



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA
PARA COMPARAÇÃO DE AMOSTRAS DE SAL DE
COCAÍNA PELA DETERMINAÇÃO DE SOLVENTES
RESIDUAIS E ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA**

Tatiane Souza Grobério

Orientador: Prof. Dr. Jez Willian Batista Braga

Coorientador: Dr. Jorge Jardim Zacca

Brasília – DF

2012



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA
PARA COMPARAÇÃO DE AMOSTRAS DE SAL DE
COCAÍNA PELA DETERMINAÇÃO DE SOLVENTES
RESIDUAIS E ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA**

*Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado em Química, da Universidade
de Brasília, como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em
Química.*

TATIANE SOUZA GROBÉRIO

Orientador: Prof. Dr. Jez Willian Batista Braga

Coorientador: Dr. Jorge Jardim Zacca

2012

Folha de Aprovação

Agradecimentos



Agradeço a todos que participaram direta ou indiretamente desse trabalho, aos que me acompanharam e incentivaram durante esse tempo e a Deus que tem direcionado minha vida.

Resumo

A produção de cocaína requer a utilização de solventes orgânicos que não são completamente removidos durante esse processo, deixando vestígios químicos que podem ser posteriormente analisados em laboratório e devidamente correlacionados ao local de origem, aos métodos de refino e à rota de tráfico. Esse tipo de informação é relevante à investigação policial, aos esforços de colaboração internacional no combate ao tráfico de drogas e para a definição de políticas governamentais em termos de segurança e saúde pública. Diversas técnicas instrumentais são capazes de identificar grande parte dos componentes presentes em amostras de cocaína, fornecendo informações a respeito dos solventes residuais que essas amostras contêm. A análise estatística apropriada dessas informações estabelece padrões que revelam as principais características químicas da amostra. Esse trabalho visou consolidar uma metodologia adequada à realidade brasileira que permitisse a análise rápida e confiável de amostras na forma de sal de cocaína. Para isso, a técnica utilizada na determinação de solventes residuais em amostras de sal de cocaína foi *Headspace* associada à Cromatografia Gasosa e detecção por Espectrometria de Massas (HS-GC-MS). A análise de dados empregou métodos como Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Clusters (HCA). O quadrado da função cosseno foi utilizado como medida para correlação entre amostras. Através dos resultados obtidos por PCA foi possível classificar as amostras conforme o método de refino utilizado no processo de produção da cocaína. Estudos estatísticos apontaram valores limites que puderam discriminar amostras como sendo “ligadas”, ou seja, correlacionadas em relação à forma de produção, permitindo estabelecer ligações entre apreensões de cocaína efetuadas em todo o Brasil. A metodologia desenvolvida para essa discriminação pode ser considerada promissora, pois não necessita do conhecimento *a priori* da população de amostras e permite o ajuste dinâmico dos valores limites para diferentes conjuntos.

Abstract

Cocaine production requires the use of organic solvents that are not completely removed during this process, leaving chemical traces that can later be analyzed in the laboratory and properly correlated to drug origin, processing methods and trafficking route. Such information is relevant to police investigation, the efforts of international cooperation in combating drug trafficking and for the establishment of government policies in terms of safety and public health. Several instrumental techniques are able to identify most of the components present in cocaine samples, providing information about the residual solvents in these samples. The appropriate statistical analysis of this information establishes standards that reveal the main chemical characteristics of the sample. This work aimed to build an appropriate methodology to the Brazilian reality that allows rapid and reliable analysis of salt samples of cocaine. For this, the technique used in the determination of residual solvents in salt samples of cocaine was Headspace associated with Gas Chromatography and Mass Spectrometry detection (HS-GC-MS). The data analysis employed methods such as Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA). The square of the cosine function was used as a measure of correlation between samples. Based on the results obtained by PCA the cocaine samples were classified according to the method used in the refining process for cocaine production. Statistical studies showed that limiting values could discriminate samples as being linked, ie, correlated in relation to how the sample was produced, or non-linked. This result allows correlations between cocaine seizures made in Brazil. The proposed methodology can be considered promising for such discrimination, as priori knowledge of the sample population is not required and allows the dynamic adjustment of the limit values for different sets of samples.

ÍNDICE

1. Introdução	2
1.1. Objetivos.....	3
2. Revisão Bibliográfica.....	5
2.1. Cocaína	5
2.2. Projeto Pequi	7
2.3. Técnicas para identificação do Perfil Químico de cocaína	8
2.4. Solventes Orgânicos Residuais.....	11
2.4.1. Estabilidade dos solventes nas amostras	11
2.4.2. Seleção dos solventes	11
2.5. Identificação de grupos de amostras.....	14
2.6. Adulterantes e Diluentes da Cocaína	19
3. Métodos de Refino	21
3.1. Cultivo de folhas de coca.....	21
3.2. Produção de cocaína.....	22
4. <i>Headspace</i> , Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas.....	28
4.1. Cromatografia Gasosa.....	28
4.2. <i>Headspace</i>	33
4.2.1. Fundamentos teóricos do <i>headspace</i>	37
4.3. Espectrometria de massas	39
5. Ferramentas Quimiométricas	42
5.1. Identificação do método de refino.....	42
5.1.1. Análise de Componentes Principais (PCA).....	42
5.1.2. Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA).....	44
5.2. Comparações entre amostras	45
5.2.1. Função Cosseno	46
5.2.2. Correlações intra e interclasses	48

5.2.3. Histogramas	49
5.2.4. ROC – <i>Receiving Operating Characteristics</i>	51
6. Materiais e Métodos	56
6.1. Equipamentos.....	56
6.2. Reagentes	56
6.3. Amostras	57
6.4. Determinação de Solventes Residuais	60
6.5. Procedimento Experimental.....	64
6.5.1. Preparo da solução saturada de sulfato de sódio	65
6.5.2. Preparo da solução de Padrão Interno (PI).....	65
6.5.3. Preparação da amostra.....	65
6.5.3.1. Homogeneização	65
6.5.3.2. Teste para determinar o tipo de cocaína.....	65
6.6. Parâmetros Experimentais	66
6.7. Parâmetros do Método	66
6.8. Figuras de Mérito do Método HS-CG-MS.....	67
6.8.1. Precisão	68
6.8.2. Linearidade	69
6.8.3. Limite de Detecção	70
6.8.4. Estabilidade.....	70
6.9. Análise quimiométrica.....	71
7. Resultados	73
7.1. Figuras de Mérito do Método HS-GC-MS.....	73
7.2. Solventes.....	75
7.3. Método de Refino	77
7.4. Correlações entre amostras	80
7.4.1. Conjunto Controlado de Amostras Reais	82

7.4.1.1. Caso 1: Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70.....	82
O dendrograma obtido por HCA para o conjunto é apresentado na82	
7.4.1.2. Caso 2: Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95.....	86
7.4.1.3. Caso 3: Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,97.....	88
7.4.2. Conjunto Simulado de Amostras.....	90
7.4.2.1. Caso 1: Conjunto de Amostras Simuladas com correlação máxima de 0,70.....	90
7.4.2.2. Caso 2: Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,95.....	92
7.4.2.3. Caso 3: Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,97.....	94
7.4.3. Conjunto de Amostras Reais com mais de 10 picos.....	97
7.4.3.1. Aplicação para casos reais.....	101
8. Conclusão.....	104
9. Referências.....	105

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

AUC: área sob a curva ROC (do inglês, *area under the curve*)

Cebrid: Centro Brasileiro para Informação sobre Drogas Psicoativas

CV: coeficiente de variação

DEA: Agência de Controle de Drogas dos Estados Unidos (DEA/EUA, do inglês *Drug Enforcement Agency*)

DMSO: dimetilsulfoxido

FE: fase estacionária

FM: fase móvel

FN: taxa de falsos negativos

FP: taxa de falsos positivos

GC: Cromatografia Gasosa (do inglês, *Gas Chromatography*)

GC-FID: Cromatografia Gasosa e detecção por Ionização em Chamas (do inglês, *Gas Chromatography -Flame Ionization Detector*)

GC-MS: Cromatografia Gasosa e detecção por Espectrometria de Massas (do inglês, *Headspace - Gas Chromatography - Mass Spectrometry*)

HCA: Análise de Hierárquica de Agrupamentos (HCA, do inglês *Hierarchical Clusters Analysis*)

