



Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Química e Biológica

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**CONSOLIDAÇÃO DE ANÁLISE CROMATOGRÁFICA E APLICAÇÃO DE
FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS À ANÁLISE DE ALCALOIDES
MINORITÁRIOS EM AMOSTRAS REAIS DE COCAÍNA**

FILLIPE HERBERT DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: Dr. ADRIANO OTÁVIO MALDANER

Brasília, DF

2018



Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Química e Biológica

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CONSOLIDAÇÃO DE ANÁLISE CROMATOGRÁFICA E APLICAÇÃO DE FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS À ANÁLISE DE ALCALOIDES MINORITÁRIOS EM AMOSTRAS REAIS DE COCAÍNA

FILLIPE HERBERT DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada à Universidade de Brasília, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Dr. Adriano Otávio Maldaner

Brasília, DF

2018

FILLIPE HERBERT DE OLIVEIRA

**CONSOLIDAÇÃO DE ANÁLISE CROMATOGRÁFICA E APLICAÇÃO DE
FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS À ANÁLISE DE ALCALOIDES
MINORITÁRIOS EM AMOSTRAS REAIS DE COCAÍNA**

Banca examinadora da
Dissertação para obtenção do grau de mestre em química.

Dr. Adriano Otávio Maldaner
orientador/presidente

Prof. Dr. Guilherme Dotto Brand
1º examinador

Prof. Dr. Alex Fabiano Cortez Campos
2º examinador

Brasília, DF

2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus, que esteve e sempre estará comigo durante toda minha vida.

Aos meus pais Andréa Cristina de Oliveira e Márcio Jaime de Oliveira, que me deram amor, tranquilidade, sabedoria e educação.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Adriano Otávio Maldaner pela paciência, tranquilidade, disposição e amplo conhecimento transmitido que me orientou e ajudou na construção do trabalho.

Agradeço a todos que participaram desse trabalho, aos que me acompanharam e incentivaram durante esse tempo.

Em especial, agradeço à Jessica Silva pelo apoio e estar sempre do meu lado.

Agradeço a Fernanda Santos Oliveira e Lincoln Nunes Oliveira, pelo apoio e paciência em me receber e ajudar quando mais precisei em Brasília.

Agradeço ao Élvio Dias Botelho, chefe do SEPLAB/INC, por apoiar e possibilitar a realização deste trabalho, bem como à toda equipe do SEPLAB/INC.

Agradeço à Dina Raquel por contribuir com este projeto, me ensinando e apoiando com todo carinho e atenção.

Agradeço aos professores, funcionários, colegas e membros da banca examinadora pela oportunidade de poder realizar este trabalho. Em especial, o prof. Dr. Jez Willian Batista Braga que me auxiliou e contribuiu com toda paciência e dedicação.

Muito Obrigado a todos!

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iii
SUMÁRIO.....	iv
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Cocaína.....	1
1.1.1 Processos de Obtenção da Cocaína.....	2
1.1.2 Formas de Apresentação da Cocaína.....	4
1.1.3 Alcaloides Minoritários da Cocaína	5
1.1.4 Perfil Químico da Cocaína.....	7
1.2 Aspectos Analíticos.....	11
1.2.1 Técnicas para identificação do perfil químico de cocaína.....	11
1.2.2 Derivatização	13
1.3 Quimiometria	16
1.3.1 Organização dos dados para análise	18
1.3.2 Análise dos Componentes Principais (PCA)	19
1.3.3 Representações Gráficas	22
1.3.4 Procedimento Hierárquico	23
1.3.5 Comparação entre PCA e HCA	24
2 OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo Geral.....	26
2.2 Objetivos Específicos.....	26
3 CONSOLIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ALCALOIDES MINORITÁRIOS EM AMOSTRAS DE COCAÍNA	27
3.1 Materiais e Métodos.....	28
3.1.1 Vidrarias e Acessórios	28
3.1.2 Equipamento analítico	28
3.1.3 Reagentes, solventes e padrões de referência utilizados.....	28
3.2 Método Analítico Validado.....	29

3.2.1	Preparação da solução de padrão interno.....	29
3.2.2	Preparação das amostras reais de cocaína e controles do método analítico e brancos .	29
3.2.3	Condições cromatográficas do método desenvolvido	29
3.2.4	Calibrações e Manutenção	30
3.3	Amostragem	31
3.4	Obtenção dos dados analíticos	32
3.5	Cartas Controle.....	34
3.6	Consolidação dos resultados cromatográficos	35
4	UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS PARA ESTABELEECER CORRELAÇÕES ENTRE AS APREENSÕES DE COCAÍNA	38
4.1	Ferramentas Quimiométricas	38
4.1	Identificação das Amostras	39
4.2	Pré-Processamento dos Dados para Análise Quimiométrica.....	39
4.2.1	Normalização	39
4.2.2	Autoescalamento.....	40
4.2.3	Centrar dados na média	40
4.2.4	Modelo Aglomerativo.....	41
4.3	Características das análises Quimiométricas das amostras reais de cocaína	41
4.4	Estudo 1 para Cocaína Base Livre: HCA e PCA analisando todos alcaloides, sem normalização pela pureza da cocaína.	44
4.5	Estudo 1 para Cocaína Cloridrato: HCA e PCA analisando todos alcaloides, sem normalização pela pureza da cocaína.	48
4.6	Estudo 2 para Cocaína Base Livre: HCA e PCA analisando todos alcaloides, com normalização pela pureza da cocaína.	51
4.7	Estudo 2 para Cocaína Cloridrato: HCA e PCA analisando todos alcaloides, com normalização pela pureza da cocaína.	56
4.8	Conversão dos Produtos de Hidrólise em Cocaína e cis/trans-cinamoilcocaína.....	60
4.8.1	Estudo 3 para Cocaína Base Livre: Conversão para cocaína dos produtos de hidrólise ecgonina e benzoilecgonina, com ajuste pela pureza da cocaína.	63
4.8.2	Estudo 3 para Cocaína Cloridrato: Conversão para cocaína dos produtos de hidrólise ecgonina e benzoilecgonina, com ajuste pela pureza da cocaína.	66
4.8.3	Estudo 4 para Cocaína Base Livre: Conversão do Produto de Hidrólise Benzoilecgonina em Cocaína.	69
4.8.4	Estudo 4 para Cocaína Cloridrato: Conversão do Produto de Hidrólise Benzoilecgonina em Cocaína.	73
4.8.5	Estudo 5 para Cocaína Base Livre: Conversão dos Produtos de Hidrólise Benzoilecgonina, Ecgonina e Metilecgonina em Cocaína.....	74

4.8.6	Estudo 5 para Cocaína Cloridrato: Conversão dos Produtos de Hidrólise Benzoilecgonina, Ecgonina e Metilecgonina em Cocaína.....	76
4.8.7	Estudo 6 para Cocaína Base Livre: Conversão de Todos os Produtos de Hidrólise. ...	78
4.8.8	Estudo 6 para Cocaína Cloridrato: Conversão de Todos os Produtos de Hidrólise.	80
5	CONCLUSÕES	84
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
	ANEXO 1.....	
	ANEXO 2.....	
	ANEXO 3.....	
	ANEXO 4.....	
	ANEXO 5.....	
	ANEXO 6.....	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Alcaloides derivados da ecgonina.....	2
Figura 2 - Etapas de obtenção da cocaína.	3
Figura 3 - Fórmulas estruturais da cocaína e de alguns alcaloides minoritários presentes em folhas de coca. 1) cocaína; 2) metilecgonina; 3) benzoilecgonina; 4) ecgonina; 5) <i>trans</i> -cinamoilcocaína; 6) <i>cis</i> -cinamoilcocaína; 7) 1-hidroxicocaína; 8) tropacocaína; 9) 1-hidroxitropacocaína; 10) β -truxilina; 11) α -truxilina; 12) 3',4',5'-trimetoxitropacocaína (TMT); 13) 3',4',5'-trimetoxicocaína (TMC); 14) 3',4',5'-trimetoxi- <i>trans</i> -cinamoilcocaína (tTMCC); 15) 3',4',5'-trimetoxi- <i>cis</i> -cinamoilcocaína (cTMCC).....	5
Figura 4 - Reações de hidrólise da cocaína.	6
Figura 5 - Cromatógrafo Gasoso Agilent Technologies® 6890N com detector de ionização em chama acoplado a uma estação de trabalho com os <i>softwares</i> MSD ChemStation e Enhanced Data Analysis, ambos da Agilent Technologies®.....	12
Figura 6 - Estrutura química dos reagentes sililantes.....	15
Figura 7 - Alcaloides minoritários derivatizados.	16
Figura 8 - Interdisciplinaridade da Quimiometria ⁴³	17
Figura 9 - Exemplo da organização dos dados de um cromatograma em uma matriz X.	19
Figura 10 - Esquema gráfico de obtenção das componentes principais e como a matriz X é decomposta em pesos e <i>scores</i> . PC1: eixo correspondente a direção de maior variabilidade; PC2: eixo perpendicular a PC1 e na segunda direção de maior variabilidade.	21
Figura 11 - Representação gráfica dos valores <i>loadings</i> e score em um gráfico de duas dimensões com duas variáveis x1 e x2.....	22
Figura 12 - Exemplificação de um dendrograma contendo 7 classes ou agrupamentos.	24
Figura 13 - Distribuição por origem e número de amostras analisadas, onde: AC: Acre; AM: Amazonas; BO: apreensões feitas na fronteira Brasil/Bolívia; CE: Ceará; MS: Mato Grosso do Sul; PR: Paraná.....	31
Figura 14 - Cromatograma obtido para uma análise realizada na data 05/01/2016 de uma amostra de cocaína cloridrato (CCS). AEME= anidroecgonina metil éster; ME= metilecgonina; TROP=Tropacocaína; TMC= trimetoxicocaína; EC= ecgonina; BE= benzoilecgonina; TCC= <i>trans</i> -cinamoilcocaína; CCC= <i>cis</i> -cinamoilcocaína; CCE= <i>cis</i> -cinamoilecgonina; TCE= <i>trans</i> -cinamoilecgonina; PI= padrão interno (heneicosano); COC= cocaína.	33
Figura 15 - Carta controle para o alcaloide minoritário anidroecgonina metil éster, contendo os limites de confiança escolhidos: média (m - linha contínua cor verde); o valor de duas vezes o desvio padrão (k) das replicatas $m \pm 2k$ (linhas contínuas amarelas); o valor de três vezes o desvio padrão (k) das replicatas $m \pm 3k$ (linhas contínuas vermelhas).....	35

Figura 16 - Dendrograma obtido para as amostras cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, com dados autoescalados e centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	44
Figura 17 - Dendrograma obtido para as amostras cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, autoescalados, centrados na média, e escolhendo 4 PCs. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	45
Figura 18 - Gráficos de <i>scores</i> da PCA a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína sem ajuste de pureza da cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1- verde; Grupo 2- vermelha; Grupo 3- amarela.....	46
Figura 19 - Gráficos dos <i>loadings</i> da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína sem ajuste de pureza da cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.	46
Figura 20 – Cromatograma típico contendo os alcaloides minoritários que influenciam o grupo 1 (cor verde) visualizado através do gráfico de <i>loadings</i> . Onde: EC- ecgonina; BE- benzoilecgonina; AEME- anidroecgonina metil éster; tCE- <i>trans</i> -cinamoilecgonina.	47
Figura 21 - Dendrograma obtido para as amostras cloridrato de cocaína (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	48
Figura 22 - Dendrograma obtido para as amostras cloridrato de cocaína (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.	49
Figura 23 - Gráficos de <i>scores</i> da PCA a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína sem ajuste de pureza da cocaína, na forma de apresentação cloridrato, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.	50
Figura 24 - Gráficos dos <i>loadings</i> da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína sem ajuste de pureza da cocaína, na forma de apresentação cloridrato, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.	50
Figura 25 - Dendrograma obtido (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média e 4PCs. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	52
Figura 26 - Dendrograma obtido (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média, e escolhendo 4 PCs. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	53
Figura 27 - Representação esquemática dos grupos formados através da análise hierárquica dos dendrogramas, com PCA.....	54
Figura 28 - Gráficos de <i>scores</i> da PCA a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	55

Figura 29 - Gráficos dos <i>loadings</i> da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	55
Figura 30 - Dendrograma obtido (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	57
Figura 31 - Dendrograma obtido (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média, e escolhendo 4 PCs. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	58
Figura 32 - Representação esquemática dos grupos formados através da análise hierárquica dos dendrogramas, com PCA.....	58
Figura 33 - Gráficos de <i>scores</i> da PCA a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação cloridrato, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	59
Figura 34 - Gráficos dos <i>loadings</i> da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação cloridrato, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	59
Figura 35 – Rota inversa de hidrólise para conversão de ecgonina, metilecgonina e benzoilecgonina em cocaína.....	61
Figura 36– Rota inversa de hidrólise para conversão de <i>cis/trans</i> -cinamoilecgonina em <i>cis/trans</i> -cinamoilcocaína,.....	62
Figura 37 - Dendrograma obtido para o estudo 3, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	63
Figura 38 - Dendrograma obtido para o estudo 3, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	64
Figura 39 - Gráfico de <i>scores</i> gerado do estudo 3 para as amostras na forma de apresentação cocaína base livre. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	65
Figura 40 - Gráficos dos <i>loadings</i> da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	66
Figura 41 - Dendrograma obtido para o estudo 3, na forma de apresentação cocaína cloridrato (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	67

Figura 42 - Dendrograma obtido para o estudo 3, na forma de apresentação cocaína cloridrato (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	67
Figura 43 - Gráfico de <i>scores</i> gerado do estudo 3 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	68
Figura 44 - Gráficos dos <i>loadings</i> da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação cloridrato, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	68
Figura 45 – Benzoilecgonina convertida em cocaína “original”.....	69
Figura 46 - Dendrograma obtido para o estudo 4, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.	70
Figura 47 - Dendrograma obtido para o estudo 4, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	71
Figura 48 - Gráfico de <i>scores</i> gerado do estudo 4 para as amostras na forma de apresentação cocaína base livre. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	72
Figura 49 - Gráficos dos <i>loadings</i> da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	72
Figura 50 - Gráfico de <i>scores</i> gerado do estudo 4 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	73
Figura 51 - Gráfico de <i>loadings</i> gerado do estudo 4 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1- cor verde; Grupo 2- cor vermelha; Grupo 3- cor amarela.....	73
Figura 52 - Dendrograma obtido para o estudo 5, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.	74
Figura 53 - Dendrograma obtido para o estudo 5, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	75
Figura 54 - Gráfico de <i>scores</i> gerado do estudo 5 para as amostras na forma de apresentação cocaína base livre. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	76

Figura 55 - Gráficos dos <i>loadings</i> da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	76
Figura 56 - Gráfico de <i>scores</i> gerado do estudo 5 para as amostras na forma de apresentação cloridrato de cocaína. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	77
Figura 57 - Gráfico de <i>loadings</i> gerado do estudo 5 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1- cor verde; Grupo 2- cor vermelha; Grupo 3- cor amarela.....	77
Figura 58 - Dendrograma obtido para o estudo 6, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.	78
Figura 59 - Dendrograma obtido para o estudo 6, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.	79
Figura 60 - Gráfico de <i>scores</i> gerado do estudo 6 para as amostras na forma de apresentação cocaína base livre. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	79
Figura 61 - Gráfico de <i>loading</i> da PCA gerado do estudo 6 para as amostras na forma de apresentação cocaína base livre. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo. ..	80
Figura 62 - Dendrograma obtido para o estudo 6, na forma de apresentação cocaína cloridrato (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.	81
Figura 63 - Dendrograma obtido para o estudo 6, na forma de apresentação cocaína cloridrato (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.	81
Figura 64 - Gráfico de <i>scores</i> gerado do estudo 6 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	82
Figura 65 - Gráfico de <i>loadings</i> gerado do estudo 6 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Objetivos de um programa de perfil químico de drogas.	8
Tabela 2 - Publicações científicas sobre perfil químico baseado nos alcaloides minoritários de cocaína.	10
Tabela 3 - Principais agentes de sililação.	15
Tabela 4- Exemplos de variáveis quantitativas.	18
Tabela 5- Métodos quimiométricos utilizados para identificação/classificação de amostras e suas características.	20
Tabela 6 - Parâmetros e condições cromatográficas.	30
Tabela 7 - Total de apreensões durante o período de estudo, levando em conta a forma de apresentação da cocaína (sal ou base).	32
Tabela 8 - Principais condições abordadas sobre o HCA e PCA envolvidos na construção do trabalho.	43

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

AC: Acre

AEME: Anidroecgonina metil éster

AE: Anidroecgonina

AM: Amazonas

BO: Bolívia

BE: Benzoilecgonina

CCC: *cis*-cinamoilcocaína

CCE: *cis*-cinamoilecgonina

CE: Ceará

CG-DIC: Cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama

CG-DCE: Cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons

CG-EM: Cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massas

CHCl₃: Clorofórmio

DEA: *Drug Enforcement Administration*

DITEC: Diretoria Técnico-Científica

DPF: Departamento de Polícia Federal

EC: Ecgonina

EUA: Estados Unidos da América

HCA: Análise de Agrupamentos Hierárquica

INC: Instituto Nacional de Criminalística

LD: limite de detecção

LQ: limite de quantificação

MCR: Materiais de referência certificados

ME: Metilecgonina

MS: Mato Grosso do Sul

MSTFA: [N-Metil-N-trimetilsililfluoroacetamida]

MW: *Molecular Weight*

NFC: N-formilcocaína

NORC: Norcocaína

PCA: Análise de Componentes Principais

PeQui: Projeto Químico de Drogas

POP: Procedimento Operacional Padrão

PPM: partes por milhão. Relativo à concentração ao analito em ppm em 10,25 mg de amostra.

PR: Paraná

SEPLAB: Serviço de Perícias de Laboratório e Balística

SP: São Paulo

TCC: *trans*-cinamoilcocaína

TCE: *trans*-cinamoilecgonina

TMC: Trimetoxicocaína

TROP: Tropacocaína

UNODC: *United Nations Office on Drugs and Crime*

RESUMO

O trabalho foi desenvolvido a partir de método analítico consolidado para a quantificação de alcaloides minoritários em amostras de cocaína, utilizando derivatização e cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (GC-DIC). Um total de 46 amostras de cocaína base livre e 56 amostras de cloridrato foram analisadas em triplicatas, gerando uma rotina de análises vinculada ao do sistema da qualidade do laboratório de química forense da Polícia Federal. A utilização da quimiometria possibilitou analisar diversas variáveis simultaneamente, permitindo a extração de uma quantidade maior de informações de agrupamento das amostras reais. Técnicas de pré-processamento de dados, de agrupamento hierárquico Ward (de variância mínima) e de análise dos componentes principais (PCA) foram utilizadas com o objetivo de minimizar o efeito de *outliers* e evidenciar agrupamentos das amostras para definição de perfis de composição. Foram realizadas diversas análises quimiométricas com os dados quantitativos obtidos, tanto com teores obtidos diretamente na GC-DIC, quanto com normalização pela pureza de cocaína de cada amostra. Também foi avaliada a conversão matemática dos respectivos alcaloides minoritários de hidrólise para cocaína e *cis/trans*-cinamoilcocaína, com o objetivo de tornar possível a comparação de amostras que tenham sofrido diluições ou degradações. Apesar dos estudos quimiométricos realizados mostrarem resultados semelhantes quanto ao agrupamento das amostras, os estudos que consideraram a conversão de todos alcaloides de hidrólise para cocaína base livre e cloridrato foram considerados os mais adequados, uma vez que apresentam aglomerações mais eficientes e com valores de *scores* no PCA menos dispersos.

Palavras-chave: Cocaína; Alcaloides minoritários; Cromatografia Gasosa; Ferramentas Quimiométricas; Análise dos Componentes Principais; Agrupamento Hierárquico.

ABSTRACT

This work was developed from a consolidated analytical method that quantify minor alkaloids in cocaine sample, using derivatization and gas chromatography coupled with flame ionization detector (CG-FID). A total of 46 free base and 56 hydrochloride cocaine samples were analyzed in triplicate, leading to a routine of analysis within the assurance quality program of the Brazilian Federal Police forensic chemistry lab. The utilization of chemometric tools allowed the analysis of several variables simultaneously, leading to a high quantity of information related to real sample grouping. Technics of pre-processing data, Ward hierarchical grouping and principal components analysis (PCA) were used to minimize outlier effects and to provide sample grouping that can define chemical profiling parameters. Several chemometric analysis were performed with the available quantitative data, using raw results from GC-FID and cocaine purity normalized datasets. The mathematical conversions of the respective minor alkaloids to cocaine and *cis/trans*-cinnamoylcocaine were also evaluated, with the objective to also compare degraded and diluted samples. All the chemometric studies presented similar results concerning samples grouping process, but those that considered the conversion to cocaine and *cis/trans*-cinnamoylcocaine of all alkaloids from hydrolysis were considered more adequate, both to free base and hydrochloride cocaine, since they render more efficient grouping and less disperse score values of PCA.

Keywords: Cocaine; Minor Alkaloids; Gas Chromatography; Chemometric Tools; Principal Components Analysis; Hierarchical Grouping.

1 INTRODUÇÃO

Conforme o Relatório Mundial sobre Drogas, publicado pelo Escritório contra Drogas e Crimes das Nações Unidas¹, Brasil e Argentina representam os maiores mercados de cocaína da América do Sul, com aproximadamente 900 mil e 600 mil usuários, respectivamente.

A quantidade total de cocaína apreendida dobrou na América do Sul durante o período 1998-2014 (atingindo 392 toneladas), embora dados recentes sugiram um nível acima desse valor. De acordo com o Relatório Mundial sobre Drogas de 2016², no período 2009-2014, as apreensões de cocaína na Colômbia representaram 56 % de todas as apreensões na América do Sul (mais de um terço das apreensões globais); seguido pelo Equador (10 % do total de apreensões de cocaína na América do Sul), o Brasil (cerca de 7 %), a Bolívia (cerca de 7%), Peru (cerca de 7%) e a Venezuela (6 %).

Ainda segundo o relatório do UNODC 2016, o aumento da quantidade de cocaína apreendida no Brasil foi atribuído a uma combinação de esforços na implementação da lei, o crescente mercado doméstico de cocaína e aumento das remessas de cocaína para mercados estrangeiros. A África é um destino frequente da cocaína que parte do Brasil, representando 51% de todas as apreensões que chegam aos países do continente africano.

1.1 Cocaína

A cocaína é um produto natural obtido a partir das folhas de coca (gênero *Erythroxylum*), sendo, porém, encontrados os maiores teores em quatro variedades desta planta: *Erythroxylum coca var. coca*, *Erythroxylum coca var. ipadu*, *Erythroxylum coca var. novogranatense* e *Erythroxylum coca novogranatense var. truxillense*. Dentre estas quatro variedades, a *Erythroxylum coca var. coca* é a mais utilizada na produção ilícita da droga.

Os alcaloides são substâncias derivadas dos aminoácidos, produzidas através da síntese natural de plantas, fungos e bactérias³. Conforme descrito por Oliveira⁴: “alcaloide é uma substância de caráter básico derivado, principalmente, de plantas que contém em sua fórmula basicamente nitrogênio, oxigênio, hidrogênio e carbono”. Entre os alcaloides, a cocaína é o mais conhecido, em razão de seu uso como droga de abuso. A figura a seguir apresenta um grupo específico de alcaloides que são derivados da ecgonina:

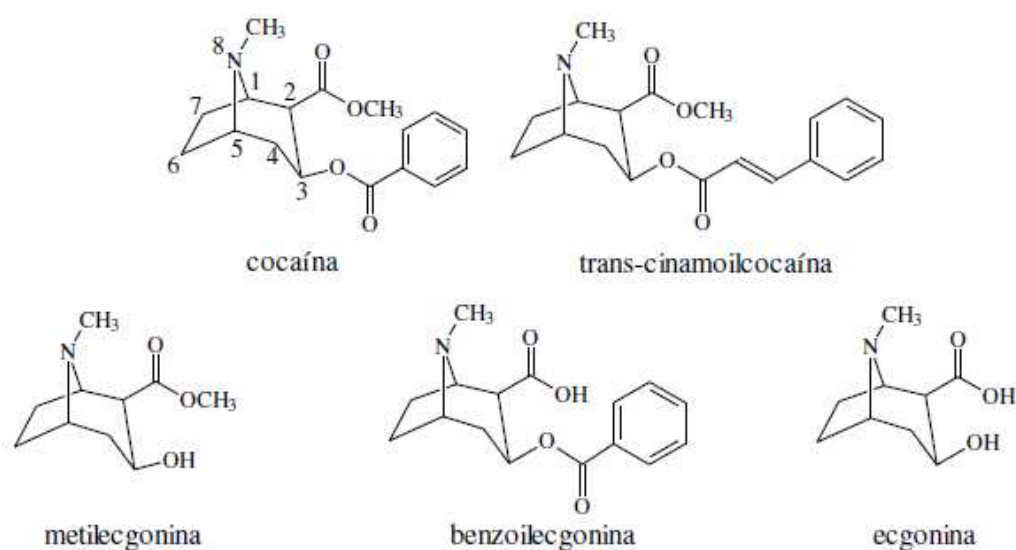


Figura 1 - Alcaloides derivados da ecgonina.

1.1.1 Processos de Obtenção da Cocaína

A cocaína que chega ao consumidor é uma mistura complexa contendo diversos componentes a ela agregada durante os processos de extração e purificação ou refino. Os principais tipos de componentes podem ser classificados em:

Naturais: presentes na folha de coca e que são coextraídos durante a produção da droga, não sendo totalmente removidos do produto final.

Subprodutos: substâncias geradas durante a produção, transporte e armazenamento da droga.

Diluentes: substâncias sem efeito farmacológico, adicionados normalmente após a fabricação da droga para diluição/aumento de volume do produto final.

Adulterantes: substâncias com efeitos farmacológicos, adicionadas normalmente após a fabricação da droga e que podem potencializar ou mimetizar dos efeitos da cocaína⁶.

Os processos empregados para obter cocaína refinada são diversos. Mesmo partindo da mesma matéria-prima ou até do mesmo laboratório clandestino, o produto obtido pode possuir características químicas bem peculiares no que diz respeito à presença ou concentração de impurezas. Durante a produção, as etapas de extração e purificação necessitam do uso de diversos insumos químicos como ácidos, bases, oxidantes e solventes, que podem deixar traços

no produto final, ou produzir alterações específicas na estrutura química de alguns dos componentes.

A cocaína é obtida a partir da folha do vegetal *Erythroxylum coca*, através de uma sequência de extrações líquido-líquido. Esse processo envolve três etapas:

- A extração da pasta de cocaína a partir das folhas de coca;
- A purificação da pasta de cocaína;
- A conversão de cocaína base em cloridrato de cocaína;

Os procedimentos de extração e purificação são conhecidos como refino da cocaína, de modo que representam a transformação da cocaína em suas formas de apresentação. A figura a seguir, ilustra o resumo das etapas de obtenção da cocaína:

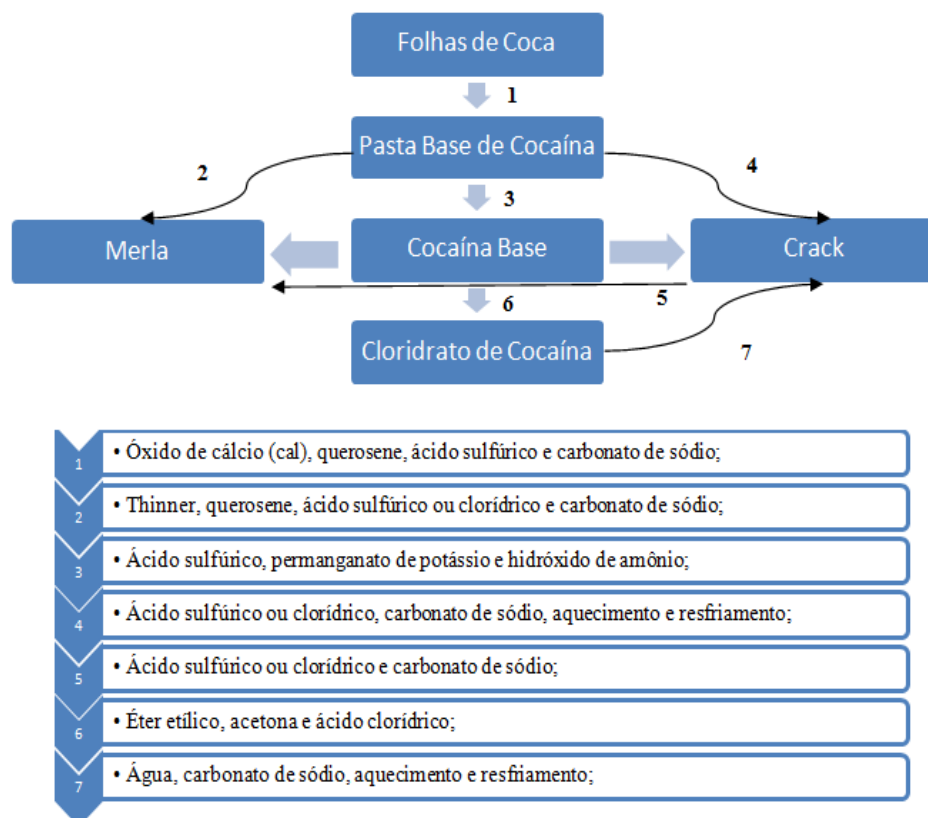


Figura 2 - Etapas de obtenção da cocaína.

As folhas secas ao sol do vegetal *Erythroxylum coca* são misturadas com carbonato de sódio, substância alcalina, e extraída com querosene. Posteriormente, a fase orgânica é filtrada e misturada com ácido sulfúrico diluído. Ao separar os solventes imiscíveis, a fase ácida será convertida em fase básica com hidróxido de sódio para a precipitação dos alcaloides. Quando

o precipitado é isolado e seco, o produto final dessa etapa será a pasta base de cocaína ou pasta de coca⁸.

A obtenção da cocaína base ocorre através da purificação da pasta base, de modo que a pasta da base é dissolvida com ácido sulfúrico e a solução tratada com um agente oxidante (permanganato de potássio, por exemplo). A solução resultante é filtrada para retirada de resíduos sólidos e a cocaína base é novamente obtida através da adição de hidróxido de amônio e precipitação do material. Essas etapas de oxidação, seguidas de purificação, têm por objetivo remover grande parte dos alcaloides naturais *cis* e *trans*-cinamoilcocaínas e promover o clareamento do produto.

Por fim, a adição de éter etílico e uma mistura de acetona e ácido clorídrico à cocaína base resulta no cloridrato de cocaína. A cocaína base reage com o ácido, formando pequenos cristais brancos (sal cloridrato de cocaína), que precipita no solvente orgânico^{9, 5}.

1.1.2 Formas de Apresentação da Cocaína

Conforme o solvente utilizado para a produção da cocaína e a partir das definições adotadas pelo SEPLAB/INC/DITEC/PF¹⁰, as formas mais relevantes de apresentação da cocaína são:

1- Pasta Base, Pasta de cocaína ou pasta de coca: primeiro produto obtido a partir da extração de folhas de coca. Apresenta coloração bege, com presença significativa de alcaloides como *cis* e *trans*-cinamoilcocaína.

2- Cocaína Base: trata-se da pasta base refinada, ou seja, que sofreu processos de oxidação ou lavagens com etanol, para remoção das impurezas coloridas e alcaloides como *cis* e *trans*-cinamoilcocaína.

3- Crack: sua produção envolve uma etapa de aquecimento de modo que a cocaína base é fundida, e após o resfriamento, solidifica-se em forma de pedras. A forma de apresentação depende da característica da pedra fundida, que não deve se esfarelar facilmente como o ocorre com a pasta base ou cocaína base. Apresenta uma coloração marfim ou amarelada.

4- Cloridrato de cocaína: cocaína na forma de sal preparado pela reação de cocaína base com ácido clorídrico e precipitado em solventes orgânicos. Geralmente é apreendida na forma de pó com coloração branca.

1.1.3 Alcaloides Minoritários da Cocaína

Componentes naturais são coextraídos durante a produção da droga e não são completamente removidos do produto final, estando presentes em matérias-primas usadas para a produção de certas drogas de origem vegetal, como a cocaína. As impurezas naturais são representadas normalmente por alcaloides minoritários (tropacocaína, trimetoxicocaína, truxilinas, etc.) e alguns produtos de hidrólise (Figura 3).

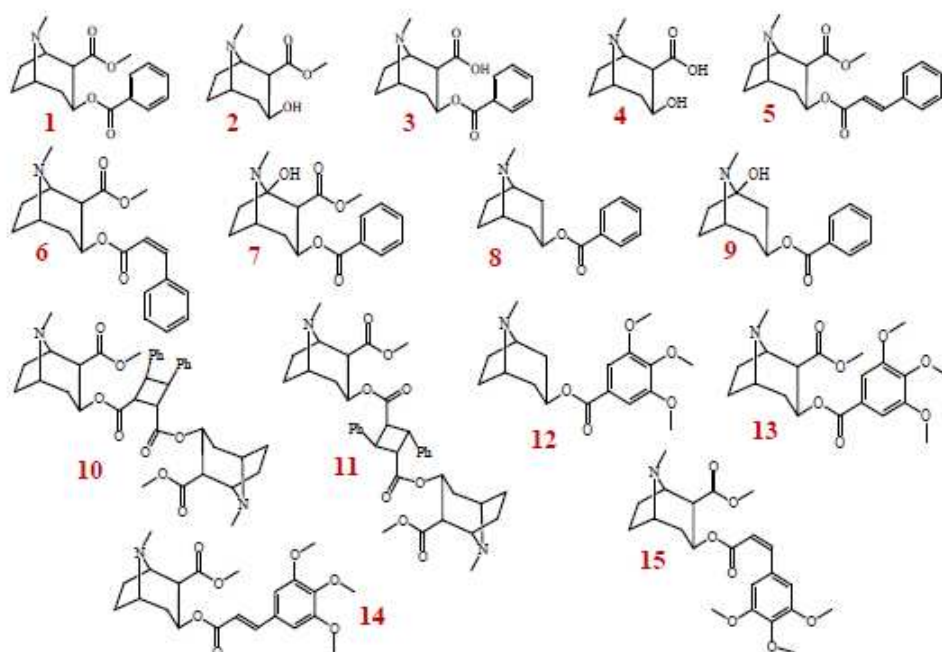


Figura 3 - Fórmulas estruturais da cocaína e de alguns alcaloides minoritários presentes em folhas de coca. 1) cocaína; 2) metilecgonina; 3) benzoilecgonina; 4) ecgonina; 5) *trans*-cinamoilcocaína; 6) *cis*-cinamoilcocaína; 7) 1-hidroxicocaína; 8) tropacocaína; 9) 1-hidroxitropacocaína; 10) β -truxilina; 11) α -truxilina; 12) 3',4',5'-trimetoxitropacocaína (TMT); 13) 3',4',5'-trimetoxicocaína (TMC); 14) 3',4',5'-trimetoxi-*trans*-cinamoilcocaína (tTMCC); 15) 3',4',5'-trimetoxi-*cis*-cinamoilcocaína (cTMCC)

Os compostos minoritários da cocaína são alcaloides presentes naturalmente nas folhas de coca, podendo variar em concentração em razão da taxionomia da planta, das condições climáticas da região de cultivo ou do tipo de solo. Outros compostos minoritários podem ser produzidos também durante a fabricação clandestina, no armazenamento ou transporte da droga. Estas características dos alcaloides minoritários podem ser úteis para se obter informações úteis para investigação policial e para a construção de perfis químicos da droga.

Os compostos são considerados minoritários quando estão em concentração menor que 1% em relação à cocaína. Conforme a metodologia analítica utilizada na produção da droga, similaridades (grupo aromático, núcleo tropânico e éster) são observadas nas propriedades físico-químicas e estruturas entre os alcaloides minoritários e a cocaína. Mesmo que a cocaína tenha passado por um rigoroso processo de purificação, alcaloides presentes nas folhas de coca poderão resistir a todas as etapas do processo produtivo, podendo ser detectados no produto final^{8, 12}.

A presença dos isômeros *cis* e *trans*-cinamoilcocaína em amostras de cocaína ilícita foi descrita na literatura em 1973, por Moore, através da identificação destes alcaloides minoritários em amostras de cocaína refinada¹³.

Os alcaloides minoritários ecgonina, benzoilecgonina, metilecgonina, norcocaína, N-formilcocaína, *cis* e *trans*-cinamoilcocaína, tropacocaína e trimetoxicocaína são utilizados em diversos trabalhos de desenvolvimento do perfil químico de cocaína e identificados em amostras de cocaína ilícitas que são apreendidas.

Os produtos de hidrólise da cocaína, como a ecgonina, a benzoilecgonina e metilecgonina, são produzidos durante a purificação, transporte ou estocagem da droga, através da quebra das ligações dos grupos éster¹⁴.

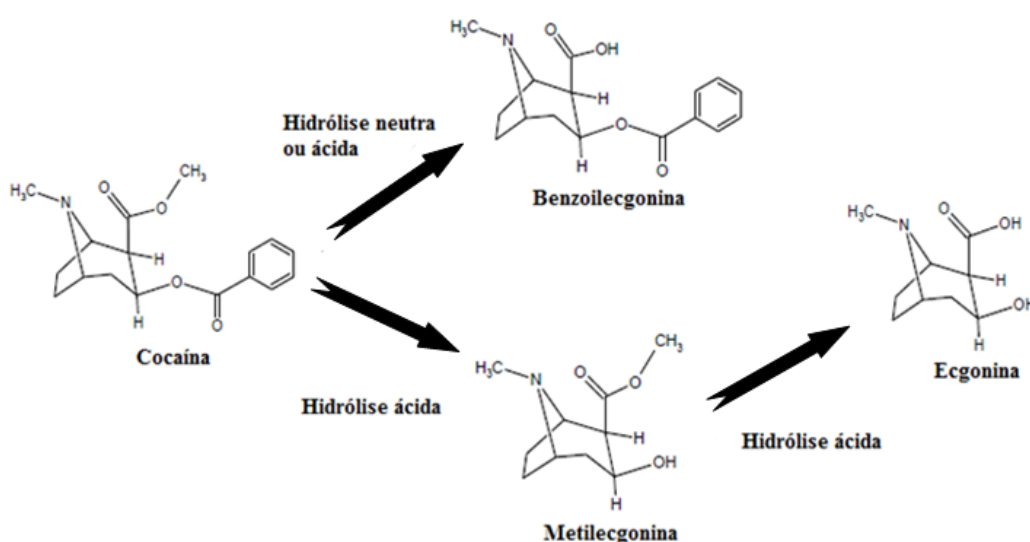


Figura 4 - Reações de hidrólise da cocaína.

Em trabalho publicado por Mallette e colaboradores no ano de 2016, foi criado um método de análise de alcaloides minoritários que se baseia nos teores relativos à cocaína. As folhas de coca da espécie *Erythroxylum* apresentam teores de alcaloides totais que variam de 0,5 a 1,5%, dos quais 75% são correspondentes à cocaína e o restante à outros alcaloides tropânicos chamados minoritários. O teor de cocaína em folhas de coca é expresso pela relação em mg/100 mg de folha seca e os teores dos alcaloides minoritários são expressos em função do teor de cocaína presente efetivamente nas folhas. Essa forma de expressar teores permite comparar rapidamente o teor relativo de alcaloides minoritários em diferentes amostras, mesmo que apresentem diferentes teores de cocaína. Neste método utilizado por um grupo do DEA/EUA, os alcaloides tropacocaína, trimetoxicocaína e truxilinas foram analisados para criação de perfil químico para determinação de origem geográfica do cultivo da planta de coca e estudo sobre as amostras de cocaína produzidas na América do Sul e traficadas nos Estados Unidos¹⁵.

O método utilizado neste trabalho já foi desenvolvido e validado no laboratório do INC/PF em trabalho de mestrado de Silva⁸, que teve por objetivo o desenvolvimento e a validação de um método analítico para identificação e quantificação de compostos minoritários em cocaína, em amostras reais da droga apreendidas pela Polícia Federal, utilizando derivatização seguida por análise por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC) e padronização interna. O método se mostrou capaz identificar e quantificar simultaneamente dez alcaloides minoritários em amostras de cocaína: anidroecgonina metil éster, anidroecgonina, metilecgonina, tropacocaína, norcocaína, N-formilcocaína, trimetoxicocaína, ecgonina, benzoilecgonina e *cis/trans*-cinamoilcocaína.

1.1.4 Perfil Químico da Cocaína

As formas de apresentação da cocaína traficadas e mais apreendidas no Brasil são pasta base, cloridrato de cocaína e *crack*, provenientes principalmente da Colômbia, Peru e Bolívia. Os estados do Amazonas, Roraima, Acre, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Paraná são as principais rotas de entrada da droga no Brasil (principalmente por vias aéreas e terrestres)¹⁶. A cocaína é exportada do Brasil (principalmente por via marítima) com destino a Europa, África e EUA e, de acordo com o relatório anual da *United Nations Office on Drugs and Crime* (UNOCD, 2016), um total de 153 países relataram a apreensão de cocaína no período de 2009 a 2014.

Os alcaloides da folha de coca contribuem para o estudo relacionado ao tráfico de cocaína e estabelecer o perfil químico^{17, 15}. Moore e Casale^{21, 22} citam os principais objetivos de um programa de perfil químico de drogas (Tabela 1):

Tabela 1 - Objetivos de um programa de perfil químico de drogas.

OBJETIVO	JUSTIFICATIVA
Comparação entre amostras	Serve para respaldar eventuais investigações criminais. Amostras apreendidas em uma ou diferentes regiões, podem apresentar características químicas similares, que as identifique como oriundas da mesma fonte.
Identificar origem geográfica	Impurezas presentes no produto final podem permitir a determinação de origem geográfica da droga.
Rastreamento de rotas de distribuição de drogas	Estabelecer conexão entre o ponto de partida e o destino final da droga, após a determinação da origem geográfica de uma amostra.
Avaliação dos reagentes químicos utilizados na produção da droga	Acompanhamento e controle da aquisição de tais produtos químicos para determinar se seu uso é para fins legítimos ou ilícitos.
Diferenciar entre uma droga produzida de forma ilegal ou para fins farmacêuticos	Através da presença de alguns compostos minoritários, esta diferença pode ser estabelecida. Porém, no Brasil este tipo investigação não se aplica, uma vez que não há no país produção de cocaína para fins farmacêuticos ou terapêuticos.
Identificar a presença de adulterantes	A caracterização de tais compostos pode auxiliar no controle e combate ao uso de tais substâncias, diminuindo os efeitos de toxicidade delas provenientes em usuário de cocaína.

