimado	Real	Estimado	Real	Estimado	Real	Estimado
1	n.d.	20,86	n.d.	69,58	0,00	(-1,42)*	0,00	13,17
2	n.d.	17,16	n.d.	57,64	0,00	(-1,42)*	0,00	11,44
3	n.d.	(7,04)*	n.d.	19,81	1,82	(0,26)*	0,00	(3,27)*
4	n.d.	(2,68)*	n.d.	19,43	2,39	6,73	0,00	(1,11)*
5	n.d.	(1,51)*	n.d.	(4,78)*	2,12	(4,43)*	0,00	(-0,76)*
6	n.d.	31,11	n.d.	(-1,29)*	0,00	(-0,18)*	0,00	(-1,26)*
7	n.d.	28,12	n.d.	(-0,57)*	0,00	(-1,35)*	0,00	(-0,81)*

Amostra	Bic. de Sódio (LD: 19,1) ^a		Cafeína (LD: 8,1) ^a		Cocaína Base Livre (LD: 14,1) ^a		Cocaína Cloridrato (LD: 11,3) ^a	
	Real	Estimado	Real	Estimado	Real	Estimado	Real	Estimado
1	n.d.	(-6,07)*	7,23	14,60	0,00	(6,76)*	20,12	(4,03)*
2	n.d.	(-6,07)*	7,80	13,98	0,00	(7,82)*	22,35	(10,48)*
3	n.d.	(-6,07)*	7,91	26,74	0,00	(12,18)*	45,95	45,35
4	n.d.	(-3,54)*	0,00	(2,12)*	37,48	25,31	0,00	(1,14)*
5	n.d.	(-0,81)*	0,00	(-1,50)*	24,77	19,14	0,00	(1,35)*
6	n.d.	(6,64)*	0,00	(-2,02)*	0,00	(-0,26)*	38,59	20,90
7	n.d.	(-1,20)*	0,00	(-2,02)*	0,00	(-1,46)*	35,98	30,88

Amostra	Fenacetina (LD: 12,4) ^a		Levamisol (LD: 12,0) ^a		Lidocaína (LD: 8,9) ^a	
	Real	Estimado	Real	Estimado	Real	Estimado
1	0,00	(-2,49)*	5,95	(-5,43)*	24,32	(4,35)*
2	1,08	(-2,49)*	6,93	(-3,29)*	24,15	(7,55)*
3	2,96	(-0,78)*	0,00	(-4,32)*	0,00	(-2,06)*
4	37,68	18,74	0,00	13,80	0,00	(6,31)*
5	59,56	51,09	0,00	(6,22)*	0,00	(3,84)*
6	33,00	22,06	5,64	(10,06)*	0,00	(2,20)*
7	29,48	21,95	6,80	(9,92)*	0,00	(1,09)*

^a limite de detecção do método em estudo. n.d., concentrações não determinadas pelo método de referência. ()* concentração abaixo do limite de detecção do método proposto.

Considerando o aspecto qualitativo (presença e ausência) e observando-se o limite de detecção do método de referência ($\pm 1\%$) e do método em estudo para cada adulterante, pode-se afirmar que para aminopirina houve uma porcentagem de concordância com as informações de referência de 71%, sendo 2 resultados falsos negativos (amostras 3 e 5). Para benzocaína uma porcentagem de concordância de 71%, sendo 2 resultados falsos positivos (amostras 1 e 2). Para cafeína houve uma porcentagem de concordância de 100%. Para fenacetina houve uma porcentagem de concordância de 71%, sendo 2 resultados falsos negativos (amostras 2 e 3). Para levamisol houve uma porcentagem de concordância de 29%, sendo 4 resultados falsos negativos (amostras 1, 2, 6 e 7) e 1 resultados falso positivo (amostra 4). Por fim, para lidocaína houve uma porcentagem de concordância de 71%, sendo 2 resultados falsos negativos (amostras 1 e 2). Em geral, o modelo proposto demonstrou ser satisfatório no aspecto qualitativo para os adulterantes estudados, com exceção do levamisol.