HS: sem tradução definida (do inglês *Headspace*)

HS-GC-FID: combinação *Headspace* associada à Cromatografia Gasosa e detecção por Ionização em Chamas (do inglês, *Headspace - Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*)

HS-GC-MS: combinação *Headspace* associada à Cromatografia Gasosa e detecção por Espectrometria de Massas (do inglês, *Headspace - Gas Chromatography - Mass Spectrometry*)

LPS: Laboratório Forense da França (*Laboratoire de Police Scientifique*)

MEK: Metiletilcetona (do inglês, *Methyl Ethyl Ketone*)

MIBK: Metilisobutilcetona (do inglês *Methyl Isobutil Ketone*)

PC: componentes principais (do inglês *Principal Components*)

PCA: Análise de Componentes Principais (do inglês *Principal Components Analysis*)

PEQUI: Projeto de Perfil Químico de Drogas

PLS-DA: Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (do inglês *Partial Least Squares – Discriminant Analysis*)

RMN: espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

ROC: sem tradução definida (do inglês *Receiving Operating Characteristics*)

SPME-GC-MS: combinação Micro Extração em Fase Sólida associada à Cromatografia Gasosa e detecção por Espectrometria de Massas (do inglês, *Solid Phase Micro Extraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry*)

UNODC: Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (do inglês *United Nations Office on Drugs and Crime*)

VN: taxa de verdadeiros negativos

VP: taxa de verdadeiros positivos

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Publicações relacionadas a análise de solventes em sal de cocaína.	12
Tabela 2: Solventes analisados em amostras de sal de cocaína por diferentes autores.	13
Tabela 3: Solventes utilizados em métodos de refino caracterizados pelo DEA/EUA.....	26
Tabela 4: Possíveis resultados para comparações entre quaisquer amostras.	50
Tabela 5: Matriz de dados cromatográficos com cálculo da média e desvio padrão de cada solvente.	59
Tabela 6: Características dos conjuntos de amostras estudados.	60
Tabela 7: Solventes utilizados na determinação do método de refino da cocaína.....	61
Tabela 8: Solventes utilizados para comparações de amostras de cocaína.	63
Tabela 9: Parâmetros do HS-GC-MS.....	67
Tabela 10: Solventes utilizados para verificar figuras de mérito do método cromatográfico.....	68
Tabela 11: Diluições da solução-mãe.	70
Tabela 12: Valores que caracterizam a linearidade do método (r^2), limite de detecção (LD) e concentração de solventes em três amostras distintas.....	74
Tabela 13: Cosseno quadrado das médias das áreas dos picos cromatográficos de cada classe.	82
Tabela 14: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95.	87
Tabela 15: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,97.	89
Tabela 16: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,70.	91
Tabela 17: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,95.	93
Tabela 18: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,97.	95

Tabela 19: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto de Amostras Reais com mais de 10 picos.	100
Tabela 20: Valores de ρ_{NLE} e $\rho_L(2\%)$ para um conjunto de dados encontrado na literatura e para o Conjunto de Amostras Reais com mais de 10 picos estudado nesse trabalho.....	101

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura geral de um trocano e da cocaína.	5
Figura 2: Estruturas químicas de cocaína na forma de base livre e na forma salina.	5
Figura 3: Equilíbrio entre fase vapor e fase líquida no frasco de <i>headspace</i>	10
Figura 4: Histogramas dos valores da correlação do cosseno para populações de amostras de cocaína não-ligadas e ligadas. (Adaptado da referência 19)..	17
Figura 5: Histograma com configuração obtida entre as populações de amostras ligadas e não ligadas.	17
Figura 6: Passos para a produção de pasta base de cocaína a partir de folhas de coca, fotos cedidas pela Polícia Federal.	23
Figura 7: Passos para a produção de cocaína base a partir de pasta base, fotos adaptadas da referência 37.	24
Figura 8: Passos para a produção de cocaína base a partir de pasta base, adaptadas da referência 39.	25
Figura 9: Principais componentes de um cromatógrafo à gás, adaptado da referência 41.	29
Figura 10: Injetor split/splitless, adaptado da referência 41.	30
Figura 11: Esquema de funcionamento do injetor no modo split. (A) injeção da amostra, (B) vaporização da amostra, (C) homogeneização da amostra e (D) entrada da amostra na coluna. Adaptado da referência 41.	31
Figura 12: Estrutura de funcionamento do <i>headspace</i> no modo <i>Standby</i> : o gás de arraste (em verde) passa pela linha de fluxo e o gás de pressurização (em azul) passa pelo loop. Adaptada da referência 41.	34
Figura 13: Pressurização do frasco: o gás de pressurização passa pelo loop e pressuriza o frasco. Adaptada da referência 45.	35
Figura 14: Preenchimento do loop com amostra: com a válvula <i>Vent</i> aberta, a amostra preenche o loop. Adaptada da referência 45.	35
Figura 15: Tempo de equilíbrio do <i>loop</i> : homogeneização da amostra no sistema. Adaptada da referência 45.	36
Figura 16: Injeção da amostra no GC. Adaptada da referência 45.	36
Figura 17: Exemplos de introdução e ionização da amostra e separação de íons na espectrometria de massa.	40

Figura 18: Esquema de funcionamento do analisador quadrupolar. Adaptada da referência 48.	40
Figura 19: Esquema gráfico da obtenção das componentes principais e como a matriz (X) é decomposta em pesos (P) e escores (T), adaptada da referência 52.	43
Figura 20: Exemplo de dendrograma, onde pode-se observar a clara distinção de 7 classes ou agrupamentos.....	45
Figura 21: (a) Construção de vetores a partir do cromatograma. (b) Comparação de vetores característicos de duas amostras.....	47
Figura 22: Correlações de amostras (a) inter e (b) intraclases.....	48
Figura 23: (a) Histograma com curvas gaussianas. (b) Histograma com curvas não-gaussianas, típicas para correlações entre amostras de cocaína.....	49
Figura 24: Histograma com curva de correlações entre amostras ligadas e não ligadas, erros falsos positivos e falsos negativos, zona de sobreposição entre ρ_L e ρ_{NL}	50
Figura 25: Exemplo de curva ROC, onde está plotado (1-Sp) na abscissa e (Se) na ordenada.	51
Figura 26: Curvas de ROC para histogramas com diferentes sobreposições, adaptada da referencia 61.....	52
Figura 27: AUC para uma curva ROC.....	52
Figura 28: Histograma ilustrando os valores limites para a classificação de amostras e a zona cinza ou região de incerteza, onde haverá dúvida sobre a classificação de amostras.	54
Figura 29: Mapa com a distribuição do número de amostras analisadas por HS-GC-MS.	57
Figura 30: Conjuntos e subconjuntos de amostras analisados para desenvolvimento e aplicação do método proposto.....	58
Figura 31: Procedimento experimental para determinar solventes residuais em amostras de sal de cocaína.....	64
Figura 32: Procedimento utilizado para a determinação do tipo de cocaína. ...	65
Figura 33: (a) Valores de p para a Amostra A analisada seis vezes no mesmo dia com o mesmo operador e equipamento. (b) Valores de p para a Amostra A analisada seis vezes com operador diferente.	73
Figura 34: Valores de p para uma amostra analisada por 18 meses.	75

Figura 35: Porcentagem de amostras com determinado solvente.	75
Figura 36: Concentração aproximada de solvente (mL)/Kg em amostras de sal de cocaína.....	76
Figura 37: Dendrograma de amostras de cloridrato de cocaína com marcação em 4 classes.	77
Figura 38: Gráfico de escores, onde (▼) representa a classe 1, (■) a classe 2, (+) a classe 3 e (*) a classe 4.....	78
Figura 39: Gráfico de pesos, onde a acetona é característica da classe 1, o acetato de n-propila da classe 2, o acetato de etila da classe 3 e o éter da classe 4.	78
Figura 40: Perfil brasileiro do método de refino de cocaína.	79
Figura 41: Passos para a determinação dos limites que discriminam amostras ligadas e não ligadas no método proposto neste trabalho.	81
Figura 42: Dendrograma do Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70.	83
Figura 43: Histogramas construídos para o Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70 considerando o número de classes igual a: (a) 6, inferior ao número correto de classes; (b) 7, número correto de classes; e (c) 8, superior ao número correto de classes. Onde a curva vermelha é de correlações entre amostras não ligadas e a curva azul é de correlações entre amostras ligadas.	84
Figura 44: Curva ROC para o Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70 com 6, 7 e 8 classes.....	85
Figura 45: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70.	85
Figura 46: Histograma com amostras do Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70 com número de classes igual a 7 indicando os valores limites que separam amostras ligadas e não ligadas.	86
Figura 47: Histograma com amostras do Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95 com número de classes igual a 9, mostrando que não há zona de sobreposição com os valores limites coincidentes.	87
Figura 48: Curva ROC para o Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,97 com número de classes igual a 10.	88