A partir da análise sistemática de componentes minoritários de amostras de cocaína apreendidas e o estabelecimento do perfil químico, é possível avaliar objetivamente similaridades e/ou diferenças entre as concentrações das principais impurezas. Uma “assinatura química” característica pode ser atribuída para cada amostra da droga analisada, o que em teoria, fornece indicações confiáveis de sua "história".

[...] estes procedimentos diferem consideravelmente das análises de rotina, uma vez que exige que a cocaína seja isolada e submetida a uma série de exames adicionais. Aliado a isso, está a exigência de possuir um sistema eficiente de intercomunicação entre os órgãos encarregados de proceder as análises necessárias com os órgãos responsáveis pela investigação sobre o comércio ilícito da substância, bem como manter um banco de dados que centralize e compare tais informações. (Oliveria, 2013, p. 12-13)⁴.

Os projetos desenvolvidos pela Polícia Federal são focados na realização de estudos refinados com o objetivo de caracterizar as amostras de cocaína e auxiliar a inteligência policial no combate ao tráfico de drogas.

Criado em 2005, o Projeto Químico de Drogas (PeQui), representa um conjunto de ações feitas pela Polícia Federal juntamente com o apoio do UNODC com o objetivo de aumentar a capacidade de se enfrentar o crime organizado⁹. Segundo Maldaner *et al.*¹⁸, o projeto PeQui foi implementado juntamente com a cooperação técnica de instituições forenses nacionais e internacionais.

Ao estabelecer o perfil químico da cocaína por meio da identificação e/ou quantificação de outros analitos nela contidos, seria possível inferir, por exemplo, em que país da América do Sul a folha de coca cresceu, como e onde a folha foi transformada em uma pasta e, finalmente, em cocaína cloridrato⁸.

A seguir, será apresentada a Tabela 2 listando as principais publicações científicas sobre perfil químico de cocaína baseado na identificação de alcaloides minoritários de cocaína.

Tabela 2 - Publicações científicas sobre perfil químico baseado nos alcaloides minoritários de cocaína.

Ano / Autor (es)	Técnica Analítica	Condições de Análise	Analitos / Objetivos
2007 / Lociciro <i>et al.</i> [19]	CG-DIC	Derivatização MSTFA	Benzoilecgonina, <i>cis</i> e <i>trans</i> -cinamoilcocaína, ecgonina, metilecgonina, tropacocaína, norcocaína, 3,4,5-trimetoxicocaína. Comparação de amostras apreendidas em diferentes localidades.
2011 / Esseiva <i>et al.</i> [20]	CG-EM	Derivatização MSTFA	Benzoilecgonina, <i>cis</i> e <i>trans</i> -cinamoilcocaína, ecgonina, metilecgonina, tropacocaína, norcocaína, 3,4,5-trimetoxicocaína. Comparação de amostras apreendidas em diferentes localidades.
2014 / Casale <i>et al.</i> [21]	CG-DIC CG-DCE CG-EM	Derivatização MSTFA	Tropacocaína, 1-hydroxytropacocaina, <i>cis</i> e <i>trans</i> -cinamoilcocaína, trimetoxicocaína, truxilina.

Lociciro e colaboradores, em 2007, publicaram trabalho de harmonização de métodos analíticos entre dois laboratórios diferentes voltadas para criação de perfis químicos de cocaína, analisando os alcaloides metilecgonina, ecgonina, tropacocaína, benzoilecgonina, norcocaína, *cis*- and *trans*-cinamoilcocaína e 3,4,5-trimetoxicocaína. Neste trabalho o objetivo foi melhorar a análise cromatográfica de amostras de cocaína, utilizando MSTFA, BSA, TMSI e BSTFA + TMCS 1% como agentes derivatizantes. As análises realizadas com MSTFA apresentaram um excelente coeficiente de determinação na reprodutibilidade, sendo considerado o mais adequado para as análises propostas pelo grupo.

Em 2011, Casale e colaboradores, identificaram quatro estereoisômeros derivados da oxidação incompleta das cinamoilcocaínas por meio de análises baseadas em cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando o MSTFA como derivatizante para o preparo de amostras para a CG.

1.2 Aspectos Analíticos

As técnicas instrumentais e analíticas utilizadas durante o desenvolvimento do trabalho serão discutidas a seguir, de modo que o enfoque será a determinação dos alcaloides minoritários encontrados em amostras de cocaína.

1.2.1 Técnicas para identificação do perfil químico de cocaína

A cromatografia é um método físico-químico de separação. Ocupa um lugar de destaque entre os diversos métodos para análise de cocaína, devido à facilidade de se efetuar a separação, identificação e quantificação das espécies químicas, por si mesma ou em conjunto com outras técnicas instrumentais de análise^{23,24}.

A cromatografia gasosa é uma técnica utilizada para separar componentes em amostras, cujos analitos orgânicos são voláteis ou se volatilizam a altas temperaturas sem se degradarem²⁵. A técnica mostrou ser apta a analisar a cocaína em suas formas base e sal, bem como os alcaloides minoritários e fármacos adulterantes.

A cromatografia gasosa se baseia na migração diferencial dos componentes na coluna do equipamento, devido a diferentes interações que ocorre entre o analito e a Fase Estacionária. A Fase Móvel é um gás inerte utilizado para carrear o analito pela coluna. A técnica foi usada por Chiarotti e Fucci que demonstraram a alta resolução na separação de picos cromatográficos, dentre outras vantagens. Os gases mais empregados são H₂, He e N₂ e a vazão do gás de arraste é constante durante a análise, devendo ser controlada^{26,27}.

As substâncias separadas na coluna passam por um detector, onde um sinal elétrico será gerado proporcionalmente à quantidade de material eluído. Os cromatogramas representam esse registro do sinal em função do tempo, possibilitando a análise quantitativa, de modo que as substâncias aparecem como picos com área proporcional à sua massa²⁵.

As técnicas analíticas mais utilizadas para o estudo de drogas nos laboratórios forenses são: Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC/EM), Cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama (GC/DIC) e a espectroscopia na região do infravermelho (IV).

A cromatografia gasosa pode ser acoplada a diversos tipos de detectores. O detector de ionização de chama (DIC ou *FID* do inglês *flame ionization detector*) é o detector mais sensível de cromatografia gasosa para hidrocarbonetos, sendo excelente para a identificação de

metano. A técnica utiliza uma chama (hidrogênio/ar) pela qual a amostra é passada, para oxidar as moléculas orgânicas e produzir partículas de carga elétrica positiva. Essas partículas são recolhidas e produzem um sinal elétrico, que é então medido.

A detecção por ionização em chama é largamente utilizada para cromatografia gasosa, uma vez que responde a quase todas as classes de compostos²⁹. Porém, o DIC possui certas limitações, reduzindo a sensibilidade quando os analitos se encontram em baixas concentrações ou o caso de moléculas que contenham um heteroátomo²⁸. A técnica de detecção por ionização de chama apesar de ser robusta, possui como desvantagem a necessidade de utilização de padrões para a identificação de picos cromatográficos através da comparação de tempos de retenção.



Figura 5 - Cromatógrafo Gasoso Agilent Technologies® 6890N com detector de ionização em chama acoplado a uma estação de trabalho com os *softwares* MSD ChemStation e Enhanced Data Analysis, ambos da Agilent Technologies®.

Fucci e Giovanni³⁰ utilizaram as técnicas cromatográficas gasosa com detector de ionização de chama (CG/DIC) e acopladas com espectrômetro de massas (CG-EM) para determinar qualitativamente e quantitativamente a cocaína e seus adulterantes em amostras apreendidas em Roma (Itália) entre 1996 e 1997.

Anderson e colaboradores³¹ desenvolveram um método cromatográfico gasoso para perfil de anfetaminas com o objetivo de comparar diversos métodos sob as mesmas condições, concluindo que a técnica analítica baseada em CG-EM oferece um desempenho analítico melhor do que o CG-DIC (em relação à repetibilidade, linearidade, estabilidade,

reprodutibilidade, poder de resolução, sensibilidade, etc.), tornando-o uma boa escolha para a criação de perfis de drogas ilícitas, como caso da cocaína.

Esseiva e colaboradores²⁰, em 2011, fizeram a mudança do método CG-DIC para o método CG-EM para a obtenção de perfis químicos de compostos minoritários da cocaína, de modo que foram identificados os alcaloides ecgonina, metilecgonina, tropacocaína, benzoilecgonina, norcocaína, *cis*-cinamoilcocaína, *trans*-cinamoilcocaína e trimetoxicocaína, bem como diversos adulterantes ou diluentes da cocaína.

Monfreda e colaboradores³², em 2015, analisaram compostos minoritários de cocaína por CG-EM e por CG-DIC em apreensões realizadas em portos italianos. Nesse trabalho foram utilizadas outras técnicas além da cromatografia gasosa, como a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e refletância total atenuada (*FTIR/ATR*) e ferramentas quimiométricas, como análise de componentes principais (PCA).

Levando-se em conta as informações da literatura e a experiência já adquirida no laboratório de química forense da Polícia Federal, optou-se pela utilização da cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG/DIC) como a técnica a ser utilizada para o desenvolvimento dos trabalhos com alcaloides minoritários de cocaína no Brasil. A opção se baseia na maior robustez e menor necessidade de realizar calibrações desta forma de detecção, quando comparada com a espectrometria de massas. Também pode ser destacado que, uma vez que as amostras normalmente apreendidas no Brasil não possuem tantos adulterantes adicionados à droga quando se compara com a realidade de outros países, o uso da espectrometria de massas se torna menos crucial para se resolver problemas de seletividade. Por fim, também foi avaliado que a CG/DIC seria adequada para as concentrações esperadas dos analitos na quantificação, tornando viável a posterior utilização das ferramentas quimiométricas no estabelecimento de correlação entre apreensões de cocaína.

1.2.2 Derivatização

Na análise de amostras por cromatografia gasosa os analitos devem ser voláteis, termicamente estáveis, capazes de suportar elevadas temperaturas e passarem para o estado vapor sem sofrer degradações ou reações com outros compostos. Uma alternativa para se analisar compostos que não cumprem estes critérios por cromatografia gasosa, seria realizar uma etapa preliminar conhecida como derivatização³³.

A derivatização analítica abrange aplicações nos vários ramos da Química Moderna, de modo que esta técnica permitiu a análise (por cromatografia gasosa e cromatografia líquida) de um grande número de compostos que não poderiam ser analisados por estes métodos³⁴. Uma derivatização adequada deve ter os seguintes requisitos³⁵:

- ✓ Originar um só composto derivatizado por analito, sendo este composto estável nas condições de análise;
- ✓ A reação de derivatização deve ser simples, rápida e possuir elevado rendimento;
- ✓ A curva analítica deve ter um perfil linear permitindo uma boa adequação à mesma dos pontos obtidos, para efeitos de quantificação;

O aumento do peso molecular gerado pela reação de derivatização é benéfico, uma vez que produz íons de massa maior (mais específicos para o analito de interesse), de modo a facilitar a análise dos dados.

Uma situação que envolve a derivatização é a obtenção de picos não simétricos, devidos a efeitos de adsorção da coluna. Compostos químicos com comportamentos cromatográficos semelhantes podem também ser separados através de técnicas de derivatização adequadas^{34,35}.

Os reagentes de derivatização são empregados para substituir um átomo de hidrogênio lábil ligado a um heteroátomo no composto a ser derivatizado, por grupos funcionais menos polares. Esta técnica é utilizada para compostos com grupos funcionais -OH, -COOH, -NH, e -SH. As ligações de hidrogênio são minimizadas, resultando em um derivado do analito original termicamente mais estável, mais volátil e produzindo picos simétricos^{36,37}.

As três principais reações de derivatização usadas para análise de drogas são: a sililação, a acilação e a alquilação. A sililação necessita de um período de aquecimento de uma solução contendo os analitos e o reagente derivatizante. Derivados silil são formados quando um hidrogênio ativo dos grupos -OH, -SH ou -NH é substituído por um grupo alquilsilil, normalmente trimetilsilil (TMS) ou *tert*-butildimetilsilil (TBDMS) convertendo a molécula em um éter ou um éster silil³⁸. Compostos são completamente derivatizados quando forem solubilizados no composto derivatizante, enquanto outros, que possuam baixa solubilidade, podem requerer etapas de aquecimento para que a derivatização seja quantitativa. No caso deste trabalho, a reação de derivatização utilizada foi a reação de sililação.

Os principais reagentes derivatizantes doadores do grupo TMS (trimetilsilil) estão descritos na Tabela 3 e podem ser utilizados na presença de catalisadores ácidos ou básicos, como TFA (ácido trifluoroacético), ácido clorídrico, piridina, *etc*^{37,39}.

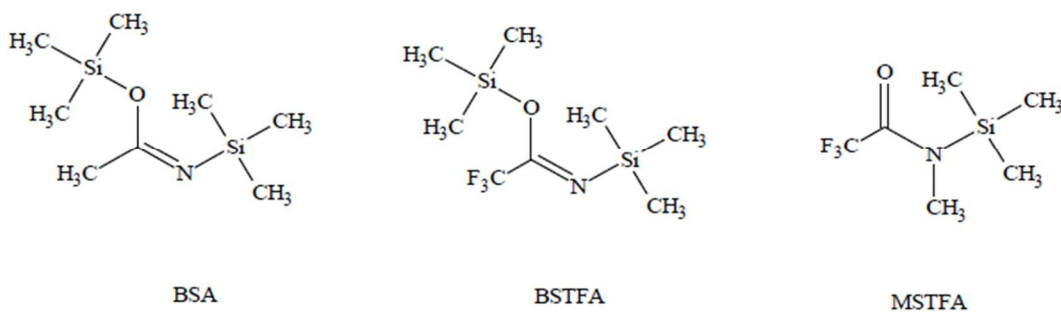


Figura 6 - Estrutura química dos reagentes sililantes.

A tabela a seguir descreve os principais agentes sililantes:

Tabela 3 - Principais agentes de sililação.

Sililantes	Sigla
N,O-bis-trimetilsilil-trifluoroacetamida	BSTFA
N-metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida	MSTFA
N-Metil-N-tert-Butildimetilsililtrifluoroacetamida	MTBSTFA

Embora os três reagentes possuam reatividades similares, os compostos derivatizados provenientes da reação com MSTFA são mais voláteis, que os resultantes das reações com os demais reagentes citados⁴¹.

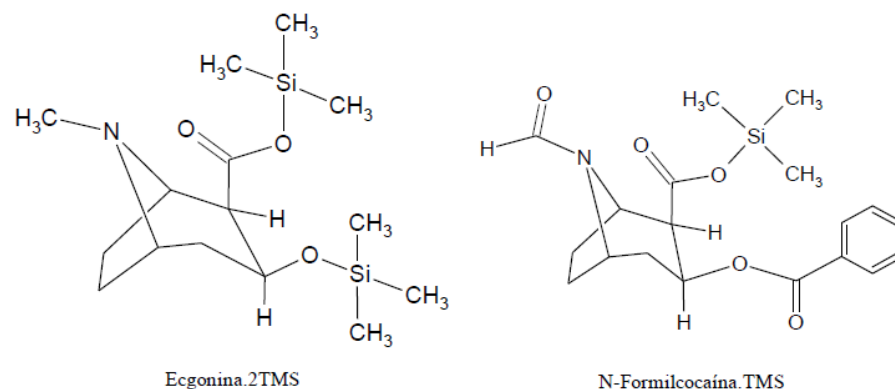


Figura 7 - Alcaloides minoritários derivatizados.

Diversos trabalhos estão descritos na literatura sobre a identificação e quantificação de compostos minoritários da cocaína usando a derivatização com MSTFA, que confere a eles um grupo TMS.

No ano de 2007, Lociciro e colaboradores¹⁹ publicaram um trabalho para unificar métodos analíticos de dois laboratórios diferentes voltados para a criação de perfis químicos de cocaína, analisando os alcaloides metilecgonina, ecgonina, tropacocaína, benzoilecgonina, norcocaína, *cis* e *trans*-cinamoilcocaína e 3,4,5-trimetoxicocaína. As análises das amostras de cocaína realizadas com MSTFA apresentaram um excelente coeficiente de determinação na reprodutibilidade, sendo então classificado como mais adequado para as análises propostas pelo grupo.

No mesmo ano de 2007, Casale e colaboradores²¹ identificaram quatro estereoisômeros derivados da oxidação incompleta das cinamoilcocaínas por meio de análises baseadas em cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando o MSTFA como derivatizante para o preparo de amostras para a CG.

Outros trabalhos já citados anteriormente, como o de Esseiva²⁰, Monfreda³² e Broséus⁴², relatam o uso do derivatizante MSTFA na análise de amostras de cocaína por cromatografia gasosa.

1.3 Quimiometria

A Quimiometria é uma área da química na qual são desenvolvidas e utilizadas técnicas, operações e ferramentas matemáticas, estatísticas, e lógica, que são aplicados a dados químicos^{48, 49}.

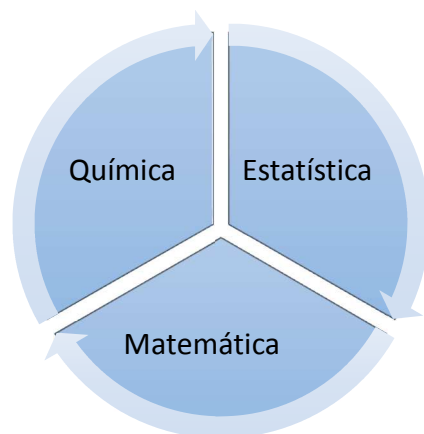


Figura 8 - Interdisciplinaridade da Quimiometria⁴³.

O avanço tecnológico na área instrumental ocorrido nos últimos 50 anos influenciou todas as áreas da ciência, mas de modo especial a área da química analítica. As buscas por ferramentas matemáticas e estatísticas que possam tornar úteis os grandes conjuntos de dados de informações e dados analíticos obtidos atualmente, foi a principal causa do surgimento e rápido desenvolvimento da quimiometria⁴³.

Os métodos quimiométricos são aplicados com diferentes finalidades, englobando a análise exploratória de dados, a calibração multivariada para a predição quantitativa das propriedades de uma amostra, bem como a classificação de amostras, de acordo com os critérios de agrupamento (como por exemplo, a origem geográfica, o tipo de processamento ou grau de maturação)⁵². O termo foi proposto pela primeira vez, em 1972, por Bruce Kowalski (EUA) e Svante Wold (Suécia), que dois anos depois estruturam a Sociedade Internacional de Quimiometria⁴⁴.

Dois trabalhos tiveram especial impacto na quimiometria: o de Kowalski e Bender⁴⁵ e o de Lawton e Sylvestre⁴⁶, publicados entre 1971 e 1972. Já em 1987, foram lançados dois jornais dedicados exclusivamente à área de quimiometria: o *Journal of Chemometrics* e o *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. Dessa forma, em menos de duas décadas, o reconhecimento dessa nova área da química já estava concretizado em todo o meio científico⁴⁴.

Kowalski teve um papel de destaque na introdução da quimiometria no Brasil, em razão de sua visita ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, ao final do ano de 1980, a convite do professor Roy Bruns, que na época iniciava suas atividades nessa área⁴⁷.

A disponibilidade de utilização de computadores potentes contribuiu para a rápida evolução dos métodos quimiométricos, ao permitir uma análise mais flexível de grandes conjuntos de dados, o desenvolvimento de algoritmos computacionais mais eficientes e a difusão de softwares quimiométricos. A Quimiometria envolve diferentes métodos, tais como a otimização e validação de metodologias analíticas, o planejamento experimental, a estimativa de parâmetros, o processamento de sinal, a análise de fatores, a calibração multivariada, a utilização de redes neurais artificiais, o reconhecimento de padrões ou o processamento de imagem digital⁵⁰.

1.3.1 Organização dos dados para análise

Medir um sinal representa registrar a magnitude da resposta de um instrumento em função de uma variável determinada pelo domínio da medida. Esses sinais fornecem informações indiretas sobre o sistema em estudo e devem ser traduzidos em informações de natureza química, tais como a identificação e quantificação de substâncias em uma amostra⁴³.

As variáveis podem ser quantitativas ou qualitativas. As variáveis quantitativas são aquelas que assumem um valor numérico ao longo de uma escala contínua. A Tabela 4 a seguir apresenta as principais variáveis quantitativas:

Tabela 4- Exemplos de variáveis quantitativas.

Variáveis Quantitativas	Exemplo
Respostas de um Espectrôfotometro	Intensidades registradas nos diferentes comprimentos de onda.
Medidas de um cromatógrafo	Intensidades registradas em diferentes tempos de retenção ou as áreas dos picos correspondentes aos constituintes químicos.
Resultados de uma instrumentação eletroquímica	Medidas potenciais em eletrodos seletivos para íons no caso da potenciometria ou as intensidades de correntes para os diferentes potenciais na voltametria.
Resultados de parâmetros estruturais	Cálculos teóricos de química quântica.

Para a aplicação de uma análise quimiométrica, é necessário que os dados do sistema analisado, sejam organizados em matrizes através de vetores em linha ou coluna. As matrizes de dados são organizadas em pares, de forma que cada matriz com as variáveis independentes possua uma matriz ou vetor de variáveis dependentes correspondente, de modo a formar um

conjunto de dados. Neste conjunto, as amostras são distribuídas nas linhas e as variáveis são colocadas nas colunas⁵¹.

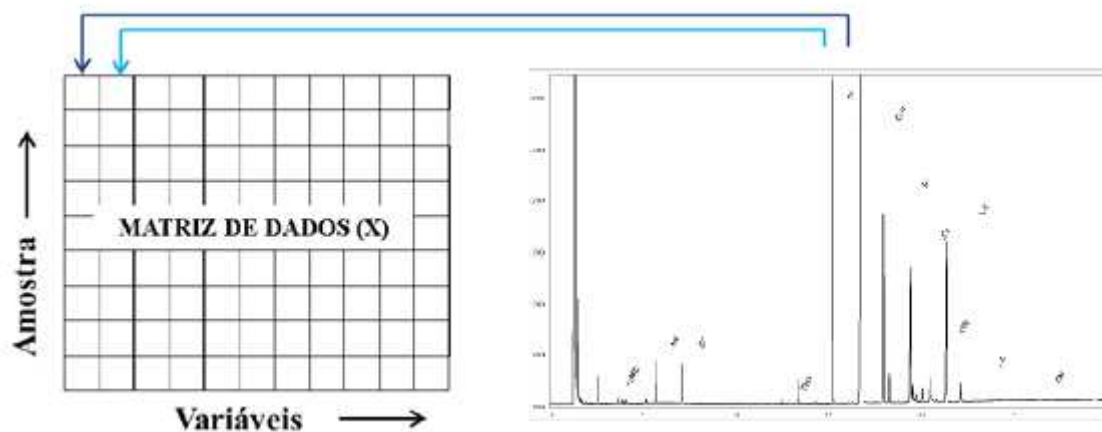


Figura 9 - Exemplo da organização dos dados de um cromatograma em uma matriz X.

Nesse trabalho, ferramentas quimiométricas foram utilizadas na tarefa de consolidar a interpretação de resultados voltados para a classificação de amostras reais em relação aos possíveis locais de produção e para a correlação entre amostras.

1.3.2 Análise dos Componentes Principais (PCA)

Para agrupar e classificar diferentes amostras são usados métodos quimiométricos, divididos em dois grupos: os métodos supervisionados e os métodos não supervisionados de reconhecimento de padrões (Tabela 5). Esses métodos se baseiam na validade das seguintes suposições⁴³:

- 1- As amostras do mesmo tipo são semelhantes;
- 2- Existem diferenças significativas entre tipos de amostras;
- 3- O conjunto de medidas disponíveis é capaz de detectar essas semelhanças e diferenças.

Tabela 5- Métodos quimiométricos utilizados para identificação/classificação de amostras e suas características.

Método	Característica
Quimiométrico	
Supervisionado	Cada amostra analisada provém de uma classe preestabelecida, e essa informação é utilizada durante a análise dos dados e na construção dos modelos de classificação.
Não Supervisionado	Não requerem nenhum conhecimento prévio a respeito da classificação das amostras. Elas são agrupadas naturalmente com base na informação contida nos dados experimentais em questão.

Análises exploratórias são realizadas utilizando a Análise de Componentes Principais (PCA, *Principal Component Analysis*) e a Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA, *Hierarchical Cluster Analysis*). Ambos os métodos são classificados como exploratórios ou não supervisionados, uma vez, que nenhuma informação com relação à identidade das amostras, é levada em consideração⁵³.

A análise de componentes principais é a mais antiga e mais conhecida das técnicas de análise multivariada. Foi proposta em 1901 por Karl Pearson, sendo que mais tarde incrementada por Hotelling, maximizando a variância dos dados originais⁵⁴. Trata-se de um método simples, não paramétrico e de extração de informações importantes a partir de um conjunto de dados multivariados^{55, 56}.

[...] PCA é um método utilizado para projetar os dados multivariados em um espaço de dimensão menor reduzindo, assim, a dimensionalidade do espaço original do conjunto de dados, sem que as relações entre as amostras sejam afetadas. Consequentemente, as informações relevantes serão separadas e ampliadas pelo “microscópio” de dados, tornando-os mais evidentes à inspeção visual. (FERREIRA, 2015, p. 110)⁴³

Para efetuar a redução dimensional, porém sem perder suas informações, a matriz de dados original será representada por novas variáveis, que são ortogonais entre si e direcionadas em função da distribuição espacial dos dados. Essas variáveis são chamadas de componentes principais. Dessa forma, a PCA permite efetuar uma simplificação, redução da dimensão original dos dados, modelamento, detecção de amostras anômalas (*outliers*), seleção de variáveis importantes em determinado sistema, classificação e previsão⁵⁷.

1.3.2.1 Fundamentos Matemáticos

O modelo matemático é obtido pela decomposição da matriz de dados X em uma soma de matrizes que não podem ser mais reduzidas. A equação (1) a seguir representa a matriz de dados, onde F é o número de PC (do inglês, *Principal Components*) e E são os resíduos:

$$X = M_1 + M_2 + M_3 + \dots + M_F + E \quad (1)$$

Cada uma das matrizes M será expressa como produto de dois vetores: os *scores* (T) e os pesos (L).

$$M_F = T_F L_F^T \quad (2)$$

Dessa forma,

$$X = T_1 L_1^T + T_2 L_2^T + T_3 L_3^T + \dots + T_F L_F^T + E$$

Os *scores* expressam as relações entre as amostras, enquanto os pesos indicam as relações entre as variáveis⁴³.

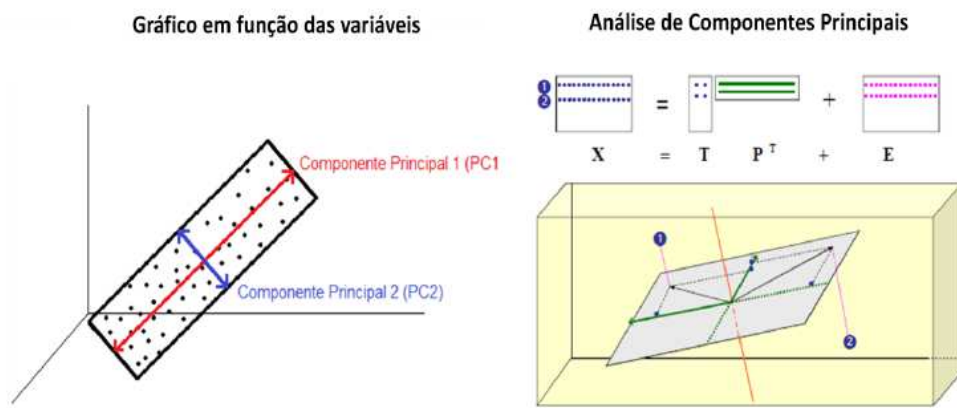


Figura 10 - Esquema gráfico de obtenção das componentes principais e como a matriz X é decomposta em pesos e *scores*. PC1: eixo correspondente a direção de maior variabilidade; PC2: eixo perpendicular a PC1 e na segunda direção de maior variabilidade.

De maneira geral, o número de vetores de pesos corresponde ao número de fontes da variação sistemática presente nos dados. Usualmente, a escolha do número de PCs deve ser feita, para obter a máxima explicação da variância nos dados originais, mas sem a ocorrência de sobre ajuste (também chamado de “*overfitting*”)⁵³.

Diversos trabalhos (como Cirlini *et al.*⁵⁹; Cheng *et al.*⁶⁰; Xiao *et al.*⁶¹) utilizam a PCA como auxílio na análise exploratória de dados, bem como, em outras aplicações. Estes autores

distinguiram amostras de diferentes regiões geográficas, com diferentes fontes de matérias-primas e fabricantes, usando a PCA para estes fins^{59, 60, 61}.

A avaliação dos pesos facilita o entendimento de quais variáveis originais mais contribuem para o agrupamento observado no gráfico de *scores*. Uma análise conjunta do gráfico de *scores* e pesos permite avaliar quais variáveis originais são as mais representativas e responsáveis pelas diferenças observadas entre as amostras.

1.3.3 Representações Gráficas

As representações gráficas servem para interpretação dos resultados do PCA⁶². A Figura 11 fornece a representação gráfica dos valores *loadings* e score para a observação, em um gráfico de duas dimensões com duas variáveis x_1 e x_2 . A direção de maior variabilidade das amostras é indicada pela reta que representa um componente principal. Os *scores* são as projeções das amostras na direção dos componentes principais e os *loadings* são os ângulos entre cada componente principal e cada variável.

A maior parte da variância é encontrada nos primeiros componentes principais e os dados após a PCA, sendo representados em um gráfico de *scores* e pesos com duas ou três dimensões, descrevendo a maioria da informação presente nos dados, de modo a facilitar a interpretação destes.

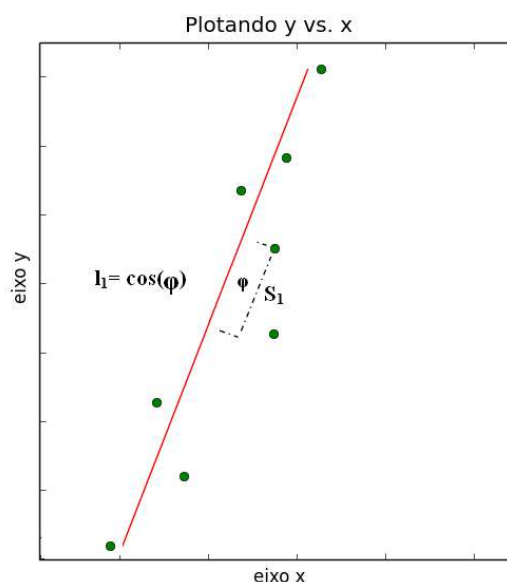


Figura 11 - Representação gráfica dos valores *loadings* e score em um gráfico de duas dimensões com duas variáveis x_1 e x_2 .

1.3.3.1 Variáveis (*loadings*)

Cada ponto da representação gráfica significa uma variável e o plano é definido por dois ou três eixos correspondentes aos primeiros componentes principais. Cada variável é associada a um ponto, de modo que as coordenadas são as correlações dessa variável, com cada uma das componentes principais.

Os *loadings* são os cossenos dos ângulos formados entre a componente principal e cada variável, ou seja, os cossenos dos ângulos do vetor direção.

1.3.3.2 Objetos no novo sistema de eixos (*scores*)

Cada ponto da representação gráfica representa um objeto. A cada objeto está associado um ponto, cujas coordenadas são os *scores* desse objeto para cada uma das componentes principais. São escolhidas, preferencialmente, as duas primeiras componentes, porque contribuem mais para a explicação da variabilidade dos dados e simplificam a representação. Os *scores* são as projeções das amostras na direção do componente principal.

1.3.4 Procedimento Hierárquico

O agrupamento hierárquico trata-se de uma série de agrupamentos sucessivos entre objetos. A partir de n grupos de apenas um objeto, haverá um agrupamento sucessivo até que seja formado um grupo que incluirá a totalidade dos n objetos⁶². Ou seja, esse método descreve uma hierarquia de agrupamentos sobre os dados.

A Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA) interliga amostras que são similares baseadas em medidas de distância entre as amostras. O objetivo da HCA é mostrar os dados em um espaço bidimensional de maneira a enfatizar os seus agrupamentos e padrões naturais. A distância entre os pontos, que são amostras ou variáveis, reflete a similaridade de suas propriedades, sendo útil para determinar a semelhança entre amostras.

No método de Ward (mais empregado atualmente), os agrupamentos são formados quando a soma dos quadrados dos desvios em relação a cada centroide é a menor possível considerando todos os agrupamentos. A análise de agrupamentos é utilizada, com a finalidade de agrupar as amostras que tenham similaridade entre si e heterogeneidade em relação a outros agrupamentos, em termos de uma distância, no caso, a distância euclidiana.

$$d_{(a,b)} = \sqrt{\frac{2n_a n_b}{(n_a + n_b)}} \|\bar{X}_a - \bar{X}_b\|^2$$

De modo que,

$\|\bar{X}_a - \bar{X}_b\|^2$ representa a distância Euclidiana;

X_a e X_b são os centroides dos agrupamentos a e b;

n_a e n_b são os números dos elementos nos agrupamentos a e b.

Um resultado típico desta abordagem trata-se de uma árvore hierárquica, chamada dendrograma, como o representado na Figura 12.

Os dendrogramas são úteis na visualização de semelhanças entre amostras e objetos, que são representados por pontos em espaços com dimensão maior do que três, de modo que em representações gráficas normais isso não seria possível⁶³.

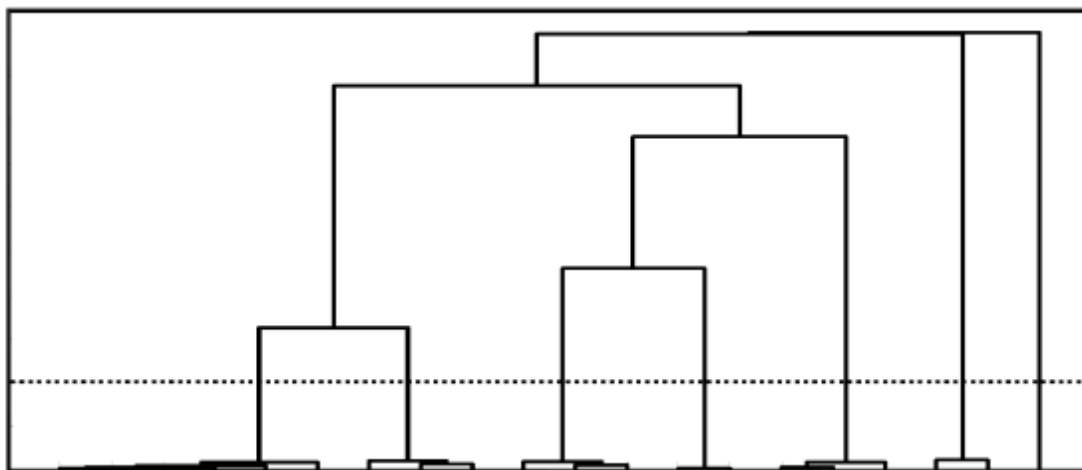


Figura 12 - Exemplificação de um dendrograma contendo 7 classes ou agrupamentos.

O dendrograma mostra a melhor separação entre as amostras, determinando todos os agrupamentos possíveis de amostras, todas as classes que podem ser formadas. Quanto mais longo forem os ramos que distinguem uma classe de outra, melhor será a separação entre essas classes. Torna-se necessário examinar a parte mais ramificada do dendrograma, para se poder visualizar com melhor detalhe, a semelhança entre as amostras.

1.3.5 Comparação entre PCA e HCA

As técnicas PCA e HCA podem ser complementares na informação sobre o conjunto de dados, dependendo do sistema analisado. Ambas fornecem a visão mais global possível das amostras dentro do conjunto de dados, conforme as variáveis usadas, extraindo desta maneira a informação química mais relevante.

As tendências observadas através da análise de componentes principais (PCA) podem ser confirmadas através do dendrograma obtido pela HCA, ou seja, é possível observar a

formação de grandes agrupamentos. A PCA identifica as amostras provenientes de cocaína base e cloridrato, e a HCA confirma os resultados produzidos pela PCA, discriminando geograficamente as amostras.

No caso específico deste trabalho, após a obtenção das amostras apreendidas de cocaína e quantificação de alcaloides minoritários através da cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama, os resultados serão exportados para planilhas eletrônicas contendo os respectivos valores de concentração dos analitos. Em seguida, as ferramentas quimiométricas serão utilizadas para avaliar a correlação entre as amostras.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Consolidar metodologia analítica já validada de identificação e quantificação de alcaloides minoritários presentes em amostras de cocaína apreendidas pela Polícia Federal, que permita uma análise confiável e adequada à realidade brasileira, avaliando a possibilidade de identificação de padrões de similaridade e provável origem da droga através da aplicação de ferramentas quimiométricas.

2.2 Objetivos Específicos

- Ampliar utilização e consolidar método analítico validado no trabalho de mestrado de Silva em 2016,⁸ desenvolvido no INC/PF, utilizando derivatização e cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (GC-DIC), para a quantificação de alcaloides minoritários em amostras de cocaína.
- Demonstrar abrangência e aplicabilidade do método em ao menos 100 amostras reais de cocaína apreendidas pela Polícia Federal em diferentes estados do Brasil.
- Estabelecer correlações entre apreensões de cocaína efetuadas em diferentes estados do Brasil, através da utilização de ferramentas quimiométricas.
- Contribuir para a compreensão do fenômeno do tráfico interestadual de cocaína, ampliando o escopo do Projeto PeQui (Perfil Químico das Drogas) da PF, através de correlações entre apreensões e características químicas das amostras estudadas.

3 CONSOLIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ALCALOIDES MINORITÁRIOS EM AMOSTRAS DE COCAÍNA

A aplicabilidade do método deste trabalho, desenvolvido por cromatografia gasosa com detector com ionização de chama, possui como referência métodos de análise de cocaína em uso no Special Testing & Research Laboratory do Drug Enforcement Administration (DEA), o departamento antidrogas americano e pelo laboratório de polícia científica do Institut National de Police Scientifique (LPS) da França, em Lyon.

Todas as análises realizadas no desenvolvimento deste trabalho, foram feitas no laboratório de química forense, do Instituto Nacional de Criminalística (INC) da Polícia Federal.

O método já foi desenvolvido e validado no laboratório do INC/PF em trabalho de mestrado de Silva⁸, que inclui o preparo de amostras, derivatização e cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (CG-DIC) com padronização interna, sendo adequado para identificação e quantificação dos alcaloides minoritários anidroecgonina metil éster, anidroecgonina, metilecgonina, tropacocaína, norcocaína, N-formilcocaína, trimetoxicocaína, ecgonina, benzoilecgonina e *trans*-cinamoilcocaína em amostras de cocaína base ou sal cloridrato.

Os valores de concentração para os analitos deste estudo foram obtidos a partir das curvas analíticas implementadas no trabalho de Silva⁸ e os teores de cocaína nas amostras foram obtidos pelo método de Quantificação de Cocaína e Fármacos Adulterantes (MET-I-SEPLAB-06).

O método apresentou boa linearidade em toda a faixa de concentração, seletividade satisfatória para a maioria dos analitos, exatidão e precisão adequadas, além permanecer estável diante de pequenas variações aplicadas nos parâmetros do CG-DIC e de preparo de amostras, sendo considerado robusto. A maioria dos analitos alvo apresentou boa estabilidade em condições de rotina do laboratório e de execução do método.

No processo de desenvolvimento do método, foram preparadas soluções estoques para a construção das curvas analíticas, utilizando materiais de referência certificados (MRC) de todos os analitos a serem analisados neste trabalho.

3.1 Materiais e Métodos

3.1.1 Vidrarias e Acessórios

- Alicates para lacrar vials
- Almofariz de vidro de 100 mL com pistilo
- Almofariz de porcelana de 100 mL com pistilo
- Balão volumétrico de 50 mL
- Balões volumétricos de 10 mL
- Bloco aquecedor (*thermoblock*) Boekel Scientific.
- Erlenmeyer de vidro de 25 mL
- Frascos de vidro âmbar para descarte de solventes clorados
- Frascos de vidro âmbar para armazenagem da solução de padrão interno
- Frascos de *head space* com tampa para armazenagem das soluções estoque
- Seringa de 10 µL para amostrador automático
- *Vials* de 2 mL para amostrador automático dotados de tampas de crimpagem com septos

3.1.2 Equipamento analítico

- Balança analítica: XP 205, Mettler Toledo, resolução de 0,01 mg.
- CG-DIC: Cromatógrafo Gasoso Agilent Technologies® 6890N com detector de ionização em chama, colunas RXI-1MS ou DB-1MS Agilent Technologies®, 25 m × 0,2 mm × 0,33 µm, injetor do tipo *split/splitless* e amostrador automático para líquidos Agilent Technologies® série 7693A com seringa de 10 µL. Os gases utilizados, da Praxair, foram: ar sintético grau 5.0, gás hélio grau 5.0; gás hidrogênio grau 5.0; gás nitrogênio grau 5.0. O cromatógrafo foi acoplado a uma estação de trabalho com os *softwares* MSD ChemStation e Enhanced Data Analysis, ambos da Agilent Technologies®, instalados para controle do sistema e análise de dados respectivamente.
- Pipetas automáticas P100 e P1000: Gilson®.

3.1.3 Reagentes, solventes e padrões de referência utilizados

- Cloridrato de cocaína purificado e autenticado pelo Laboratório SEPLAB/INC (CCS)
- Clorofórmio: Tedia, grau de pureza adequado à cromatografia gasosa.
- Derivatizante, MSTFA (N-Methyl-N-TMS-trifluoroacetamide) Sigma-Aldrich, P.A
- N-heneicosano: Acros Organics, 98%

- Piridina, VETEC, P.A.

3.2 Método Analítico Validado

3.2.1 Preparação da solução de padrão interno

Para análise das amostras reais e controles do método de análise, foi preparada uma solução de concentração 0,3 mg/mL de n-heneicosano dissolvido em clorofórmio/ piridina 5:1(v/v). Para produção de 50 mL de solução de padrão interno, são pesados 15 mg de n-heneicosano, que foi diluído em balão volumétrico calibrado de 50 mL com aproximadamente 25 mL de clorofórmio. Foram adicionados aproximadamente 8,3 mL de piridina e o volume foi completado com clorofórmio. A solução foi transferida para frasco âmbar e mantida refrigerada em geladeira durante períodos que não estava sendo utilizada.