Para cocaína base livre e cocaína cloridrato houve uma porcentagem de concordância com as informações de referência de 100% no aspecto qualitativo, excluindo-se as duas primeiras amostras de cada classe, cuja classificação da forma química foi inconclusiva pelo método de referência, baseado em ensaio de solubilidade e, portanto, não foi possível verificar o resultado obtido pelo método proposto. A única informação que se tem com relação a essas amostras são os seus teores que se encontram em torno de 20% de cocaína, determinados por CG-DIC. Elas foram inseridas no conjunto de amostras de cloridrato arbitrariamente.

Quanto à classificação da forma química da cocaína, para as duas primeiras amostras de cada classe não foram obtidas concentrações acima do LD tanto para a forma de base livre quanto de cloridrato no método proposto. Portanto, a classificação dessas amostras não pôde ser determinada, sugerindo um aperfeiçoamento do estudo de amostras inconclusivas nos testes de solubilidade. Para as demais amostras que tiveram a sua forma química definida, houve 100% de acerto da classificação.

CAPÍTULO 7
Conclusão

7. CONCLUSÃO

A determinação de cocaína, adulterantes e diluentes por espectroscopia de infravermelho aliada à análise quimiométrica de MCR-ALS demonstrou ser promissora. A técnica desenvolvida possui grande utilidade na investigação policial, já que fornece informações sobre a composição de drogas apreendidas, bem como estimativas das concentrações de modo rápido, sem a necessidade de purificação das amostras e grandes aparatos instrumentais. Além disso, é possível obter a classificação da forma química da cocaína (base livre ou cloridrato).

Os resultados obtidos são satisfatórios para a aplicação do método proposto como um método de “*screening*”, cujas informações podem ser confirmadas *a posteriori* por um método de referência, se for o caso. Apesar das figuras de mérito não terem atingido valores comparáveis à cromatografia gasosa, eles são aceitáveis diante das vantagens apresentadas pelo método desenvolvido, tais como determinação simultânea de onze compostos, simplicidade na manipulação da amostra, baixo custo de análise, classificação da forma química da cocaína, análise minimamente destrutiva, entre outros. Além disso, o emprego da Resolução Multivariada de Curvas (MCR) traz como vantagens em relação à técnica PLS a necessidade de um menor número de amostras para construção do modelo e a possibilidade de identificação de compostos desconhecidos pela comparação dos resíduos espectrais com bibliotecas comerciais.

Contudo, como o estudo realizado foi pioneiro com relação à aplicação do MCR-ALS para o tipo de amostra analisada, são possíveis aperfeiçoamentos no sentido de melhorar os resultados obtidos, tais como aumento do número de amostras reais na calibração, seleção de amostras abrangendo uma maior faixa de concentração, etc., ampliando as possibilidades de aplicação do método. Também é preciso analisar o comportamento do modelo na presença de substâncias que não foram estudadas neste trabalho.