Figura 49: Histograma com amostras do Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,97 com número de classes igual a 10, mostrando a zona de sobreposição com os valores limites.	89
Figura 50: Dendrograma do Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,70 e ampliação da região mais ramificada mostrando as 7 classes indicadas pela HCA.	90
Figura 51: Histograma com amostras do Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,70 com número de classes igual a 7, mostrando os valores limites.	91
Figura 52: Curva ROC para Conjunto Simulado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95 com número de classes igual a 9.	92
Figura 53: Histograma com amostras do Conjunto Simulado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95 com número de classes igual a 9, mostrando a zona de sobreposição com os valores limites.	94
Figura 54: Histogramas para o Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,97: (a) com número de classes inferior ao número real, (b) com número de classes ideal e (c) com número de classes superior ao número real.	96
Figura 55: Dendrograma do Conjunto de Amostras Reais.	98
Figura 56: Histogramas para o Conjunto de Amostras Reais: (a) com número de classes inferior ao número real, (b) com número de classes ideal e (c) com número de classes superior ao número real.	99
Figura 57: Caso 1 - Apreensões correlacionadas feitas pela Polícia Federal de amostras de sal de cocaína.	102
Figura 58: Caso 2 - Apreensões correlacionadas feitas pela Polícia Federal de amostras de sal de cocaína.	102

Capítulo 1:

Introdução

1. Introdução

Estudos a cerca de drogas de abuso são relevantes, pois a produção, tráfico e consumo desse tipo de substância têm afetado a segurança e saúde da população. Dentre as drogas de abuso, a cocaína tem ocupado papel de destaque.

Essa dissertação fornece informações que permitem conhecer o que vem sendo utilizado no processo de produção de cocaína na forma de sal e tem como principal finalidade estabelecer correlações entre amostras, isto é, identificar se duas amostras estão ligadas. Tais informações auxiliam investigações policias.

Amostras ligadas são aquelas que foram produzidas em um mesmo lote e laboratório clandestino, ou seja, pelo mesmo grupo de traficantes. Assim, ao estabelecer ligações entre amostras, é possível encontrar redes do tráfico e determinar onde a cocaína foi produzida e onde está sendo distribuída.

Tradicionalmente, ligações entre amostras de drogas de abuso têm sido feitas a partir de informações policiais sobre a população estudada. No entanto, sendo o Brasil um território extenso, buscar informações que estabeleçam relações entre apreensões de cocaína não é tarefa fácil. Por isso, esse trabalho desenvolveu uma metodologia capaz de determinar se amostras estão ligadas sem a utilização de informações policiais prévias.

1.1. Objetivos

- Consolidar e validar uma metodologia adequada à realidade brasileira que permita a análise rápida e confiável de amostras de sal de cocaína possibilitando a identificação de sua provável origem e formas de refino.
- Determinar o perfil químico de solventes residuais das amostras apreendidas pela PF e gerar informações que irão abastecer um banco de dados.
- Estabelecer correlações entre apreensões de cocaína efetuadas em todo o Brasil.
- Propor uma abordagem estatística para estabelecer valores limites que possam decidir sobre a ligação entre amostras de cocaína sem a necessidade de um conhecimento da população *a priori*.

A seguir é apresentada uma revisão bibliográfica do estado da arte na determinação e análise de solventes residuais presentes em amostras de cocaína com informações sobre o que é cocaína e um pouco de sua história.

Capítulo 2:

Revisão Bibliográfica

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Cocaína

Cocaína ou metilbenzoilecgonina é um alcaloide tropânico de ocorrência natural que apresenta forte atividade estimulante no sistema nervoso central. Alcaloide é uma substância de caráter básico, derivada principalmente de plantas. Seus nomes comuns terminam normalmente com o sufixo *ina*, daí vem o nome cocaína: um alcaloide extraído de uma planta popularmente chamada de coca, originária da América do Sul¹. Estruturas tropânicas são compostos orgânicos bi-cíclicos com átomo de nitrogênio, como mostrado na Figura 1.

Na estrutura da cocaína, o bloco I a metil carbonila é o grupo responsável pela ação tóxica da cocaína. No Bloco II a benzoil carbonila é responsável pela ação anestésica da cocaína. E o bloco III é a estrutura da ecgonina, metabólito que se incorpora na corrente sanguínea logo após o consumo e pode permanecer por até 72 horas.²

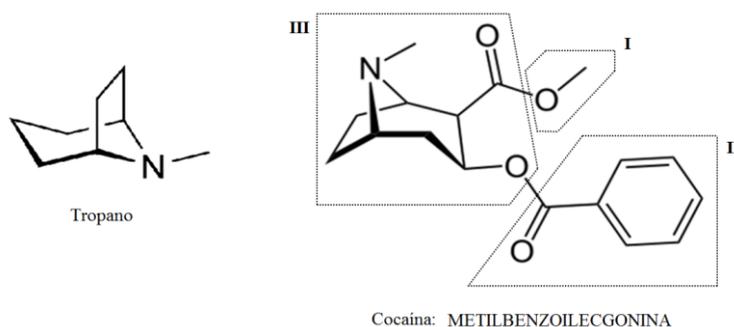


Figura 1: Estrutura geral de um tropano e da cocaína.

A cocaína pode apresentar-se na forma de base livre ou na forma salina, conforme pode ser observado na Figura 2.

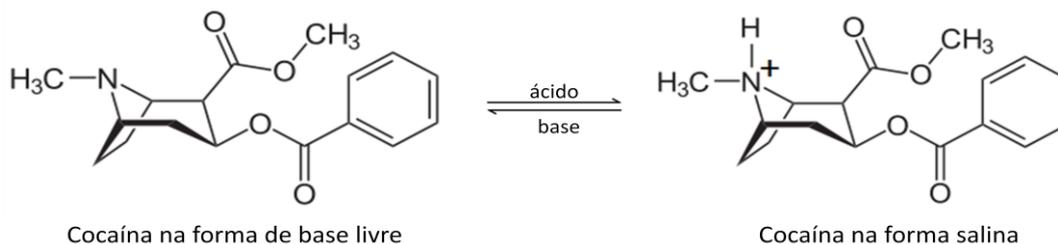


Figura 2: Estruturas químicas de cocaína na forma de base livre e na forma salina.

A origem etimológica da palavra 'coca' provém da língua *aymara* e significa "planta" ou "arbusto". Para as civilizações pré-incas, a planta deu poderes aos homens para vencerem um deus maligno. Os incas entendiam que a 'Mama Coca', tal como a denominavam, fora um presente dos deuses para que pudessem suportar a fome e a fadiga ao mascarem suas folhas.³

A cocaína vem sendo utilizada em rituais religiosos e civis e, por anos, foi consumida por habitantes das montanhas andinas por seus efeitos estimulantes. Sua extração pode ocorrer a partir de quatro diferentes cultivos de *Erythoxylum coca*, *Erythoxylum ipadu*, *Erythoxylum novogranatense*, *Erythoxylum truxilense*.^{4,5,6}

Em 1859, um químico alemão chamado Albert Niemann isolou a cocaína das outras substâncias encontradas nas folhas de coca.² A partir dessa descoberta, a cocaína passou a ser empregada em vários produtos. Em 1863, uma mistura de vinho e folhas de coca chamada de *Vin Tonique Mariani*, era produzida em Paris por Angelo Mariani. A Coca-Cola foi inventada em parte como tentativa de competição dos comerciantes americanos com o vinho Mariani importado da Itália. A Coca-Cola incluiu cocaína em seus ingredientes desde sua invenção até 1903, quando foi retirada de sua formulação.⁷