3.2.2 Preparação das amostras reais de cocaína e controles do método analítico e brancos

O preparo das amostras foi realizado pela pesagem, em triplicata, de 10,00 a 10,50 mg de cada amostra e/ou controle diretamente em *vial* de vidro incolor lacrável de 2 ml. Adicionou-se 500 µL de solução de padrão interno (em temperatura ambiente) de n-heneicosano/ piridina 5:1 para os *vials* contendo amostras pesadas, com uso de pipeta automática calibrada (P-1000). Adicionou-se 100 µL de solução de derivatizante (MSTFA) em cada *vial*, com pipeta automática calibrada (P-100). Os *vials* foram lacrados e colocados em aquecedor seco de bloco metálico (*thermoblock*) a 80 °C, por 60 minutos. Cada solução contendo as amostras derivatizadas foram injetadas diretamente no equipamento de CG-DIC. Uma solução de “branco de derivatização” do método foi preparado a partir da mesma metodologia, mas sem se adicionar amostra no respectivo *vial*. O “branco de derivatização” foi injetado a cada triplicata (três *vials* preparados para a mesma amostra) para verificar a ocorrência de eventuais interferências ou *carryovers*. Foram injetados brancos de CHCl₃ (frascos somente com clorofórmio), no início e no final da sequência, a fim de detectar se analitos provenientes de amostras previamente analisadas poderiam estar contaminando as novas análises, por estarem aderidos aos recipientes ou aos instrumentos.

3.2.3 Condições cromatográficas do método desenvolvido

Neste método desenvolvido no trabalho de Silva⁸, a temperatura mantida pelo injetor foi de 230 °C. O volume de amostra injetado foi de 1 µL, com razão de *split* de 50:1. O gás hélio, utilizado como gás de arraste, teve um fluxo constante de 1,2 mL/min. A programação do forno foi feita de modo a manter a temperatura inicial de 160 °C por 1 minuto, seguido de uma rampa de aquecimento de 30 °C/min até atingir 325 °C, mantida por 11 minutos, tendo como tempo total da análise de 30 minutos. O detector por ionização em chama foi mantido a 320 °C, com fluxo de hidrogênio (H₂) de 35,0 mL/min, fluxo de ar de 350,0 mL/min e fluxo de nitrogênio de 35,0 mL/min.

Os solventes para lavagem das seringas foram: Frasco A: clorofórmio e Frasco B: clorofórmio/metanol (1:1).

Após a realização de um número máximo de injeções de 200 e 600 para o septo e liner, respectivamente, eram feitas a troca destes materiais por novos, e se necessário a limpeza da seringa (ou troca) e do injetor automático a fim de manter a verificação de desempenho do cromatógrafo gasoso.

A Tabela 6 apresenta outros parâmetros e condições importantes do método cromatográfico desenvolvido e validado no SEPLAB/INC.

Tabela 6 - Parâmetros e condições cromatográficas.

Parâmetro	Método SEPLAB/INC
Padrão Interno	n-heneicosano/piridina
Derivatizante	MSTFA
Tempo de derivatização (min)	60
Temperatura de derivatização (°C)	80
Volume do MSTFA (µL)	100
Tipo de Coluna	DB-1
Comprimento x diâmetro x largura do filme	25 m x 0,2 mm x 0,33 µm
Temperatura do Injetor	230°C
Programa do Forno	160 °C;1min 4 °C/min a 200 °C 6 °C/min a 275 °C 275 °C, 6,5min
Volume de Injeção	1µL
Vazão do gás de arraste	1,2 mL/min
Razão de split	50:1
Detector	FID
Equipamento	Agilent 6890N GC series

3.2.4 Calibrações e Manutenção

O trabalho foi desenvolvido no contexto do Sistema de Gestão da Qualidade do SEPLAB/INC, levando-se em conta de que todos os equipamentos de medição, como os

volumétricos, balanças, pipetas automáticas, termômetros encontravam-se calibrados. Os equipamentos utilizados foram avaliados e encontravam-se em condições de uso adequadas.

No decorrer do trabalho, foram realizadas manutenções preventivas do equipamento, com o objetivo assegurar seu bom funcionamento. Um técnico responsável do laboratório de cromatografia realizava periodicamente limpeza, lubrificações, ajustes e avaliações nos componentes eletrônicos e mecânicos do cromatógrafo gasoso.

3.3 Amostragem

Um total de 102 amostras reais, na forma de apresentação cloridrato de cocaína (sal) ou cocaína base livre (base), foram encaminhadas por diversos Estados para análise no laboratório do Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal em Brasília. Estas amostras foram obtidas em apreensões feitas pela Polícia Federal Brasileira em diferentes localidades no período de 2014 a 2017. A Figura 13 apresenta um mapa com o número total de amostras apreendidas por local no período descrito. Também foi possível incluir algumas amostras apreendidas na fronteira do Brasil com a Bolívia neste estudo.

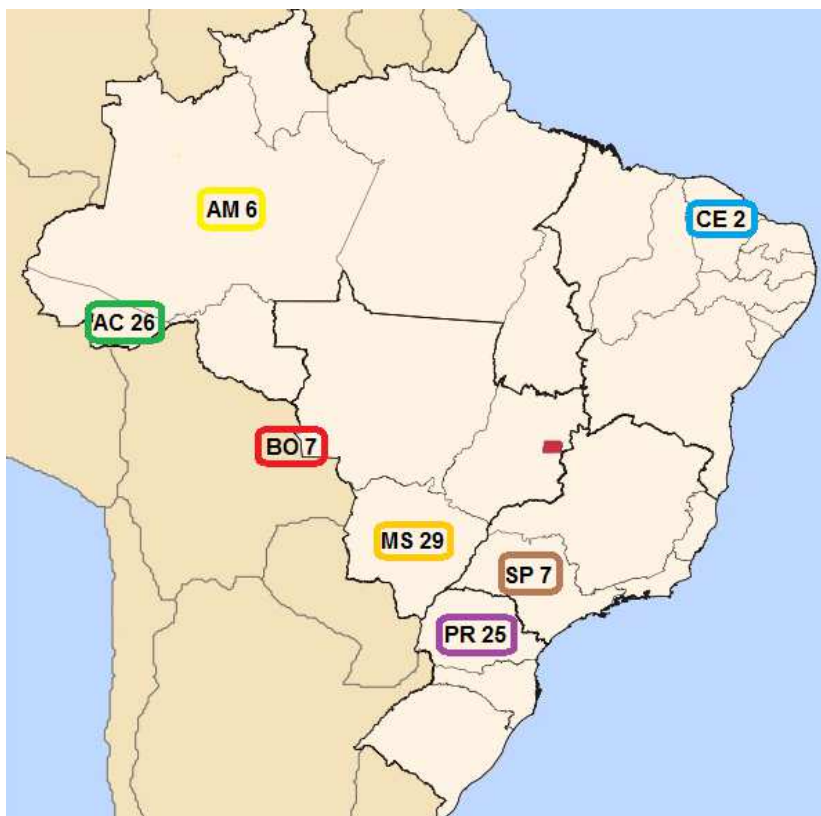


Figura 13 - Distribuição por origem e número de amostras analisadas, onde: AC: Acre; AM: Amazonas; BO: apreensões feitas na fronteira Brasil/Bolívia; CE: Ceará; MS: Mato Grosso do Sul; PR: Paraná.

A Tabela 7, apresenta o total das apreensões, levando em consideração a forma de apresentação da cocaína, isto é, sal ou base. Essa separação em cocaína cloridrato ou base livre será amplamente discutida durante o trabalho, pois algumas variáveis (como o tipo e teor de determinados analitos) podem ser relevantes a depender da forma de apresentação da cocaína e influenciar significativamente o estudo quimiométrico.

Tabela 7 - Total de apreensões durante o período de estudo, levando em conta a forma de apresentação da cocaína (sal ou base).

Estado/País	Nº Amostras	Nº Amostras	Nº Amostras
	Sal	Base	
PR	14	11	25
AC	15	11	26
AM	2	4	6
MS	13	16	29
BO	2	5	7
SP	7		7
CE	2		2
		Total	102

PR- Paraná; AC- Acre; AM- Amazonas; MS- Mato Grosso do Sul;
BO- Fronteira Brasil/Bolívia; SP- São Paulo; CE- Ceará.

3.4 Obtenção dos dados analíticos

Todas as amostras foram quantificadas pelo cromatógrafo gasoso Agilent acoplado a uma estação de trabalho com os softwares MSD ChemStation e Enhanced Data Analysis (para controle do sistema e análise de dados), através das curvas analíticas previamente instaladas no trabalho de Silva⁸. Como resultados da quantificação das amostras foram geradas planilhas eletrônicas que foram tratadas nas etapas seguintes através do software Microsoft Excel.

Os resultados obtidos no sistema cromatográfico apresentamos valores médios para todos analitos em concentração ($\mu\text{g/mL}$ ou ppm) para as replicatas das amostras.

De forma ilustrativa, o cromatograma obtido para uma análise realizada na data 05/01/2016 de uma amostra de cocaína cloridrato é apresentado na Figura 14. Outros cromatogramas, para mais duas amostras de cloridrato de cocaína e outras duas amostras cocaína base livre estão ilustrados no ANEXO 3.

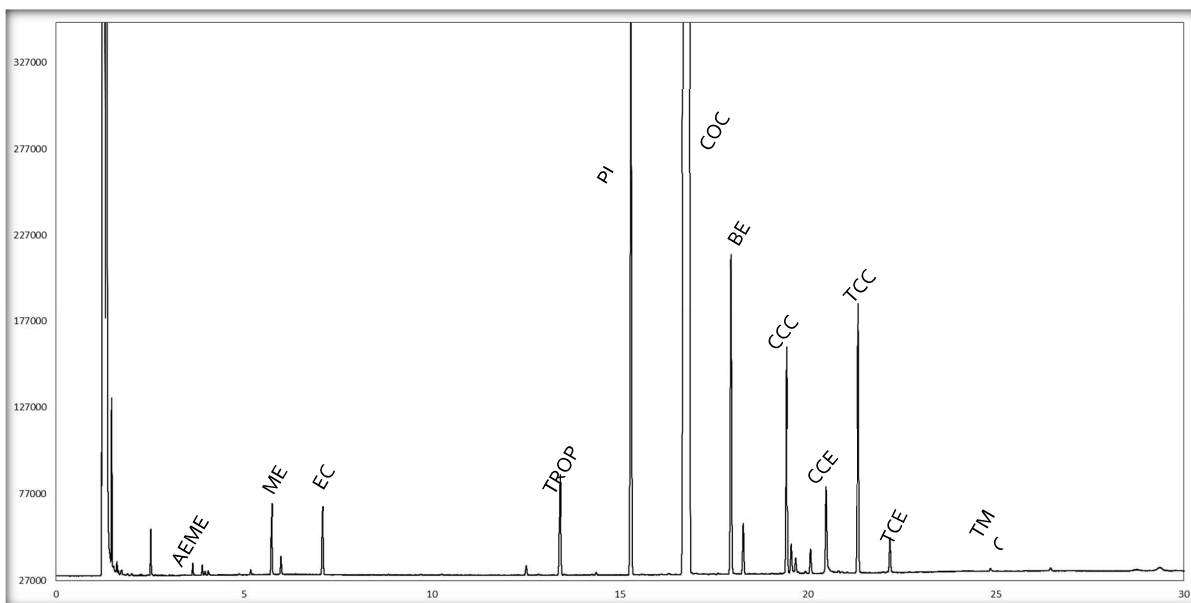


Figura 14 - Cromatograma obtido para uma análise realizada na data 05/01/2016 de uma amostra de cocaína cloridrato (CCS). AEME= anidroecgonina metil éster; ME= metilecgonina; TROP=Tropacocaína; TMC= trimetoxicocaína; EC= ecgonina; BE= benzoilecgonina; TCC= *trans*-cinamoilcocaína; CCC= *cis*-cinamoilcocaína; CCE= *cis*-cinamoilecgonina; TCE= *trans*-cinamoilecgonina; PI= padrão interno (heneicosano); COC= cocaína.

Mesmo se tratando de um método complexo, uma vez que os compostos alvos estão presentes numa faixa de concentração muito baixa (ppm) em relação ao teor de cocaína das amostras (~80-90%) e seja necessária uma etapa de derivatização no preparo das amostras, ele foi capaz de identificar e quantificar com eficiência todos alcaloides minoritários testados.

Porém, destaca-se a necessidade de se realizar, caso a caso, cuidadosa avaliação das integrações dos picos cromatográficos identificados e, portanto, dos resultados das triplicatas realizadas para cada amostra.

Cada replicata de amostras analisadas foram verificadas, a fim de evitar erros aleatórios ou sistemáticos, como por erros de integração de algum sinal cromatográfico. De forma geral, a comparação das triplicatas se apresentaram coerentes no decorrer do trabalho, reforçando a confiança nos valores obtidos.

A integração correta dos picos cromatográficos é crucial para que se tenha um bom desempenho da cromatografia. Por vezes podem acontecer erros na integração dos picos cromatográficos, como por exemplo em falhas do software de integração automatizado. Neste caso, após a verificação de eventuais problemas, a correção da integração dos picos deve ser feita manualmente através do mesmo software.

As análises em triplicata desenvolvidas neste trabalho também se prestam para alertar o analista de eventuais inconsistências no processo de integração, através do aumento dos coeficientes de variação do analito em questão.

3.5 Cartas Controle

Uma carta controle foi construída com o objetivo de avaliar se o método analítico continuava atendendo os critérios de desempenho quantitativos estabelecidos na validação. A construção da carta controle é uma ferramenta de qualidade de um método analítico quantitativo de grande relevância, uma vez que traz garantias do desempenho do método para cada nova batelada de quantificação de amostras, através da consistência dos resultados de uma amostra controle.

Utilizou-se uma amostra de cocaína cloridrato previamente homogeneizada (amostra CCS), que foi sendo sempre analisada juntamente com as outras amostras no decorrer do estudo, servindo de referência para a construção das cartas controle. Foram definidos os intervalos de confiança para controlar o surgimento de alguma variabilidade ao longo do tempo que possa afetar as análises de amostras apreendidas pela Polícia Federal.

As cartas de controle construídas neste trabalho seguem o modelo de Shewhart, que são definidos por 3 desvios padrão (σ) da repetibilidade dos resultados acima ou abaixo da média, ou seja, utiliza o limite de controle $\mu_0 \pm 3\sigma$. Esses limites de controle são definidos de modo que, se os resultados obedecem uma distribuição normal e estão sob controle, os pontos amostrais estarão entre eles e devem conter aproximadamente 99% dos resultados esperados.

De acordo com o grau de restrição da carta de controle, limites de alerta (2σ e 1σ) poderão ser inseridos como forma de alerta de desvios ocorridos no processo⁷⁴. Os limites de advertência $\mu_0 \pm 2\sigma$ delimitam a região que deve conter aproximadamente 95% dos resultados esperados em uma distribuição normal. Caso contrário, quando um ponto estiver fora dos limites, é necessário se investigar e atuar para eliminar as causas⁷⁵.

No caso deste trabalho, foram construídas as cartas controle para todos analitos presentes na amostra controle de cloridrato de cocaína (CCS) em um período de 4 anos (ANEXO 4), de modo que todos tiveram resultados quantitativos satisfatórios e se mantiveram dentro do limite de confiança estabelecido.

A Figura 15 ilustra os resultados para análise da amostra controle (cocaína cloridrato – CCS) obtidos para AEME (anidroecgonina metil éster). Os pontos conectados por linha azul

representam os valores obtidos para a amostra controle (CCS). A linha contínua cor verde representa a média das replicatas; as linhas contínuas amarelas representam os valores da média adicionada e subtraída de duas vezes o desvio padrão das replicatas da validação ($\mu_0 \pm 2\sigma$ ou $m \pm 2k$); as linhas contínuas vermelhas ($\mu_0 \pm 2\sigma$ ou $m \pm 3k$) representam os valores da média adicionada e subtraída de três vezes o desvio padrão.

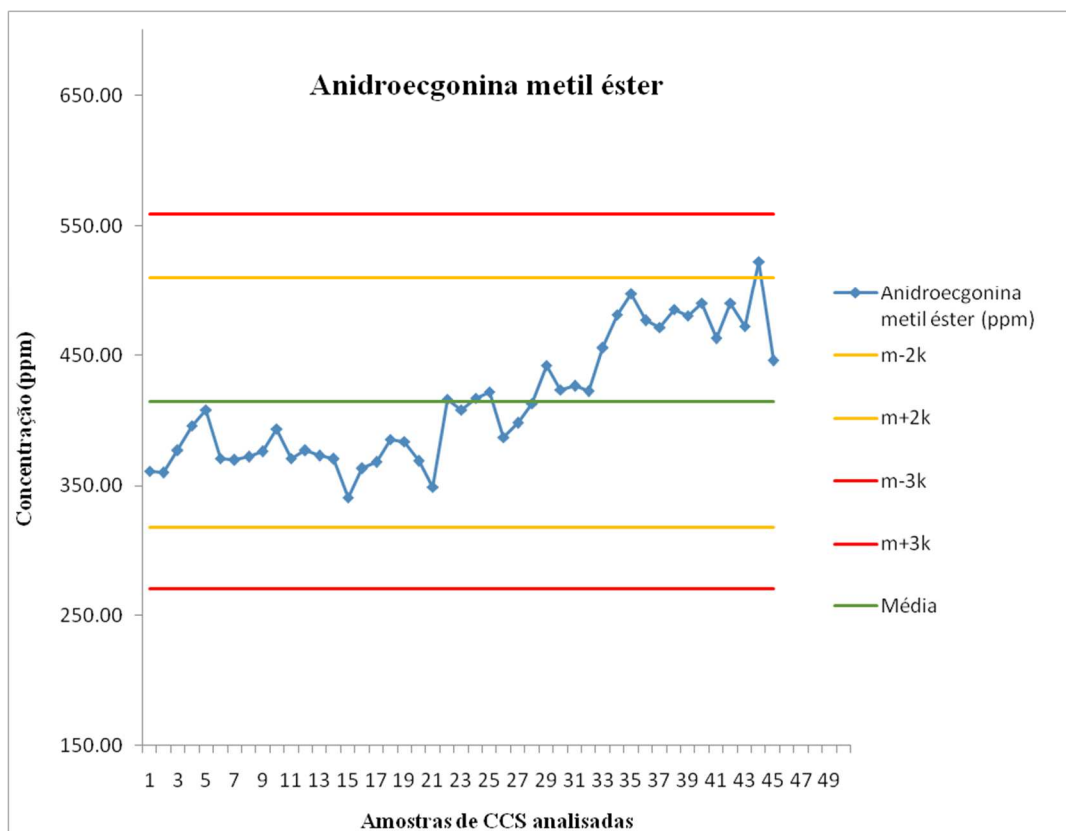


Figura 15 - Carta controle para o alcaloide minoritário anidroecgonina metil éster, contendo os limites de confiança escolhidos: média (m - linha contínua cor verde); o valor de duas vezes o desvio padrão (k) das replicatas $m \pm 2k$ (linhas contínuas amarelas); o valor de três vezes o desvio padrão (k) das replicatas $m \pm 3k$ (linhas contínuas vermelhas).

3.6 Consolidação dos resultados cromatográficos

Sobre a análise dos alcaloides minoritários presentes nas amostras de cocaína, foi obtido um perfil na qual os picos cromatográficos mostraram uma boa resolução para separar os analitos, permitindo a identificação por comparação aos tempos de retenção, bem como o cálculo das concentrações das espécies por meio das áreas dos picos e respectivas curvas analíticas.

A cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (CG-DIC) se mostrou sensível à presença de impurezas orgânicas, podendo causar aumento do ruído de base e reduzir a sensibilidade do detector. Por isso, sempre antes de se realizar as análises quantitativas é necessário executar procedimentos de limpeza periódicas no injetor automático e da seringa de injeção, troca dos solventes de lavagem da seringa e troca periódica de consumíveis do cromatógrafo (como *liner* e *septo*).

Foi tornada rotineira a atualização da carta controle para todos analitos de interesse do trabalho, para se avaliar a cada batelada de análises se o método analítico se encontrava confiável ao longo dos experimentos para desenvolvimento do trabalho.

Durante a realização dos experimentos em laboratório, era rotineira a prática de fechamento dos vials para derivatização com tampas de crimpagem, para posterior aquecimento e injeção diretamente no equipamento de CG-DIC. Em certa ocasião, após a realização de uma batelada de análises, foi verificado que o alicate de crimpagem estava com defeito, de modo que os vials não foram lacrados corretamente. Essa observação só foi possível, pois foram obtidos resultados quantitativos fora dos limites nas respectivas cartas controle. Estas análises foram repetidas com o uso de um novo alicate de crimpagem e dessa forma os resultados desta batelada de amostras foram inseridos no trabalho.

Outra figura de mérito importante para a inclusão (ou não) de resultados de análises de amostras reais no trabalho foi a verificação do coeficiente de variação (CV% ou desvio padrão relativo) das triplicatas de análise de cada amostra. Se o CV% entre todos analitos quantificados nas amostras escolhidas estavam dentro dos parâmetros exigidos, que devem ser iguais ou inferiores a 10% para serem consideradas adequadas segundo os requisitos gerais da qualidade do laboratório (POP-I-SEPLAB-11 - Validação de Métodos de Análises Cromatográficas Quantitativas), os resultados foram considerados válidos para serem inseridos no trabalho.

Como esta etapa do trabalho estava mais direcionada à exploração dos parâmetros mais relevantes para a classificação de diferentes apreensões de amostras reais apreendidas pela PF, foi decidido, visando simplificar variações analíticas, que amostras que possuíam adulterantes presentes em sua composição não seriam inseridas no trabalho. Esta situação deverá ser avaliada em trabalhos futuros do laboratório.

Para o desenvolvimento do presente trabalho, 138 triplicatas de 46 amostras de cocaína base livre e 168 triplicatas de 56 amostras de cloridrato de cocaína foram analisadas. Diante do

número de amostras apreendidas e de suas formas de apresentação, foi decidido que, para facilitar a interpretação dos resultados, os estudos serão conduzidos separando as duas formas de apresentação (cocaína base livre ou cloridrato de cocaína). Essa decisão pela separação será amplamente discutida no decorrer trabalho, mas tem base no fato de que certas variáveis, como o tipo e teor de determinados analitos, dependem da forma de apresentação da cocaína e podem influenciar significativamente o estudo quimiométrico a ser realizado.

Os Anexos 1 e 2 apresentam os resultados em concentração (ppm) para os alcaloides minoritários (já expressos como as respectivas médias de triplicatas) nas amostras cloridrato de cocaína e base livre, respectivamente.

O presente trabalho ampliou a base de dados de quantificação de compostos minoritários da cocaína, aplicando o método para amostras de outras regiões e origens. O método também está pronto para ser incorporado à rotina de análises do sistema da qualidade (ISO 17025) do laboratório de química forense da Polícia Federal. Por fim, colocou em prática a tarefa de consolidar a metodologia analítica de análise cromatográfica com etapas de derivatização e a obtenção rotineira de resultados quantitativos de alcaloides minoritários da cocaína. Esta rotina é que torna possível os trabalhos seguintes de análise multivariada para classificação de amostras reais em relação a possíveis locais de produção, processos de refino e correlação entre amostras.

4 UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS PARA ESTABELECEER CORRELAÇÕES ENTRE AS APREENSÕES DE COCAÍNA

Ao se medir o sinal de um instrumento são obtidas informações sobre o sistema em estudo, tais como a identificação e quantificação de substâncias em uma amostra. As medidas de um cromatógrafo são representadas pelas intensidades registradas em diferentes tempos de retenção ou através das áreas dos picos correspondentes aos constituintes químicos.

A identificação das amostras de cocaína pode ser realizada em diferentes níveis, a depender do objetivo da análise química. Uma análise por Cromatografia Gasosa acoplada à análise por Espectrometria de Massas normalmente já é o suficiente para se fazer uma identificação inequívoca do princípio ativo principal (cocaína) e servir de base para a produção de laudos periciais para embasar procedimentos investigativos.

Porém, estas mesmas amostras apreendidas podem ser também analisadas por outras metodologias, focadas agora em identificar outros analitos também presentes no mesmo material, como fármacos adulterantes adicionados à droga para aumento de volume ou marcadores químicos que indiquem processos de refino, por exemplo.

Independente da forma de apresentação da cocaína (base livre ou sal cloridrato), também são passíveis de identificação através de análises cromatográficas diversos alcaloides minoritários, que podem ter sido influenciados por processos envolvendo alterações químicas relativas às diferentes origens geográficas das amostras ou diferentes graus de hidrólise.

O grande número de amostras e de analitos identificados e quantificados torna a interpretação deste tipo de resultados extremamente complexa se não se utiliza ferramentas de análise multivariada. O uso de técnicas quimiométricas torna-se imprescindível neste contexto e ferramentas como PCA e HCA podem ser utilizadas na busca da classificação das amostras de cocaína.

4.1 Ferramentas Quimiométricas

A Análise dos Componentes Principais (PCA, *Principal Component Analysis*) e a Análise de Agrupamentos Hierárquica (HCA, *Hierarchical Cluster Analysis*) foram realizadas utilizando o software Matlab R2012b e PLStoolbox do Eingenvektor.

4.1 Identificação das Amostras

Como forma de facilitar a interpretação dos dados, cada amostra analisada foi descrita com seu respectivo número de identificação no SEPLAB/INC, com o Estado / local onde a amostra foi apreendida e a forma de apresentação da cocaína. Como exemplo, temos a amostra AC-Base-10_1: amostra foi apreendida no Estado do Acre, forma de apresentação é cocaína base livre e possui o número de identificação 10_1.

Como explicitado na Sessão 3.6, os resultados para cada analito utilizados nas análises quimiométricas são obtidos a partir das médias das triplicatas da cromatografia, desde que os desvios padrões relativos (CV%) tenham sido considerados aceitáveis (i.e. $\leq 10\%$).

4.2 Pré-Processamento dos Dados para Análise Quimiométrica

O pré-processamento dos dados é importante para o sucesso da análise quimiométrica, tendo por objetivo eliminar informações não relevantes do ponto de vista químico, tornando a matriz de dados melhor condicionada para a análise e possibilitando a subsequente análise exploratória do conjunto de dados com eficiência⁶⁴.

Dados provenientes de técnicas instrumentais como a cromatografia, podem apresentar alterações não desejadas, como ruídos instrumentais, por exemplo. As técnicas de pré-processamento de dados serão usadas para eliminar essas alterações, adequando as amostras do conjunto de forma a maximizar ou minimizar o efeito de certas variáveis. Nas seções seguintes (4.2.1, 4.2.2, 4.2.3e 4.2.4) são descritos os pré-processamentos dos dados e o modelo aglomerativo utilizados para a análise quimiométrica neste trabalho.

Em relação ao modelo de PCA, os dados foram normalizados, autoescalados, e posteriormente, centrados na média.

4.2.1 Normalização

A normalização tem por objetivo reduzir a influência de variações indesejadas no conjunto de dados, garantindo que cada observação seja representada de forma adequada e consistente⁶⁴. Dessa forma, o processo de normalização neste trabalho é realizado através da divisão dos teores de cada analito pelo teor de cocaína na respectiva amostra, que fora obtido através de uma análise quantitativa prévia para compostos majoritários¹⁰.

As tabelas dos Anexos 5 e 6 apresentam valores que consideram os teores dos compostos minoritários (apresentados sem normalização nos Anexos 1 e 2), mas que foram

divididos pela pureza da cocaína. Isto é, ao invés de se expressar os teores em concentração (ppm) na amostra efetivamente pesada no procedimento experimental, é feita a relação de concentração levando-se em conta o teor do analito principal, no caso a cocaína.

Essa normalização tem por objetivo tornar possível a comparação de amostras que tenham sofrido alguma etapa de adulteração ou diluição, uma vez que este tipo de adição de substâncias é ordinário nas atividades ilícitas e levam a uma redução dos teores de todos componentes originais da cocaína (majoritários e minoritários). Levando-se em conta o teor efetivo de cocaína nas amostras analisadas, as proporções originais entre os alcaloides minoritários e cocaína ficarão mantidas e será possível comparar amostras mesmo que tenham sido obtidas de apreensões diluídas ou adulteradas.

4.2.2 Autoescalamento

Nos dados deste trabalho, mesmo realizando-se a normalização dos teores dos compostos minoritários pela pureza de cocaína, se observa tanto valores pequenos (na casa de dezenas de ppm) quanto mais elevados (na casa de milhares de ppm). Caso seja feita a utilização sem os dados estarem autoescalados, essas variáveis terão um peso bem grande.

No autoescalamento utilizado neste trabalho, os resultados para as amostras do conjunto de dados de uma mesma variável (coluna) são subtraídos do valor médio e divididos pelo desvio-padrão do conjunto de resultados obtidos para essa variável. A equação a seguir, demonstra a operação matemático que foi realizado para cada uma das variáveis da matriz de dados:

$$X_{ab} = \frac{\bar{X}_b}{S_b}$$

De modo que,

X_{ab} = valor autoescalado da variável b para a amostra a;

\bar{X}_b = valor médio da variável b;

S_b = desvio padrão do conjunto dos resultados para variável b;

4.2.3 Centrar dados na média

Centrar os dados na média é um dos pré-processamentos mais simples para se aplicar em uma análise quimiométrica hierárquica ou PCA e consiste, basicamente, na subtração do valor médio de uma coluna do valor de cada elemento dessa coluna. Dessa forma, cada variável

terá média zero e as coordenadas serão movidas para o centro dos dados, permitindo que as diferenças nas intensidades relativas das variáveis sejam mais facilmente percebidas⁶⁴.

Ao fazer a média, todas as variáveis serão medidas numa mesma unidade e permite que a presença de ruídos não afete negativamente na análise.

$$X_{ab}(\text{centrado na média}) = x_{ab}(\text{original}) - \bar{X}_b(\text{média})$$

Onde,

X_{ab} = valor centrado na média para a variável b na amostra a;

x_{ab} = valor da variável b na amostra a;

\bar{X}_b = media dos valores das amostras na coluna b.

4.2.4 Modelo Aglomerativo

O método de agrupamento utilizado foi o de cluster hierárquico aglomerativo, que permite obter o grupo total pela soma dos subgrupos. O método aglomerativo Ward (variância mínima) foi utilizado neste trabalho por incorporar um objeto a um grupo e essa união proporcionar a menor variância no sistema⁶⁵.

Representa um algoritmo eficiente em que, no início, cada objeto representa um único grupo. A soma dos desvios dos pontos dos seus elementos em relação à média do grupo é calculada, dando indicação de homogeneidade desse grupo que é formado. Os grupos formados possuem uma alta homogeneidade interna. Apesar destas vantagens, os resultados obtidos devem ser cuidadosamente avaliados, pois o método pode combinar grupos com poucos elementos e ser sensível à presença de *outliers*⁶⁶.

4.3 Características das análises Quimiométricas das amostras reais de cocaína

O desenvolvimento da análise quimiométrica dos resultados quantitativos para compostos minoritários presentes em amostras reais de cocaína apreendidas pela Polícia Federal foi feito em diferentes e sucessivas etapas, envolvendo pré-processamentos nos dados cromatográficos e ajustes de teores de analitos e de cocaína, considerando-se a possibilidade de hidrólise dos analitos.

Para cada análise quimiométrica, os conjuntos de amostras foram separados nas duas formas de apresentação da cocaína (base livre e cloridrato), uma vez que perfis de hidrólise e

refino são significativamente distintos em cada uma das formas, fazendo mais sentido avaliar semelhanças e diferenças entre apreensões reais dentro de uma mesma forma de apresentação.

Primeiramente foram desenvolvidos dois estudos que utilizaram dados para todos os alcaloides minoritários quantificados por GC-FID, buscando identificar as similaridades entre as amostras. O estudo 1 foi realizado sem normalização, isto é, diretamente com o teor dos analitos obtidos na análise cromatográfica, enquanto o estudo 2 foi realizado com estes dados normalizados pela pureza da cocaína nas respectivas amostras.

Para os estudos 3, 4 e 5 foram realizadas operações matemáticas que convertem os teores medidos para os produtos de hidrólise e os adicionam ao teor de cocaína nas amostras. Essa operação visa analisar os demais alcaloides minoritários em uma situação hipotética, que indicaria como a amostra seria comparada com as demais, no caso de nenhuma hidrólise ter ocorrido durante as etapas de conversão de formas de apresentação, refino, transporte e estocagem do material. O estudo 6 inclui a conversão de todos alcaloides sujeitos à hidrólise, englobando inclusive *cis/trans*-cinamoilecgonina convertida em *cis/trans*-cinamoilcocaína.

Na Tabela 8 são apresentadas as principais condições de estudo para cada HCA e PCA envolvidos na construção do trabalho, destacando as diferenças entre elas.

Tabela 8 - Principais condições abordadas sobre o HCA e PCA envolvidos na construção do trabalho.

Estudo	Forma da Cocaína
ESTUDO 1: Todos alcaloides, sem ajuste pela pureza da cocaína	Base Livre Sessão 4.4
	Cloridrato Sessão 4.5
ESTUDO 2: Todos alcaloides, com ajuste pela pureza da cocaína	Base Livre Sessão 4.6
	Cloridrato Sessão 4.7
ESTUDO 3: Conversão para cocaína dos produtos de hidrólise ecgoninae benzoilecgonina, com ajuste pela pureza da cocaína	Base Livre Sessão4.8.1
	Cloridrato Sessão4.8.2
ESTUDO 4: Conversão para cocaína do produto de hidrólise benzoilecgonina, com ajuste pela pureza da cocaína	Base Livre Sessão4.8.3
	Cloridrato Sessão 4.8.4
ESTUDO 5: Conversão para cocaína dos produtos de hidrólise benzoilecgonina, ecgonina e metilecgonina, com ajuste pela pureza da cocaína	Base Livre Sessão4.8.5
	Cloridrato Sessão4.8.6
ESTUDO 6: Conversão para cocaína e cis/trans-cinamoilcocaína de todos os produtos de hidrólise, com ajuste pela pureza da cocaína	Base Livre Sessão 4.8.7
	Cloridrato Sessão 4.8.8

4.4 Estudo 1 para Cocaína Base Livre: HCA e PCA analisando todos alcaloides, sem normalização pela pureza da cocaína.

Os estudos quimiométricos e tratamento dos dados obtidos nas etapas cromatográficas se iniciam sob a forma de uma análise hierárquica de agrupamentos (HCA), com base na ligação de Ward, com dados autoescalados e centrados na média. O dendrograma obtido consta na Figura 16 a seguir.

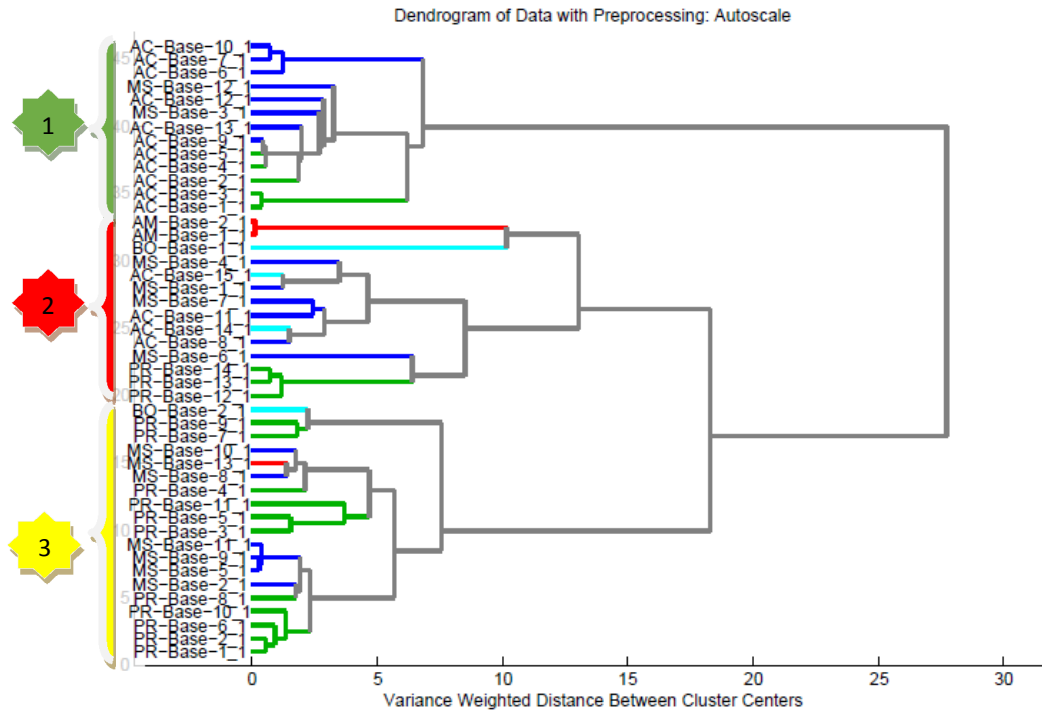


Figura 16 - Dendrograma obtido para as amostras cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, com dados autoescalados e centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Em seguida, foi obtido outro dendrograma, Figura 17, desta vez utilizando PCA e escolhendo 4 PCs para fazer uma análise hierárquica de agrupamentos (ligação de Ward). Os dados foram autoescalados e centrados na média.

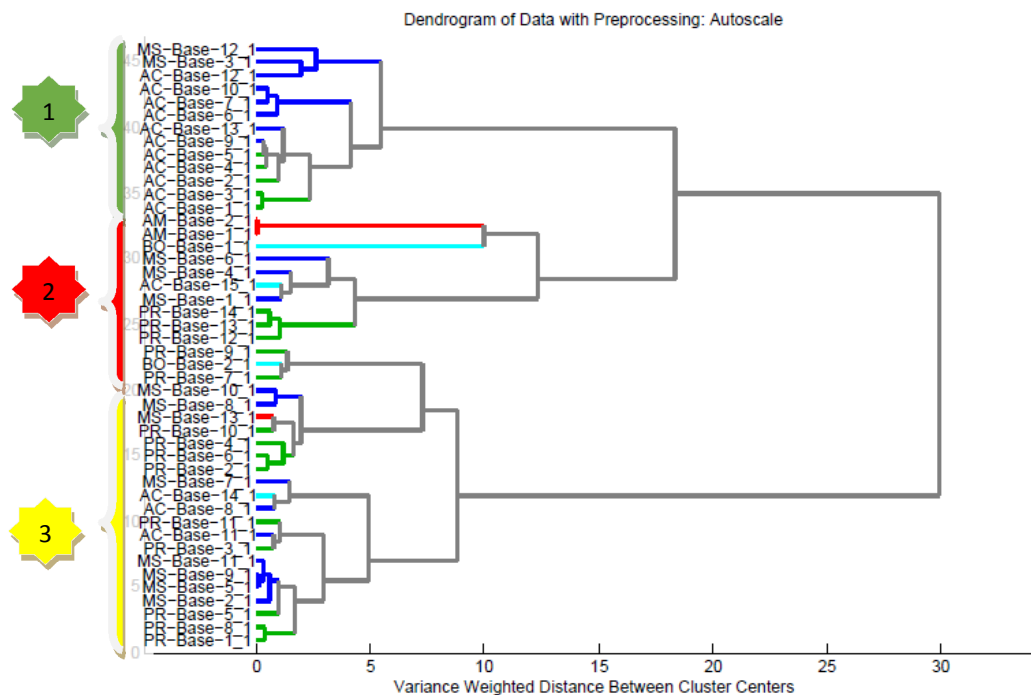


Figura 17 - Dendrograma obtido para as amostras cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, autoescalados, centrados na média, e escolhendo 4 PCs. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Os dendrogramas formados nas figuras 16 e 17 são muito parecidos e se observa a formação de 3 grupos, identificados através das cores. O grupo 1 (verde) contém predominante amostras do Acre e algumas amostras do Mato Grosso. O grupo 2 (vermelho) apresenta amostras de diversas origens, com destaque para a presença da amostra apreendida na fronteira Brasil/Bolívia. Já no grupo 3 (amarelo) ocorre a presença de amostras do Acre, Paraná e Mato Grosso do Sul. Escolhendo 4 PCs, foi possível explicar 83,24 % da variância. Sobre os grupos 1 e 3 foram observadas que as amostras estavam mais próximas formando grupos mais homogêneos, enquanto o grupo 2 possui as amostras mais dispersas.

Realizando a análise de componentes principais (PCA) foi verificado que as componentes PC1 e PC2 descrevem 64,48% da variação total dos dados e fornecem informações discriminatórias das amostras. A representação dos *scores* para o PCA, na Figura 18, é diretamente concordante com os resultados obtidos através do HCA.

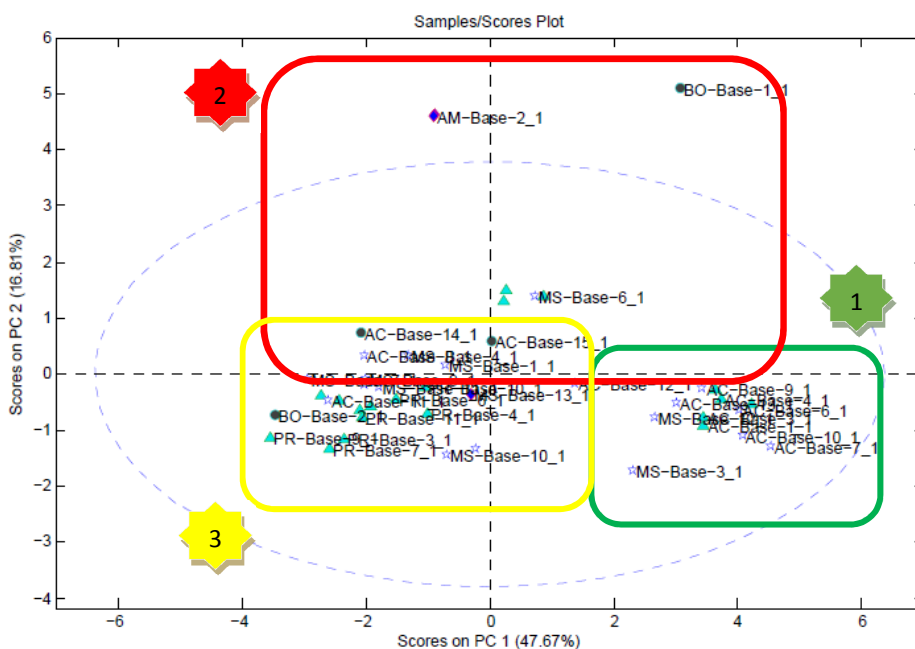


Figura 18 - Gráficos de *scores* da PCA a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína sem ajuste de pureza da cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1- verde; Grupo 2- vermelha; Grupo 3- amarela.