8. REFERÊNCIAS

1. United Nations Office on Drugs and Crime. *World Drugs Report 2015*. Viena, **2015**.
2. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; *Princípios de Análise Instrumental*, 5ª ed.; Bookman: Porto Alegre, **2002**.
3. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; West, D. M.; *Fundamentos de Química Analítica*, 8ª ed.; Thomson: São Paulo, **2006**.
4. Silverstein, R.M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J.; *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, 7ª ed.; LTC: Rio de Janeiro, **2012**.
5. Cienfuegos, F.; Vaitsman, D.; *Análise Instrumental*; Interciência: Rio de Janeiro, **2000**.
6. Oliveira, L. F. C.; *Quim. Nova na escola*, Caderno Temático, n. 4, **2001**.
7. Carneiro, R. L.; Braga, J. W. B.; Poppi, R. J.; Tauler, R.; *Analyst* **2008**, 133, 774.
8. Março, P. H.; Valderrama, P.; Alexandrino, G. L.; Poppi, R. J.; Tauler, R.; *Quím. Nova* **2014**, 37, 9, 1525.
9. Mas, S.; Miguel, C.; Melo, M. J.; Lopes, J. A.; de Juan, A.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2014**, 134, 148.
10. Jaumot, J.; de Juan, A.; Tauler, R.; MCR-ALS GUI 2.0, <http://www.mcrals.info>, acessado em outubro de 2015.
11. Felten, J.; Hall, H.; Jaumot, J.; Tauler, R.; de Juan, A.; Gorzsás, A.; *Nat. Protoc.* **2015**, 10, 217.
12. Maeder, M.; *Anal. Chem.* **1987**, 59, 3, 527.
13. Soares, F. L. F. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2014.
14. Windig, W.; Guilment, J.; *Anal. Chem.* **1991**, 63, 1425.
15. Braga, J. W. B. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2008.
16. Missel, J. R. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2012.
17. Ferreira, M. H. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO, 2012.
18. Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C.; *Quim. Nova* **2004**, 27, 771.
19. Braga, J. W. B.; Poppi, R. J.; *Quim. Nova*, **2004**, 27, 6, 1004.
20. Botelho, B. G.; Reis, N.; Oliveira, L. S.; Sena, M. M.; *Food Chem.* **2015**, 181, 31.
21. Rodrigues, N. V. S.; Cardoso, E. M.; Andrade, M. V. O.; Donnici, C. L.; Sena, M. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2013**, 24, 507.
22. Penido, C. A. F. O.; Silveira Jr., L.; Pacheco, M. T. T.; *Instrum. Sci. Technol.* **2012**, 40, 441.

23. Grobério, T. S. *Desenvolvimento de uma metodologia para comparação de amostras de sal de cocaína pela determinação de solventes residuais e análise quimiométrica*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, **2012**.
24. Botelho, E. D. *Desenvolvimento de uma nova metodologia analítica para identificação e quantificação de truxulinas em amostras de cocaína baseada em CLAE-EM*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, **2011**.
25. Dräger, B.; *J. Chromatogr. A* **2002**, 978, 1.
26. Zacca, J. J.; Botelho, E. D.; Vieira, M. L.; Almeida, F. L. A.; Ferreira, L. S.; Maldaner, A. O.; *Science and Justice* **2014**, 54, 300.
27. da Silva Junior, R. C.; Gomes, C. S.; Goulart Júnior, S. S.; Almeida, F. V.; Grobério, T. S.; Braga, J. W. B.; Zacca, J. J.; Vieira, M. L.; Botelho, E. D.; Maldaner, A. O.; *Forensic Sci. Int.* **2012**, 221, 113.
28. Nassif Filho, A. C. N.; Bettega, S. G.; Lunedo, S.; Maestri, J. E.; Gortz, F.; *Rev. Ass. Med. Brasil* **1999**, 45, 237.
29. Campos Bahls, F.; Clair Bahls, S.; *Inter. em Psicol.* **2002**, 6, 177.
30. Ferreira, P. E. M.; Martini, R. K.; *Rev. Bras. Psiquiatr.* **2001**, 23, 96.
31. <http://www.obid.senad.gov.br/portais/OBID/index.php#historico>, acessado em agosto de 2015.
32. Moriarty, K. M.; Alagna, S. W.; Lake, C. R.; *Psychiatr Clin North Am* **1984**, 7, 411.
33. Karch, S. B.; *J. R. Soc. Med.* **1999**, 92, 393.
34. Smith, N. E.; Timby, B. K.; *Enfermagem Médico-Cirúrgica*, 8ª ed.; Manole: São Paulo, **2005**.
35. Maldaner, A. O.; Botelho, E. D.; Zacca, J. J.; Camargo, M. A.; Braga, J. W. B.; Grobério, T. S.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2015**, 26, 1227.
36. Bernardo, N. P.; Siqueira, M. E. P. B.; de Paiva, M. J. N.; Maia, P. P.; *Int. J. Drug Policy*, **2003**, 14, 331.
37. Magalhães, E. J.; Nascentes, C. C.; Pereira, L. S.; Guedes, M. L.; Lordeiro, R. A.; Auler, L. M.; Augusti, R.; de Queiroz, M.E.; *Sci. Justice* **2013**, 53, 425.
38. Floriani, G.; Gasparetto, J. C.; Pontarolo, R.; Gonçalves, A. G.; *Forensic Sci Int.* **2014**, 235, 32.
39. Fukushima, A. R.; Virginia, M. C.; Carvalho, D. G.; Diaz, E.; Bustillos, J. O. W. V.; Spinosa, H. de S.; Chasin, A. A. M.; *Forensic Sci. Int.* **2014**, 243, 95.
40. Botelho, E. D.; Cunha, R. B.; Campos, A. F. C.; Maldaner, A. O.; *Braz. Chem. Soc.* **2014**, 25, 611.
41. Maldaner, A. O.; Botelho, E. D.; Zacca, J. J.; Melo, R. C. A.; Costa, J. L.; Zancanaro, I.; Oliveira, C. S. L.; Kasakoff, L. B.; Paixão, T. R. L. C.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2016**, 27, 719.
42. Lapachinske, S. F.; Okai, G. G.; dos Santos, A.; de Bairros, A. V.; Yonamine, M.; *Forensic Sci. Int.* **2015**, 247, 48.
43. Grobério, T. S.; Zacca, J. J.; Botelho, E. D.; Talhavini, M.; Braga, J. W. B.; *Forensic Sci. Int.* **2015**, 257, 297.