No fim do século XIX, a cocaína foi popularizada, sendo utilizada no tratamento para a toxicodependência de morfina. Em Viena, Sigmund Freud utilizou a cocaína em seus pacientes. O oftalmologista Carl Köller a usou pela primeira vez enquanto anestésico local, aplicando colírios com cocaína nos olhos de pacientes antes de serem operados em 1884. Em 1885, a cocaína ganhou terreno com a companhia americana Park Davis que vendia livremente cocaína em cigarros, pó ou líquido injetável sob o lema de "substituir a comida; tornar os covardes corajosos, os silenciosos eloqüentes e os sofredores insensíveis à dor".^{1,2}

Apesar do entusiasmo, os efeitos negativos da cocaína acabaram sendo descobertos. A cocaína passou a ser uma ameaça à saúde e ao bem-estar da população devido ao seu uso como droga de abuso. Hoje, ela está associada a diversos problemas sócio-econômicos.⁶

Internações hospitalares relacionadas com o uso de cocaína começaram a aumentar na década de 1990. De acordo com estudos realizados pelo Centro Brasileiro para Informação sobre Drogas Psicoativas (Cebrid), no início de 1990, houve um aumento de 77% no número de pacientes admitidos para tratamento por envolvimento com a cocaína.⁸ O consumo de cocaína também tem sido associado diretamente com o aumento de infecções pelo vírus HIV.⁹

Além disso, a criminalidade e violência aumentaram com o uso da cocaína.¹⁰ Inicialmente, a distribuição de cocaína era feita por grupos de minorias étnicas culturalmente coesas, fazendo seus lucros circularem dentro daquela comunidade. Com o aumento do consumo dessa droga de abuso, surgiu um novo modo para a distribuição: dividido e executado por jovens e suas gangues. O novo negócio fomentou competitividade entre os grupos. O tráfico de drogas passou a ser comandado por adolescentes em sua maioria excluídos do mercado de trabalho, sem perspectiva econômica, o que catalisou e amplificou déficits sociais, que apareceram sob a forma de comportamentos violentos.¹¹

Segundo o Relatório Mundial sobre Drogas¹², o Brasil em 2007 foi o 10º país do mundo em apreensões de cocaína, sendo que em 2006 o país ocupava o 12º lugar, o que tem estimulado a investigação intensiva de formas para o controle do uso, inibição da produção e venda da mesma.

Projetos desenvolvidos pela Polícia Federal vêm sendo focados na realização de estudos cada vez mais refinados com objetivo de caracterizar amostras de cocaína, o que têm auxiliado a inteligência policial no combate ao tráfico de drogas. Um projeto que está em andamento é o de Perfil Químico de Drogas – Projeto PeQui.

2.2. Projeto Pequi

A Lei nº 11.343/06, de 23 de agosto de 2006, criada para instituir o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas, define que: “consideram-se como drogas as substâncias ou produtos capazes de causar dependência, assim especificados em lei ou relacionados em listas atualizadas periodicamente pelo Poder Executivo da União”.¹³ Essa especificação inclui a

cocaína como entorpecente de uso proscrito no Brasil.¹⁴ Portanto, cabe aos órgãos de segurança e saúde pública a definição de estratégias de controle e inibição da produção, distribuição e uso da cocaína.

O Projeto Perfil Químico de Drogas (PeQui), criado em 2005, é uma das ações realizadas pela Polícia Federal com o apoio do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC, do inglês *United Nations Office on Drugs and Crime*) para ampliar a capacidade de enfrentamento ao crime organizado. Nesse Projeto, apreensões com cinco quilos ou mais de cocaína, feitas nos Estados da fronteira oeste brasileira (Acre, Amazonas, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Paraná) e também no Rio de Janeiro, São Paulo e Distrito Federal terão parte do seu material analisado. Essa análise permite à Polícia Federal traçar o perfil químico de drogas apreendidas em todo o país, estabelecendo características como: a pureza de cada amostra, o método típico de refino e os produtos utilizados em sua fabricação. O objetivo do projeto é viabilizar informações a respeito de amostras de cocaína apreendidas pelo Departamento de Polícia Federal em condições de tráfico de drogas. Esses dados são combinados com os resultados das investigações e servem para estabelecer conexões entre quadrilhas e fornecedores, traçar as rotas do tráfico e identificar quais são os produtos que devem ser prioridade de controle em cada região do país. Além disso, a análise química também serve como prova científica no âmbito judicial.

2.3. Técnicas para identificação do Perfil Químico de cocaína

A caracterização da droga é o processo que determina as principais características físicas e químicas da droga.^{15,16} Já a obtenção do perfil químico envolve uma série de análises complementares que geram uma “assinatura” da amostra.¹⁷

Diversas técnicas e metodologias analíticas têm sido descritas para a identificação do perfil químico de amostras de cocaína como HS-GC-FID, HS-GC-MS e SPME-GC-MS.^{15,18,19,20} Outras metodologias determinam a razão de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio²¹, alcaloides tropânicos²² e truxilinas^{23,24}, que fornecem informações a respeito das condições climáticas

de cultivo e espécie das folhas de coca utilizadas para extrair a cocaína, identificando a possível origem da amostra. E também determinam solventes orgânicos residuais, que revelam o método de refino utilizado na produção da cocaína.^{19,20,25}

A determinação de solventes orgânicos residuais é possível porque as etapas do processo de produção da cocaína deixam vestígios químicos característicos que podem ser analisados em laboratório. Assim, cada amostra possui um perfil químico baseado nos diferentes tipos e quantidades de solventes residuais presentes.^{26,27} Esse tipo de análise em amostras de cocaína já foi realizada a partir de uma série de procedimentos analíticos, descritos na literatura. O emprego da cromatografia gasosa tem tido preferência por apresentar uma boa resolução dos picos dos solventes pesquisados, bem como boa sensibilidade e reprodutibilidade.²⁸ Atualmente, farmacopéias sugerem a técnica de *headspace* e cromatografia gasosa (HS-GC) como uma ferramenta geral para a determinação de solventes residuais em medicamentos.²⁹

Como exemplos de trabalhos que determinaram solventes orgânicos residuais em amostras de cocaína, podem-se citar os trabalhos de Avdovich *et al.*³⁰ que identificaram solventes residuais em amostras de cocaína através de ressonância magnética nuclear (RMN); Chiarrotti *et al.*²⁰ e Morello e Meyers²⁵ utilizaram cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) para essa identificação. Cole *et al.*³¹ e Dujourdy e Besacier¹⁹ determinaram os solventes orgânicos residuais com cromatografia gasosa e detecção por ionização de chama (GC-FID). Em geral, esses trabalhos utilizaram amostras de sal de cocaína solubilizadas em soluções saturadas de sais inorgânicos, que foram aquecidas e agitadas em frascos fechados. Com exceção de Avdovich *et al.* que utilizaram o RMN, os demais pesquisadores utilizaram a técnica de *headspace*, onde se injeta no cromatógrafo gasoso a fase vapor que está em equilíbrio com a fase líquida com a matriz de cocaína, conforme ilustrado na Figura 3.

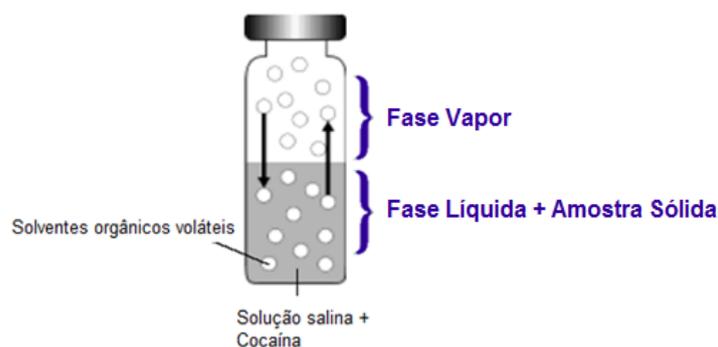


Figura 3: Equilíbrio entre fase vapor e fase líquida no frasco de *headspace*.

De acordo com os dados já descritos na literatura, ambos os sistemas HS-GC-MS e HS-GC-FID são eficazes para determinar solventes voláteis presentes em uma amostra de cocaína.^{12,32} Nesse trabalho, a técnica escolhida para a determinação de solventes residuais utilizou HS-GC-MS.