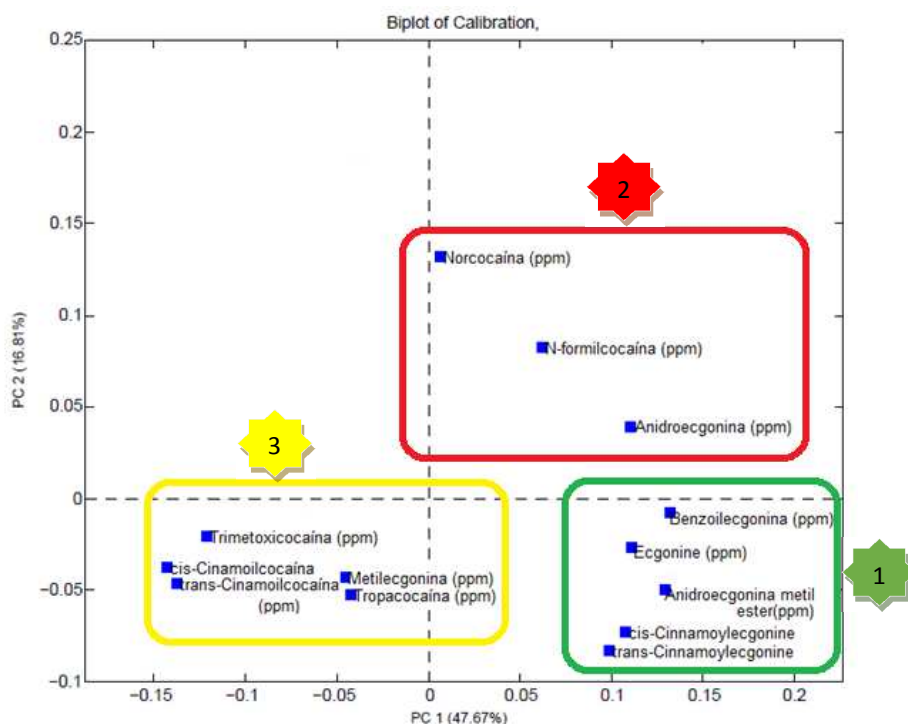


Figura 19 - Gráficos dos *loadings* da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína sem ajuste de pureza da cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

O gráfico de *loadings*, Figura 19, fornece uma interpretação para a distribuição formada levando-se em conta quais alcaloides são responsáveis pelos agrupamentos formados através da análise hierárquica dos dendrogramas. Para o grupo 2, as amostras são influenciadas pela maior presença dos alcaloides minoritários norcocaína, N-formilcocaína e anidroecgonina. Os alcaloides significativos para o grupo 1 são a ecgonina, benzoilecgonina, anidroecgonina metil éster e *cis/trans*-cinamoilecgonina. Sobre o grupo 3, as amostras são caracterizadas no gráfico de *loadings* pela maior presença dos alcaloides minoritários trimetoxicocaína, metilecgonina, tropacocaína e *cis/trans*-cinamoilcocaína. Algumas diferenças são observadas: as amostras que possuem teor elevado de norcocaína possuem baixos valores de tropacocaína e metilecgonina. Amostras de cocaína base livre com elevada concentração de benzoilecgonina, possuem baixa concentração de trimetoxicocaína, e vice-versa. Sobre o grupo 1 (cor verde), a Figura 20, apresenta o cromatograma contendo os picos relativos aos alcaloides minoritários que influenciam o grupo.

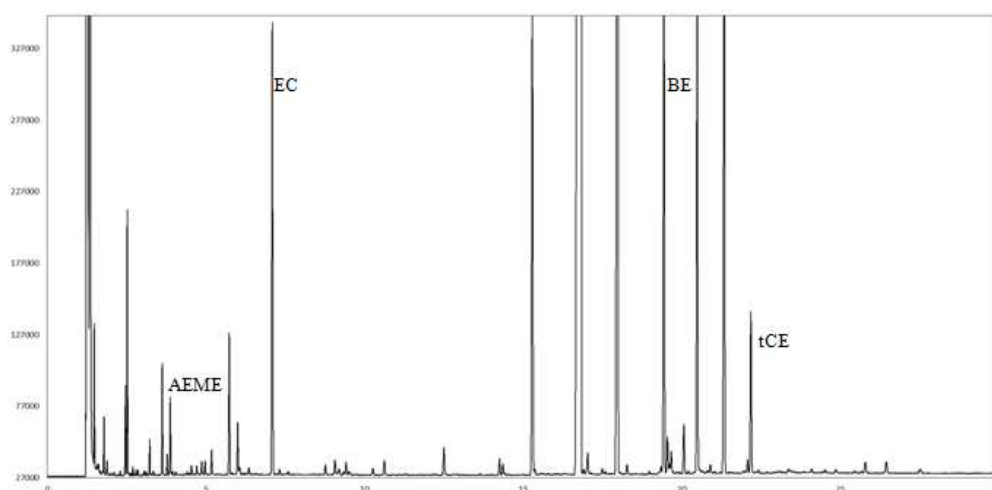


Figura 20 – Cromatograma típico contendo os alcaloides minoritários que influenciam o grupo 1 (cor verde) visualizado através do gráfico de *loadings*. Onde: EC- ecgonina; BE- benzoilecgonina; AEME- anidroecgonina metil éster; tCE- *trans*-cinamoilecgonina.

Em relação ao grupo 2 (cor vermelha), o alcaloide norcocaína é responsável pelo valor próximo de zero da componente PC1. Somente a PC2 explica a maior variância. Neste grupo, a presença dos alcaloides N-formilcocaína e norcocaína indicam que ocorreu uma etapa de refino da cocaína por oxidação utilizando permanganato de potássio.

No grupo 3 (cor amarela), a presença dos alcaloides trimetoxicocaína e tropacocaína está ligada a taxionomia da qual a planta foi extraída. De acordo com os estudos de Casale e colaboradores²¹, a presença destes alcaloides indica que essas amostras apreendidas são

provavelmente originadas de plantas de origem Colombiana ou Peruana. As cinamoilcoínas (*cis* e *trans*), também presentes no grupo 3, são encontradas nas folhas de coca e na droga não refinada. Então quando a amostra é oxidada, o teor delas reduz muito.

4.5 Estudo 1 para Cocaína Cloridrato: HCA e PCA analisando todos alcaloides, sem normalização pela pureza da cocaína.

O tratamento dos dados para as amostras cloridrato de cocaína inicia sob a forma de uma análise hierárquica de agrupamentos (HCA), com base na ligação de Ward, autoescalados, centrados na média. O dendrograma obtido consta na Figura 21 a seguir.

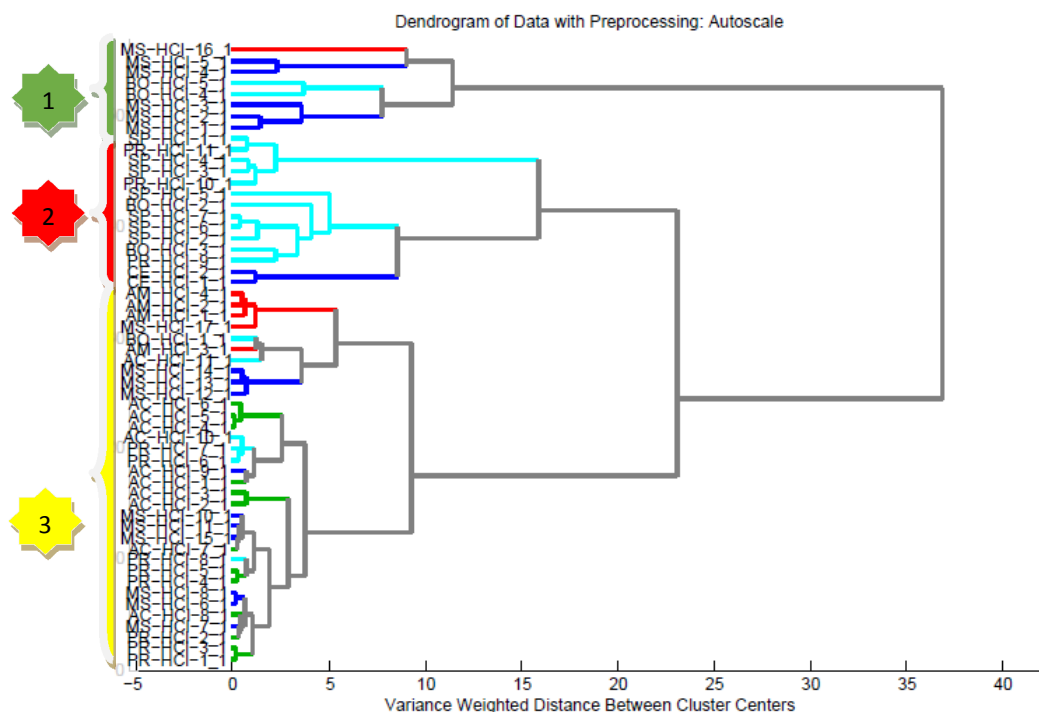


Figura 21 - Dendrograma obtido para as amostras cloridrato de cocaína (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Em seguida, foi obtido o dendrograma da Figura 22, utilizando PCA e escolhendo 4 PCs para fazer uma análise hierárquica de agrupamentos (ligação de Ward). Os dados foram autoescalados e centrados na média.

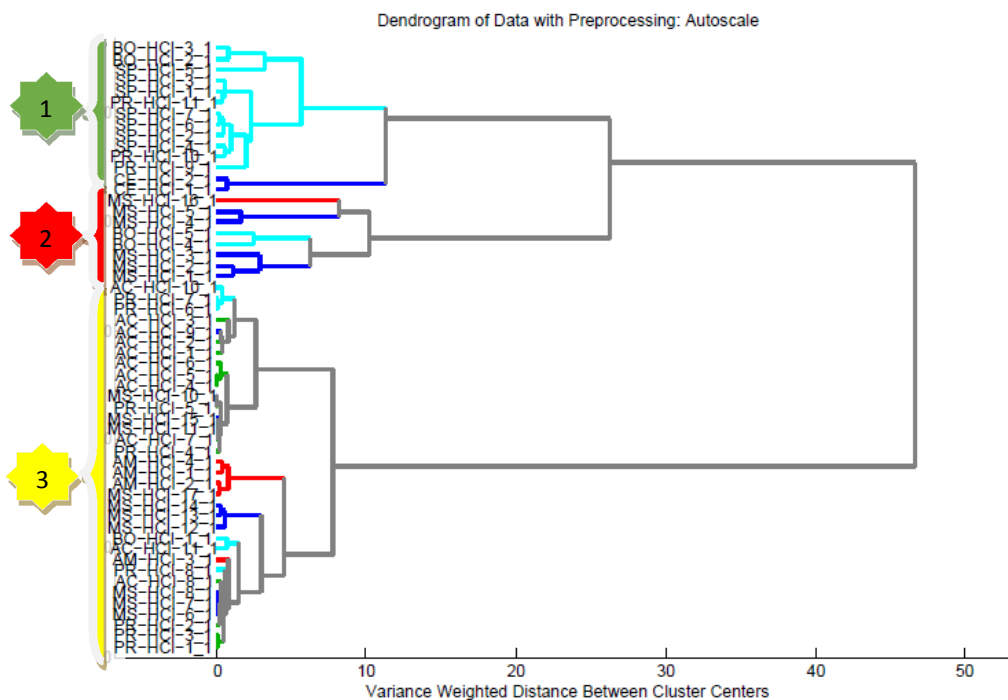


Figura 22 - Dendrograma obtido para as amostras cloridrato de cocaína (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Os dendrogramas das figuras 21 e 22 mais uma vez são muito semelhantes e apresentam 3 grupos identificados através das cores. O grupo 1 contém amostras da fronteira Bolívia, Ceará, Paraná e São Paulo. O grupo 2 contém uma amostra apreendida na fronteira Brasil/Bolívia e amostras do Mato Grosso do Sul. No grupo 3 se observa amostras de diversas origens: Acre, Paraná, Amazonas, fronteira Brasil/Bolívia e Mato Grosso do Sul. Escolhendo 4 PCs, é possível explicar 86,16% da variância. Mais uma vez foi observado que aplicando PCA ou não, pouca alteração foi observada na análise hierárquica.

Realizando a análise de componentes principais (PCA) foi verificado que as componentes PC1 e PC2 descrevem 69,16% da variação total dos dados e fornecem informações discriminatórias das amostras. Sobre os grupos 1 e 3 foram observadas que as amostras estavam mais próximas formando grupos mais homogêneos, enquanto o grupo 2 possui as amostras mais dispersas. A representação dos *scores*, na Figura 23, é diretamente concordante com os resultados obtidos através do HCA.

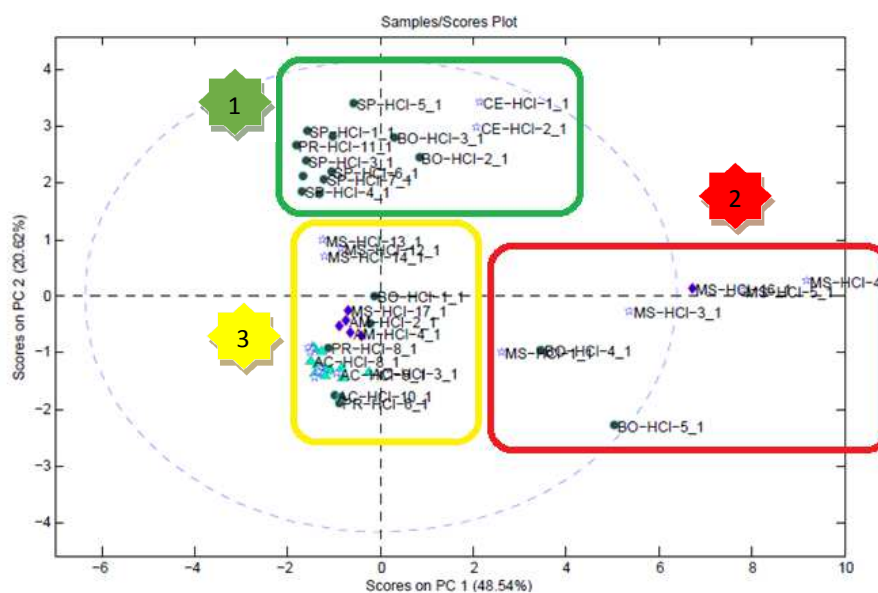


Figura 23 - Gráficos de *scores* da PCA a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína sem ajuste de pureza da cocaína, na forma de apresentação cloridrato, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

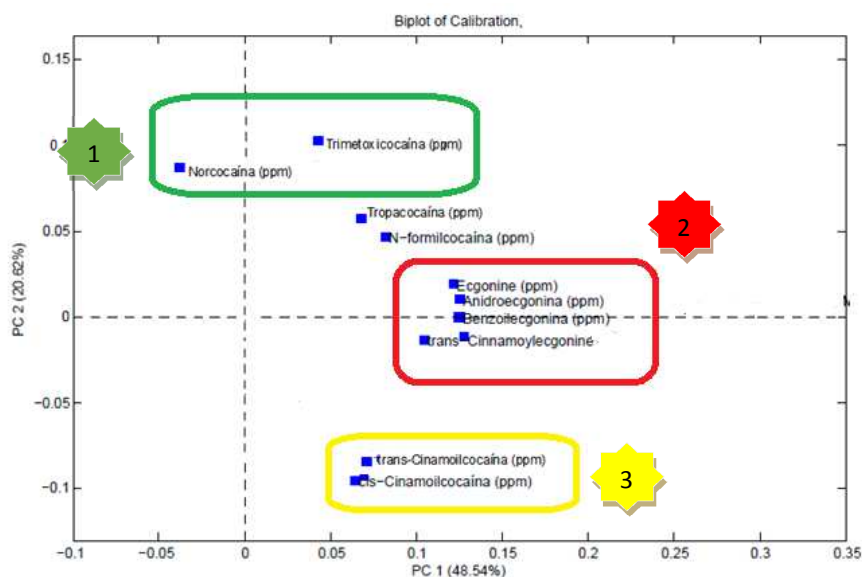


Figura 24 - Gráficos dos *loadings* da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína sem ajuste de pureza da cocaína, na forma de apresentação cloridrato, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Os grupos formados nas análises por HCA e PCA podem ser avaliados pelo gráfico de *loadings* (Figura 24). Para o grupo 1, as amostras são influenciadas pela maior presença dos alcaloides minoritários norcocaina e trimetoxicocaina. Os alcaloides mais significativos para o grupo 2 são a ecgonina, benzoilecgonina, androecgonina e *cis/trans*-cinamoilecgonina, indicando que essas amostras passaram pelo processo de hidrólise durante as etapas de refino da droga. Sobre o grupo 3, as amostras são caracterizadas no gráfico de *loadings* pela maior presença dos alcaloides minoritários *cis* e *trans*-cinamoilcocaína. É observado que as amostras

de cloridrato de cocaína que possuem elevados teores do alcaloide minoritário trimetoxicocaína, possuem baixa concentração de *cis/trans*-cinamoilcocaína, e vice-versa.

4.6 Estudo 2 para Cocaína Base Livre: HCA e PCA analisando todos alcaloides, com normalização pela pureza da cocaína.

Nas seções seguintes serão realizados estudos quimiométricos incluindo todos os alcaloides minoritários normalizados pela pureza da cocaína. Conforme já discutido, a normalização tem por objetivo tornar possível a comparação de amostras que tenham sofrido alguma etapa de adulteração ou diluição no decorrer do processo de produção até a apreensão.

O tratamento dos dados inicia sob a forma de uma análise hierárquica de agrupamentos (HCA), com base na ligação de Ward, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média.

O dendrograma obtido consta da Figura 25. Pode-se observar que são visíveis três grandes grupos, sendo que o grupo 1 do HCA possui predominantemente amostras de cocaína base livre apreendidas do Acre. O grupo 2 é formado com duas amostras do Amazonas e uma amostra apreendida na fronteira Brasil/Bolívia. Já o grupo 3 é formado por um número maior de amostras, provenientes do Acre, Paraná, Mato Grosso do Sul e uma amostra da fronteira Brasil/Bolívia.

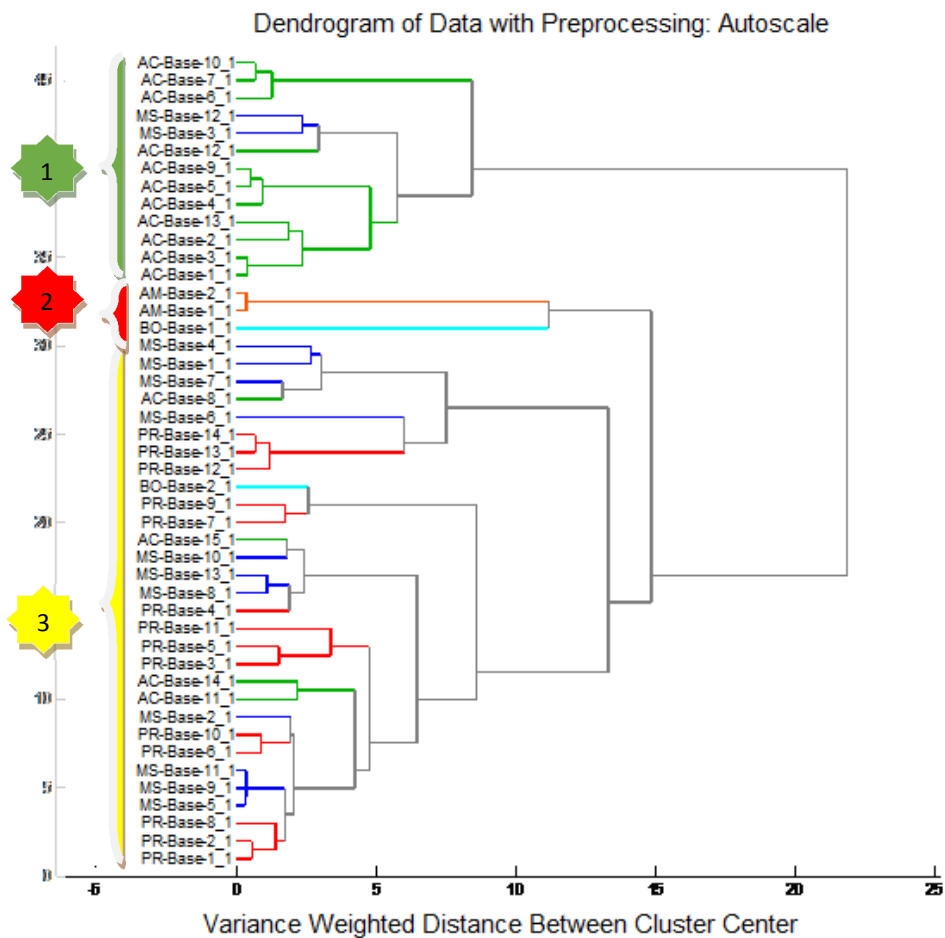


Figura 25 - Dendrograma obtido (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média e 4PCs. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Em seguida, foi construído um outro dendrograma, Figura 26, desta vez utilizando PCA e escolhendo 4 PCs para fazer uma análise hierárquica de agrupamentos (ligação de Ward). Os dados foram normalizados pela pureza, autoescalados e centrados na média. Pode-se observar que são visíveis três grandes grupos.

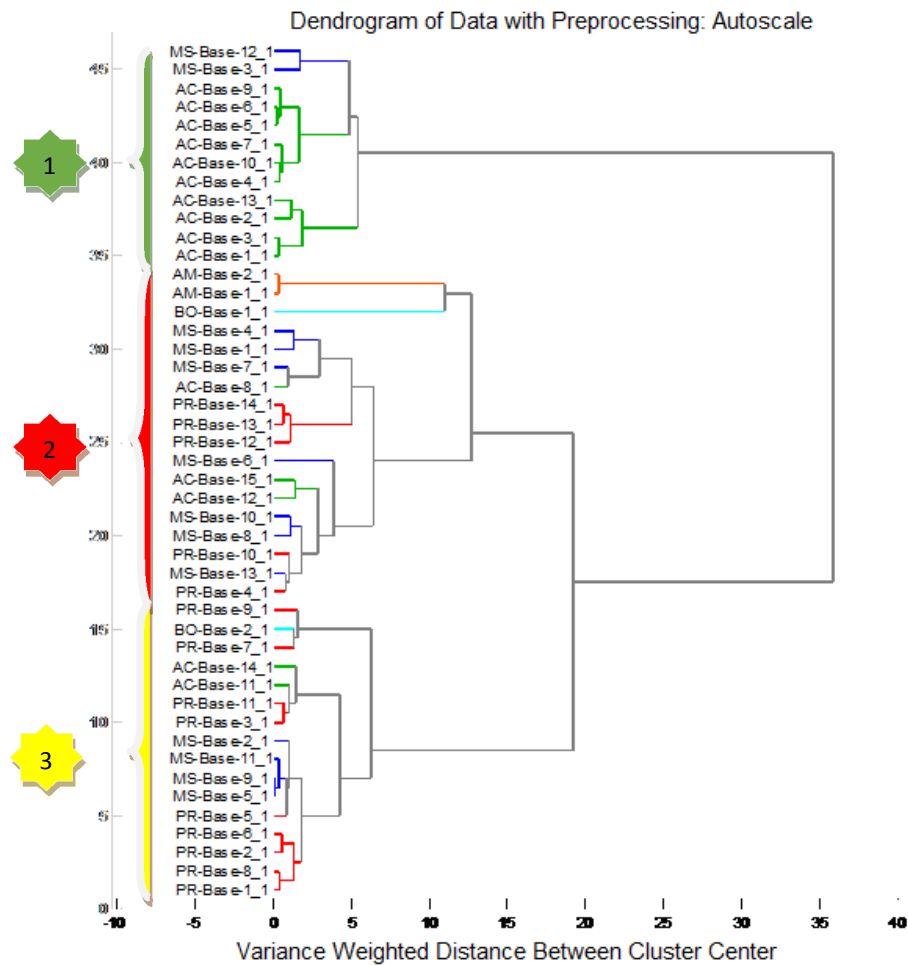


Figura 26 - Dendrograma obtido (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média, e escolhendo 4 PCs. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

No grupo 1 observa-se a concentração de 10 amostras de cocaína base livre basicamente apreendidas do Acre (mais de 90% das amostras do grupo são originadas deste estado) e de duas amostras do Mato Grosso do Sul. No grupo 2 (vermelho) são aglomeradas principalmente amostras do Amazonas, Acre, Mato Grosso do Sul, Paraná e uma amostra da fronteira Brasil/Bolívia. O grupo 3 (amarelo) contém amostras Acre, Mato Grosso do Sul, Paraná e da fronteira Brasil/Bolívia.

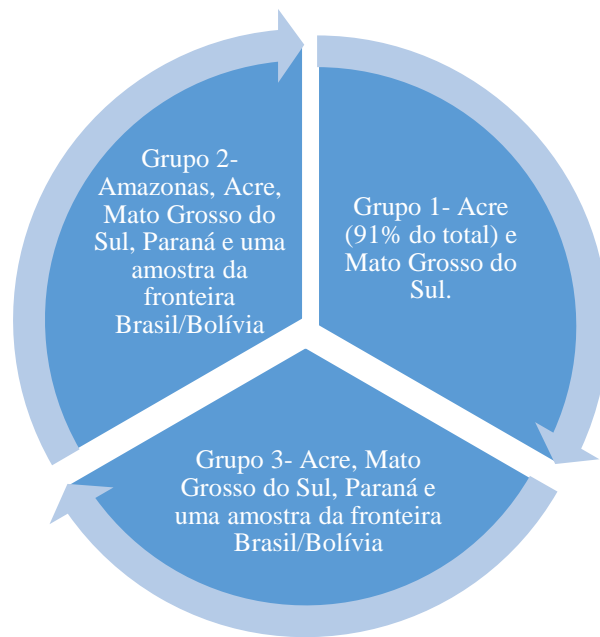


Figura 27 - Representação esquemática dos grupos formados através da análise hierárquica dos dendrogramas, com PCA.

Nestes HCA, foi observado que aplicando PCA, uma alteração significativa foi observada. Escolhendo 4 PCs, foram explicados 84,54% da variância, e observa-se uma diferença importante nos dois dendrogramas: o grupo 2 da figura 25 (sem PCA) contém apenas amostras do Amazonas e uma amostra apreendida na fronteira Brasil/Bolívia, enquanto estas mesmas amostras do grupo 2 da figura 26 (com PCA) se correlacionam com diversas outras amostras de apreensões diferentes.

Realizando a análise de componentes principais (PCA) foi verificado que as componentes PC1 e PC2 descrevem 64,96% da variação total dos dados e fornecem informações discriminatórias das amostras. Sendo que a primeira componente principal (PC1) descreve 48,76% da variação total, 16,20% da variação total dos dados é descrita pela segunda componente principal (PC2). Como primeiro resultado do PCA, a representação dos *scores*, na Figura 28, é diretamente concordante com os resultados obtidos através do HCA. Nota-se que as três amostras que estavam separadas no HCA sem PCA (Figura 25) se encontram, no grupo 2, na parte de superior do gráfico. Através do gráfico de *scores* observa-se a formação de agrupamentos.

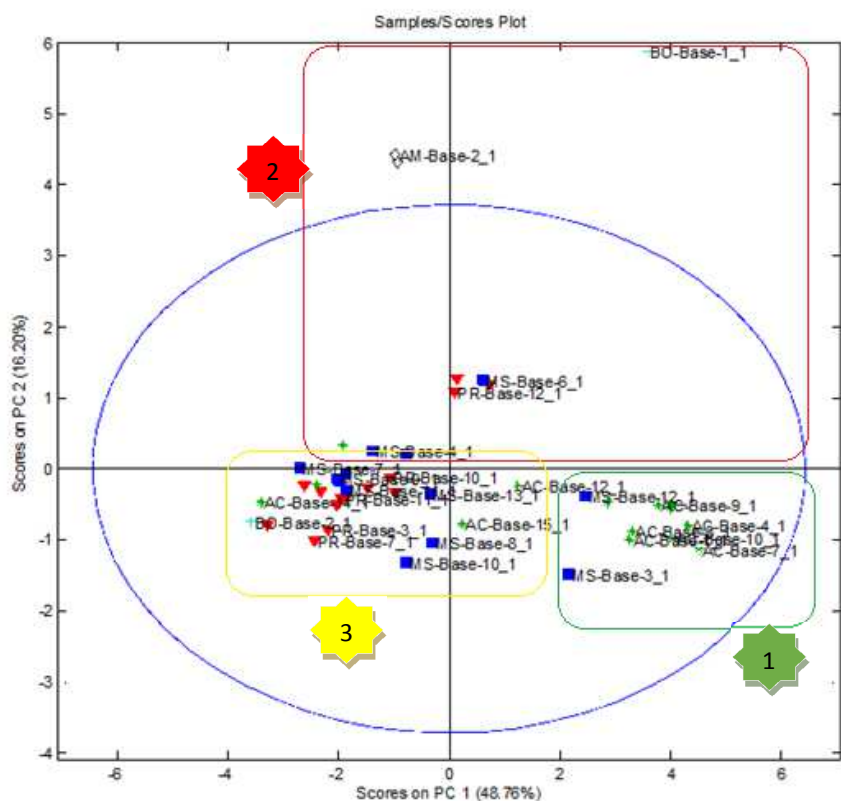


Figura 28 - Gráficos de *scores* da PCA a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

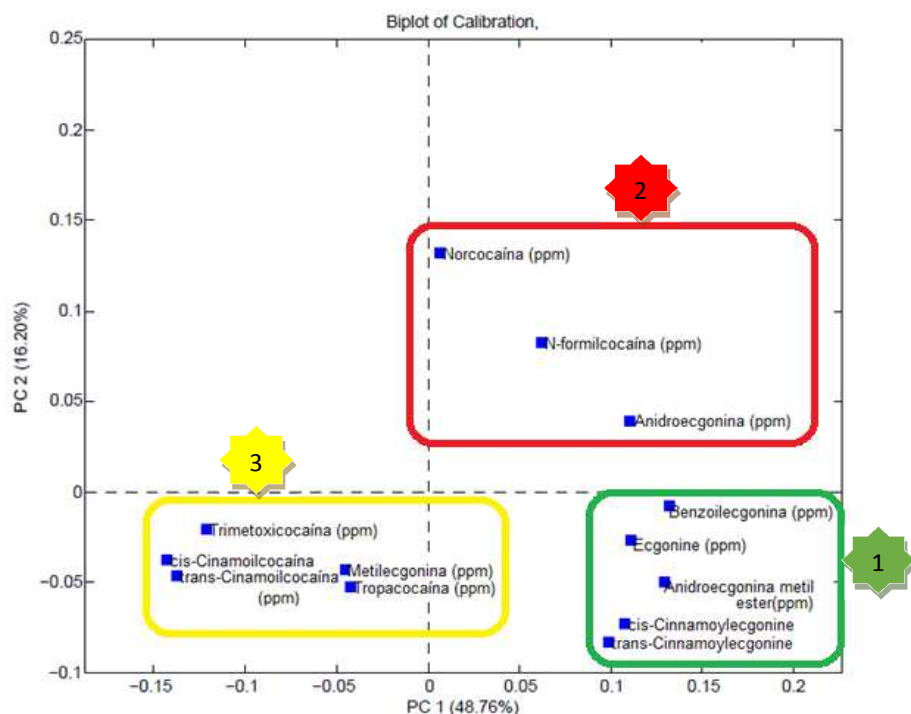


Figura 29 - Gráficos dos *loadings* da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

O gráfico de *loadings* da Figura 29 fornece uma interpretação para a distribuição formada, levando-se em conta quais alcaloides minoritários estão presentes nas amostras de cocaína base livre.

As amostras pertencentes ao grupo 1 são influenciadas pelos alcaloides minoritários ecgonina, benzoilecgonina, anidroecgonina metil éster e *cis/trans*-cinamoilecgonina, por possuírem elevada concentração para estes compostos. De acordo com a distribuição dos *loadings*, possuem valores positivos de PC1 e negativos de PC2. A cocaína base livre é muito suscetível ao processo de degradação e, neste caso, alcaloides típicos de hidrólise e da falta de etapas de refino (cinamoilcocaínas) estão influenciando este agrupamento.

Para o grupo 2, as amostras são predominantemente influenciadas pelos alcaloides minoritários norcocaína, N-formilcocaína e anidroecgonina. Levando em consideração a distribuição dos *loadings*, estas amostras possuem valores positivos de PC1 e PC2. Como o PC1 para norcocaína é próximo de zero, seus referentes pesos são baixos, e ao mesmo tempo, a PC2 explica a maior variância. Estas amostras são agrupadas também por possuírem teores elevados dos alcaloides N-formilcocaína e norcocaína. Como nas etapas ilícitas de refino da cocaína por oxidação utilizando permanganato de potássio, são formados os alcaloides N-formilcocaína e norcocaína, há um indício de que essa etapa de oxidação tenha ocorrido para as amostras deste grupo.

Sobre o grupo 3, as amostras são caracterizadas no gráfico de *loadings* pelos alcaloides minoritários trimetoxicocaína, metilecgonina, tropacocaína e *cis/trans*-cinamoilcocaína. A presença de trimetoxicocaína e tropacocaína em amostras de cocaína está ligada à taxionomia da planta da qual a droga foi extraída, ocorrendo variações de uma espécie para outra. As cinamoilcocaínas (*cis/trans*) pertencem a um grupo de alcaloides encontrados tanto em folhas de coca como na droga não refinada. Dessa forma, quando uma amostra for oxidada, o teor de cinamoilcocaínas será reduzido significativamente.

Observa-se também para o grupo 3 que as amostras que possuem teor elevado de *cis* e *trans*-cinamoilcocaína possuem baixos valores de anidroecgonina metil éster, e vice-versa.

4.7 Estudo 2 para Cocaína Cloridrato: HCA e PCA analisando todos alcaloides, com normalização pela pureza da cocaína.

O tratamento dos dados inicia, para as apreensões de amostras de cocaína cloridrato, sob a forma de uma análise hierárquica de agrupamentos, com base na ligação de Ward, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média.

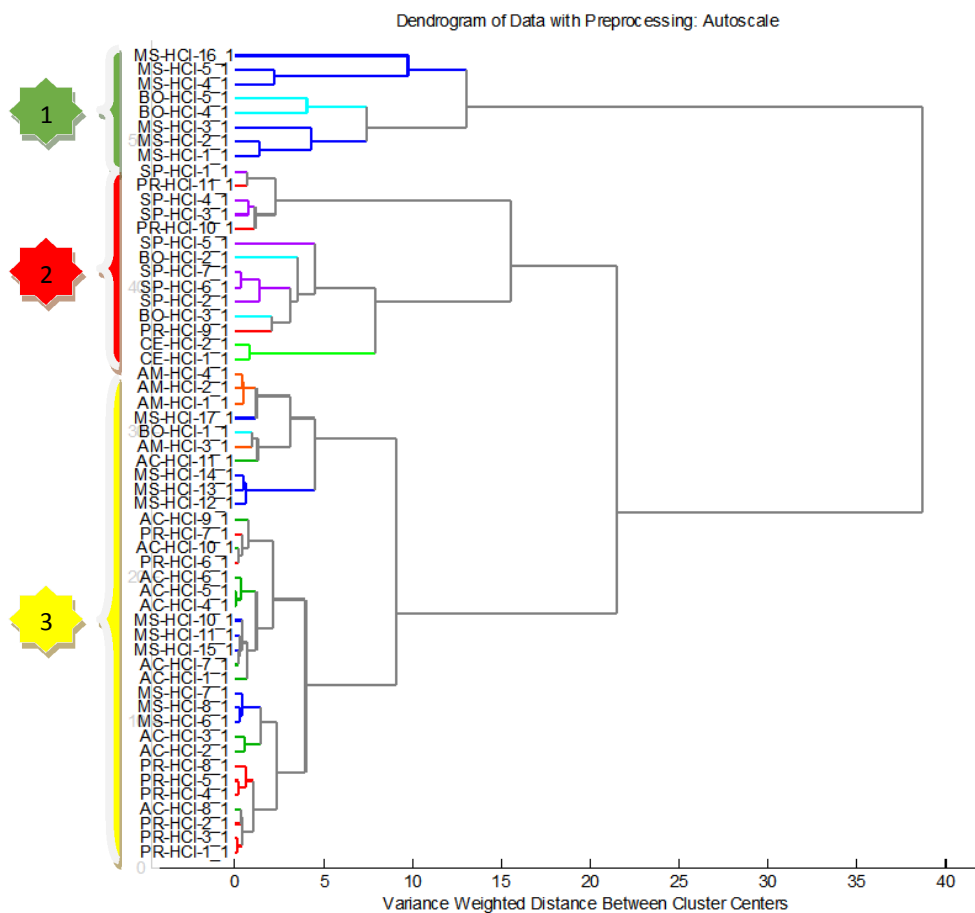


Figura 30 - Dendrograma obtido (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

O dendrograma obtido consta da Figura 30. Pode-se observar que são visíveis três grandes grupos identificados pelas cores, que apresentam no grupo 1 (verde) do HCA predominantemente amostras de cocaína cloridrato apreendidas da fronteira Brasil/Bolívia e Mato Grosso do Sul. No grupo 2 (vermelho), são agrupadas amostras de diversas origens, como São Paulo, Bolívia, Paraná e Ceará. Em relação ao grupo 3 (amarelo), observa-se amostras Amazonas, fronteira Brasil/Bolívia, Acre, Paraná e Mato Grosso do Sul.

Por sua vez, o dendrograma ilustrado na Figura 31, foi construído com PCA e escolhendo 4 PCs para se fazer uma análise hierárquica de agrupamentos (ligação de Ward). Os dados foram normalizados pela pureza, autoescalados e centrados na média. Observa-se que são visíveis três grandes grupos.

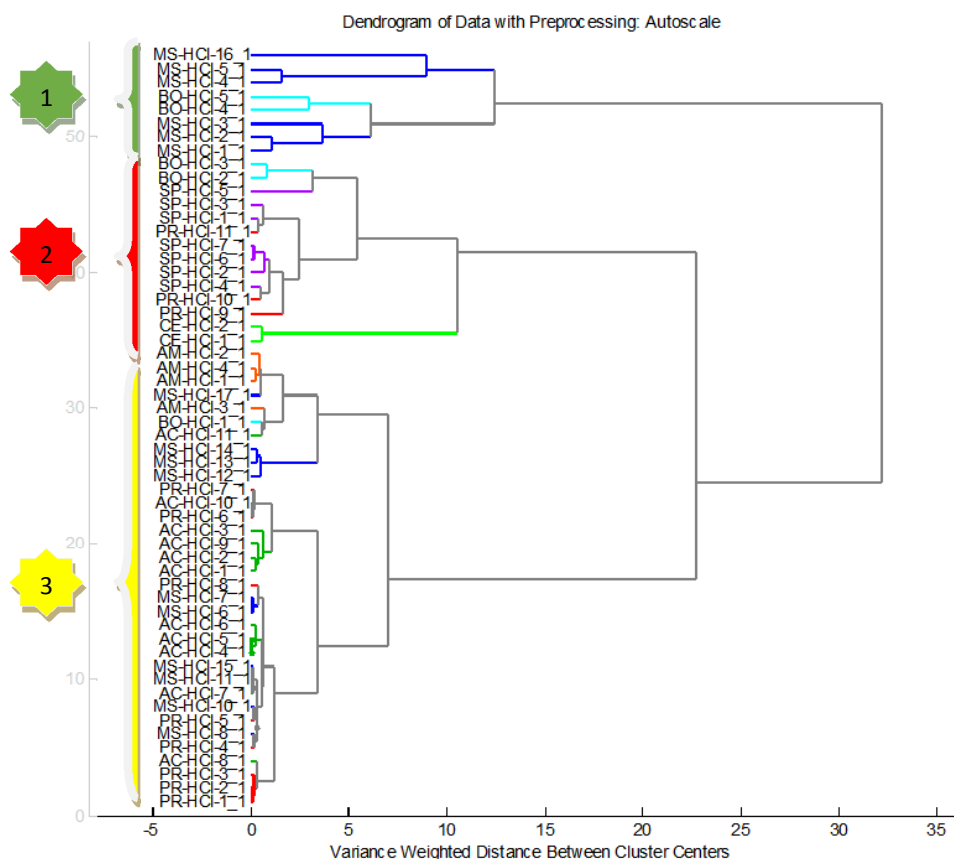


Figura 31 - Dendrograma obtido (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média, e escolhendo 4 PCs. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Ao contrário do estudo 2 da cocaína base, realizar o PCA, ou não, na análise hierárquica das amostras de cloridrato não interferiu nos dois resultados obtidos. Desse modo, escolhendo 4 PCs, é possível explicar 88,04% da variância, e conclui-se que os dois dendrogramas são similares e a distribuição das amostras pode ser representada na Figura 32.



Figura 32 - Representação esquemática dos grupos formados através da análise hierárquica dos dendrogramas, com PCA.

A representação dos *scores* do PCA, ilustrado na Figura 33, é concordante com os resultados obtidos no HCA. Realizando a análise de componentes principais (PCA) foi verificado que as componentes PC1 e PC2 descrevem 70,83% da variação total dos dados e fornecem informações discriminatórias das amostras. A primeira componente principal (PC1) descreve 52,97% da variação total, 17,86% da variação total dos dados é descrita pela segunda componente principal (PC2). Através do gráfico de *scores* observa-se a formação de três agrupamentos.