44. Departamento de Polícia Federal, Instrução Técnica N° 456 006/2006–GAB/DITEC, Brasília, Brasil, **2006**.
45. United Nations Division of Narcotic Drugs (UNODC), Recommended Methods for Testing Cocaine, in: *Manual for Use by National Narcotics Laboratories*, United Nations, New York, **1986**.
46. Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs (SWGDRUG) Recommendations, sixth Rev., United States Department of Justice, Washington, D.C., **2011**.
47. Elsherbini, S. H.; *Forensic Sci. Rev.* **1998**, 10, 2.
48. Pérez-Alfonso, C.; Galipienso, N.; Garrigues, S.; de la Guardia, M.; *Forensic Sci. Int.* **2014**, 237, 70.
49. Marcelo, M. C. A.; Mariotti, K. C.; Ferrão, M. F.; Ortiz, R. S.; *Forensic Sci. Int.* **2015**, 246, 65.
50. Azzouz, T.; Tauler, R.; *Talanta*, **2008**, 74, 1201.
51. Oliveira, R. R.; Lima, K. M. G.; Tauler, R.; Juan, A.; *Talanta* **2014**, 125, 233.
52. Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E; *Como Fazer Experimentos*, 4. ed.; Bookman: Porto Alegre, **2010**.
53. Departamento de Polícia Federal, MET-I-SEPLAB-06, v.2, 2015–GAB/DITEC, Brasília, Brasil, **2015**.
54. Kennard, R. W.; Stone, L. A.; *Technometrics* **1969**, 11, 137.
55. Walczak, B.; Massart, D. L.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **1994**, 25, 85.
56. Valderrama, P.; Braga, J. W. B.; Poppi, R. J.; *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 8331.
57. Honorato, F. A.; Neto, B. B.; Martins, M. N.; Galvão, R. K. H.; Pimentel, M. F.; *Quim. Nova.* **2007**, 30, 1301.
58. Souza, A. M.; Poppi, R. J.; *Quim. Nova.* **2012**, 35, 223.
59. Ferreira, M. M. C.; *Quimiometria*, <http://lqta.iqm.unicamp.br/portugues/downloads/Introducao.pdf>, acessado em março de 2016.