A técnica *headspace* é bem conhecida e usada em vários campos como o farmacêutico e toxicológico.²⁹ Sendo que o equipamento de *Headspace* permite o controle exato do volume de injeção, da temperatura em que a amostra é submetida e da agitação do frasco durante o equilíbrio entre a fase líquida e gasosa da amostra.¹⁹

A cromatografia gasosa foi escolhida por ser uma técnica analítica adequada para a investigação de compostos voláteis. Chiarotti e Fucci apontam sua alta resolução em comparação com outras técnicas cromatográficas e outras vantagens que podem ser citadas são: utilização de pequena quantidade de amostra, poder analítico na separação de múltiplos elementos que podem ser detectados qualitativa e quantitativa por diferentes detectores.¹⁵

A detecção por ionização de chama embora seja mais robusta, tem como desvantagem a necessidade de utilizar padrões para identificação dos picos cromatográficos. Já a detecção por espectrometria de massas determina com precisão todos os picos cromatográficos sem a necessidade de padrões.

2.4. Solventes Orgânicos Residuais

2.4.1. Estabilidade dos solventes nas amostras

Um estudo da estabilidade dos solventes orgânicos residuais presentes em amostras de cocaína foi feita por Chiarotti *et al.*²⁰ Nesse trabalho, amostras apreendidas foram armazenados em tubos de vidro vedados com borracha de silicone a temperatura ambiente. Amostras que tinham até cinco anos a partir da data de sua apreensão foram analisadas. Os resultados confirmaram a estabilidade de solventes ocluídos nos cristais de cocaína. Outro estudo feito por Esseiva *et al.*¹⁸ verificou a influência das condições de armazenamento de amostras de cocaína e a estabilidade do perfil químico dessas amostras. Nesse caso, foram testadas três diferentes condições de temperatura: a 20°C, a 37°C em uma estufa e a 5°C em uma geladeira. Além disso, para cada condição de temperatura, uma amostra foi colocada dentro de um dessecador e outras duas foram deixadas em uma bancada no laboratório, sendo que uma estava tampada e outra estava aberta. As amostras foram analisadas a cada semana por três meses e os cromatogramas das amostras apresentaram a mesma aparência. Ou seja, durante o período de estudo, temperatura, umidade e armazenamento da amostra em frasco tampado ou aberto não influenciaram no perfil químico da cocaína de forma mensurável.

2.4.2. Seleção dos solventes

Dujourdy e Besacier¹⁹ realizaram um estudo que procurou relacionar os solventes orgânicos residuais a serem analisados. Utilizaram uma população de 177 diferentes amostras de cocaína baseados em três critérios: presença quase sistemática nos 177 perfis, distribuição regular de picos em todo o perfil químico e boas propriedades cromatográficas (picos com formato gaussiano, boa resolução, etc) e de *headspace* (solventes que têm pressão de vapor suficiente para entrar no equilíbrio líquido-gás no vial).

Também foi feito um estudo empregando coeficiente de Spearman (ρ_s) para calcular as correlações entre as integrações das áreas dos solventes utilizados na produção de cocaína.¹⁹ A correlação entre solventes buscava minimizar informações redundantes provenientes, por exemplo, da reciclagem

de solventes, que é comum na produção de cocaína, onde impurezas comuns são geradas.

Além disso, coeficientes de variação (CV) foram obtidos para cada solvente dentro do grupo de amostras consideradas ligadas (por terem sido produzidas no mesmo laboratório) e no grupo de amostras não ligadas. Os solventes que apresentaram baixos CV dentro do grupo ligado e que apresentaram altos CV no grupo não ligado foram escolhidos. Esse critério é coerente, pois pequenas variações são esperadas quando amostras ligadas são comparadas. Nesse estudo, foi observado que as amostras ligadas apresentam um CV de 7 a 22%, enquanto que as amostras não ligadas tinham CV de 94 a 313%.¹⁹

Considerando os trabalhos citados anteriormente, observa-se que cada grupo de pesquisa analisa um número de solventes diferentes, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1: Publicações relacionadas a análise de solventes em sal de cocaína.

Autor(es)	Técnica	Número de solventes estudados
MORELLO e MEYERS, 1995.	HS-CG-MS	25
COLE <i>et al.</i> , 1998.	HS-CG-FID	16
CHIAROTTI <i>et al.</i> , 2002.	SPME-CG-FID	30
DUJOURDY e BESACIER, 2008.	HS-CG-FID	18

Os solventes utilizados nos estudos pelos autores citados na Tabela 1 estão mostrados na Tabela 2.

Com os solventes selecionados é possível alimentar um banco de dados contendo as integrações das áreas de cada solvente e assim gerar a “assinatura química” de cada amostra, individualizando-as. E ainda, é possível fazer comparações entre amostras com ferramentas quimiométricas e matemáticas a fim de identificar padrões entre as amostras, como por exemplo, o método de refino pelo qual a cocaína foi produzida ou estabelecer grupos com amostras que estejam ligados e não ligados.

Tabela 2: Solventes analisados em amostras de sal de cocaína por diferentes autores.

	Morello e Meyers	Cole <i>et al.</i>	Chiarotti <i>et al.</i>	Dujourdy e Besacier
SOLVENTES	acetona	acetona	acetona	Acetona
	isopropanol	isopropanol	isopropanol	Isopropanol
	éter etílico	éter etílico	éter etílico	éter etílico
	acetato de metila	acetaldeído	diclorometano	acetato de metila
	hexano	hexano	hexano	hexano
	clorofórmio	clorofórmio	clorofórmio	clorofórmio
	acetato de etila	acetato de etila	acetato de etila	acetato de etila
	etanol	etanol	etanol	dicloroetano
	benzeno	benzeno	benzeno	benzeno
	ciclohexano	ciclohexano	acetato de n-propila	acetato de n-propila
	tolueno	tolueno	tolueno	Tolueno
	isobutanol	isobutanol	metanol	isobutanol
	clorometano	clorometano	clorometano	diclorometano
	o e m-xileno	xilenos	pentano	propanol
	MEK	MEK	metilpentano	MEK
	butanol	-	MIBK	MTBE
	acetato de n-butila	-	metilciclopentano	óxido de mesitila
	acetato de isobutila	-	acetato de isopropila	acetato de isopropila
	mesitileno	-	etilbenzeno	-
	ciclopentano	-	metiletanoato	-
	metanol	-	ciclohexano	-
	óxido de mesitila	-	1,3-dimetilbenzeno	-
	1,1,1-triclorometano	-	2-butoxietanol	-
	1,1,2-triclorometano	-	decano	-
	-	-	mesitileno	-
	-	-	undecano	-
-	-	acetofenona	-	
-	-	2-butoxiacetato	-	
-	-	metilciclohexano	-	
-	-	2-butanona	-	

2.5. Identificação de grupos de amostras

Para identificação de grupos de amostras, Esseiva *et al.* afirmaram ser necessário avaliar a intervariabilidade e a intravariabilidade, onde a intravariabilidade é avaliada através da distribuição dos valores de similaridade entre pares de amostras provenientes da mesma apreensão e a intervariabilidade é avaliada através de valores de similaridade entre pares de amostras de diferentes apreensões, onde nenhuma conexão tenha sido estabelecida no contexto da lei. Assim, intravariabilidade seria avaliada para verificar se amostras são provenientes de um laboratório específico e intervariabilidade seria avaliada para verificar se amostras são de laboratórios distintos.³³

Ferramentas quimiométricas são úteis para discriminar grupos de amostras. Por exemplo, a Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*) e a Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) conseguem agrupar amostras de acordo com o método de refino pelo qual a cocaína foi produzida.¹⁹ Ver detalhamento sobre a teoria da PCA e HCA no Capítulo 5.

Na HCA as amostras são agrupadas de acordo com o grau de similaridade apresentado, sendo esse agrupamento de dados baseado na distância. Menores distâncias estão associadas a um elevado grau de similaridade, enquanto que maiores distâncias indicam o comportamento oposto. Esse método tem como desvantagem o fato de não permitir obter informações de quais variáveis contribuem para a classificação dos objetos no conjunto de dados.²⁵ Os resultados fornecidos pela HCA são organizados em dendrogramas, que expressam graficamente a distância (similaridade) entre as amostras.