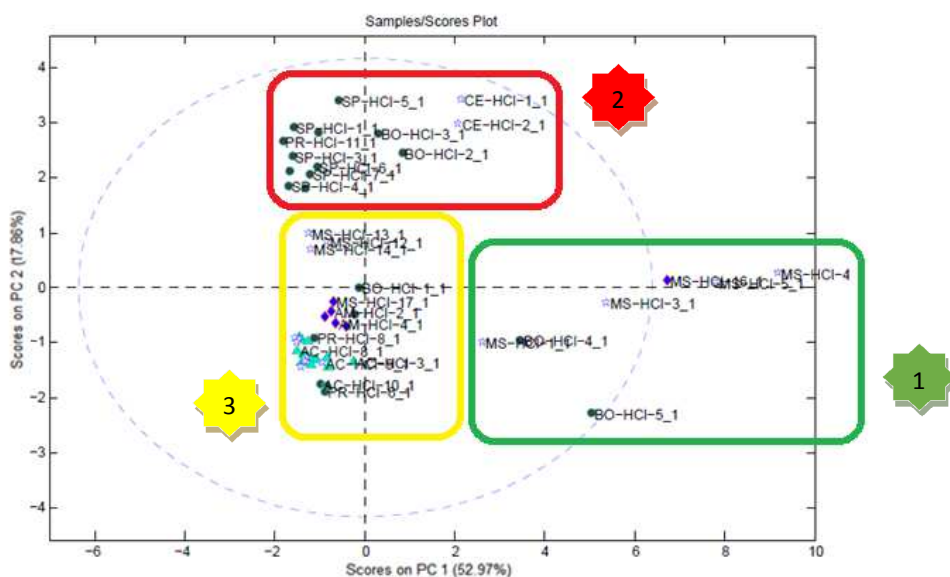


Figura 33 - Gráficos de *scores* da PCA a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação cloridrato, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

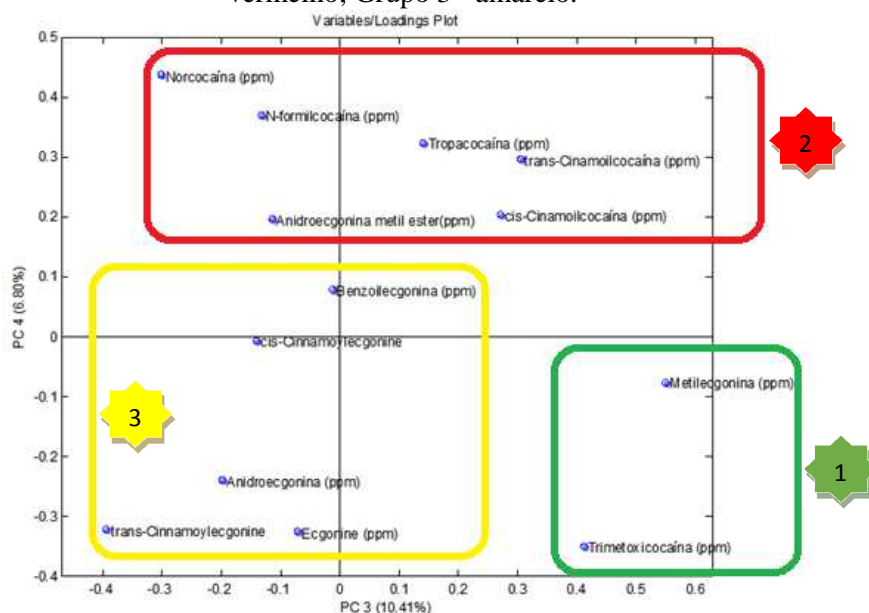


Figura 34 - Gráficos dos *loadings* da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação cloridrato, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

O gráfico de *loadings* da Figura 34 fornece uma interpretação para a distribuição formada levando-se em conta quais alcaloides minoritários influenciam as amostras de cocaína cloridrato, através da identificação das cores.

As amostras do grupo 1 são influenciadas pelos alcaloides minoritários trimetoxicocaína (alcaloide natural coextraído com cocaína) e metilecgonina (um dos produtos de hidrólise).

Os alcaloides significativos para o grupo 2 são a N-formilcocaína, norcocaína, anidroecgonina metil éster e *cis/trans*-cinamoilcocaína. Enquanto a tropacocaína é um alcaloide naturalmente encontrado nas folhas de coca, norcocaína e N-formilcocaína são formadas durante o processo de oxidação da cocaína. Dessa forma, a influência destes alcaloides sobre o grupo está ligada ao fato de possuírem um elevado teor.

A aglomeração das apreensões de cocaína cloridrato no grupo 2 são influenciadas principalmente pela presença do alcaloide norcocaína, indicando que essas amostras de cocaína devem ter passado por processo de oxidação utilizando permanganato de potássio para formar n-formilcocaína e, em seguida, sofreram hidrólise para a formação da norcocaína.

No grupo 3, as amostras são caracterizadas no gráfico de *loadings* pelos alcaloides minoritários benzoilecgonina, ecgonina, anidroecgonina e *cis/trans*-cinamoilecgonina. Observa-se também que as amostras que possuem teor elevado de ecgonina possuem baixos valores de N-formilcocaína, e vice-versa.

4.8 Conversão dos Produtos de Hidrólise em Cocaína e *cis/trans*-cinamoilcocaína

Os alcaloides ecgonina, metilecgonina e benzoilecgonina estão relacionados à hidrólise da cocaína na amostra, ou seja, são formados pela quebra de ligações dos grupos éster presentes na cocaína. A amostra hidrolisada apresenta diferenças macroscópicas importantes que não são observadas em amostras de cocaína de alta pureza. Além das amostras hidrolisadas tenderem a ficar mais escurecidas, úmidas e poderem apresentar odor acentuado, apresentarão teores de cocaína menores que na amostra original.

Porém, como o teor de cada um destes analitos é determinado neste estudo, pode-se determinar matematicamente o quanto se tinha de cocaína antes da hidrólise (em uma amostra 100% pura). Convertendo-se os teores desses alcaloides em cocaína, são obtidos dados para a análise quimiométrica agora normalizados pelo valor da cocaína “original”, isto é, antes de qualquer degradação por hidrólise.

A Figura 35 ilustra o processo de cálculo reverso que foi realizado para o estudo 3.

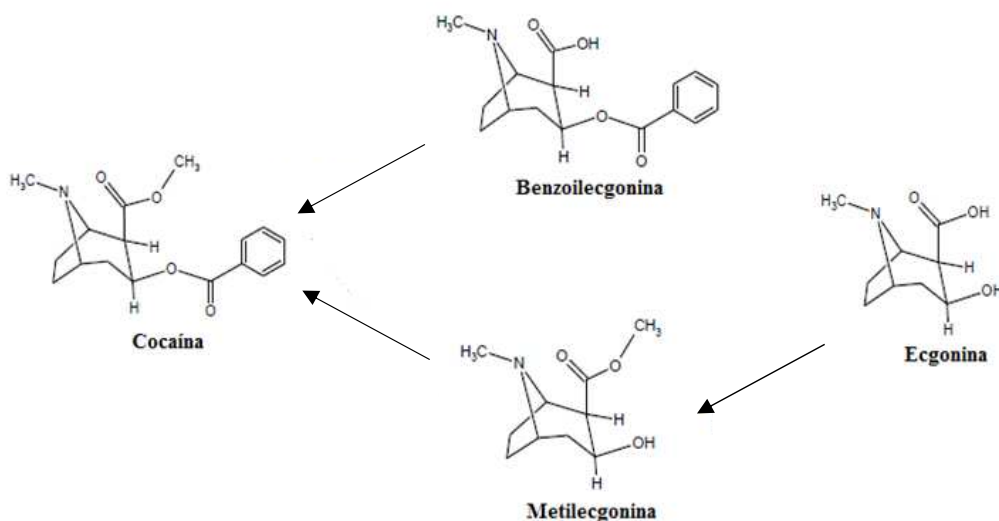


Figura 35 – Rota inversa de hidrólise para conversão de ecgonina, metilecgonina e benzoilecgonina em cocaína.

Para realizar a conversão dos alcaloides de hidrólise em cocaína é necessário considerar que há diferenças na massa molar dos analitos envolvidos. Os passos seguintes ilustram um exemplo da forma que foi realizada a conversão:

Amostra PR-HCl_1_1: apresenta originalmente a concentração de ecgonina e benzoilecgonina de 540 ppm e pureza de cocaína na forma de cloridrato de 97,5%.

- Dados: COC.HCl= 339,81 MW (g/mol); EC.HCl= 221,68 MW (g/mol); BE.HCl= 325,79 MW (g/mol).

- Ecgonina cloridrato=

$$540\text{ppm} \times (339,81(\text{g/mol}) / (221,68 (\text{g/mol})) \div 10000 =$$

0,08% (convertido para cocaína cloridrato)

- Benzoilecgonina cloridrato =

$$540\text{ppm} \times (339,81(\text{g/mol}) / (325,79(\text{g/mol})) \div 10000 =$$

0,16% (convertido para cocaína cloridrato)

- Pureza da cocaína cloridrato (% somado de ecgonina e benzoilecgonina convertidos em cocaína)=

- $97,5\% + 0,08\% + 0,16\% = 97,7\%$ (nova pureza utilizada para normalização dos dados para o Estudo 3, em relação à amostra PR-HCl_1_1).

Os Estudos de 3-5 irão considerar situações em que diferentes combinações dos produtos de hidrólise de cocaína têm seus teores convertidos para uma situação inicial com a amostra não hidrolisada.

De forma semelhante, os produtos de hidrólise *cis/trans*-cinamoilecgonina podem ter seus teores convertidos em *cis/trans*-cinamoilcocaína, pois também são produtos de hidrólise dos grupamentos éster destes alcaloides tropânicos.

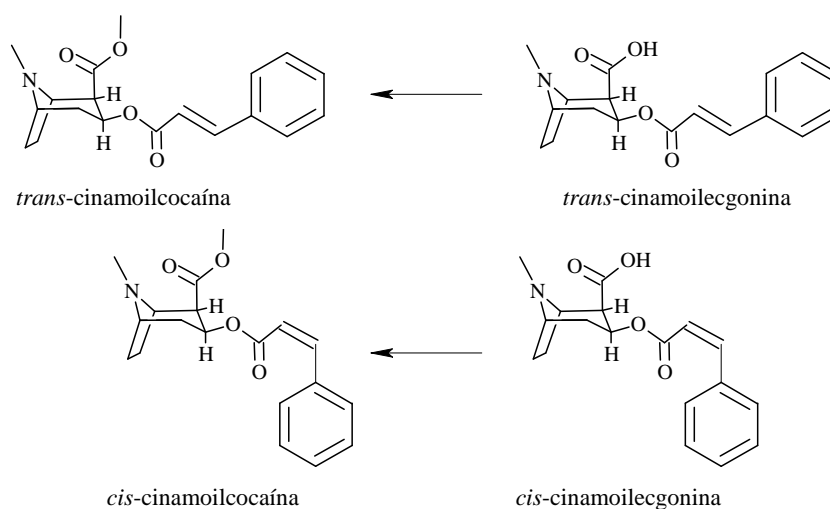


Figura 36– Rota inversa de hidrólise para conversão de *cis/trans*-cinamoilecgonina em *cis/trans*-cinamoilcocaína,

Os passos realizados são semelhantes ao ilustrado acima (conversão de ecgonina e benzoilecgonina em cocaína), mas desta vez é realizado para representar a conversão do produto de hidrólise *cis*-cinamoilecgonina em *cis*-cinamoilcocaína. A mesma conversão foi realizada de *trans*-cinamoilecgonina para *trans*-cinamoilcocaína. Ao final, o teor (%) de *cis*-cinamoilecgonina convertido em *cis*-cinamoilcocaína é somado com o teor de deste último alcaloide para a realização das análises quimiométricas.

Por fim, destaca-se que os teores relativos à conversão de alcaloides derivados de processo de hidrólise como ecgonina e benzoilecgonina para cocaína deve ser muito inferior em amostras de cocaína sal cloridrato, se comparado com as amostras na forma base livre. Isso ocorre porque as amostras de cloridrato de cocaína são mais estáveis e as amostras base livre são mais suscetíveis ao processo de hidrólise. De acordo com CASALE & KLEIN (1993)⁷¹, apesar da benzoilecgonina poder ser formada no processo de refino pela oxidação da cocaína,

o aparecimento desse produto em amostras purificadas é normalmente resultante de degradação por processos de hidrólise.

4.8.1 Estudo 3 para Cocaína Base Livre: Conversão para cocaína dos produtos de hidrólise ecgonina e benzoilecgonina, com ajuste pela pureza da cocaína.

O tratamento dos dados inicia sob a forma de uma análise hierárquica de agrupamentos (HCA), com base na ligação de Ward, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média, conforme Figura 37.

Escolhendo 4 PCs, é capaz de explicar 84,90 % da variância. São formados três grandes grupos, onde no primeiro grupo as amostras do Acre são as mais relevantes, e nos demais subgrupos são formados com amostras de diversas origens.

Logo após, foi construído outro dendrograma, Figura 38, com PCA escolhendo 4 PCs para fazer uma análise hierárquica de agrupamentos (ligação de Ward). Os dados foram normalizados pela pureza, autoescalados e centrados na média. Observa-se que são visíveis três grandes grupos formados. Dessa forma, para o estudo em questão os dois dendrogramas são similares (Figura 37 e Figura 38).

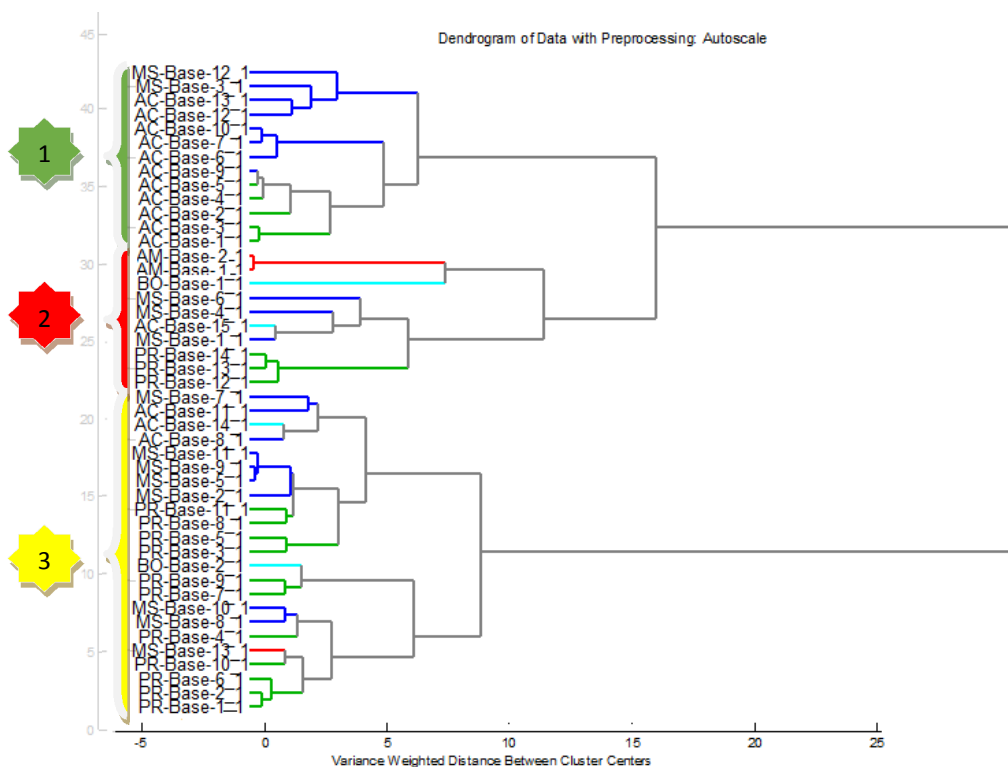


Figura 37 - Dendrograma obtido para o estudo 3, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

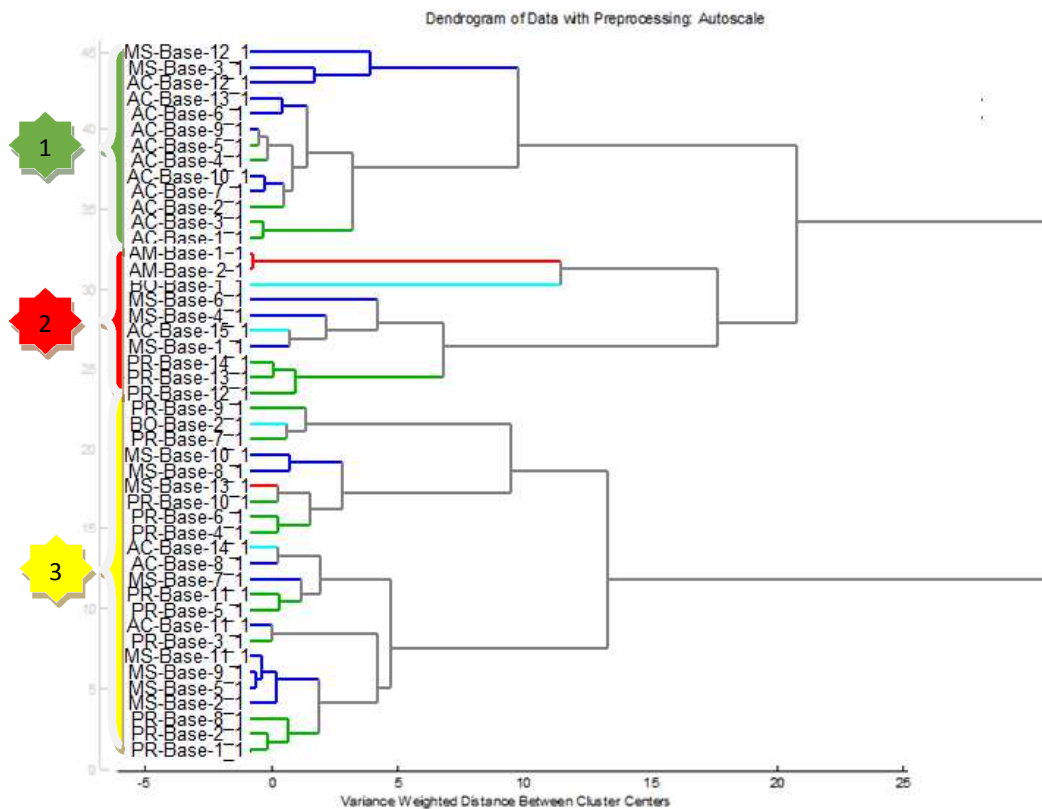


Figura 38 - Dendrograma obtido para o estudo 3, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

No primeiro grupo 1 apresentado na Figura 37, observa-se a concentração de 11 amostras de cocaína base livre basicamente apreendidas do Acre e de 2 amostras do Mato Grosso do Sul. No grupo 2 são aglomeradas principalmente amostras do Amazonas, Acre, Mato Grosso do Sul, Paraná e da fronteira Brasil/Bolívia. Em relação ao grupo 3 são aglomeradas as amostras restantes do Acre, Mato Grosso do Sul, Paraná e da fronteira Brasil/Bolívia. Esta distribuição também é apresentada no gráfico de *scores* (Figura 39).

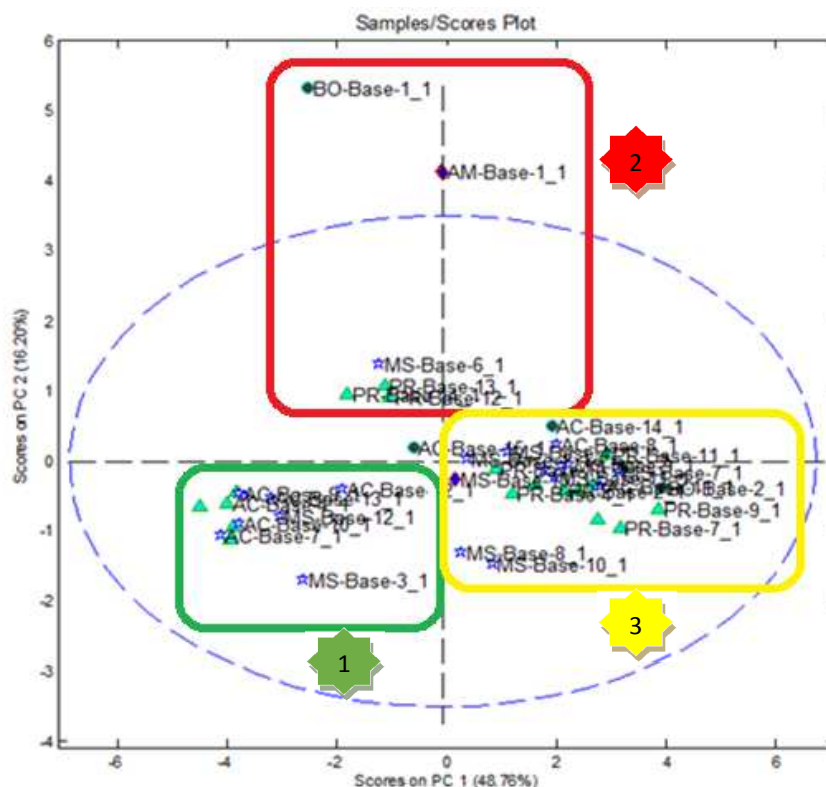


Figura 39 - Gráfico de *scores* gerado do estudo 3 para as amostras na forma de apresentação cocaína base livre. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Foi observado que o gráfico de *scores* (Figura 39) apresenta diferenças em relação ao Estudo 2 quando se fez este ajuste dos produtos de hidrólise ecgonina e benzoilecgonina para cocaína. Ocorreu uma inversão de sentido das amostras em relação ao eixo PC1, por exemplo, a amostra BO-Base-1_1 que antes se encontrava no sentido positivo de PC1 no estudo 2 (Figura 27), agora possui valor negativo para PC1 no estudo 3 (Figura 39). Destaca-se, contudo, que inversão não alterou a composição dos agrupamentos em relação ao Estudo 2.

O gráfico de *loadings*, Figura 40, aponta que o grupo 1 é caracterizado pelos alcaloides minoritários trimetoxicocaína, metilecgonina, tropacocaína e *cis/trans*-cinamoilcocaína. Para o grupo 2, as amostras são influenciadas pelos alcaloides minoritários norcocaína, N-formilcocaína e anidroecgonina. Os alcaloides significativos para o grupo 3 são a ecgonina, benzoilecgonina, anidroecgonina metil éster e *cis/trans*-cinamoilecgonina.

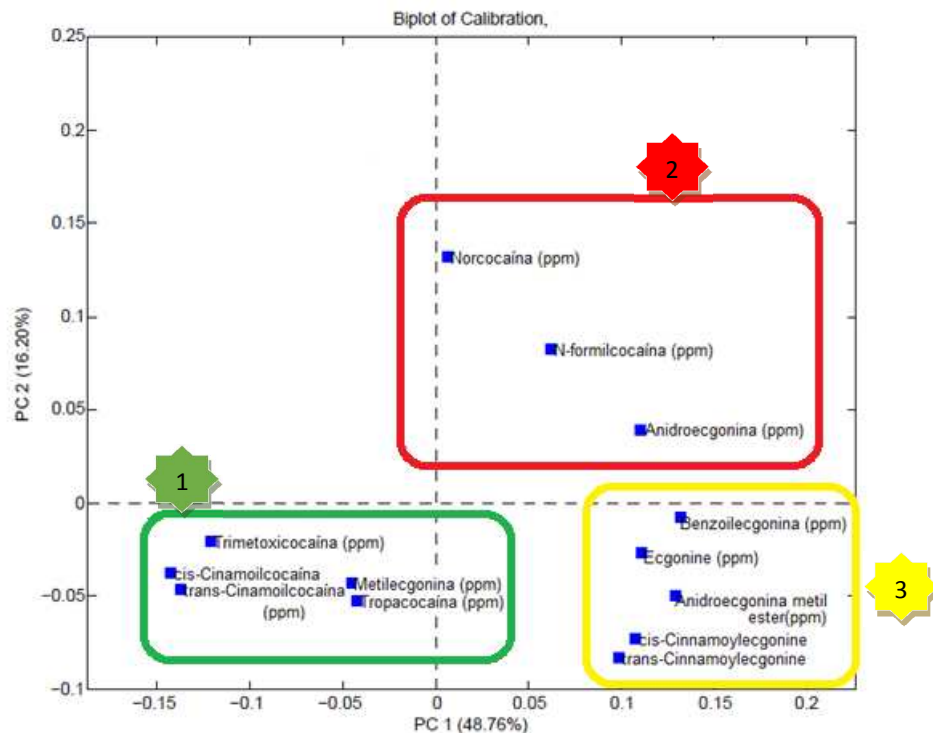


Figura 40 - Gráficos dos *loadings* da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

4.8.2 Estudo 3 para Cocaína Cloridrato: Conversão para cocaína dos produtos de hidrólise ecgonina e benzoilecgonina, com ajuste pela pureza da cocaína.

O tratamento dos dados inicia sob a forma de uma análise hierárquica de agrupamentos (HCA), com base na ligação de Ward, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média.

Escolhendo 4 PCs consegue explicar 85,39% da variância. Pode ser notado que os dois dendrogramas a seguir são similares (Figura 41 e Figura 42).

São formados três grandes grupos. No grupo 1 (Figura 41), observa-se a concentração de amostras de cocaína cloridrato basicamente apreendidas da fronteira Bolívia/Brasil, Ceará, Mato Grosso do Sul e São Paulo. No grupo 2, são aglomeradas principalmente amostras do São Paulo e Paraná. Em relação ao grupo 3, se observa as amostras de cocaína cloridrato de diversas origens.

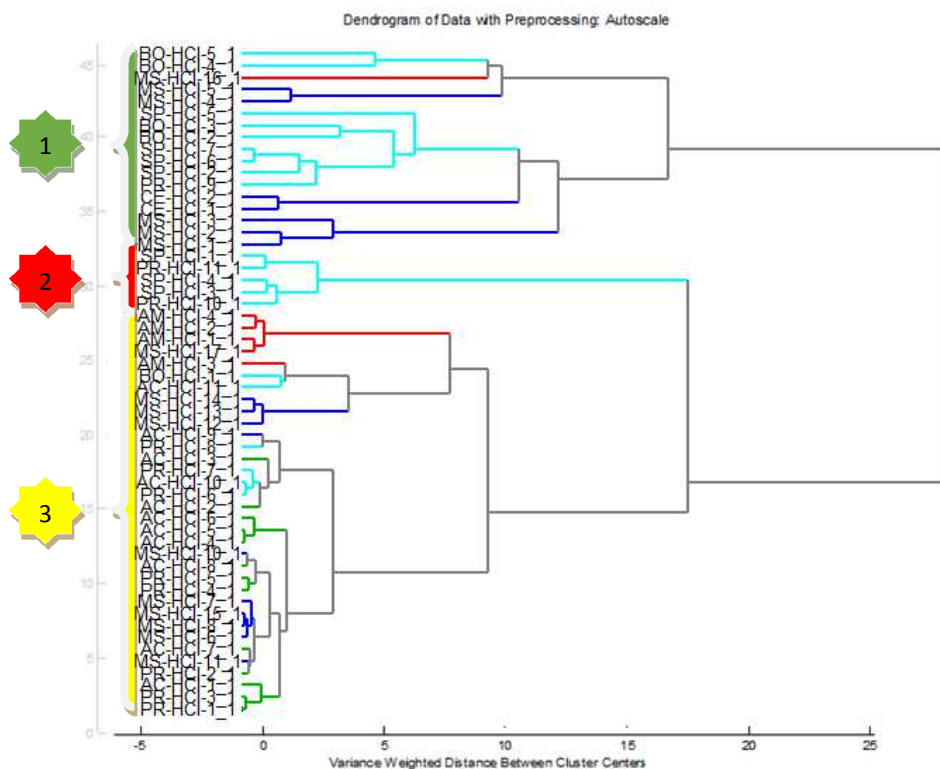


Figura 41 - Dendrograma obtido para o estudo 3, na forma de apresentação cocaína cloridrato (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, sem PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

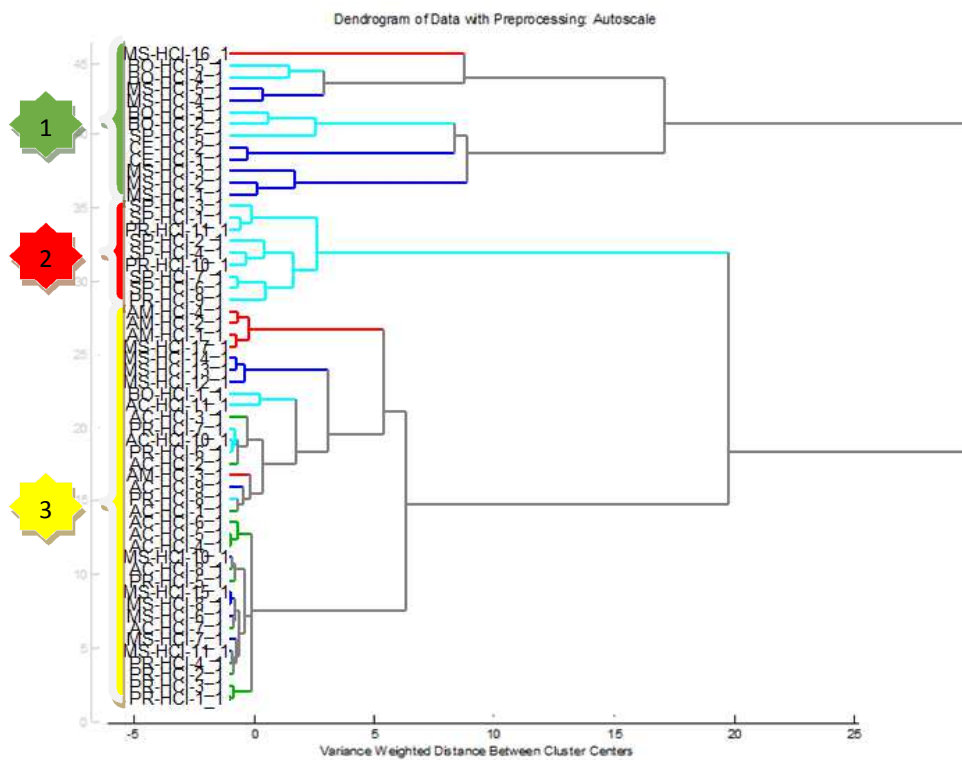


Figura 42 - Dendrograma obtido para o estudo 3, na forma de apresentação cocaína cloridrato (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

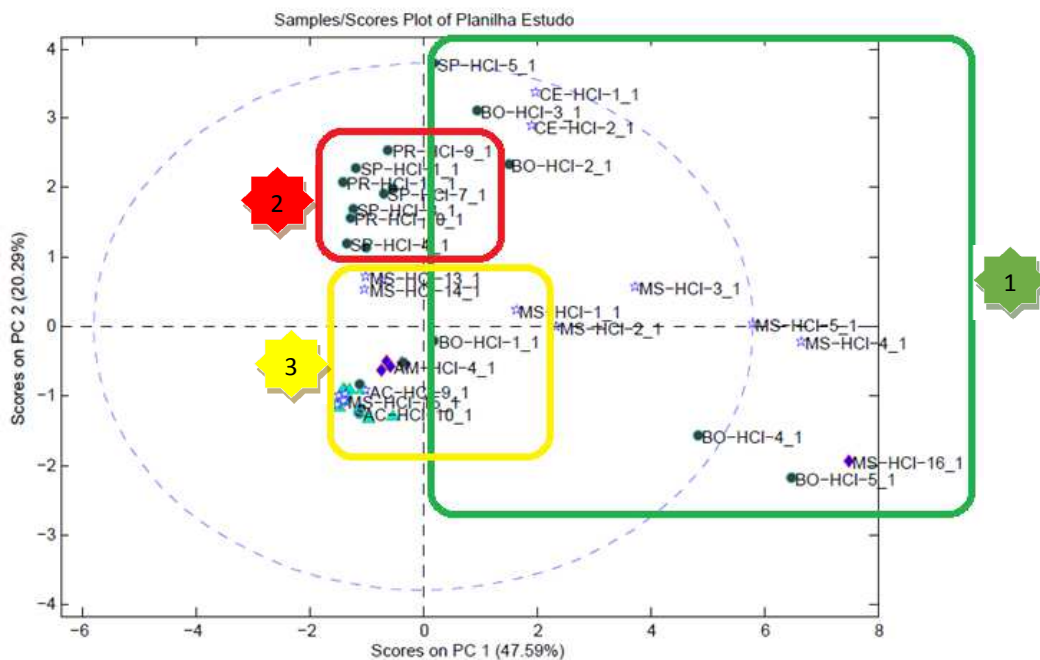


Figura 43 - Gráfico de *scores* gerado do estudo 3 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

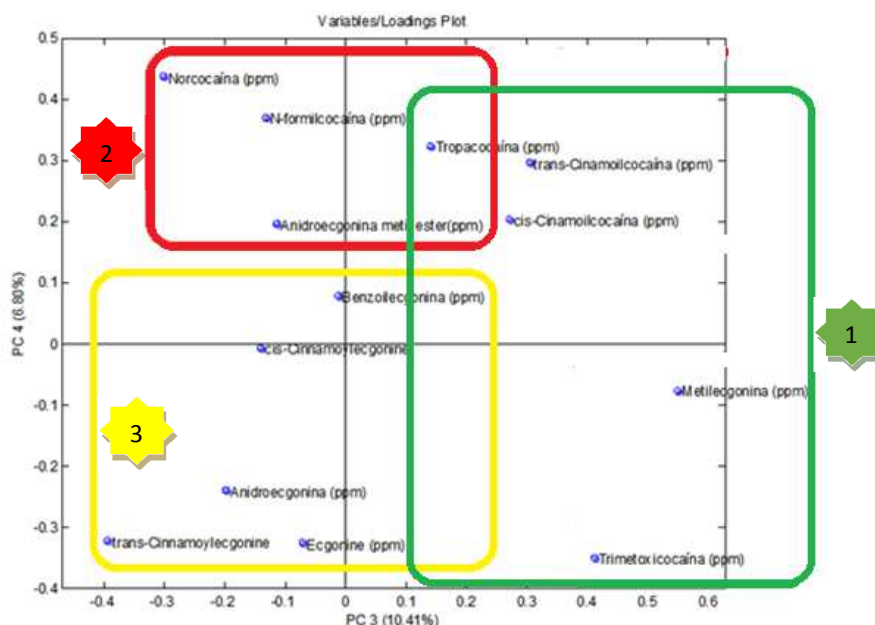


Figura 44 - Gráficos dos *loadings* da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação cloridrato, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

De acordo com os gráficos de *scores* (Figura 43) ocorreu pouca alteração em relação ao Estudo 2 (Figura 33) quando se fez ajuste pela conversão dos alcaloides derivados de hidrólise benzoilecgonina e ecgonina e cálculo de pureza da cocaína.

A aglomeração das apreensões de cocaína cloridrato no grupo 1 são influenciadas principalmente pelas presenças dos alcaloides trimetoxicocaína, metilecgonina e *cis* e *trans*-cinamoilcocaína. Em relação ao grupo 2, as amostras são influenciadas pelos alcaloides N-formilcocaína, norcocaína, anidroecgonina metil éster e tropacocaína em razão de possuírem alto teor. No grupo 3, as amostras são caracterizadas no gráfico de *loadings* pelos alcaloides minoritários benzoilecgonina, ecgonina, anidroecgonina e *cis/trans*-cinamoilecgonina. Observa-se também que as amostras que possuem teor elevado de ecgonina possuem baixos valores de N-formilcocaína, e vice-versa.

Abordando os gráficos de *loadings*, Figura 44, fornecem uma interpretação para a distribuição formada levando-se em conta quais alcaloides minoritários influenciam as amostras de cocaína cloridrato.

4.8.3 Estudo 4 para Cocaína Base Livre: Conversão do Produto de Hidrólise Benzoilecgonina em Cocaína.

Como o analito mais abundante nas análises quantitativas derivado de hidrólise da cocaína é a benzoilecgonina, o estudo tem por objetivo analisar qual a influência do alcaloide benzoilecgonina quando convertida na cocaína “original”.

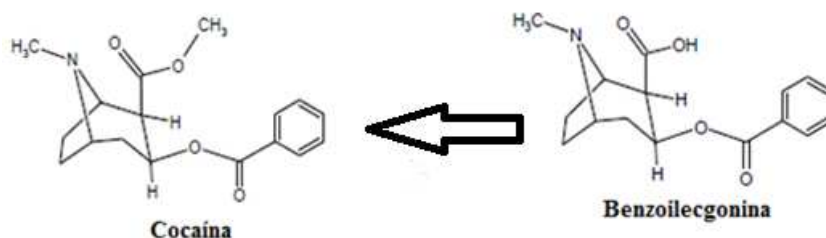


Figura 45 – Benzoilecgonina convertida em cocaína “original”.

Inicialmente, é realizada uma análise hierárquica de agrupamentos (HCA), com base na ligação de Ward, com dados autoescalados e centrados na média. O dendrograma obtido consta Figura 46 a seguir.

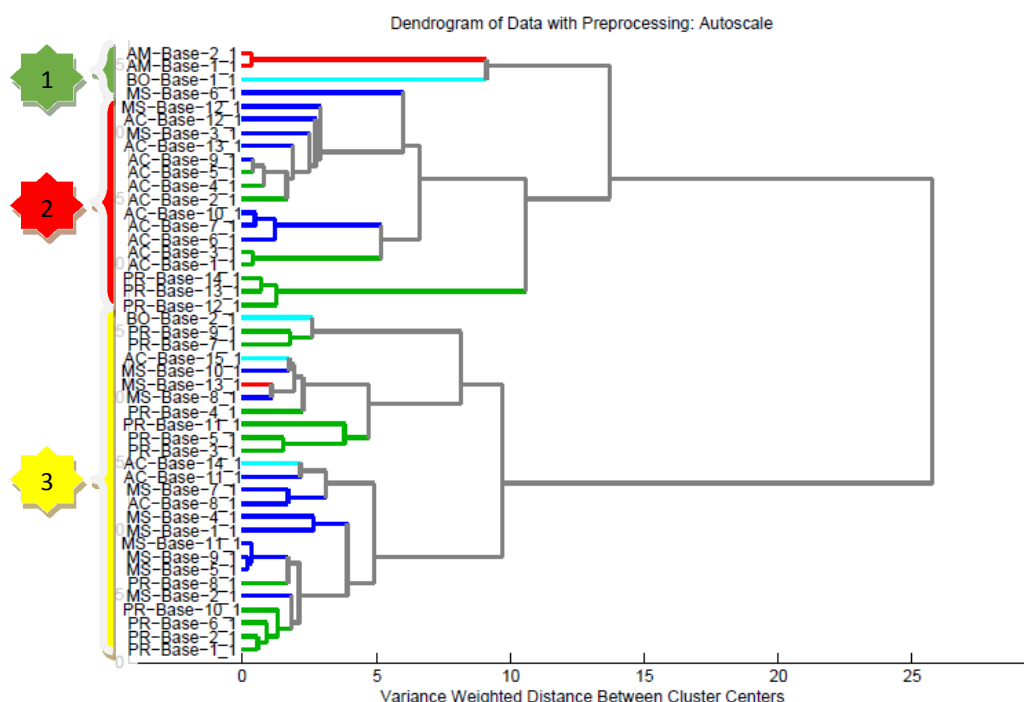


Figura 46 - Dendrograma obtido para o estudo 4, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Pode-se observar que são visíveis três grandes grupos, sendo que o grupo 1 do HCA predominantemente possui amostras de cocaína base livre apreendidas do Amazonas, Mato Grosso do Sul e uma amostra apreendida na fronteira Brasil/Bolívia. Os grupos 2 e 3 são formados por um número maior de amostras, provenientes do Acre, Paraná, Mato Grosso do Sul e fronteira Brasil/Bolívia.

Em seguida, foi obtido outro dendrograma, Figura 47, desta vez utilizando PCA e escolhendo 4 PCs para fazer uma análise hierárquica de agrupamentos (ligação de Ward). Os dados foram autoescalados e centrados na média.

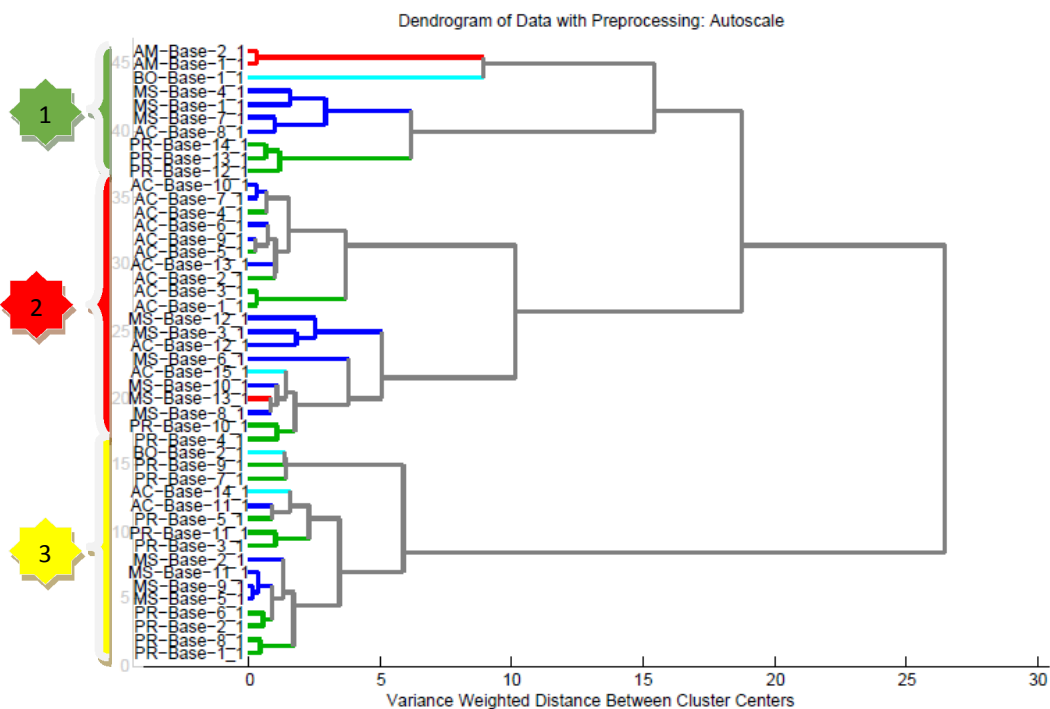


Figura 47 - Dendrograma obtido para o estudo 4, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Aplicando PCA ou não para o Estudo 4, pouca alteração foi observada. Porém, comparando com os dendrogramas formados no Estudo 3, com a conversão de ecgonina e benzoilecgonina para as amostras cocaína base livre (seção 4.8.1), somente após a utilização de PCA é que semelhanças em relação ao agrupamento hierárquico são observadas. Quando não se utiliza o PCA nota-se que o dendrograma formado para o Estudo 4 é significativamente diferente do gerado no Estudo 3. Pode ser citado como exemplo as amostras AM-Base-1_1, AM-Base-2_1 e BO-Base-1_1, que formam um grupo isolado no estudo 4 (grupo 1 da Figura 45), para o estudo 3 (Figura 37) essas mesmas são constituintes do grupo 2 que contém outras amostras.

Sobre o gráfico de *scores* formado para o Estudo 4, Figura 48, sua disposição é bem semelhante ao gráfico de scores da seção 4.8.1 do Estudo 3 (Figura 39).

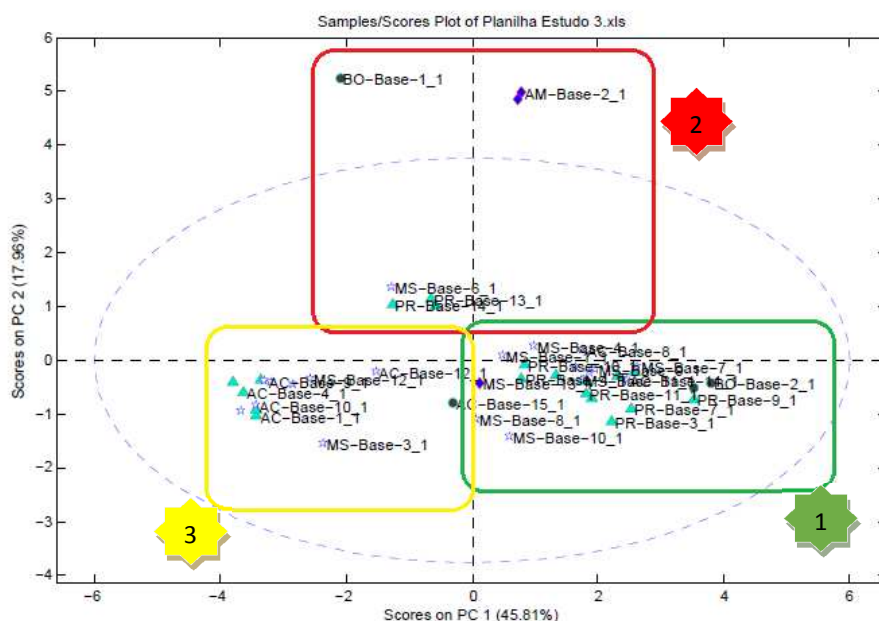


Figura 48 - Gráfico de *scores* gerado do estudo 4 para as amostras na forma de apresentação cocaína base livre. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

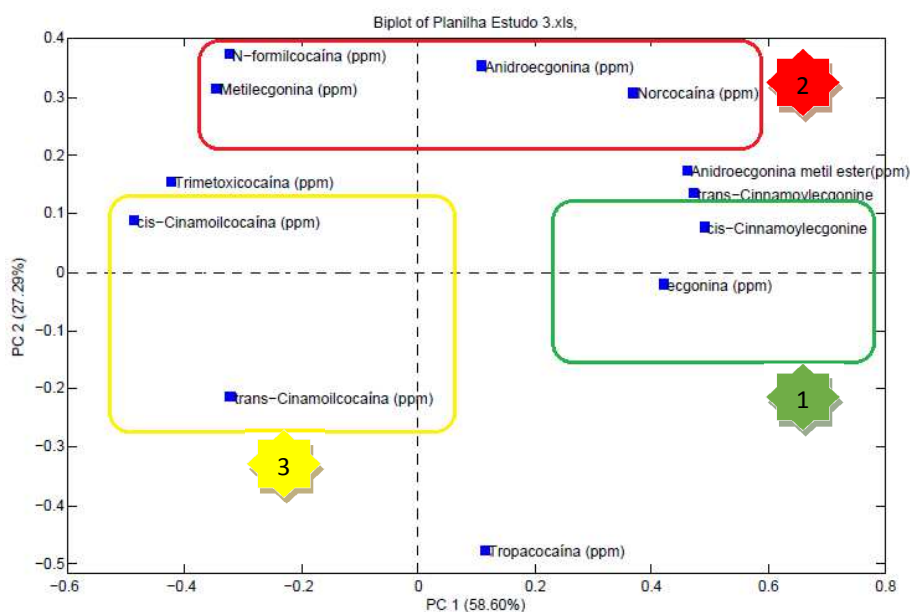


Figura 49 - Gráficos dos *loadings* da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Em relação ao gráfico de *loadings*, Figura 49, nota-se que os grupos são influenciados pelos mesmos alcaloides que foram determinantes para o Estudo 3, que considera a conversão de ecgonina e benzoilecgonina.

4.8.4 Estudo 4 para Cocaína Cloridrato: Conversão do Produto de Hidrólise Benzoilecgonina em Cocaína.

Sobre as amostras cloridrato de cocaína que foram consideradas no Estudo 4, para se verificar a influência do alcaloide benzoilecgonina quando convertido em cocaína “original”, foi observado pelas análises que os dendrogramas (com ou sem PCA), o gráfico de *scores* e o gráfico de *loadings* são muito semelhantes aos resultados obtidos através do Estudo 3 (conversão de ecgonina e benzoilecgonina da seção 4.8.2), para o caso de amostras apreendidas de cloridrato de cocaína. Na Figura 50 é apresentado o gráfico de *scores* para o Estudo 4 em relação às amostras cloridrato de cocaína.

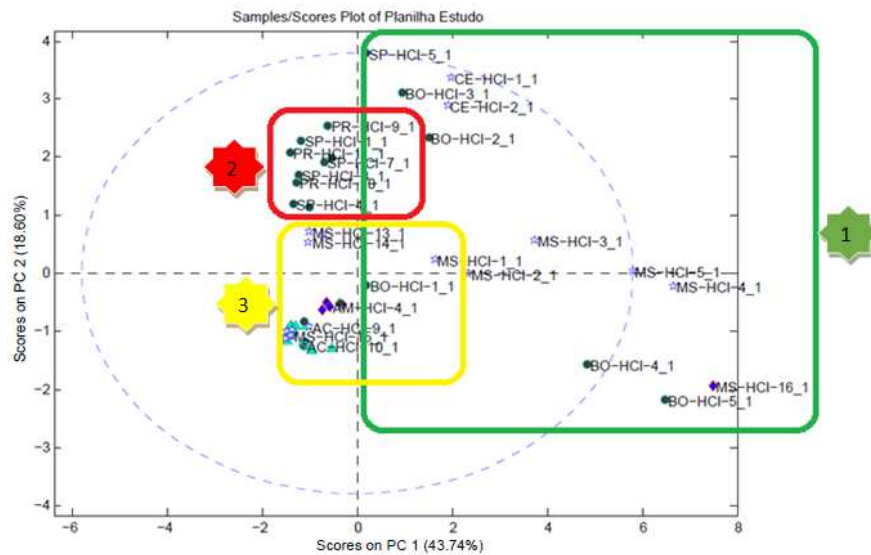


Figura 50 - Gráfico de *scores* gerado do estudo 4 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

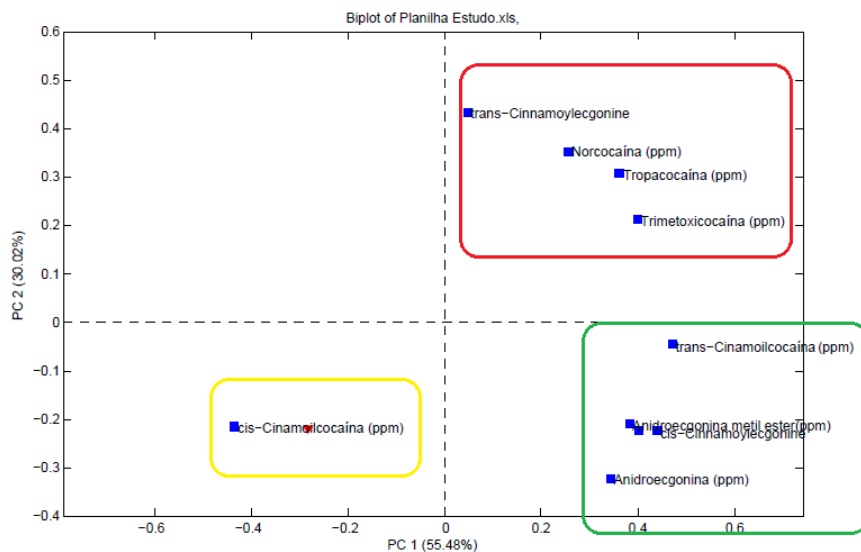


Figura 51 - Gráfico de *loadings* gerado do estudo 4 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1- cor verde; Grupo 2- cor vermelha; Grupo 3- cor amarela.

4.8.5 Estudo 5 para Cocaína Base Livre: Conversão dos Produtos de Hidrólise Benzoilecgonina, Ecgonina e Metilecgonina em Cocaína.

Este estudo tem por objetivo analisar qual a influência dos três alcaloides obtidos através da hidrólise da cocaína (benzoilecgonina, ecgonina e metilecgonina- Figura 35) quando convertidos para o teor de cocaína original na forma de base livre.

A análise hierárquica de agrupamentos (HCA) é realizada com base na ligação de Ward, com dados autoescalados e centrados na média. O dendrograma obtido consta Figura 52 a seguir. São observados três grandes grupos, sendo que o grupo 1 predominantemente possui amostras de cocaína base livre apreendidas do Acre, Paraná, Mato Grosso do Sul e uma amostra apreendida na fronteira Brasil/Bolívia. O grupo 2 é formado majoritariamente por amostras do Estado Acre. O grupo 3 é formado por um número maior de amostras, provenientes do Amazonas, Acre, Paraná, Mato Grosso do Sul e fronteira Brasil/Bolívia.

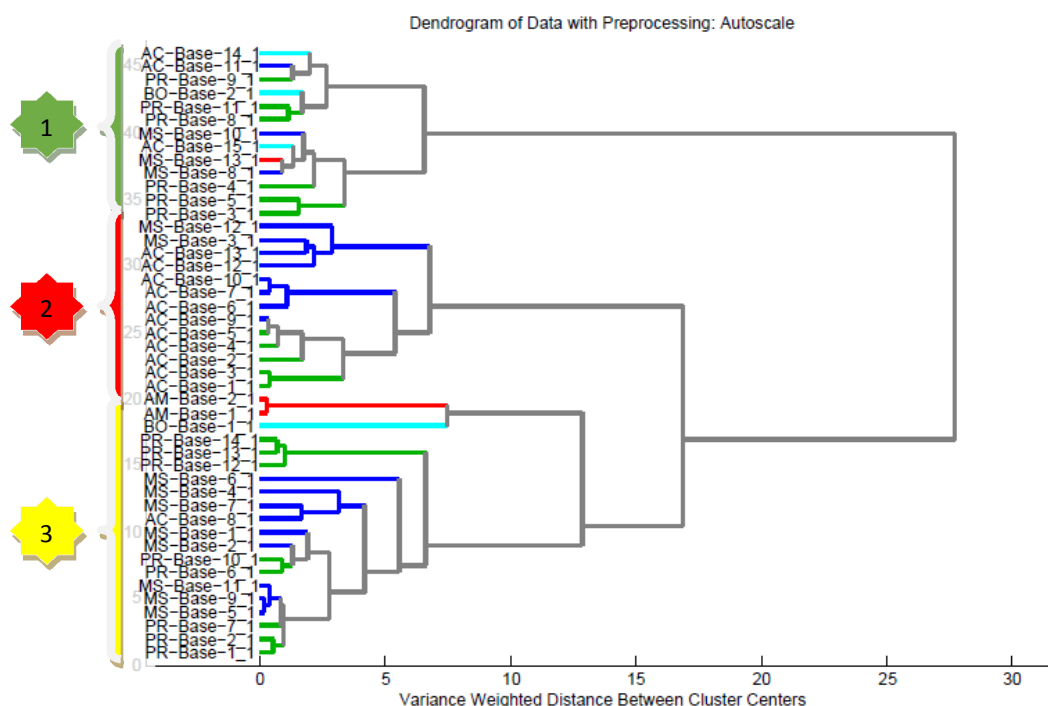


Figura 52 - Dendrograma obtido para o estudo 5, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Observa-se no Estudo 5 diferenças significativas em relação aos dendrogramas gerados nos Estudos 3 e 4 (seções 4.8.1 e 4.9, respectivamente). Pode ser citado como exemplo as amostras AM-Base-1_1, AM-Base-2_1 e BO-Base-1_1 que são constituintes do Grupo 3 no estudo 5 (Figura 52), para os estudos 3 e 4 essas mesmas amostras são constituintes dos grupos 2 e 1, respectivamente (Figuras 37 e 46).

Não foram observadas alterações significativas na utilização de PCA para a construção de dendrogramas no Estudo 5 (Figura 53). Na comparação com os dendrogramas formados nos Estudos 3 e 4 são observadas semelhanças em relação ao agrupamento hierárquico são formadas quando utiliza PCA. Pode ser citado como exemplo as amostras MS-Base-13_1, MS-Base-12_1 e AC-Base-12_1 que se encontram ligadas em relação aos três estudos observados.

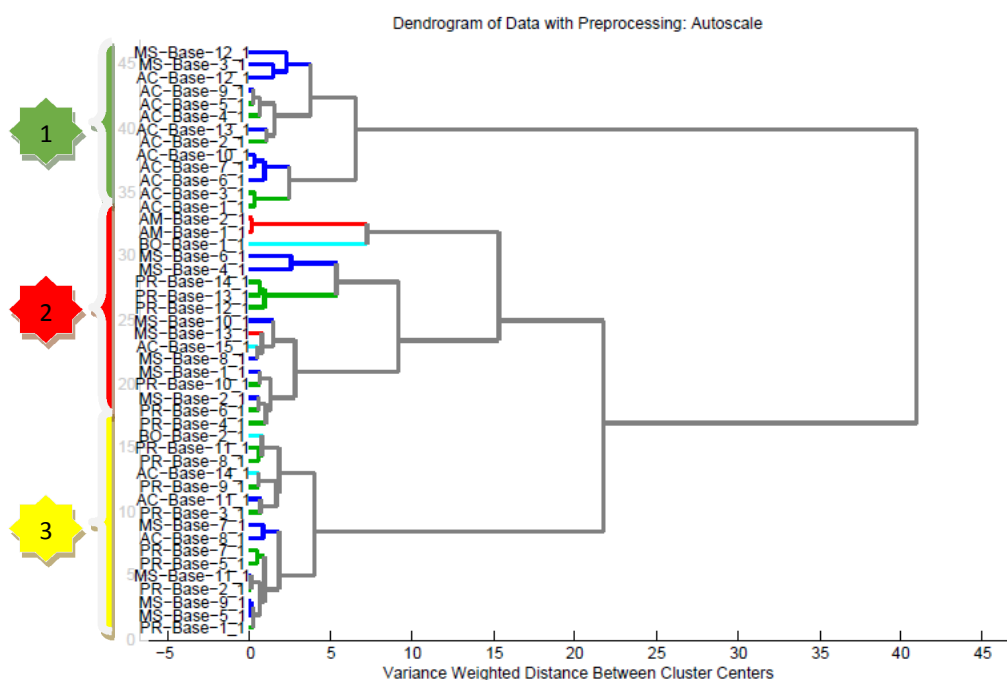


Figura 53 - Dendrograma obtido para o estudo 5, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Levando-se em conta o gráfico de *scores* da Figura 54, a disposição das amostras é muito semelhante ao agrupamento formado no Estudo 3 da seção 4.8.1. Coerentemente, o gráfico de *loadings* da Figura 55 também mostra que os grupos são influenciados pelos mesmos alcaloides que foram determinantes para o Estudo 3.

Sobre o grupo 1, as amostras são caracterizadas no gráfico de *loadings* pelos alcaloides minoritários trimetoxicocaína, *cis/trans*-cinamoilecgonina e *cis/trans*-cinamoilcocaína. Para o grupo 2, as amostras são influenciadas pelos alcaloides minoritários N-formilcocaína, anidroecgonina, anidroecgonina metil éster e tropacocaína. O alcaloide significativo para o grupo 3 se trata da norcocaína.

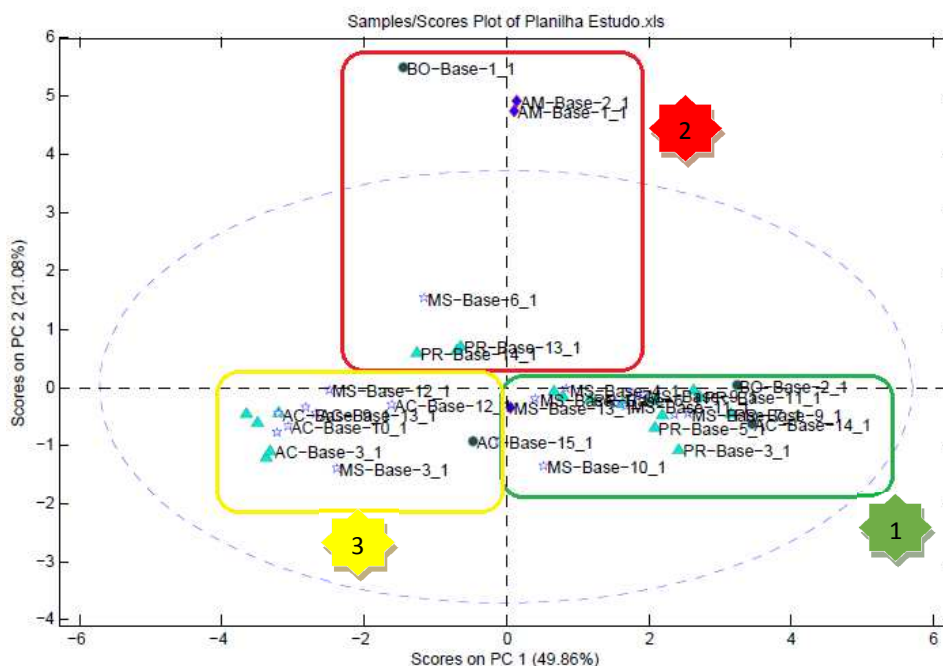


Figura 54 - Gráfico de *scores* gerado do estudo 5 para as amostras na forma de apresentação cocaína base livre. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

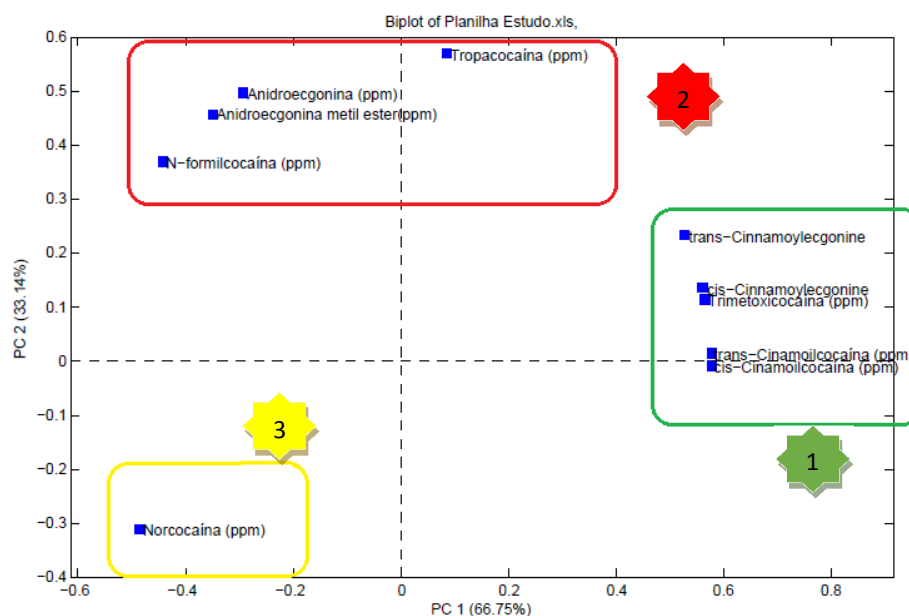


Figura 55 - Gráficos dos *loadings* da PCA, a partir dos cromatogramas de amostras de cocaína, na forma de apresentação base livre, apreendidas entre os anos de 2014-2017. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

4.8.6 Estudo 5 para Cocaína Cloridrato: Conversão dos Produtos de Hidrólise Benzoilecgonina, Ecgonina e Metilecgonina em Cocaína.

Este estudo tem por objetivo analisar qual a influência dos três alcaloides obtidos através da hidrólise da cocaína (benzoilecgonina, ecgonina e metilecgonina - Figura 35) quando convertidos para o teor de cocaína original na forma de cloridrato.

Foi observado pelas análises que os dendrogramas (com ou sem PCA) e os gráficos de *scores* e *loadings* são muito semelhantes aos resultados obtidos através do Estudo 3 (seção 4.8.2). A semelhança pode ser vista no gráfico de *scores* para o Estudo 5 (Figura 56), que é muito semelhante ao gráfico obtido no Estudo 3 (Figura 44).

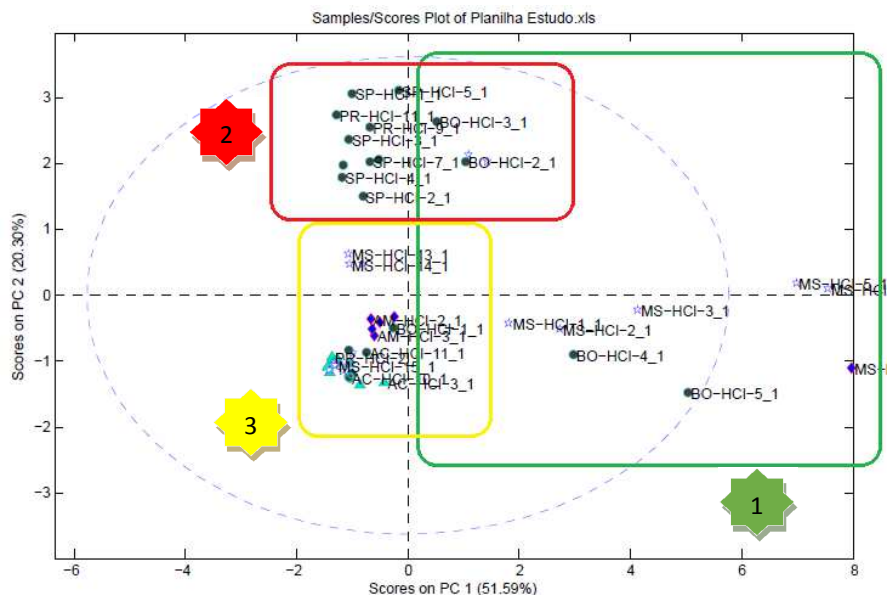


Figura 56 - Gráfico de *scores* gerado do estudo 5 para as amostras na forma de apresentação cloridrato de cocaína. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Em relação ao estudo 5, quando a pureza foi ajustada levando em consideração os alcaloides benzoilecgonina, Ecgonina e Metilecgonina, somente ocorreu alteração nos resultados esperados para as amostras de cocaína base livre quando não foi utilizado PCA na análise hierárquica dos dendrogramas.

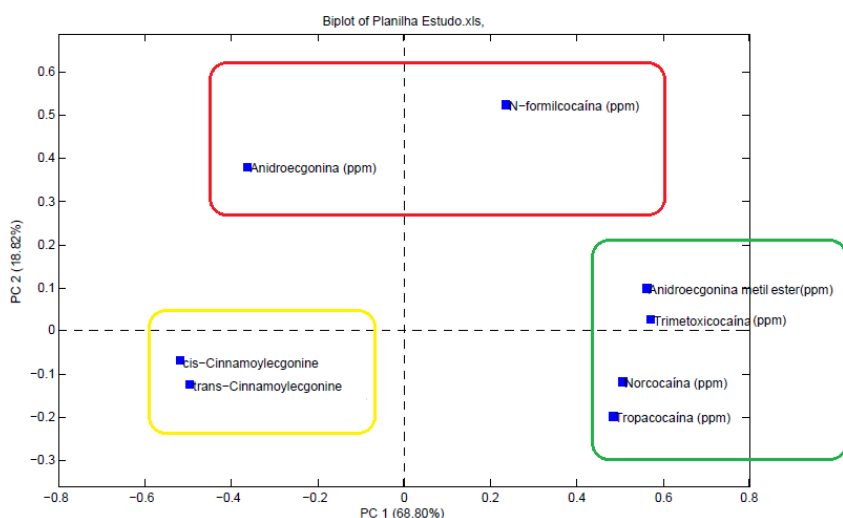


Figura 57 - Gráfico de *loadings* gerado do estudo 5 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1- cor verde; Grupo 2- cor vermelha; Grupo 3- cor amarela.

4.8.7 Estudo 6 para Cocaína Base Livre: Conversão de Todos os Produtos de Hidrólise.

Este estudo tem por objetivo analisar qual a influência de todos alcaloides obtidos através da hidrólise, tanto da cocaína (benzoilecgonina, ecgonina e metilecgonina - Figura 35), quanto de *cis/trans*-cinamoilcocaína (*cis/trans*-cinamoilecgonina - Figura 36), quando convertidos para os teores dos alcaloides originais, na forma de base livre.

A análise hierárquica de agrupamentos (HCA) é realizada com base na ligação de Ward, com dados autoescalados e centrados na média. Observa-se grande similaridade dos dendrogramas ilustrados nas Figura 58 e Figura 59 (sem e com PCA, respectivamente).

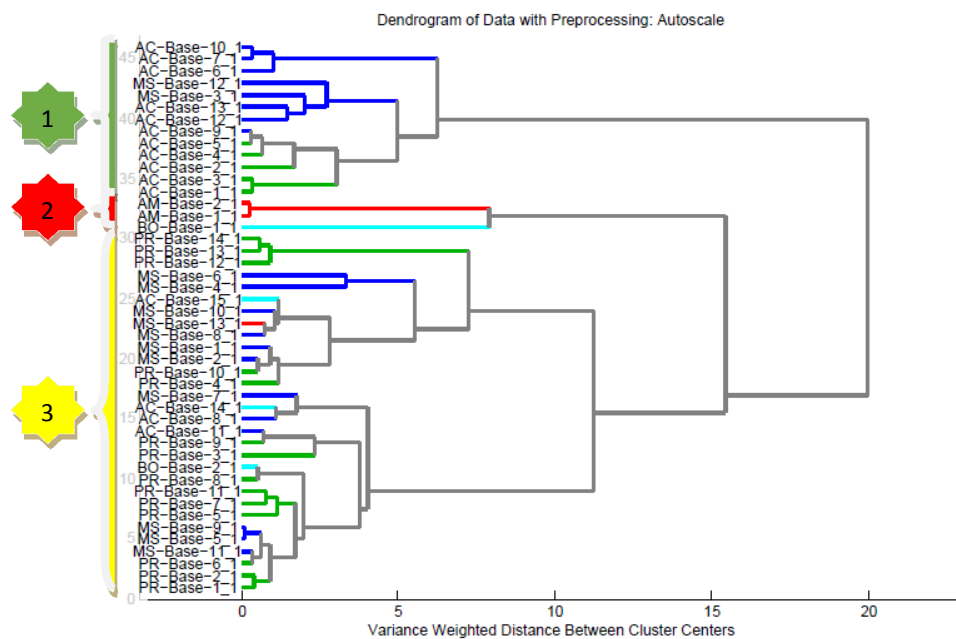


Figura 58 - Dendrograma obtido para o estudo 6, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

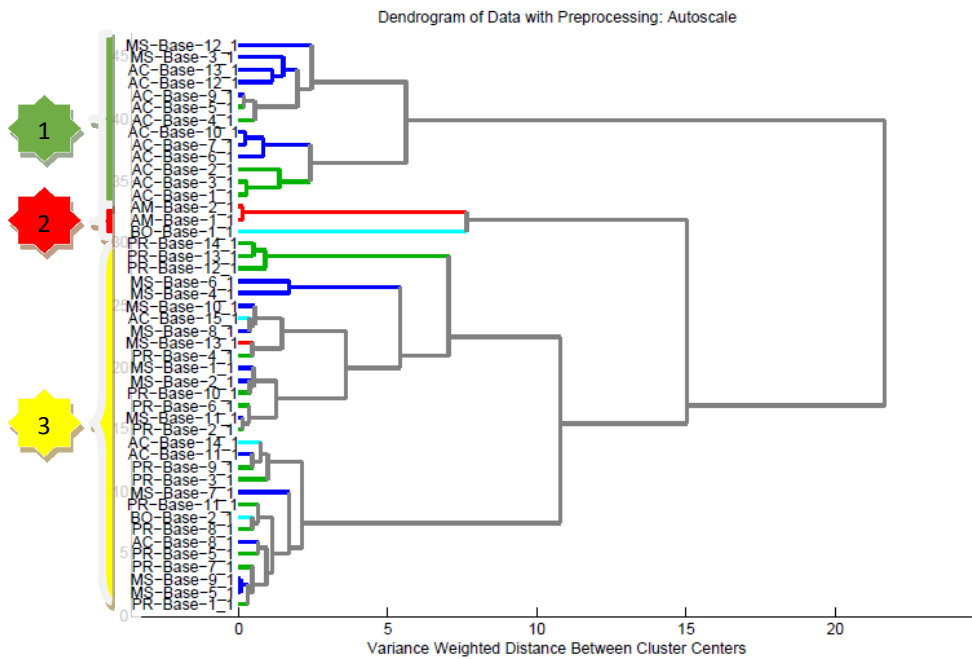


Figura 59 - Dendrograma obtido para o estudo 6, na forma de apresentação cocaína base livre (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

São formados três grandes grupos. No grupo 1 (Figura 58), observa-se a concentração de amostras de cocaína base livre basicamente apreendidas no estado do Acre. No grupo 2 são agrupadas amostras do Amazonas e da fronteira Brasil/Bolívia. No grupo 3 observa-se amostras do Acre, Mato Grosso do Sul, Paraná, e da fronteira Brasil/Bolívia. A representação dos *scores* para o PCA, na Figura 60, é concordante com os resultados obtidos através do HCA.

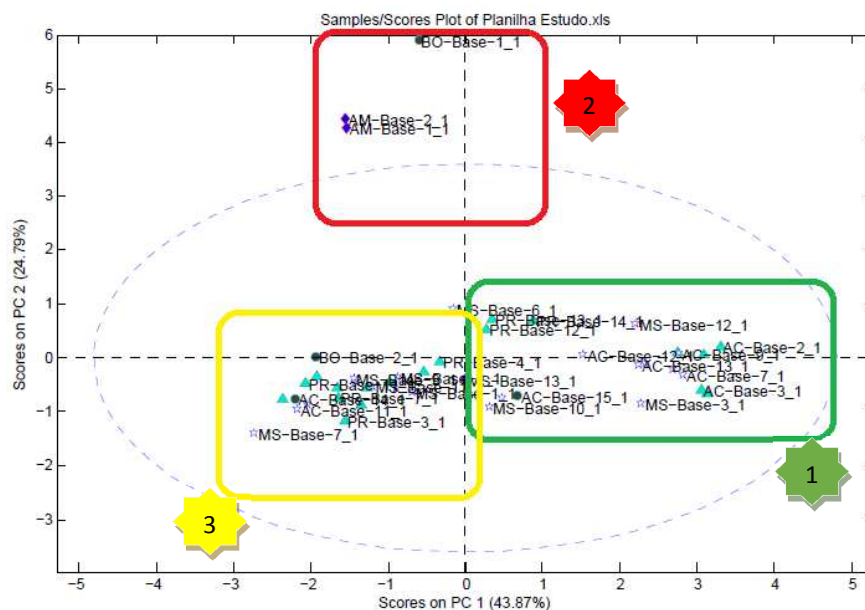


Figura 60 - Gráfico de *scores* gerado do estudo 6 para as amostras na forma de apresentação cocaína base livre. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

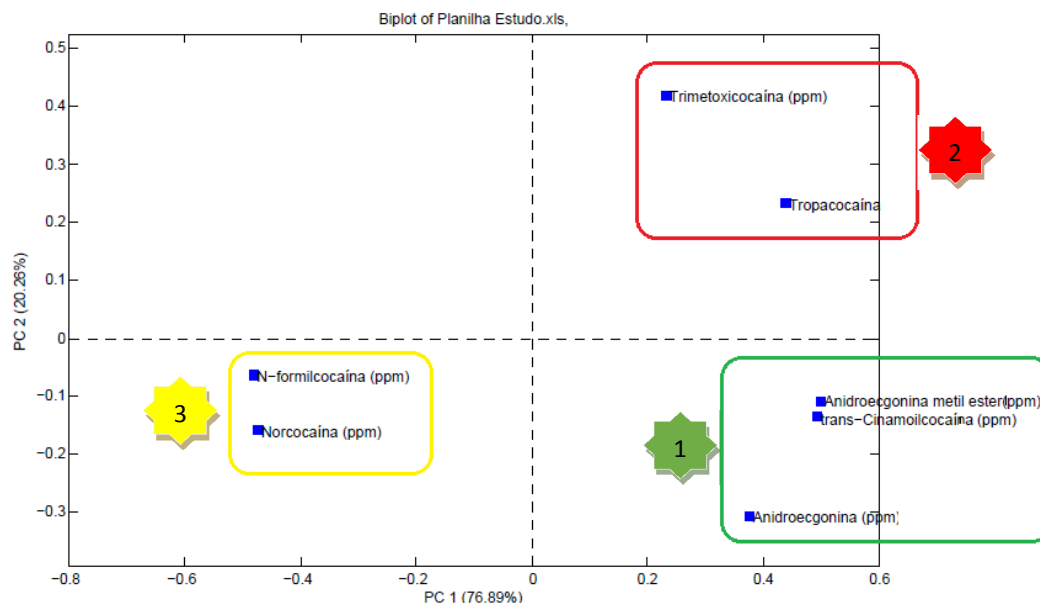


Figura 61 - Gráfico de *loading* da PCA gerado do estudo 6 para as amostras na forma de apresentação cocaína base livre. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

O gráfico de *loadings* da Figura 61 mostra que os alcaloides significativos para o grupo 1 são a anidroecgonina, anidroecgonina metil éster e *cis/trans*-cinamoilcocaína. Para o grupo 2, as amostras são influenciadas pela maior presença dos alcaloides minoritários trimetoxicocaína e tropacocaína. No grupo 3, as amostras são caracterizadas pela maior presença dos alcaloides minoritários N-formilcocaína e norcoocaína.

Quando todos os produtos de hidrólise foram analisados para as amostras apreendidas sob forma de apresentação base livre, foram formados agrupamentos hierárquicos distintos dos estudos anteriores, porém se obteve uma maior similaridade entre as amostras de uma mesma apreensão ou de um mesmo local. Ou seja, ocorreu a formação de grupos mais consistentes tendo a presença de uma maior quantidade de amostras de uma mesma fonte.

4.8.8 Estudo 6 para Cocaína Cloridrato: Conversão de Todos os Produtos de Hidrólise.

Este estudo tem por objetivo analisar qual a influência de todos alcaloides obtidos através da hidrólise, tanto da cocaína (benzoilecgonina, ecgonina e metilecgonina - Figura 35), quanto de *cis/trans*-cinamoilcocaína (*cis/trans*-cinamoilecgonina - Figura 36), quando convertidos para os teores dos alcaloides originais, na forma de cloridrato.

A análise hierárquica de agrupamentos (HCA) é realizada com base na ligação de Ward, com dados autoescalados e centrados na média. Observa-se grande similaridade dos dendrogramas ilustrados nas Figura 62 e Figura 63 (sem e com PCA, respectivamente).

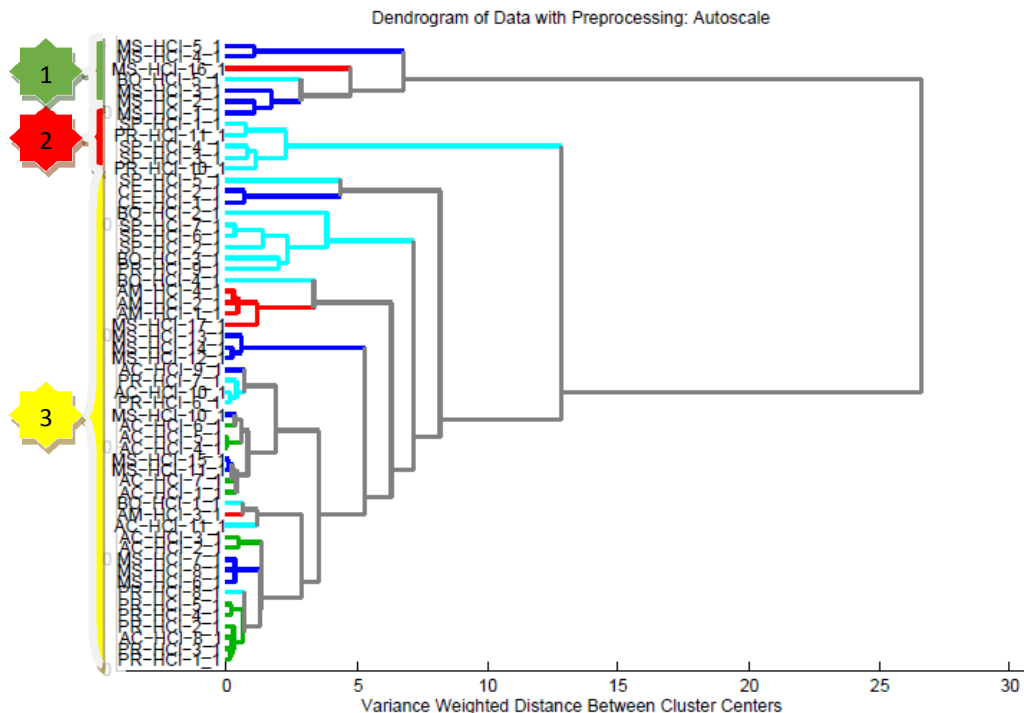


Figura 62 - Dendrograma obtido para o estudo 6, na forma de apresentação cocaína cloridrato (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

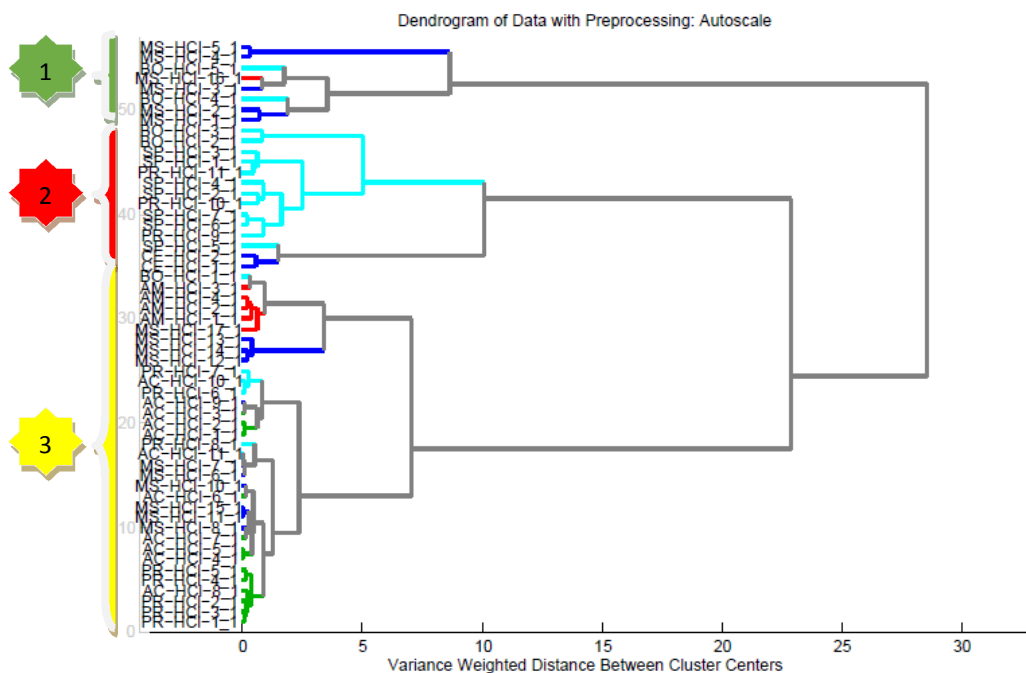


Figura 63 - Dendrograma obtido para o estudo 6, na forma de apresentação cocaína cloridrato (método da ligação Ward) construído por agrupamento hierárquico, com PCA, normalizado pela pureza, autoescalados, centrados na média. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

São formados três grandes grupos. No grupo 1 (Figura 62), observa-se a concentração de amostras do Mato Grosso do Sul e da fronteira Brasil/Bolívia. No grupo 2, são aglomeradas amostras de São Paulo, Paraná, Bolívia e Ceará. No grupo 3 observa-se amostras da fronteira Brasil/Bolívia, Amazonas, Paraná, Acre e do Mato Grosso do Sul. A Figura 64 apresenta o gráfico de *scores* para o estudo 6.

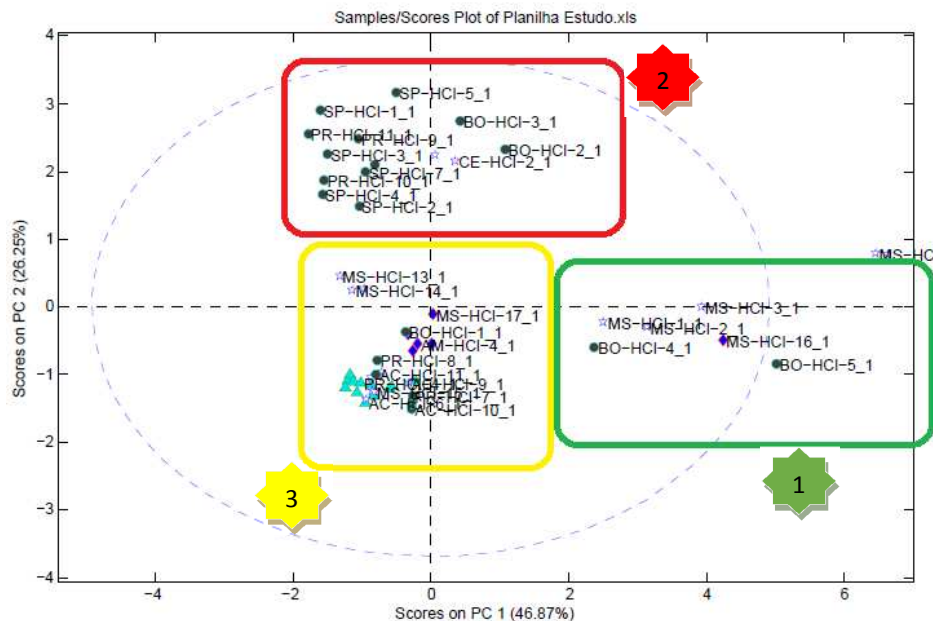


Figura 64 - Gráfico de *scores* gerado do estudo 6 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

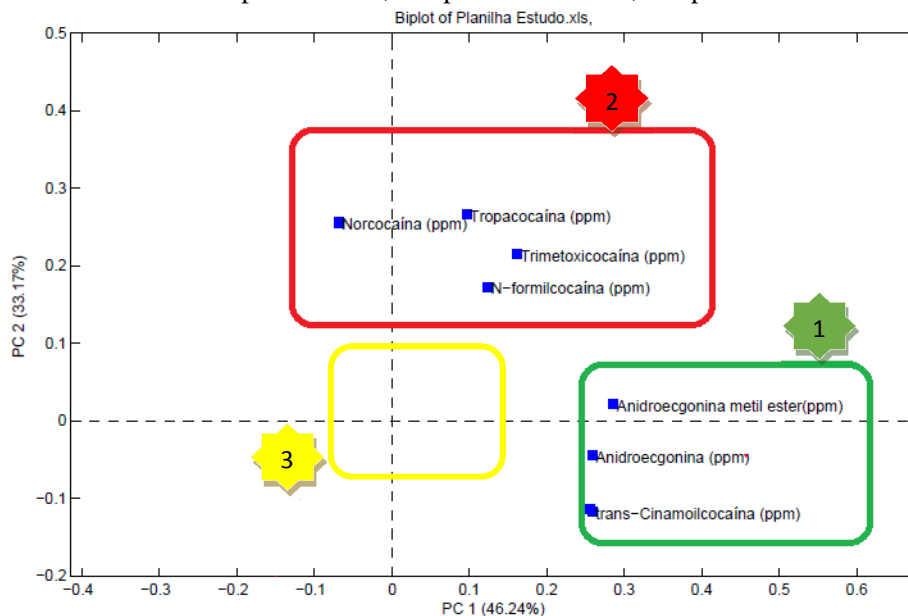


Figura 65 - Gráfico de *loadings* gerado do estudo 6 para as amostras na forma de apresentação cocaína cloridrato. Grupo 1 - verde; Grupo 2 - vermelho; Grupo 3 - amarelo.