A PCA permite a redução de um conjunto de dados de forma que a disposição das amostras pode ser visualizada no gráfico de escores e os principais solventes responsáveis pela separação sejam identificados pelo gráfico de pesos. Esseiva *et al.* separaram grupos de amostras produzidas em laboratórios distintos utilizando PCA, ou seja, amostras que passaram pelo mesmo método de refino foram reunidas por PCA.²⁸ Além dos estudos de HCA

e PCA, outra ferramenta quimiométrica que vem sendo utilizada para análise de solventes residuais é a Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA, do inglês *Partial Least Squares – Discriminant Analysis*).¹⁹ A PLS-DA é executada a fim de melhorar a separação entre os grupos de observações de tal forma que a máxima separação entre as classes seja obtida, também sendo possível a identificação de quais variáveis são mais importantes para essa separação.

Em trabalhos realizados por Chiarotti *et al.*²⁰ e Dujourdy e Becasier¹⁹, PLS-DA e HCA puderam discriminar as amostras quanto ao método de refino e estabeleceram modelos de classificação em função das proporções e tipos de solventes encontrados na análise cromatográfica. Chiarotti *et al.* utilizou HCA usando o quadrado da distância euclidiana entre objetos e método de Ward como critério de agregação de amostras, além disso, confirmaram a classificação obtida por HCA com PCA e obtiveram as mesmas classes. Dujourdy e Becasier realizaram um estudo para testar a separação entre os métodos de refino característicos dos três principais países da América do Sul produtores de cocaína (Colômbia, Peru e Bolívia) com HCA e PLS-DA. A HCA também utilizou o método de Ward como o critério de agregação de amostras e o coeficiente de correlação de Pearson como medida de distância. Foi possível a observação de três clusters característicos, que discriminaram amostras de acordo com os três métodos de refino: tipicamente Colombiano, tipicamente Peruano e tipicamente Boliviano.

Com os resultados obtidos utilizando PLS-DA no trabalho de Dujourdy e Besacier,¹⁹ pôde-se observar a distribuição das três classes de amostras no gráfico de escores das três primeiras variáveis latentes. Com a análise do gráfico de pesos do modelo, verificou-se que o éter etílico foi o solvente mais importante para amostras tipicamente Bolivianas, o acetato de etila para amostras tipicamente Colombianas e a acetona para amostras tipicamente Peruanas.

Outra métrica utilizada na comparação entre amostras para identificar classes foi proposta por Margot *et al.*³⁴ A função cosseno quadrado foi utilizada para esta finalidade. Nessa função, zero é o valor que caracteriza amostras

sem nenhuma ligação e 1 o valor que caracteriza uma perfeita ligação entre amostras, ou seja, as amostras apresentam grande similaridade.

Para o uso dessa função, os cromatogramas de cada amostra foram convertidos em vetores, onde as áreas dos picos cromatográficos dos solventes são as componentes vetoriais, e o cosseno quadrado do ângulo entre esses vetores foi calculado. Essa metodologia foi proposta por Margot *et al.*³⁴

Utilizando a função cosseno, Esseiva *et al.*²⁸ discriminaram amostras de heroína sendo consideradas amostras ligadas quando o valor do cosseno quadrado entre o ângulo do vetores formados pelo cromatograma, multiplicado por um fator de 100, fosse maior ou igual a 99,8. Besacier *et al.*³⁴ conhecendo *a priori* os grupos de amostras de heroína ligadas, calcularam todas as possíveis correlações dentro dos grupos de amostras ligadas (correlações intraclasse) e todas as correlações entre as amostras consideradas não ligadas (correlações interclasses). Com isso construíram um histograma e estabeleceram dois limites que minimizem o risco de falsos positivos falsos negativos que corresponderam a: 99,92 e 99,85 respectivamente.

Dujourdy e Besacier¹⁹, utilizando também a função cosseno e sabendo de antemão fizeram um estudo similar ao feito por Besacier *et al.*³⁴ para amostras de cocaína. Conhecendo *a priori* quais amostras estavam ligadas, construíram um histograma onde a curva das amostras não ligadas apresentou valores de correlação que se estendiam de 0 a 99,35 e a curva das amostras ligadas apresentaram uma faixa de correlação entre 99,37 a 100. O histograma obtido para o conjunto de dados utilizado nesse trabalho é mostrado na Figura 4. O valor limite que separa a curva das amostras de cocaína ligadas das amostras não ligadas foi escolhido de forma que minimizasse a chance de apresentar falsos positivos (0,01%) e falsos negativos (0,0%). O valor limite apresentado por Dujourdy e Besacier¹⁹ foi de 99,4 para discriminar amostras de cocaína ligadas e não ligadas.

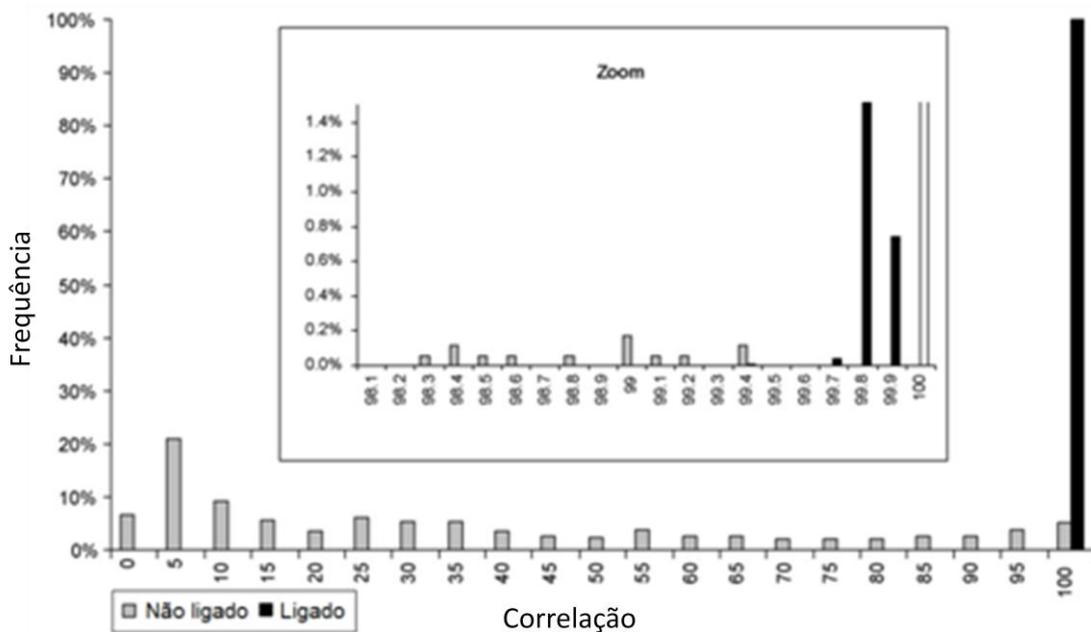


Figura 4: Histogramas dos valores da correlação do cosseno para populações de amostras de cocaína não-ligadas e ligadas. (Adaptado da referência 19).

Esseiva *et al.*³⁵ buscaram a harmonização e otimização de uma metodologia para a determinação e análise do perfil químico de cocaína. E na tentativa de escolher o melhor pré-tratamento de dados e medida de similaridade (cosseno ou Pearson), uma equação que calcula a estimativa de discriminação entre amostras ligadas e não ligadas foi descrita baseada no histograma da Figura 5/Figura 1.

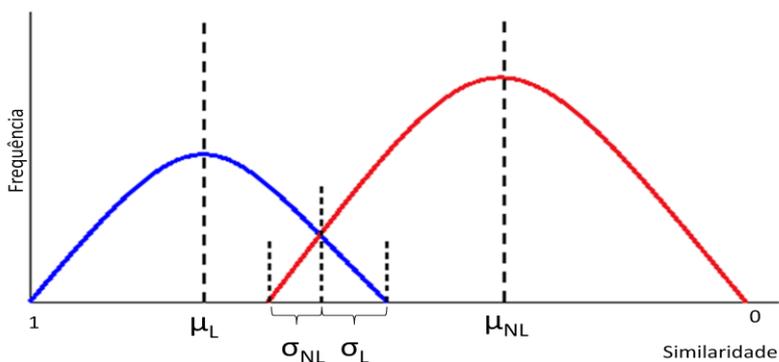


Figura 5: Histograma com configuração obtida entre as populações de amostras ligadas e não ligadas.