Os alcaloides significativos para o grupo 1 são a anidroecgonina, anidroecgonina metil éster e *cis/trans*-cinamoilcocaína. Para o grupo 2, as amostras são influenciadas pela maior presença dos alcaloides minoritários trimetoxicocaína, N-formilcocaína, norcocaína e tropacocaína. Sobre o grupo 3, as amostras são caracterizadas no gráfico de *loadings* por possuírem valores próximos a zero em relação aos eixos PC1 e PC2.

Quando todos os produtos de hidrólise foram analisados para as amostras apreendidas sob forma de apresentação cloridrato, foram formados agrupamentos hierárquicos semelhantes aos estudos anteriores, formando também grupos consistentes com a presença de uma maior quantidade de amostras de uma mesma fonte.

Esse comportamento era em grande medida esperado, pois a razão da conversão dos produtos de hidrólise *cis/trans*-cinamoilecgonina em *cis/trans*-cinamoilcocaína deveria ser menor para as amostras apreendidas sob forma de apresentação cloridrato de cocaína, pelo fato das amostras cloridrato conterem uma menor concentração dos alcaloides.

5 CONCLUSÕES

O presente trabalho possibilitou a ampliação e consolidação do método analítico para a quantificação de alcaloides minoritários em amostras de cocaína utilizando derivatização e cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (GC-DIC). Mais de uma centena de amostras foram testadas, gerando uma rotina de análises vinculada ao do sistema da qualidade do laboratório de química forense da Polícia Federal.

A utilização da Quimiometria possibilitou analisar muitas variáveis simultaneamente, permitindo a extração de uma quantidade maior de informações relevantes a respeito dos teores dos alcaloides minoritários de cocaína, através de softwares computacionais eficientes. Dessa forma, as ferramentas quimiométricas apoiam a interpretação dos resultados de classificação em relação aos possíveis locais de produção da droga e de correlação entre as diferentes amostras.

O desenvolvimento da análise quimiométrica envolveu o pré-processamento de dados e ajustes de teores de analitos e da cocaína, considerando-se a possibilidade de hidrólise da cocaína. Técnicas de pré-processamento de dados foram utilizadas com o objetivo de minimizar o efeito de *outliers*. O método de agrupamento de cluster hierárquico permitiu obter o grupo total pela soma dos subgrupos e foi processado pelo método Ward (de variância mínima), que aglomera indivíduos dentro de clusters.

Ajustes de pureza de cocaína teve por objetivo tornar possível a comparação de amostras que tenham sofrido hidrólise, gerando mudança nos teores da cocaína. Levando-se em conta o teor efetivo de cocaína nas amostras analisadas, as proporções originais entre os alcaloides minoritários e cocaína foram mantidas e foi possível comparar amostras mesmo que tenham sido obtidas de apreensões hidrolisadas, diluídas ou adulteradas. Foi observado que a conversão dos produtos de hidrólise *cis* e *trans*-cinamoilecgonina em *cis* e *trans*-cinamoilcocaína é maior para as amostras de cocaína apreendidas sob forma de apresentação base livre, por serem normalmente menos refinadas por oxidação.

Os diferentes estudos quimiométricos realizados mostraram resultados semelhantes quanto ao agrupamento das amostras. As diferenças mais significativas foram observadas em amostras de cocaína base livre.

Para a cocaína base livre considera-se que o Estudo 6, com todos produtos de hidrólise sendo matematicamente convertidos em cocaína, foi o mais adequado para se visualizar os grupamentos, uma vez que aglomera amostras de uma mesma apreensão de forma mais

eficiente e os gráficos de *scores* apresentam um maior agrupamento para as amostras deste estudo. As triplicatas de uma mesma amostra neste estudo estão mais coerentes e aglomeradas e os alcaloides minoritários significativos (anidroecgonina, anidroecgonina metil éster e *cis/trans*-cinamoilcocaína) estão presentes em concentrações elevadas, influenciando a discriminação das amostras entre os grupos formados no PCA.

Apesar da conversão de alcaloides de hidrólise ser menos dramática para os estudos realizados com amostras de cocaína cloridrato, considera-se que o Estudo 6 também foi o que apresentou aglomerações mais eficientes e com valores de *scores* no PCA menos dispersos.

Por fim, a realização deste estudo torna possível trabalhos futuros que incluam também a análise de informações de apreensões policiais (localização, datas, embalagens, forma de transporte, etc), avaliando-as em conjunto com dados químicos e correlações multivariadas dos teores de alcaloides da cocaína, para tentar se obter correlações que sejam úteis para determinação de origem e formas de produção da droga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] UNITED NATIONS. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). *World Drug Report*. United Nations Publication: Viena, **2010**. Disponível em: <https://www.unodc.org/documents/wdr/WDR_2010/World_Drug_Report_2010_lo-res.pdf>. Acessado em: 17/01/2018.
- [2] UNITED NATIONS. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). *World Drug Report*. United Nations Publication: Viena, **2016**. Disponível em: <https://www.unodc.org/doc/wdr2016/WORLD_DRUG_REPORT_2016_web.pdf>. Acessado em: 17/01/2018.
- [3] BOTELHO, E. D. *Desenvolvimento de uma nova metodologia analítica para identificação e quantificação de truxilinas em amostras de cocaína baseada em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (CLAE-EM)*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.
- [4] OLIVERIA, L. F. M.; WAGNER, S. C. *A cocaína e sua adulteração, Revista Inter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade* **2013**, 6, 15-28.
- [5] FLORIANI, G. *Desenvolvimento e validação de método por Clae para análise de cocaína, seus produtos de degradação e adulterantes*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.
- [6] MALDANER, A. O. ; BOTELHO, E. D. *Perfil Químico de Drogas de Abuso: O Exemplo da Cocaína*; Organizadores Bruni, A. et. al. Fundamentos de Química Forense – Uma análise prática da química que soluciona crimes, Ed. Millennium, Campinas, **2012**.
- [7] SOUZA, L. M. *Fingerprinting de Cocaína: Um Estudo do Perfil Químico no Estado do Espírito Santo*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação – Instituto de Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2014.
- [8] SILVA, D. R. *Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para identificação e quantificação de alcaloides minoritários em amostras de cocaína por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC)*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.
- [9] GROBÉRIO, T. S. *Desenvolvimento de uma metodologia analítica para comparação de amostras de sal de cocaína pela determinação de solventes residuais e análise quimiométrica*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.
- [10] ZACCA, J. J.; BOTELHO, É. D.; VIEIRA, M. L.; ALMEIDA, F. L. A.; FERREIRA, L. S.; MALDANER, A. O. *Science & Justice* **2014**, 54, 300.
- [11] VARGAS, R. M. *A criminalista do século XXI e análise de drogas e inteligência*. Brasília: Academia Nacional de Polícia, 2012.

- [12] United Nations Office on Drugs and Crime. Drug Characterization/ Profiling back-ground and concepts: New York, United Nations, 2001. Disponível em: <<https://www.unodc.org/pdf/publications/st-nar-32-rev1.pdf>>. Acessado em: 05/10/2017.
- [13] LEBELLE, M.; LAURIAULT, G.; CALLAHAN, S.; LATHAM, D.; CHIARELLI, C.; BECKSTEAD, H. *Journal of Forensic Sciences* **1988**, 33, 662.
- [14] MOORE, J. M. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* **1973**, 56, 1199.
- [15] PAGANO, B.; LAURI, I.; DE TITO, S.; PERSICO, G.; CHINI, M. G.; MALMENDAL, A.; NOVELLINO, E.; RANDAZZO, A. *Forensic Science International* **2013**, 231, 120.
- [16] GAMA, L. A. *Uso de ressonância magnética nuclear sem solvente deuterado (No-D NMR) para análise de cocaína e seus adulterantes*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação – Instituto de Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2014.
- [17] ROMÃO, W. R.; SCHWAB, N. V.; BUENO, M. I. M. S.; SPARRAPAN, R.; EBERLIN, M. N.; MARTINY, A.; SABINO, B. D.; MALDANER, A. O. Química Forense: Perspectivas sobre novos métodos analíticos aplicados à documentoscopia, balística e drogas de abuso. *Quim. Nova* **2011** 34, 1717-1728.
- [18] MALDANER, A. O.; BOTELHO, E. D.; ZACCA, J. J.; VIEIRA, M. L. Gerenciamento de ações voltadas para obtenção de Perfis Químicos de Drogas –Projeto PeQui da Polícia Federal. In: **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2011, Florianópolis – SC. Cd-rom de resumos.
- [19] LOCICIRO, S.; HAYOZ, P.; ESSEIVA, P.; DUJOURDY, L.; BESACIER, F.; MARGOT, P. Cocaine profiling for strategic intelligence purposes, a cross-border project between France and Switzerland. Part I. Optimisation and harmonisation of the profiling method, *Forensic Science International* **2007**, 167, 220-228.
- [20] ESSEIVA, P.; GASTE, L.; ALAVAREZ, D.; ANGLADA, F. Illicit drug profiling, reflection on statistical comparisons, *Forensic Science International* **2011**, 207, 27-34.
- [21] CASALE, J.F.; MALLETTE, J.R.; JONES, L.M. Chemosystematic identification of fifteen new cocainebearing *Erythroxylum* cultigens grown in Colombia for illicit cocaine production, *Forensic Science International* **2014**, 237, 30-39.
- [22] MOORE, J. M.; CASALE, J. F. *Journal of Chromatography A* **1994**, 674, 165.
- [23] EHLERINGER, J. R.; COOPER, D. A.; LOTT, M. J.; COOK, C. S. *Forensic Science International* **1999**, 106, 27.
- [24] CLARKE, E. G. C. **Clarke's isolation and identification of drugs**. 4a Ed. London: The Pharmaceutical Press, 2011.
- [25] COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**, 1ª Ed., Unicamp, 2006.
- [26] CASALE, J. F.; JAMES, B. S.; EHLERINGER, J. R.; MORELLO, D. R.; LOOT, M. J. *Journal of Forensic Sciences* **2005**, 50, 1.

- [27] PERES, T. B.; *Noções Básicas de Cromatografia. Em Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Proteção Ambiental-Instituto Biológico* **2002**, 64, 227-229. Disponível em: <http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v64_2/peres.pdf>. Acessado em: 05/10/2017.
- [28] HINSHAW, J. V. *The Flame Ionization Detector, LCGC North America* **2005**, 23.
- [29] JÚNIOR, S. S. G. *Otimização e Validação de Método Cromatográfico para Quantificação de Componentes Majoritários em Amostras de Cocaína*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.
- [30] FUCCI, N.; GIOVANNI, N. D. Adulterants encountered in the illicit cocaine market. *Forensic Science International* **1998**, 95, 247-252,.
- [31] ANDERSSON, K.; JALAVA, K.; LOCK, E.; FINNON, Y.; HUIZER, H.; KAA, E.; LOPES, A.; POORTMAN-VAN DER MEER, A.; COLE, M. D.; DAHLÉN, J.; SIPPOLA, E. *Forensic Science International* **2007**, 169, 50.
- [32] MONFREDA, M.; VARANI, F.; CATTARUZZA, F.; CIAMBRONE, S.; PROPOSITO, A. *Science & Justice* **2015**.
- [33] Wells, R. J. *Journal of Chromatography A* **1999**, 843, 1.
- [34] KNAPP, D.R. *Handbook of Analytical Derivatization Reactions; Wiley Interscience Publication; Nova Iorque; 1979*.
- [35] SEGURA, J.; VENTURA, R.; JURADO, C.; *Derivatization Procedures for Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Determination of Xenobiotics in Biological Samples, with Special Attention to Drugs of Abuse and Doping Agents; Journal of Chromatography B* **1998**, 713, 61-90.
- [36] ORATA, F. *Derivatization reactions and reagents for gas chromatography analysis; INTECH Open Access Publisher, 2012*. Disponível em: <<https://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/32817.pdf>>. Acessado em: 08/12/2017.
- [37] LIN, D. L.; WANG, S. M.; WU, C. H.; CHEN, B. G.; LU, R. H. *Journal of Food and Drug Analysis* **2008**, 16, 1.
- [38] CHRIST, T. S. *Padronização e implantação de método analítico para detecção de cocaína e metabólitos, em amostras de urina, utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação – Ciências da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, 2016.
- [39] LITTLE, J. L. *Journal of Chromatography A* **1999**, 844, 1.
- [40] BAIROS, A.V. *Desenvolvimento de métodos analíticos para identificação de drogas facilitadoras de crime em amostras de urina*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação – Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2014.
- [41] MOLNAR, B.; MOLNAR-PERL, I. *Microchemical Journal* **2015**, 118, 101.
- [42] Broséus, J.; Huhtala, S.; Esseiva, P. *Forensic Science International* **2015**, 251, 87.

- [43] FERREIRA, M. M. C. *Quimiometria- Conceitos, Métodos e Aplicações*. Editora da Unicamp: Campinas-SP, 2015.
- [44] TEÓFILO, R. F. *Métodos Quimiométricos em Estudos Eletroquímicos de Fenóis sobre Filmes de Diamante Dopado com Boro*. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- [45] KOWALSKI, B. R.; BENDER, C. Pattern Recognition. A powerful Approach to Interpreting Chemical Data. *J. Am. Chem. Soc.* **94** (1972), 5632-5639.
- [46] LAWTON, W. H.; SYLVESTRE, E. A. *Self Modeling Curve Resolution, Technometrics* **1971,13** , 617-633.
- [47] SCARMINIO, I. S. *Análises espectrométricas de águas minerais e suas classificações por meio de um reconhecimento de padrão*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação– Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil, 1981.
- [48] BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. *25 Anos de Quimiometria no Brasil. Quím. Nova* **2006**, 29, 1401.
- [49] BRUNS, R. E.; FAIGLE, J. F. G.; *Quimiometria. Quím. Nova* **1985**, 8, 84.
- [50] MUTIHAC, L.; MUTIHAC, R. *Mining in chemometrics. Analytica Chimica Acta* **2008**, 612, 1-18.
- [51] SILVA, R. A. G. *Análise e caracterização de tintas em documentos por Espectroscopia e Quimiometria aplicada a Química Forense*. Tese de doutorado. Universidade de Brasília, Brasília, 2014.
- [52] HASHIMOTO, J. C. *Caracterização de amêndoas de cacau produzidas em diferentes estados brasileiros e aplicação de espectroscopia no infravermelho próximo e quimiometria como alternativa para o controle de qualidade*. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.
- [53] CORREIA, P. R. M; FERREIRA, M. M. C. *Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. Química Nova* **2007**, 30, 2, 481-487.
- [54] BRERETON, R. G. *Chemometrics: data analysis for the laboratory and chemical plant*. 2003: Wiley.
- [55] CAMPANELLA, L.; DE ANGELIS, G.; VISCO, G. *Chemometric investigation of the efficiency of different TiO₂ based catalysts as principal components of TOC photochemical sensors under development. Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2003**, 376, 467-475.
- [56] KOKOT, S.; *et al.*; *Data Interpretation by some Common Chemometrics Methods. Electroanalysis* **1998**, 10, 1081-1088.
- [57] MATOS, G.D.; *et al.* *Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e PCA de imagens. Revista Analytica* **2003**, 6, 38-50.
- [58] OTTO, M. *Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry*. John Wiley, New York, 1999.

- [59] CIRLINI, M. *et al.* HS-SPME/CG-MS and chemometrics for the classification of Balsamic Vinegars of Modena of different maturation and ageing. *Food Chem.* **2011**, 124, 1678-1683.
- [60] CHENG, H. *et al.* Geographical origin identification of propolis using GC-MS and electronic nose combined with principal components analysis. *Food Res. Int.* **2013**, 51, 813-822.
- [61] XIAO, X. *et al.* Classification and analysis of corn steep liquor by UPLC/Q-TOF MS and HPLC. *Talanta* **2013**, 107, 344-348.
- [62] FERREIRA, S. C. R. *Análise multivariada sobre bases de dados criminais*. Dissertação. Programa de Pós-Graduação–Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012.
- [63] NETO, J. M. M.; MOITA, G. C. *Química Nova* **1998**, 21, 467-469.
- [64] SOUZA, A. M.; *et al.* Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. *Química Nova* **2012**, 35, 223-229.
- [65] LATINI, R. M. *et al.* *Química Nova*, 24, 724, 2001.
- [66] JAIN, A.K. *et al.* Data clustering: a review. *ACM Comput. Surv.*, 1999. 31(3): p. 264-323.
- [67] EHSOHLY, M. A.; BRENNEISEN, R.; JONES, A. B. *Coca Paste: Chemical Analysis and Smoking Experiments. Journal of Forensic Sciences* **1991**, 36, 93-103.
- [68] GOLDSTEIN, R. A.; DESLAURIERS, C.; BURDA, A. M. *Cocaine: History, Social Implications, and Toxicity – A Review. Dis. Mon.* **2009**, 55, 6-38, Jan.
- [69] BACCHI, E.M.; SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, Editora da UFRGS/Editora da UFSC, Brasil: Porto Alegre/Florianópolis, 2004.
- [70] VARGAS, R. M. *Determinação do DNA da Cocaína*. Revista Perícia Federal, Brasília: ano III, (8), 16-21, 2009.
- [71] CASALE, J. F.; KLEIN, R. F. X. *Illicit production of cocaine. Forensic Science Review* **1993**, 5, 95-107.
- [72] GROBÉRIO, T. S. *Aplicação de métodos multivariados para a análise e correlação de amostras apreendidas de cocaína*. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.
- [73] CASALE, J.; HAYS, P. A.; TOSKE, S. G.; BERRIER, A. L.; *J. Forensic Sci.* **2007**, 52, 860.
-

ANEXO 1- Resultados das quantificações dos alcaloides minoritários (média de triplicatas) nas amostras cloridrato de cocaína.

Nº	Amostras	AEME	AE	ME	TROP	NORC	NFC	TMC	EC	BE	TCC	CCC	CCE	TCE
		Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)
1	1460_PR_mix_1_1.D	<LQ	<LQ	955	186	120	<LQ	<LQ	532	1568	11461	13238	484	<LD
2	1460_PR_mix_2_1.D	105	<LQ	568	218	140	<LQ	<LQ	215	841	10987	13869	273	<LD
3	1460_PR_mix_3_1.D	<LQ	<LQ	1173	191	135	<LQ	<LQ	774	2455	12601	14030	670	<LD
4	1910_PR_4_1.D	<LQ	<LQ	293	279	179	<LQ	<LQ	221	1879	15162	17190	238	<LD
5	1910_PR_7_1.D	<LQ	<LQ	132	195	<LQ	<LQ	<LQ	262	2146	15610	18197	310	<LD
6	856_AC_2_1.D	<LQ	<LQ	1463	164	88	<LQ	<LQ	664	4412	20667	16819	1158	<LD
7	36_AC_2_1.D	490	<LQ	375	200	196	<LQ	<LQ	460	6951	12692	26459	2690	<LD
8	36_AC_3_1.D	1076	<LQ	533	247	215	<LQ	182	1019	14730	12584	26004	4830	393
9	693_AC_3_1.D	307	<LQ	173	108	<LQ	<LQ	<LQ	197	9821	21006	10076	1467	569
10	693_AC_5_1.D	279	<LQ	163	109	<LQ	<LQ	<LQ	171	8693	20929	10089	1297	529
11	693_AC_6_1.D	269	<LQ	162	104	<LQ	<LQ	<LQ	171	8376	21021	10211	1365	587
12	856_AC_5_1.D	<LQ	<LQ	405	233	223	<LQ	<LQ	116	1291	18704	16158	581	<LQ
13	441_AC_14_1.D	<LQ	<LQ	127	119	95	<LQ	<LQ	38	2962	12183	14162	838	<LD
14	396_11_MS_2B_1.D	1118	103	6437	1339	520	154	1097	5658	21989	39551	42342	9028	2281
15	396_11_MS_7B_1.D	2154	186	5733	1353	488	138	862	7566	30666	39016	38523	12630	3072
16	396_MS_10A_1.D	2249	208	9212	1437	716	250	645	11439	62261	38181	34362	18855	4878
17	396_11_MS_3B_1.D	6637	499	4191	1448	439	439	192	15806	120263	30415	21683	27360	9457
18	396_11_MS_5B_1.D	5191	437	5132	1405	476	449	357	14343	86331	34865	26136	22699	7705
19	152_14_MS_1_1.D	117	<LQ	168	110	110	<LQ	<LQ	58	1660	7795	16220	502	<LD
20	152_14_MS_2_1.D	<LQ	<LQ	173	107	111	<LQ	<LQ	56	1026	9695	12967	<LQ	<LD
21	152_14_MS_3_1.D	<LQ	<LQ	189	109	109	<LQ	<LQ	60	1542	8611	16133	332	<LD
22	782_13_SR_MS_1_1.D	<LQ	<LQ	172	132	<LQ	<LQ	<LQ	89	1723	19167	15331	300	<LQ
23	782_13_SR_MS_2_1.D	<LQ	<LQ	715	120	<LQ	<LQ	<LQ	228	2492	18824	14537	440	<LQ
24	685_11_MS_12_1.D	360	<LQ	3728	674	5182	137	333	2520	1801	7625	440	461	<LD
25	685_11_MS_5_1.D	197	<LQ	2793	852	7006	111	270	1936	1340	4052	284	189	<LD
26	685_11_MS_8_1.D	184	<LQ	2632	694	5246	121	332	1304	1071	7453	300	475	<LD
27	782_13_SR_MS_3_1.D	115	<LQ	191	130	59	<LQ	<LQ	105	1854	18853	15336	435	<LQ
28	4360_CE_1.D	290	260	9109	739	187	162	4587	11080	29578	5658	4741	4949	411
29	4381_CE_1.D	664	237	9172	810	185	150	3610	10975	28784	5527	4556	5089	393
30	6224_16_PR_01_1.D	143	<LQ	148	220	<LQ	<LQ	<LQ	118	1325	28039	22731	605	<LD
31	6224_16_PR_02_1.D	146	<LQ	142	310	110	<LQ	217	122	1756	26042	24621	613	<LQ

32	6224_16_PR_03_1.D	235	<LQ	272	442	381	<LQ	307	250	3965	12656	18964	539	<LQ
33	2786_16_PR_01_1.D	137	<LQ	2524	2028	18364	136	1180	603	655	1587	193	582	870
34	3495_16_PR_01_1.D	106	<LQ	363	1086	23157	136	1016	336	470	<LQ	171	400	<LD
35	3495_16_PR_02_1.D	110	<LQ	402	1099	39386	136	785	245	345	<LQ	<LQ	453	<LQ
36	141_17_SP_02_1.D	<LQ	<LQ	168	980	41855	154	1245	314	751	<LQ	229	2691	<LD
37	258_17_SP_06_1.D	<LQ	<LQ	155	1400	10199	213	680	60	311	<LQ	164	928	<LD
38	271_17_SP_09_1.D	138	<LQ	180	968	33115	168	804	265	601	<LQ	243	994	<LD
39	274_17_SP_12_1.D	130	<LQ	226	594	27497	165	763	241	507	356	167	925	<LD
40	294_17_SP_15_1.D	260	<LQ	1921	2516	215	<LQ	3328	491	999	933	359	1204	685
41	283_16_SP_09_1.D	<LQ	<LQ	267	268	200	125	172	222	2592	24381	16687	1025	<LQ
42	297_17_SP_02_1.D	254	<LQ	413	1125	15785	259	1177	313	2508	<LQ	232	1348	<LQ
43	302_17_SP_06_1.D	<LQ	<LQ	308	1058	16709	232	1206	177	599	1599	297	1383	<LD
44	406_16_AC_03_1.D	<LQ	<LQ	233	148	<LQ	<LQ	<LQ	267	3112	25710	19399	849	<LQ
45	423_16_AC_01_1.D	<LQ	157	3042	136	<LQ	<LQ	<LQ	3051	21414	11747	8082	1633	418
46	152_14_MS_04_1.D	2800	620	238	631	106	167	181	21994	47574	4566	8401	25042	25816
47	209_14_MS_1.D	266	<LQ	325	178	2039	286	194	434	3305	8424	13246	1019	<LQ
48	005_14_AM_02_1.D	393	107	200	167	2308	275	<LQ	330	3751	20903	11506	960	<LQ
49	005_14_AM_05_1.D	238	95	147	150	2513	264	197	144	1610	14504	10129	534	<LQ
50	420_14_AM_01_1.D	135	132	1140	122	1085	154	<LQ	522	1801	12316	9239	429	<LQ
51	812_14_AM_01_1.D	<LQ	93	718	162	2376	259	<LQ	236	1482	16909	13691	469	<LQ
52	226_17_BO_15_1.D	532	153	2696	291	883	181	223	3456	8029	7108	10865	1354	<LQ
53	226_17_BO_22_1.D	1976	119	2766	1274	4029	452	1413	1143	8175	4016	726	1489	349
54	226_17_BO_19_1.D	824	152	4784	1883	15602	279	822	1452	2120	5882	1564	1558	<LD
55	226_17_BO_21_1.D	1404	272	353	441	696	347	485	4275	21586	21215	25286	22549	12278
56	226_17_BO_23_1.D	2485	364	189	1033	1505	202	1038	4311	26024	40467	52392	24885	14580

AEME= anidroecgonina metil éster; AE= anidroecgonina; ME= metilecgonina; TROP=Tropacocaína; NORC= norcocaína; NFC= N-formilcocaína; TMC= trimetoxicocaína; EC= ecgonina; BE= benzoilecgonina; TCC= *trans*-cinamoilcocaína; CCC= *cis*-Cinamoilcocaína; CCE= *cis*-Cinnamoylecgonine; TCE= *trans*-Cinnamoylecgonine; < LD = menor do que o limite de detecção; < LQ = abaixo do limite de quantificação (LQ), porém maior do que o limite de Detecção (LD).

ANEXO 2- Resultados das quantificações dos alcaloides minoritários (média de triplicatas) nas amostras cocaína base livre.

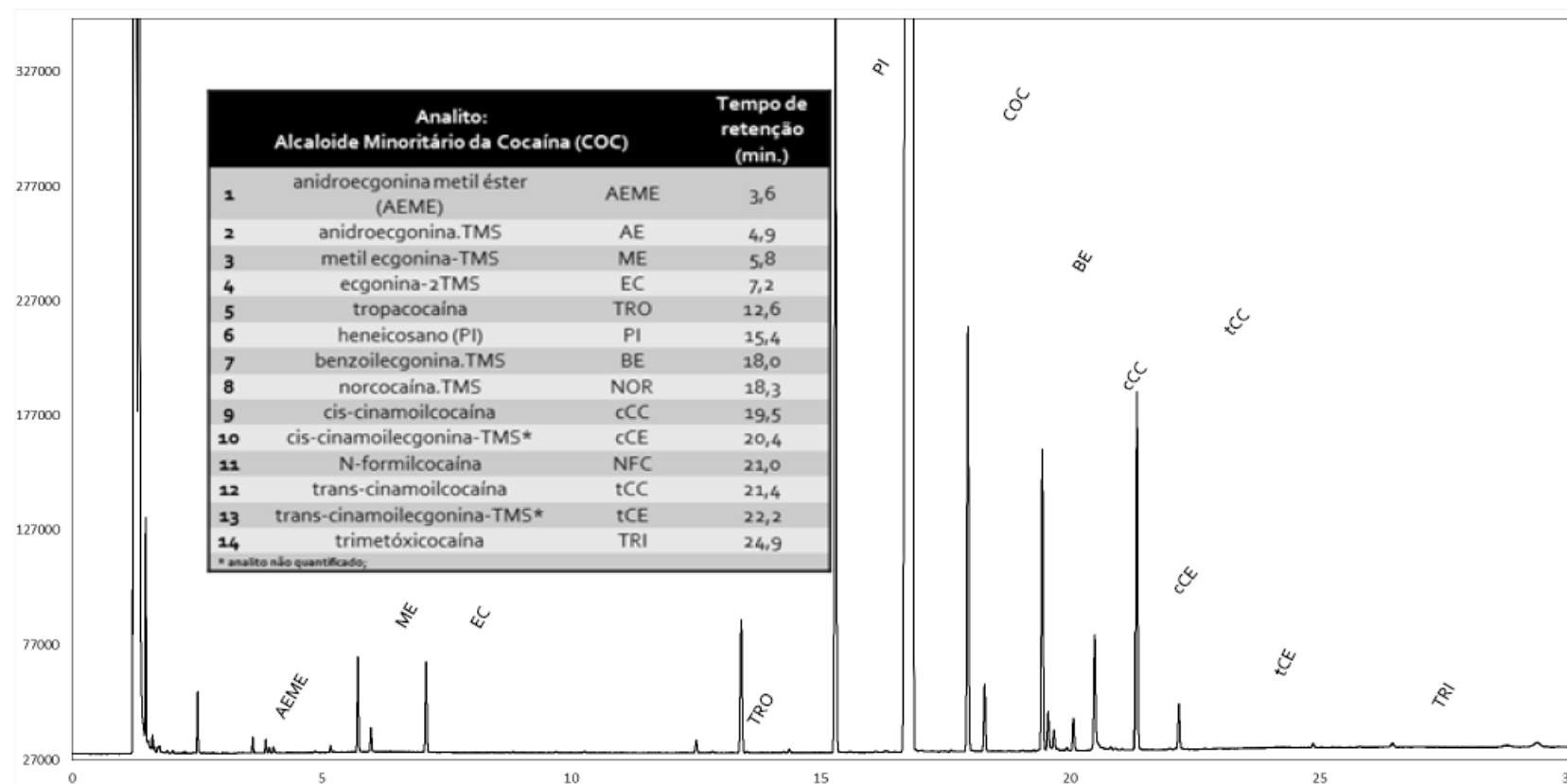
Nº	Amostras	AEME	AE	ME	TROP	NORC	NFC	TMC	EC	BE	TCC	CCC	CCE	TCE
		Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)
1	1459_13_PR_08_1.D	1081	<LQ	277	1375	<LQ	144	865	4964	11019	35968	51381	11266	11478
2	1459_13_PR_09_1.D	1162	116	273	1342	<LQ	141	769	6531	16249	33567	47200	14944	14778
3	2861_PR_16_1.D	840	82	141	2190	<LQ	<LQ	395	7589	10689	60062	39692	13474	10973
4	2861_PR_20_1.D	1298	225	280	1275	120	173	342	10318	19216	56263	27745	28048	16647
5	2861_PR_21_1.D	919	99	142	1470	142	<LQ	570	7797	11707	58129	37190	17185	9979
6	1459_13_PR_04_1.D	1530	131	275	1279	145	127	630	6689	17188	29587	42116	16349	15975
7	1800_14_PR_03_1.D	841	<LQ	467	1588	<LQ	116	680	8840	9232	36993	52672	10601	10835
8	1800_14_PR_04_1.D	492	<LQ	240	1190	<LQ	146	821	8397	6332	43838	59669	7352	6587
9	1214_PR_4_1.D	834	<LQ	394	1983	<LQ	156	986	4085	6987	48602	58900	5626	7661
10	1214_PR_5_1.D	1588	114	247	953	<LQ	157	579	6577	20600	24779	42087	24106	16287
11	1800_PR_2_1.D	532	100	149	1578	<LQ	115	603	21430	1979	46033	56387	2879	2780
12	2213_PR_10_1.D	1130	1064	97	575	97	<LQ	264	3329	16911	12059	24177	19986	9670
13	2213_PR_7_1.D	1236	1301	<LQ	645	<LQ	<LQ	289	3104	14999	14353	28434	17396	8611
14	2213_PR_8_1.D	1380	1404	<LQ	621	<LQ	<LQ	173	3983	20662	11241	22366	23507	11556
15	223_5_AC_12_1.D	5785	688	148	443	<LQ	<LQ	<LQ	11551	87089	4199	7912	53429	47485
16	223_6_AC_12_1.D	6342	862	148	436	<LQ	213	<LQ	13935	116920	3909	7687	53888	47700
17	223_12_AC_9_1.D	5946	755	131	409	<LQ	<LQ	<LQ	12090	90300	4261	7934	51139	43358
18	567_13_AC_1_1.D	6788	570	130	907	<LQ	230	<LQ	11825	127209	2239	5052	49729	40068
19	567_13_AC_10_1.D	5964	688	113	879	<LQ	220	<LQ	11584	131303	2186	5262	47537	37452
20	107_12_AC_5_1.D	8740	936	159	897	<LQ	<LQ	<LQ	17847	162766	1920	5683	38364	22798
21	107_12_AC_6_1.D	10539	978	190	1080	<LQ	117	<LQ	21107	158736	1792	5388	46431	27687
22	441_14_AC_10_1.D	767	118	<LQ	1268	104	<LQ	1128	3005	14033	23014	36904	11006	8538
23	567_13_AC_8_1.D	5837	600	121	914	106	210	<LQ	10557	117724	2411	5538	47914	38261
24	107_12_AC_4_1.D	10044	878	192	1071	<LQ	142	<LQ	18979	139545	2667	7543	44629	26268
25	441_14_AC_9_1.D	1379	239	169	2032	<LQ	122	1110	2822	14397	37354	43902	9723	8468
26	476_14_AC_1_1.D	3585	162	147	828	<LQ	264	320	6897	48767	13995	23146	53062	29591
27	476_14_AC_3_1.D	3911	445	158	727	<LQ	178	10	13611	90212	3689	8947	57989	34027
28	1808_13_MS_F_1.D	1612	164	109	1108	<LQ	<LQ	562	3792	25454	20902	25461	20044	16552
29	259_11_MS_F1_1.D	1456	83	150	916	122	144	768	3678	12944	41091	54015	21637	15334
30	396_11_MS_3A_1.D	5202	354	268	1483	<LQ	157	<LQ	12692	55943	7930	15585	59482	42051
31	1809_13_MS_C_1.d	2279	<LQ	154	<LQ	109	<LQ	1188	4171	22502	25613	38052	22446	13828

32	320_14_MS_5_1.d	1353	<LQ	201	1337	100	124	607	6327	2570	36158	45050	9821	10198
33	396_11_MS_2A_1.d	4875	<LQ	242	<LQ	90	156	105	14040	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
34	1808_13_MS_A_1.d	1378	145	108	1345	<LQ	<LQ	1817	1365	9817	31244	38963	8516	7332
35	259_11_MS_H4_1.d	2886	248	321	1278	<LQ	<LQ	327	9228	29041	34950	30520	36507	25994
36	320_14_MS_4_1.d	1231	<LQ	189	1282	133	123	608	5594	12884	37325	45654	9862	10080
37	259_11_MS_G5_1.d	2468	187	231	1487	<LQ	114	436	7630	29245	41575	43149	45247	22979
38	320_14_MS_1_1.d	1377	<LQ	194	1259	103	<LQ	568	5743	14582	35801	43946	13242	11741
39	396_11_MS_6A_1.d	5208	461	263	1549	159	391	<LQ	14545	56383	13491	13253	48055	46560
40	192_16_AC_07_1.D	832	<LQ	<LQ	872	<LQ	<LQ	715	850	8611	30879	37734	6507	4668
41	209_16_AC_03_1.D	1945	242	101	703	<LQ	<LQ	332	2888	35392	13991	16585	21909	16105
42	226_17_BO_01_1.D	695	1535	<LQ	1555	1668	561	<LQ	17353	160331	177	263	885	737
43	226_17_BO_02_1.D	271	187	484	1078	<LQ	159	744	5349	5707	58591	62536	4621	4122
44	320_14_MS_06_1.D	2381	219	236	1272	281	<LQ	336	8336	23372	24729	26845	23461	22871
45	442_14_AM_01_1.D	260	<LQ	216	185	1937	233	<LQ	226	2627	12766	15565	979	<LQ
46	442_14_AM_02_1.D	282	86	224	190	1962	222	<LQ	216	2798	12784	15548	768	<LQ

AEME= anidroecgonina metil éster; AE= anidroecgonina; ME= metilecgonina; TROP=Tropacocaína; NORC= norcocaína; NFC= N-formilcocaína; TMC= trimetoxicocaína; EC= ecgonina; BE= benzoilecgonina; TCC= *trans*-cinamoilcocaína; CCC= *cis*-Cinamoilcocaína; CCE= *cis*-Cinnamoylecgonine; TCE= *trans*-Cinnamoylecgonine; < LQ = abaixo do limite de quantificação (LQ), porém maior do que o limite de Detecção (LD).

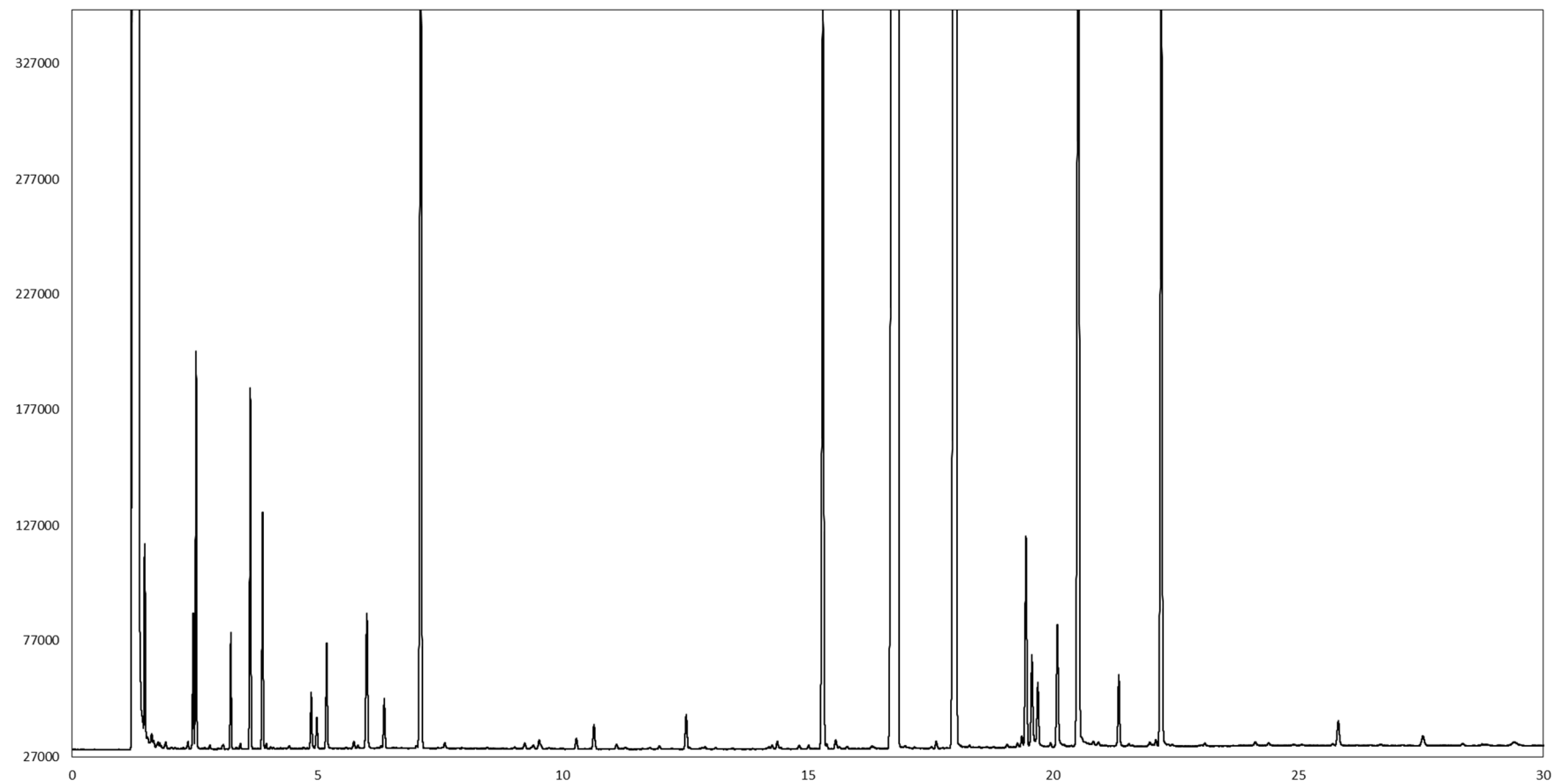
ANEXO 3 - Cromatogramas típicos de amostras de cocaína derivatizadas

Cromatograma típico de uma amostra derivatizada de cloridrato de cocaína (CCS).

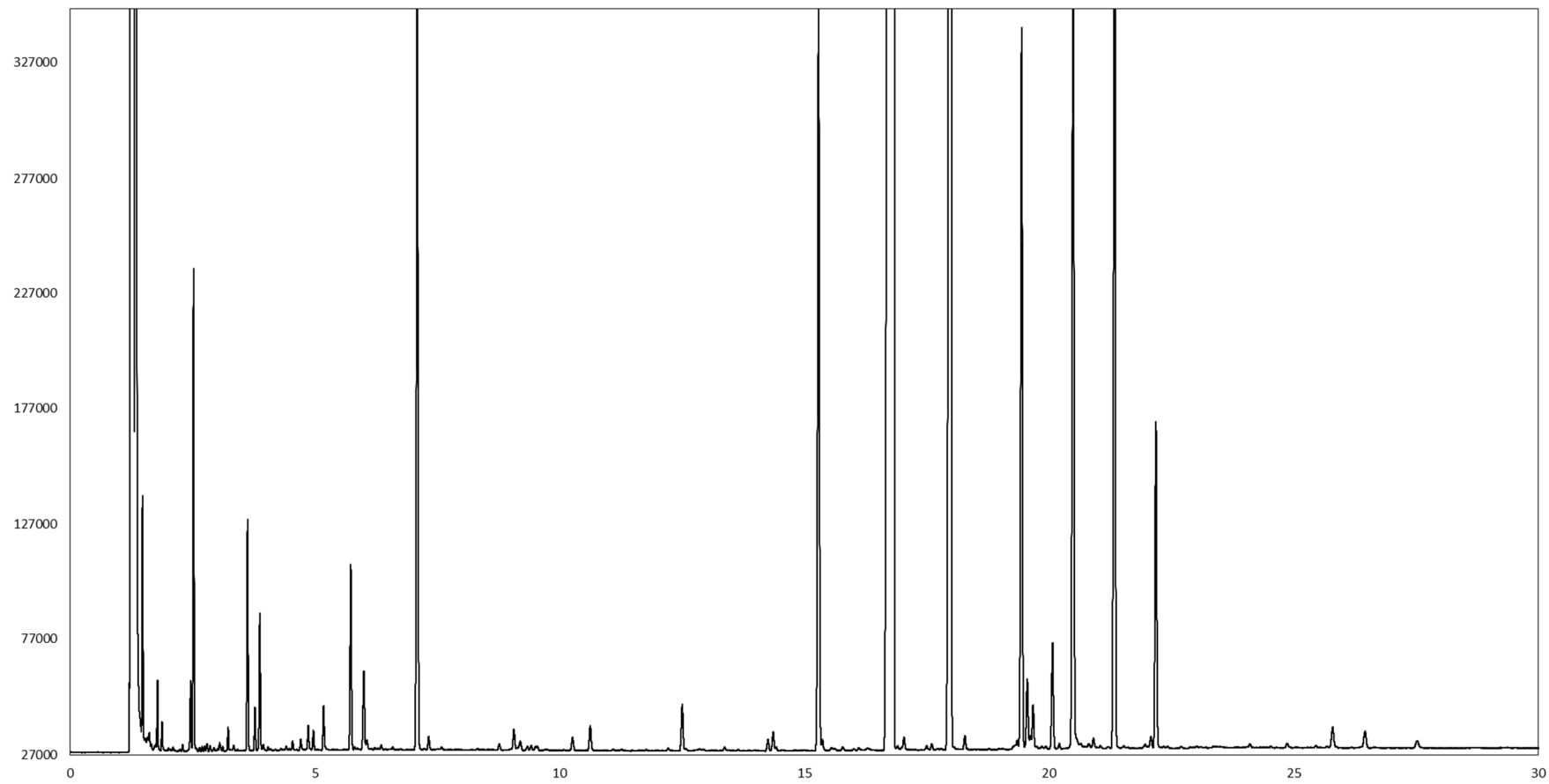


AEME= anidroecgonina metil éster; AE= anidroecgonina; ME= metilecgonina; TROP=Tropacocaína; NORC= norcocaína; NFC= N-formilcocaína; TMC= trimetoxicocaína; EC= ecgonina; BE= benzoilecgonina; TCC= trans-cinamoilcocaína; CCC= cis-Cinamoilcocaína; CCE= cis-Cinnamoylecgonine; TCE= trans-Cinnamoylecgonine.

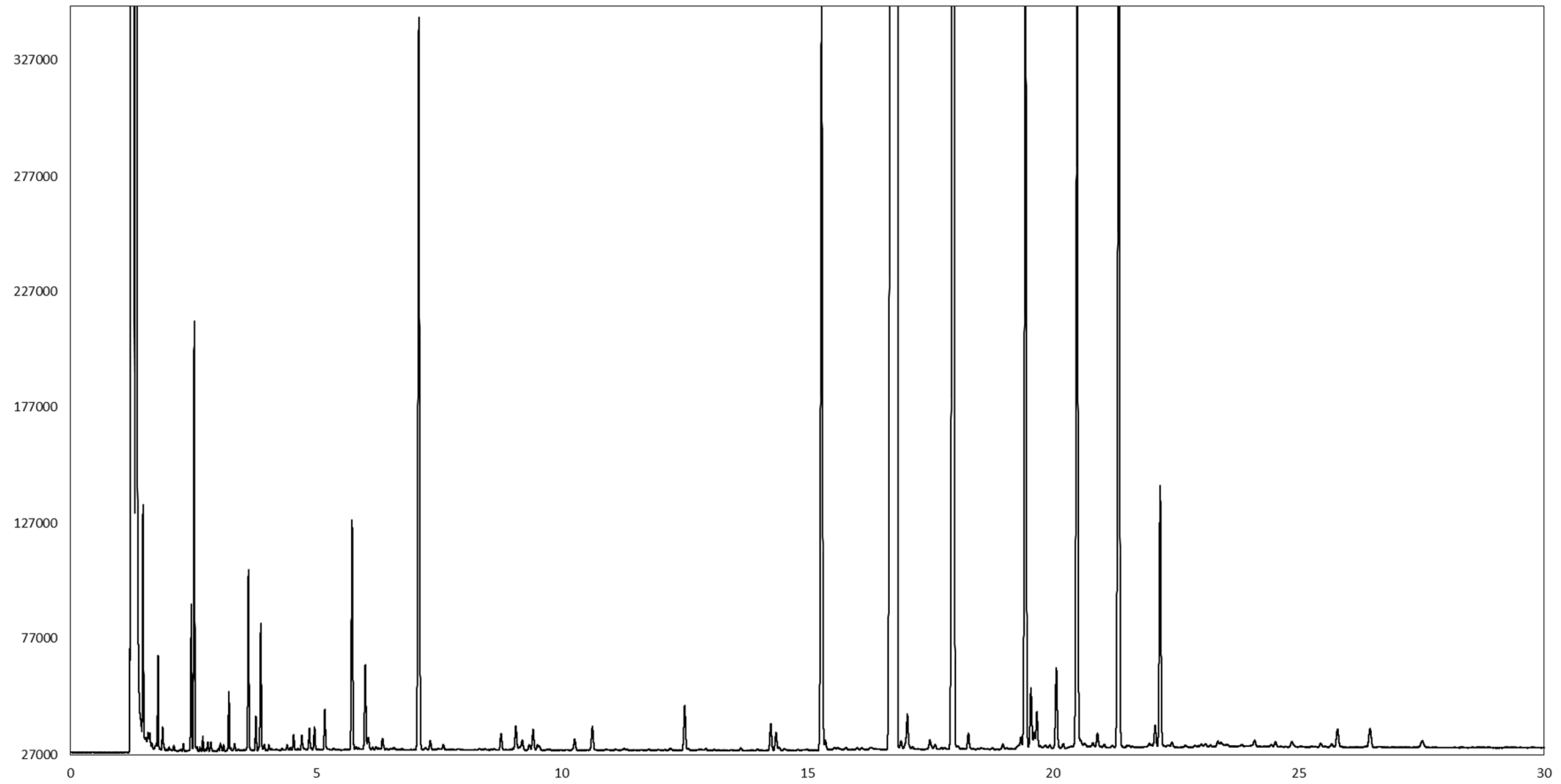
Cromatograma referente à amostra de cocaína base livre 107_12_AC_5_1.



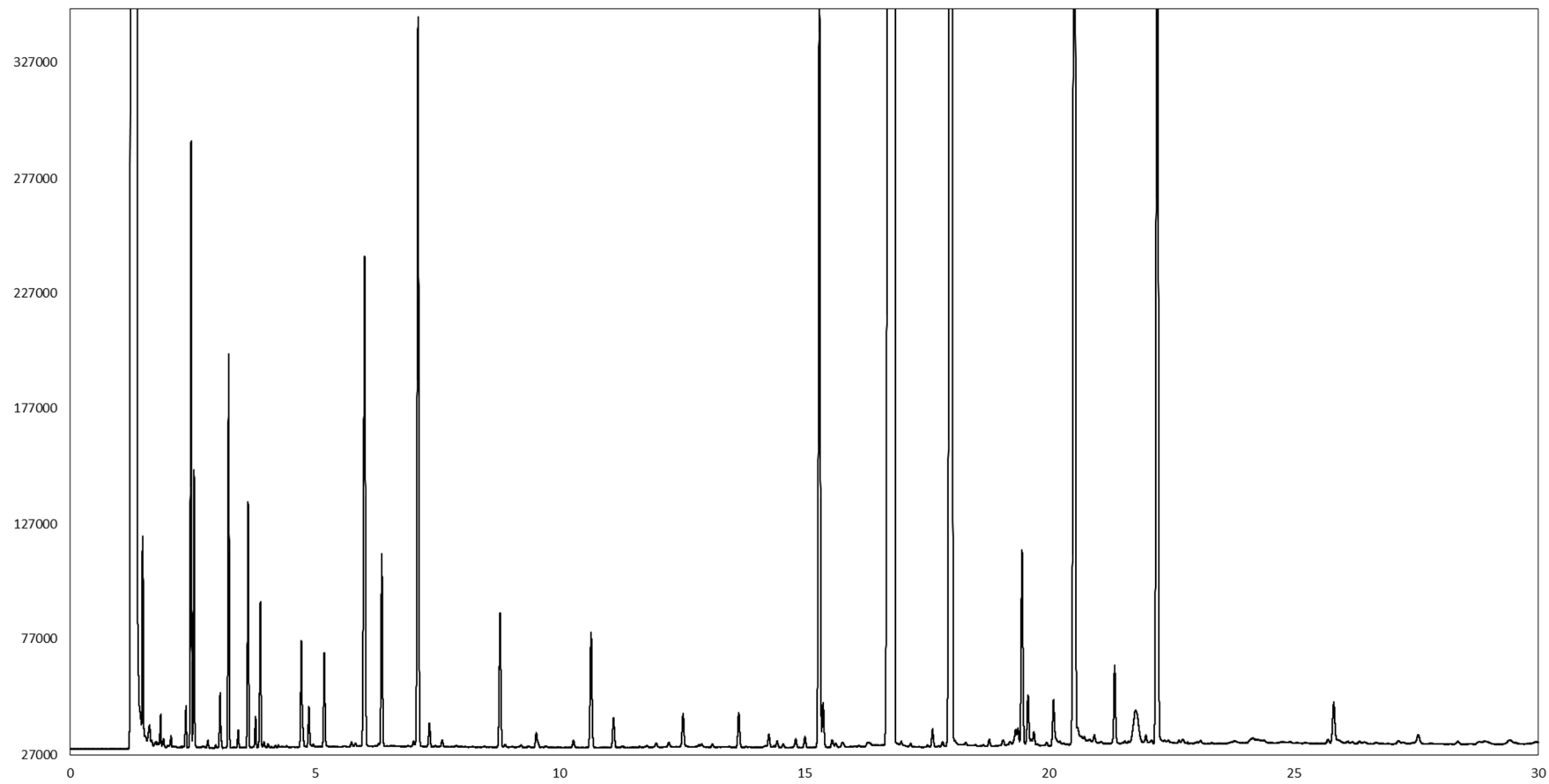
Cromatograma referente à amostra de cloridrato de cocaína 396_11_MS_3B_1.



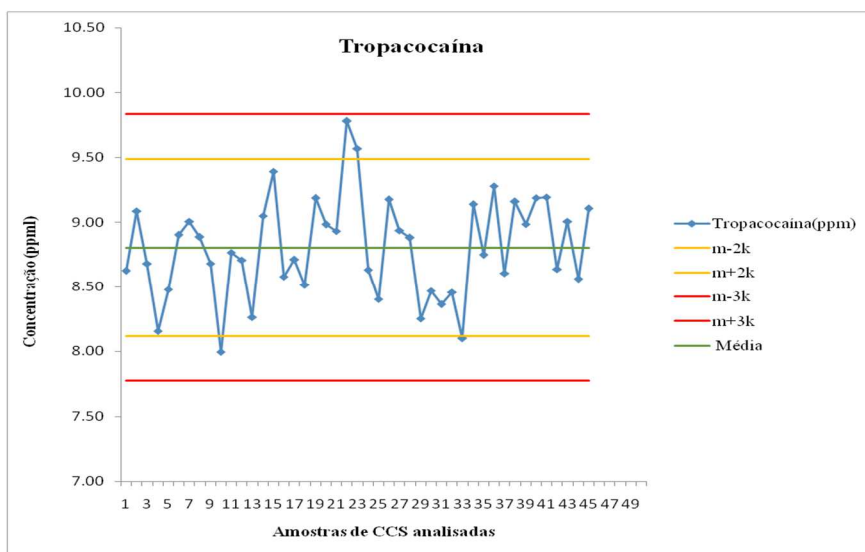
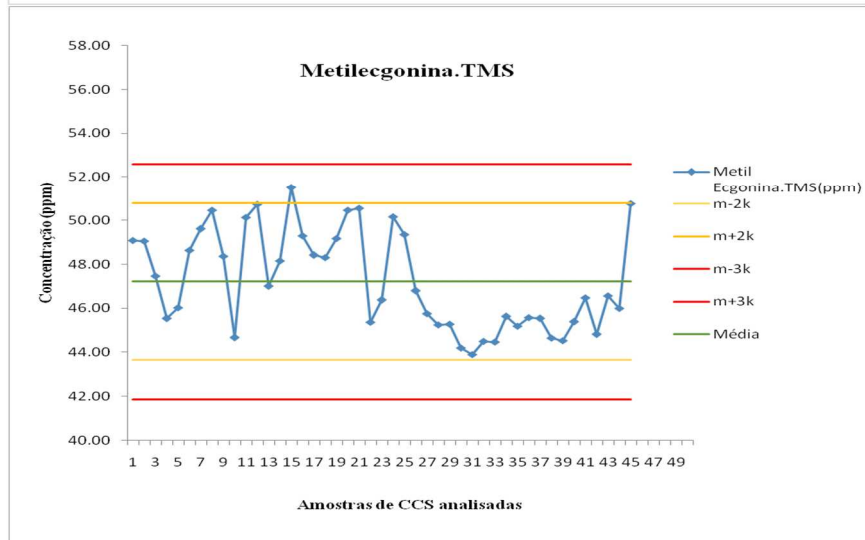
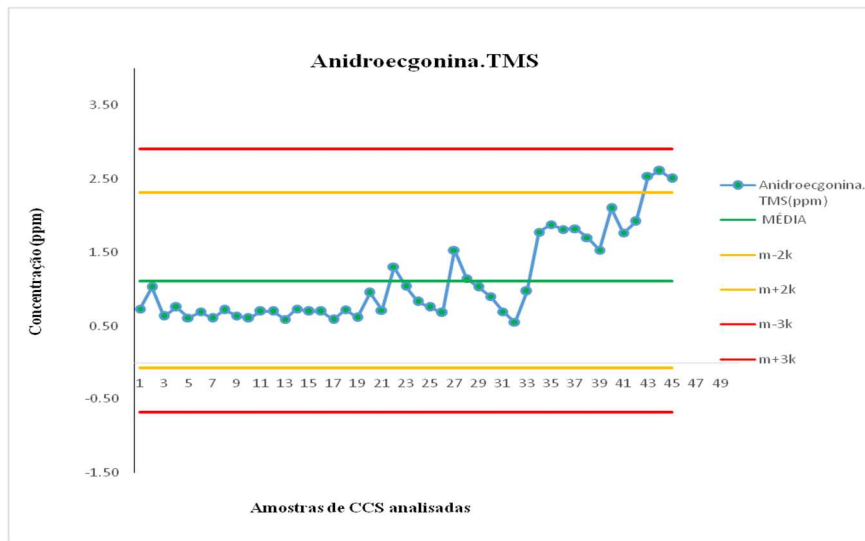
Cromatograma referente à amostra de cloridrato de cocaína 396_11_MS_5B_1.

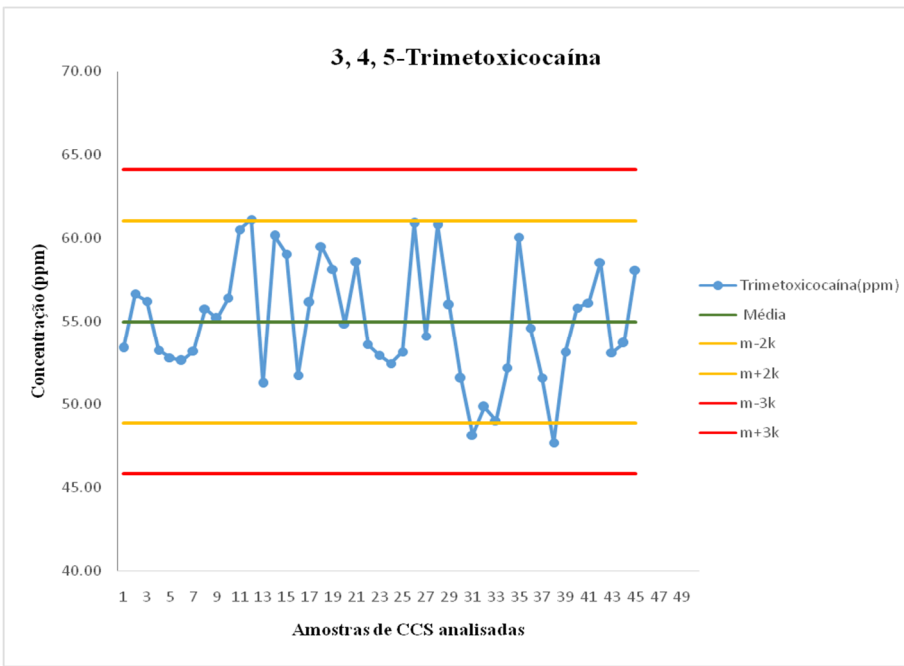
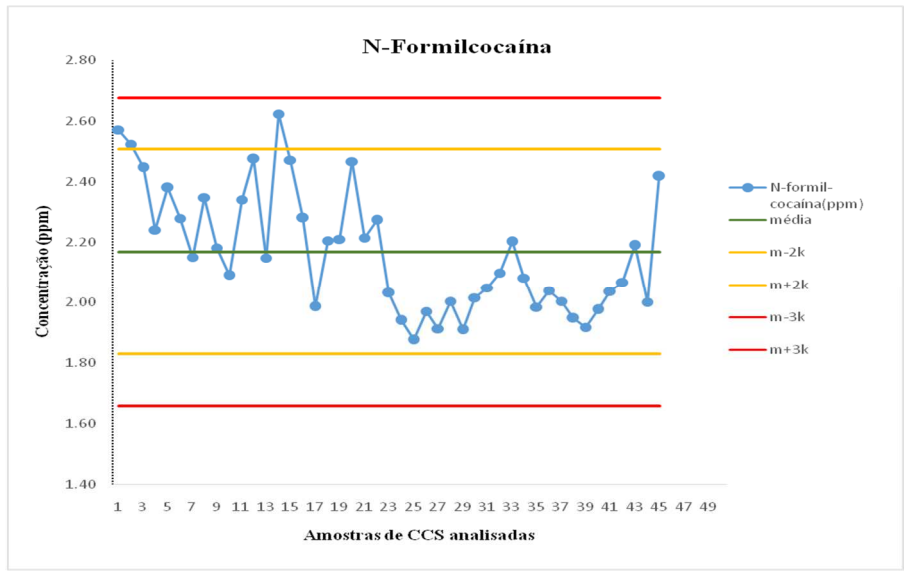
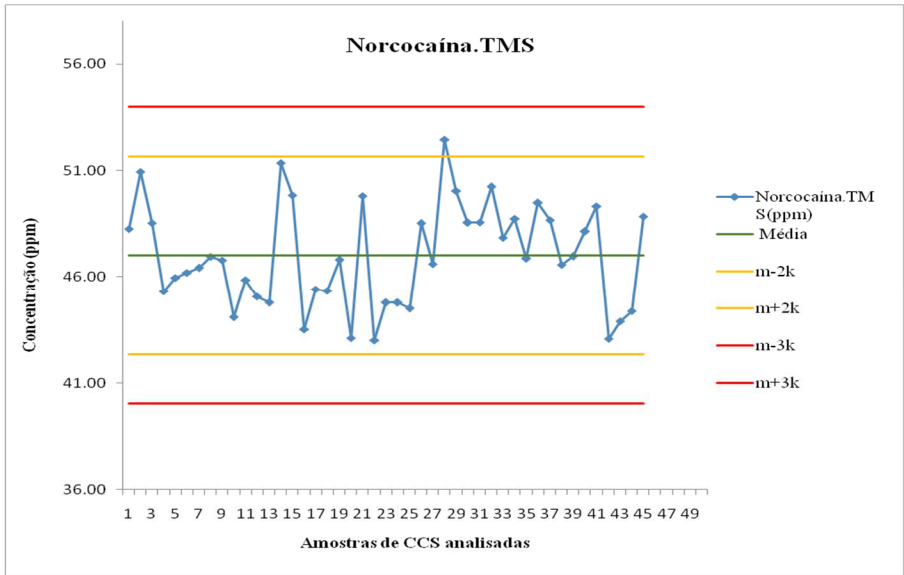


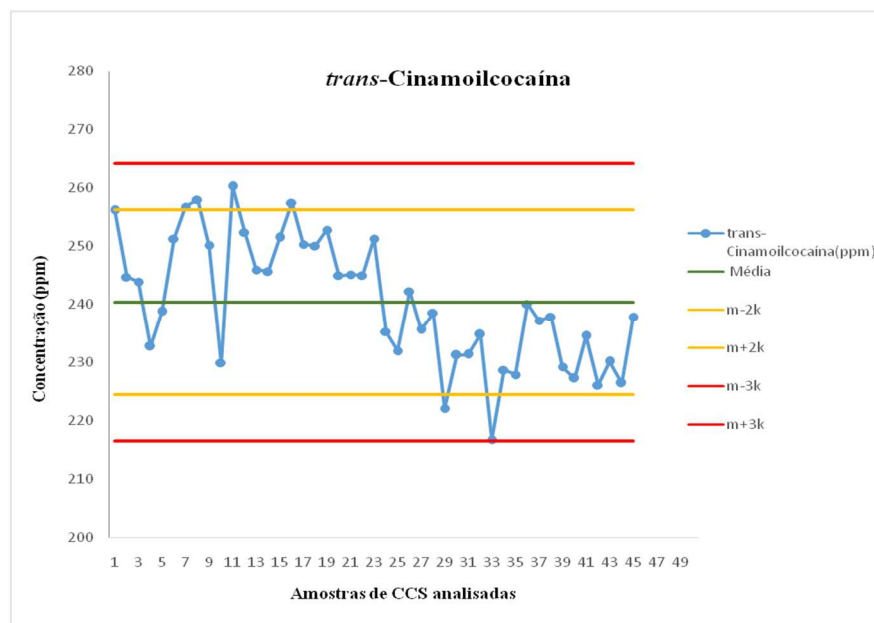
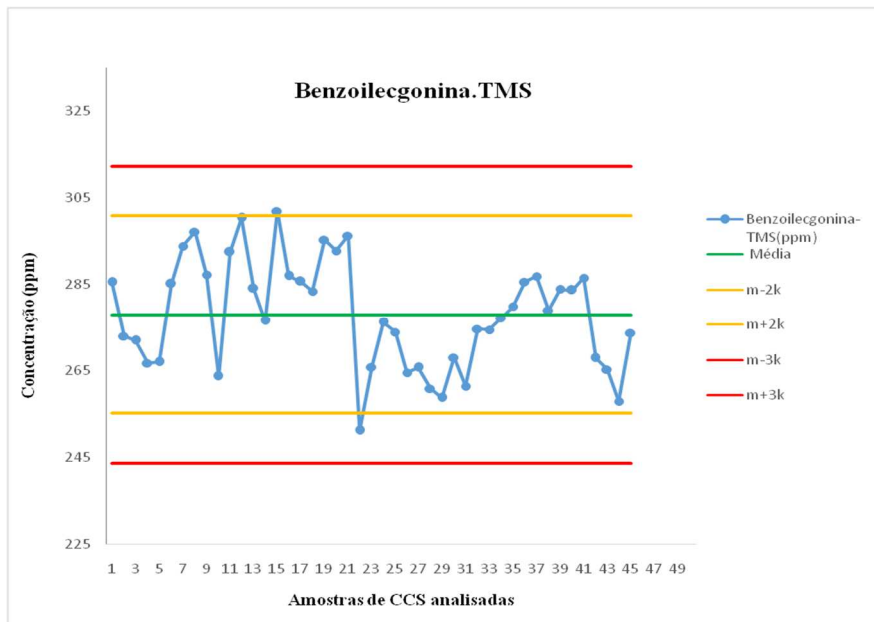
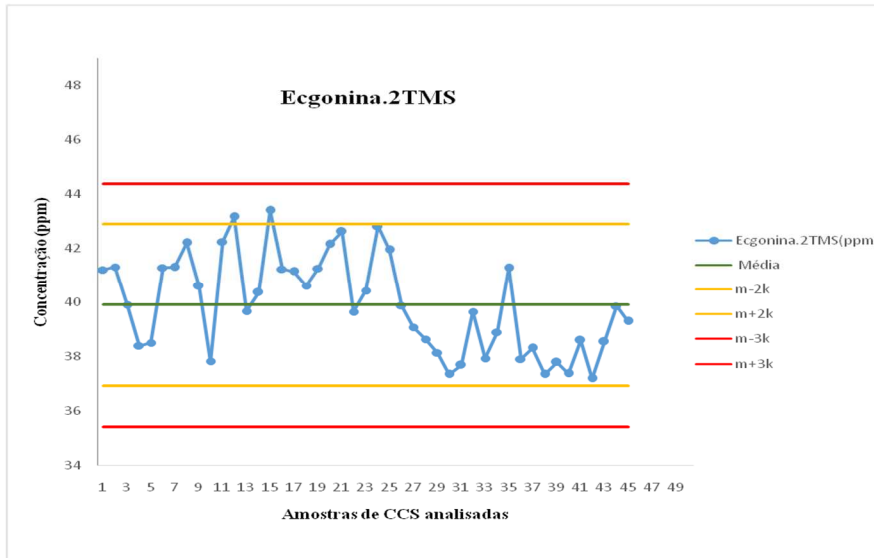
Cromatograma referente à amostra de cocaína base livre 567_13_AC_10_3.



ANEXO 4 - Cartas controle para alcaloides minoritários do trabalho. Contém os limites de confiança para as seguintes concentrações: média dos resultados (linha contínua cor verde); o valor de duas vezes o desvio padrão das replicatas $m \pm 2k$ (linhas contínuas amarelas); o valor de três vezes o desvio padrão das replicatas $m \pm 3k$ (linhas contínuas vermelhas).







ANEXO 5- Resultados das quantificações dos alcaloides minoritários (média de triplicatas) nas amostras cloridrato de cocaína com normalização pela pureza.

Nº	Amostras	AEME	AE	ME	TROP	NORC	NFC	TMC	EC	BE	TCC	CCC	CCE	TCE
		Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)
1	1460_PR_mix_1_1.D	<LQ	<LQ	980	191	124	<LQ	<LQ	546	1608	11755	13578	496	<LD
2	1460_PR_mix_2_1.D	108	<LQ	583	223	143	<LQ	<LQ	221	862	11269	14224	280	<LD
3	1460_PR_mix_3_1.D	<LQ	<LQ	1203	196	139	<LQ	<LQ	794	2518	12924	14389	687	<LD
4	1910_PR_4_1.D	<LQ	<LQ	306	291	187	<LQ	<LQ	231	1963	15843	17962	249	<LD
5	1910_PR_7_1.D	<LQ	<LQ	136	201	<LQ	<LQ	<LQ	269	2204	16026	18683	318	<LD
6	856_AC_2_1.D	<LQ	<LQ	1549	174	93	112	<LQ	703	4674	21893	17817	1227	<LQ
7	36_AC_2_1.D	522	<LQ	400	213	208	<LQ	164	490	7402	13516	28178	2865	<LQ
8	36_AC_3_1.D	1164	<LQ	576	267	232	<LQ	197	1102	15942	13619	28143	5228	425
9	693_AC_3_1.D	335	<LQ	189	118	<LQ	<LQ	<LQ	215	10722	22932	11000	1602	621
10	693_AC_5_1.D	303	<LQ	178	118	<LQ	<LQ	<LQ	186	9460	22773	10979	1411	576
11	693_AC_6_1.D	293	<LQ	176	113	<LQ	<LQ	<LQ	186	9114	22874	11112	1486	639
12	856_AC_5_1.D	<LQ	<LQ	422	243	232	<LQ	<LQ	121	1345	19483	16831	605	<LQ
13	441_AC_14_1.D	<LQ	<LQ	130	121	96	<LQ	<LQ	38	3022	12432	14451	856	<LD
14	396_11_MS_2B_1.D	1431	132	8242	1714	666	197	1405	7245	28155	50642	54215	11559	2921
15	396_11_MS_7B_1.D	2790	241	7427	1753	632	179	1116	9801	39723	50538	49900	16360	3980
16	396_MS_10A_1.D	3195	295	13085	2042	1017	356	916	16248	88439	54234	48810	26782	6929
17	396_11_MS_3B_1.D	9537	716	6022	2080	631	631	276	22710	172791	43699	31154	39311	13588
18	396_11_MS_5B_1.D	7578	638	7492	2052	695	656	521	20939	126031	50898	38154	33138	11248
19	152_14_MS_1_1.D	176	<LQ	253	165	166	150	221	87	2500	11739	24427	757	<LD
20	152_14_MS_2_1.D	<LQ	<LQ	271	168	173	145	166	88	1605	15172	20292	232	<LD
21	152_14_MS_3_1.D	128	<LQ	264	153	152	116	190	83	2157	12043	22564	464	<LD
22	782_13_SR_MS_1_1.D	<LQ	<LQ	192	147	<LQ	<LQ	<LQ	99	1925	21415	17130	335	<LQ
23	782_13_SR_MS_2_1.D	<LQ	<LQ	802	135	<LQ	<LQ	<LQ	256	2794	21103	16297	493	<LQ
24	685_11_MS_12_1.D	420	<LQ	4355	788	6053	160	389	2944	2104	8908	514	538	<LD
25	685_11_MS_5_1.D	228	<LQ	3240	989	8128	128	314	2246	1555	4700	330	219	<LD
26	685_11_MS_8_1.D	217	<LQ	3111	821	6200	143	392	1541	1266	8810	354	561	<LD
27	782_13_SR_MS_3_1.D	130	<LQ	214	146	<LQ	<LQ	135	118	2083	21183	17231	488	<LQ
28	4360_CE_1.D	322	289	10098	820	208	179	5085	12283	32792	6273	5257	5486	455
29	4381_CE_1.D	844	302	11654	1029	235	190	4588	13945	36575	7023	5789	6466	499
30	6224_16_PR_01_1.D	154	<LQ	160	238	92	<LQ	<LQ	127	1431	30280	24548	653	<LD
31	6224_16_PR_02_1.D	159	<LQ	154	337	119	<LQ	236	133	1909	28307	26762	667	<LQ

32	6224_16_PR_03_1.D	250	<LQ	290	471	405	<LQ	327	266	4223	13478	20196	574	<LQ
33	2786_16_PR_01_1.D	148	<LQ	2732	2195	19874	148	1277	653	709	1718	208	630	942
34	3495_16_PR_01_1.D	114	<LQ	391	1169	24927	146	1094	362	506	<LQ	184	431	<LD
35	3495_16_PR_02_1.D	120	<LQ	438	1199	42951	148	856	267	376	<LQ	<LQ	494	191
36	141_17_SP_02_1.D	112	<LQ	185	1080	46147	170	1373	346	828	<LQ	252	2967	<LD
37	258_17_SP_06_1.D	<LQ	<LQ	163	1474	10736	224	716	64	327	<LQ	173	977	<LD
38	271_17_SP_09_1.D	150	<LQ	196	1053	36034	183	875	289	654	<LQ	265	1081	<LD
39	274_17_SP_12_1.D	143	<LQ	249	657	30383	182	843	266	560	393	185	1022	<LD
40	294_17_SP_15_1.D	284	<LQ	2102	2753	235	115	3641	537	1093	1021	392	1318	750
41	283_16_SP_09_1.D	<LQ	<LQ	307	307	230	143	197	255	2976	27992	19158	1176	<LQ
42	297_17_SP_02_1.D	285	<LQ	464	1263	17717	291	1321	352	2815	136	261	1513	<LQ
43	302_17_SP_06_1.D	<LQ	<LQ	346	1186	18732	260	1352	199	672	1793	333	1550	<LD
44	406_16_AC_03_1.D	119	<LQ	284	181	91	<LQ	<LQ	326	3804	31431	23715	1038	<LQ
45	423_16_AC_01_1.D	<LQ	170	3278	147	<LQ	<LQ	<LQ	3287	23076	12658	8709	1760	450
46	152_14_MS_04_1.D	4076	903	346	919	155	243	264	32015	69249	6646	12229	36451	37578
47	209_14_MS_1.D	337	93	412	226	2584	363	246	550	4188	10677	16789	1291	<LQ
48	005_14_AM_02_1.D	402	109	205	171	2360	282	155	337	3835	21374	11765	982	<LQ
49	005_14_AM_05_1.D	244	97	151	153	2569	270	201	147	1646	14830	10357	546	<LQ
50	420_14_AM_01_1.D	176	173	1487	159	1416	200	189	681	2350	16063	12049	560	<LQ
51	812_14_AM_01_1.D	<LQ	98	756	171	2504	273	130	249	1562	17817	14427	494	<LQ
52	226_17_BO_15_1.D	568	164	2880	311	943	193	238	3693	8578	7594	11608	1447	<LQ
53	226_17_BO_22_1.D	2216	134	3101	1429	4517	507	1585	1281	9164	4502	814	1669	391
54	226_17_BO_19_1.D	975	180	5662	2228	18464	330	973	1719	2509	6961	1851	1843	<LD
55	226_17_BO_21_1.D	1498	291	377	470	742	370	517	4563	23037	22642	26986	24065	13103
56	226_17_BO_23_1.D	3118	457	237	1296	1889	254	1302	5409	32652	50775	65736	31223	18293

AEME= anidroecgonina metil éster; AE= anidroecgonina; ME= metilecgonina; TROP=Tropacocaína; NORC= norcocaína; NFC= N-formilcocaína; TMC= trimetoxicocaína; EC= ecgonina; BE= benzoilecgonina; TCC= *trans*-cinamoilcocaína; CCC= *cis*-Cinamoilcocaína; CCE= *cis*-Cinnamoylecgonine; TCE= *trans*-Cinnamoylecgonine; < LD = menor do que o limite de detecção; < LQ = abaixo do limite de quantificação (LQ), porém maior do que o limite de Detecção (LD).

ANEXO 6 - Resultados das quantificações dos alcaloides minoritários (média de triplicatas) nas amostras cocaína base livre com normalização pela pureza.

Nº	Amostras	AEME	AE	ME	TROP	NORC	NFC	TMC	EC	BE	TCC	CCC	CCE	TCE
		Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)
1	1459_13_PR_08_1.D	1302	<LQ	334	1656	98	173	1042	5981	13276	43335	61904	13573	13829
2	1459_13_PR_09_1.D	1400	140	329	1616	<LQ	170	926	7869	19577	40442	56867	18004	17804
3	2861_PR_16_1.D	1017	99	171	2652	<LQ	<LQ	478	9187	12941	72714	48054	16312	13285
4	2861_PR_20_1.D	1499	260	323	1472	139	200	395	11915	22189	64969	32038	32388	19223
5	2861_PR_21_1.D	1119	121	174	1790	172	<LQ	694	9497	14260	70803	45299	20932	12155
6	1459_13_PR_04_1.D	1828	157	329	1528	174	152	753	7991	20536	35349	50318	19533	19086
7	1800_14_PR_03_1.D	1030	78	572	1946	<LQ	143	833	10833	11314	45335	64549	12992	13278
8	1800_14_PR_04_1.D	602	<LQ	294	1457	<LQ	179	1005	10277	7750	53657	73034	8998	8062
9	1214_PR_4_1.D	996	<LQ	471	2370	<LQ	186	1178	4881	8348	58067	70370	6722	9152
10	1214_PR_5_1.D	1890	136	294	1134	93	187	689	7830	24524	29498	50104	28697	19389
11	1800_PR_2_1.D	654	122	183	1939	<LQ	141	740	26327	2431	56552	69272	3537	3415
12	2213_PR_10_1.D	1401	1318	120	712	120	108	327	4125	20955	14943	29959	24766	11982
13	2213_PR_7_1.D	1551	1632	<LQ	809	<LQ	132	363	3894	18819	18009	35676	21827	10804
14	2213_PR_8_1.D	1756	1787	<LQ	790	<LQ	120	220	5068	26287	14302	28455	29907	14702
15	223_5_AC_12_1.D	7602	904	194	583	<LQ	<LQ	<LQ	15179	114440	5518	10396	70209	62398
16	223_6_AC_12_1.D	8345	1134	195	573	<LQ	281	<LQ	18335	153842	5143	10115	70905	62764
17	223_12_AC_9_1.D	7918	1005	174	544	<LQ	<LQ	<LQ	16098	120240	5674	10564	68095	57734
18	567_13_AC_1_1.D	10573	888	203	1412	126	358	<LQ	18418	198145	3487	7869	77460	62412
19	567_13_AC_10_1.D	8942	1031	169	1318	<LQ	329	170	17367	196856	3278	7889	71270	56149
20	107_12_AC_5_1.D	11811	1264	214	1212	106	142	<LQ	24117	219954	2594	7680	51843	30808
21	107_12_AC_6_1.D	14242	1322	256	1460	109	158	127	28523	214508	2422	7281	62744	37415
22	441_14_AC_10_1.D	878	136	93	1453	119	<LQ	1292	3442	16074	26362	42272	12608	9780
23	567_13_AC_8_1.D	8712	895	180	1365	159	313	<LQ	15756	175708	3599	8266	71513	57106
24	107_12_AC_4_1.D	13555	1185	259	1445	<LQ	191	<LQ	25612	188319	3599	10180	60228	35449
25	441_14_AC_9_1.D	1596	276	196	2352	92	141	1285	3267	16664	43234	50813	11253	9801
26	476_14_AC_1_1.D	4718	213	193	1089	<LQ	348	421	9075	64167	18414	30455	69818	38935
27	476_14_AC_3_1.D	5112	582	206	950	<LQ	233	<LQ	17792	117924	4823	11696	75803	44480
28	1808_13_MS_F_1.D	1852	189	125	1274	<LQ	<LQ	646	4358	29257	24025	29265	23039	19025
29	259_11_MS_F1_1.D	1719	98	178	1082	144	170	907	4343	15282	48513	63773	25546	18104
30	396_11_MS_3A_1.D	6652	453	343	1896	<LQ	200	117	16231	71538	10141	19930	76063	53773
31	1809_13_MS_C_1.d	2590	<LQ	175	<LQ	124	112	1350	4739	25571	29106	43241	25507	15714

32	320_14_MS_5_1.d	1700	97	252	1680	125	156	763	7948	3228	45425	56595	12338	12812
33	396_11_MS_2A_1.d	6026	<LQ	299	<LQ	111	193	<LQ	17354	57	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
34	1808_13_MS_A_1.d	1539	162	121	1502	<LQ	<LQ	2030	1525	10969	34909	43535	9515	8192
35	259_11_MS_H4_1.d	3498	301	389	1549	90	128	396	11186	35201	42364	36994	44251	31508
36	320_14_MS_4_1.d	1594	86	244	1660	173	159	787	7246	16689	48349	59137	12774	13057
37	259_11_MS_G5_1.d	3149	239	295	1896	103	146	556	9732	37302	53029	55037	57714	29310
38	320_14_MS_1_1.d	1800	100	253	1646	134	144	743	7507	19061	46799	57446	17310	15348
39	396_11_MS_6A_1.d	6502	575	329	1934	199	488	<LQ	18159	70391	16843	16545	59994	58127
40	192_16_AC_07_1.D	1873	81	169	1963	135	203	1609	1915	19395	69547	84987	14656	10513
41	209_16_AC_03_1.D	4533	565	234	1640	141	172	774	6733	82499	32613	38660	51070	37541
42	226_17_BO_01_1.D	1038	2290	50	2321	2490	837	186	25900	239300	264	393	1320	1100
43	226_17_BO_02_1.D	365	252	652	1453	94	214	1003	7209	7691	78963	84280	6228	5555
44	320_14_MS_06_1.D	3081	283	305	1646	364	131	435	10784	30236	31990	34728	30350	29587
45	442_14_AM_01_1.D	352	97	292	251	2624	315	205	307	3559	17298	21090	1326	<LQ
46	442_14_AM_02_1.D	402	122	318	271	2795	317	208	307	3985	18211	22148	1093	<LQ

AEME= anidroecgonina metil éster; AE= anidroecgonina; ME= metilecgonina; TROP=Tropacocaína; NORC= norcocaína; NFC= N-formilcocaína; TMC= trimetoxicocaína; EC= ecgonina; BE= benzoilecgonina; TCC= *trans*-cinamoilcocaína; CCC= *cis*-Cinamoilcocaína; CCE= *cis*-Cinnamoylecgonine; TCE= *trans*-Cinnamoylecgonine; < LQ = abaixo do limite de quantificação (LQ), porém maior do que o limite de Detecção (LD).

FOLHA DE APROVAÇÃO

Comunicamos a aprovação da Defesa de Dissertação do (a) aluno (a) **Fillipe Herbert de Oliveira**, matrícula nº **16/0101069**, intitulada ***“Consolidação de Análise Cromatográfica e aplicação de ferramentas quimiométricas à análise de alcaloides minoritários em amostras reais de cocaína”***, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 30 de abril de 2018.

Prof. Dr. Adriano Otávio Maldaner
Presidente de Banca (INC/PF)

Prof. Dr. Guilherme Dotto Brand
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. Alex Fabiano Cortez Campos
Membro Titular (FUP/UnB)

Prof.^a Dra. Ana Cristi Basile Dias
Membro Suplente (IQ/UnB)

Em 30 de abril de 2018.