Com essa equação, Esseiva *et al.*³⁵ desejavam medir o quão as amostras ligadas estavam separadas das amostras não ligadas. Quanto maior o quociente, melhor a separação.

$$\text{Estimativa da discriminação} = \frac{\mu(NL) - \sigma(NL)}{\mu(L) + \sigma(L)} \quad (1)$$

Onde μ é a média e σ é o desvio padrão dos valores de cosseno quadrado ou coeficiente de Pearson.

Contudo, a Equação 1 pode ser considerada uma boa estimativa da separação entre amostras ligadas e não ligadas somente para distribuições que possam ser consideradas normais, ou seja, que sigam o modelo gaussiano, o que não se verifica no estudo de comparação entre amostras de cocaína.

Outro método comparativo que avaliou a eficiência de métodos analíticos, também proposto por Esseiva *et al.*³⁵, é a ROC (do inglês *Receiving Operating Characteristics*) e a medida da área sob essa curva (AUC, do inglês *Area Under the Curve*) em seus estudos. A AUC determina a forma mais eficiente de discriminar amostras ligadas das não ligadas considerando a melhor relação entre as taxas de falsos positivos e verdadeiros positivos.

Neste trabalho, ROC e AUC foram investigados para indicar os limites que minimizem os falsos positivos e os falsos negativos na classificação de amostras ligadas e não ligadas. Segundo Esseiva *et al.*³³, a avaliação do desempenho do método estatístico que classifica as amostras deve examinar três critérios:

- A evolução da taxa de falsos positivos, pois é necessário minimizar o risco de se fornecer informações falsas ao processo de persecução penal.
- A maximização de verdadeiros positivos, pois isso auxilia a investigação policial.
- A minimização da zona de sobreposição entre as distribuições das amostras ligadas e não ligadas, pois essa é uma região onde há mais incerteza.

2.6. Adulterantes e Diluentes da Cocaína

Na determinação de solventes residuais ainda é necessário verificar a possível influência de adulterantes ou diluentes acrescentados em amostras de cocaína. Adulterantes são compostos que possuem alguma atividade farmacológica que imita propriedades da cocaína, a cafeína é um exemplo. Açúcares são usados como diluentes para aumentar a massa de cocaína e não possuem atividade farmacológica. Ambos abaixam a pureza da cocaína. Dujourdy e Besacier¹⁹ fizeram diversas diluições com os compostos que têm sido mais frequentemente adicionados à cocaína – manitol, lidocaína, procaína, fenacetina e cafeína – e determinaram que, no caso da lidocaína, a correlação entre amostras decrescia de 99,7% para 99,1% quando a diluição excedia 75%. Isso porque a produção de lidocaína utiliza solventes orgânicos. Como a amostra analisada possui mais lidocaína que cocaína, os solventes residuais determinados são os que foram utilizados na produção da lidocaína e não na produção de cocaína. Assim a análise de solventes residuais foi recomendada apenas para amostras com menos de 75% de lidocaína.

Outro estudo de desempenho da determinação de solventes orgânicos residuais em amostras de cocaína foi realizado por Morello *et al.*²⁵ Esse estudo verificou que a presença de adulterantes alterava a sensibilidade na determinação de solventes residuais por HS-GC-MS, normalmente, diminuindo a área dos picos cromatográficos. Um aumento dos picos também pode ser observado quando o adulterante usado contém o mesmo solvente utilizado na produção da cocaína.

Capítulo 3:

Métodos de Refino

3. Métodos de Refino

3.1. Cultivo de folhas de coca

A cocaína é encontrada em diversas espécies de plantas do gênero *Erythroxylum*, mas apenas duas produzem quantidades significativas de cocaína. *Erythroxylum coca* e *Erythroxylum novogranatense*. Sendo que cada uma delas possui duas variedades: *E. coca var. coca*, produzida tipicamente na Bolívia e também no Peru; *E. novogranatense var. truxillense* e *E. coca var. ipadu*, produzidas tipicamente no Peru e Colômbia; *E. novogranatense var. novogranatense*, produzidas tipicamente na Colômbia. No entanto, em 2005, relatórios apontaram o desenvolvimento de plantas produtoras de coca geneticamente modificadas para serem mais resistentes a herbicidas, com a copa mais alta e com mais folhas.¹

A colheita da cocaína é feita a mão e logo após a colheita, as folhas de coca são expostas ao sol e ao ar livre até secar o suficiente para serem facilmente trituradas, processo que leva normalmente de 1 a 2 dias. Após a secagem ao sol, a folha fresca perde de dois terços a três quartos do seu peso devido à evaporação da água, este peso reduzido auxilia o eventual transporte. A folha seca é razoavelmente estável em relação ao conteúdo de cocaína, enquanto se for mantida fresca sua decomposição ocorrerá rapidamente. As folhas secas são moídas, embaladas e imediatamente transferidas para o mercado de coca ou a um laboratório ilícito.⁴

De acordo com o *Programme United Nations International Drug Control* desenvolvido pela UNODC, o cultivo de coca é restrito principalmente a três países da América do Sul: Peru, Colômbia e Bolívia.¹² O cultivo de folhas de coca é o primeiro pilar do narcotráfico e se constitui num grave problema socioeconômico, pois as colheitas de folhas de coca ocorrem durante todo o ano - proporcionando assim ao agricultor uma fonte contínua de renda diferentemente das flutuações de outros mercados, transformando esta atividade ilícita atraente para muitos produtores.⁴ Além do problema socioeconômico, há ainda problemas ambientais que têm sido gerados tanto pela erradicação do plantio de coca feita através do método chamado

“*Fumegación aérea*” que destrói áreas de mata amazônica juntamente com os cultivos de coca, quanto pelo próprio cultivo de coca que incentiva o desmatamento descontrolado de áreas com matas tropicais.² A destruição de plantações de coca é uma das alternativas para o combate à produção ilícita de cocaína. Outra alternativa, é combater o grupo de traficantes que fornecem substâncias químicas controladas para a elaboração ilícita de cocaína. Assim, é essencial saber como é produzida a cocaína e quais solventes têm sido utilizados para esse fim.

3.2. Produção de cocaína

Conhecimentos químicos são empregados durante todo o processo de produção da cocaína. Extração com solvente, reações ácido-base e reciclo de solventes são exemplos do que pode ser feito nesse processo. E no que se refere à produção clandestina de cocaína, deve-se lembrar que os traficantes buscam técnicas cada vez mais simplificadas que possam empregar os materiais e reagentes que estejam disponíveis para a produção da cocaína. Por isso, vários métodos de produção de cocaína estão descritos na literatura, tais como Método Simplificado Direto, Método *del Ollado*, Método de Maceração, Método Eletrotérmico, etc.^{2,4} Um procedimento geral será descrito para exemplificar a produção de cloridrato de cocaína, que envolve três etapas: a extração da pasta base a partir das folhas de coca, a purificação da pasta base e produção de cocaína base e, finalmente, a conversão da cocaína base em sal de cocaína.³⁶

A extração da cocaína a partir das folhas de coca acontece no poço de maceração, onde as folhas de coca moídas são misturadas com água e cal ou água e cimento para a extração dos alcaloides (incluindo a cocaína). Depois disso, essa mistura é filtrada. O filtrado é chamado de água rica, que é colocado em um recipiente para a separação dos alcaloides mediante a adição de solventes imiscíveis em água, tais como querosene, gasolina ou a mistura de querosene e óleo diesel. Os alcaloides são transferidos para a fase orgânica que é drenada para outro recipiente, onde água acidificada com ácido forte é adicionada. A adição de ácido converte a cocaína (composto básico) em sal de cocaína que é solúvel em água. Separa-se a fase aquosa ácida e adiciona-se

hidróxido de amônio ou carbonato de sódio diluído até que haja a neutralização da fase aquosa, com isso a cocaína retorna à forma básica e precipita. O precipitado é chamado de **pasta base de cocaína** e é separado da solução-mãe através de um filtro de tecido e posteriormente é secado.² A produção de pasta base de cocaína pode ser visualizada na Figura 6.

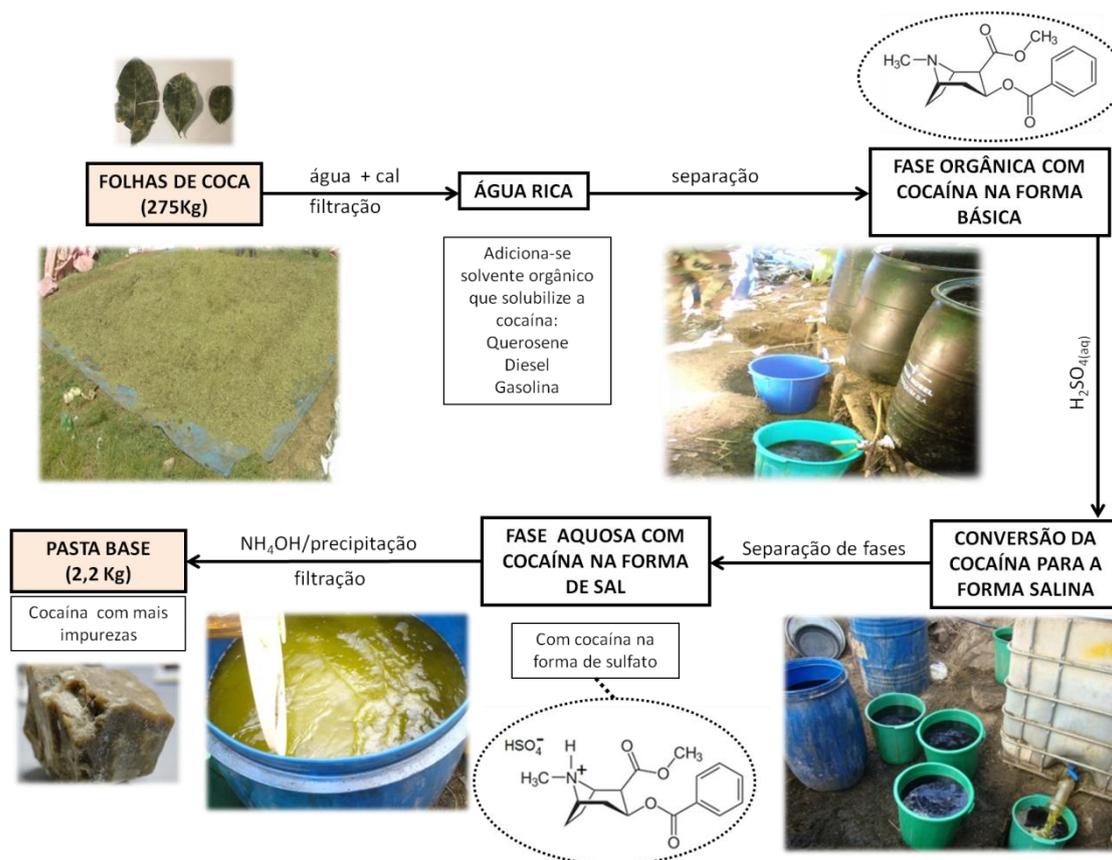


Figura 6: Passos para a produção de pasta base de cocaína a partir de folhas de coca, fotos cedidas pela Polícia Federal.

A obtenção de cocaína base acontece com a purificação da pasta base. Para isso, a pasta base é totalmente dissolvida em água acidificada com ácido sulfúrico. Uma filtração é feita para retirar resíduos sólidos. Ao filtrado é adicionado um agente oxidante para que impurezas sejam oxidadas. Vários agentes oxidantes alternativos têm sido cada vez mais utilizados. O permanganato de potássio é o agente oxidante mais popular devido a sua pronta disponibilidade no mercado e por permitir a visualização do ponto final da oxidação, observado quando a mistura adquire uma cor rosada e impurezas e alcaloides oxidáveis precipitam com uma cor marrom. A mistura de solução com cocaína acidificada e agente oxidante é filtrada e ao filtrado é adicionado uma base forte, amoníaco ou carbonato de sódio, para que haja a precipitação

da **cocaína base** que é filtrada e seca normalmente em telas de trama bem fina. A cocaína base é solúvel em solventes orgânicos e insolúvel em água. A purificação da pasta base é uma fase importante para a qualidade e, conseqüentemente, para o preço da cocaína.^{2,4} A Figura 7 mostra a sequencia de passos para a transformação de pasta base em cocaína base.

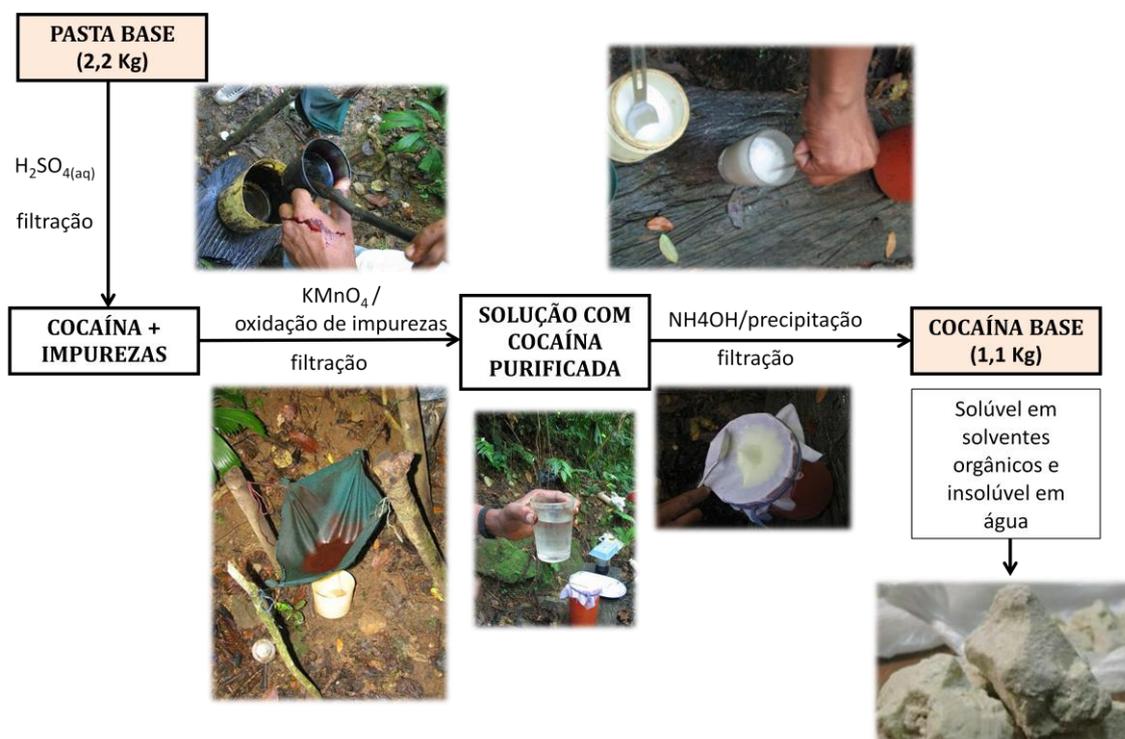


Figura 7: Passos para a produção de cocaína base a partir de pasta base, fotos adaptadas da referência 37.

A conversão de cocaína base em sal de cocaína é uma etapa que requer maiores cuidados e costuma ser feita em laboratórios clandestinos, locais diferentes de onde é produzida a cocaína base. Esta etapa pode ser dividida em dois passos. No primeiro passo, a cocaína base é dissolvida com o Solvente A (acetona, éter, acetatos ou mistura desses solventes). Essa mistura é filtrada em papel filtro para a retirada de impurezas insolúveis. No segundo passo, ácido concentrado ou alcoólico dissolvido no Solvente B (acetona ou MEK) é acrescentado no filtrado. Assim, a cocaína base reage com o ácido e forma pequenos cristais brancos, o **sal de cocaína**, que precipita, como pode ser visto na Figura 8. Se o ácido utilizado for o ácido clorídrico o sal cocaína formado pode ser chamada de cocaína cloridrato. O precipitado é seco em fornos ou com lâmpadas elétricas e prensados em forma de tijolos para sua distribuição. O sal de cocaína tem elevado grau de pureza, porém antes de

chegar ao consumidor adulterantes e diluentes são acrescentadas à cocaína visando obter maior lucro.²

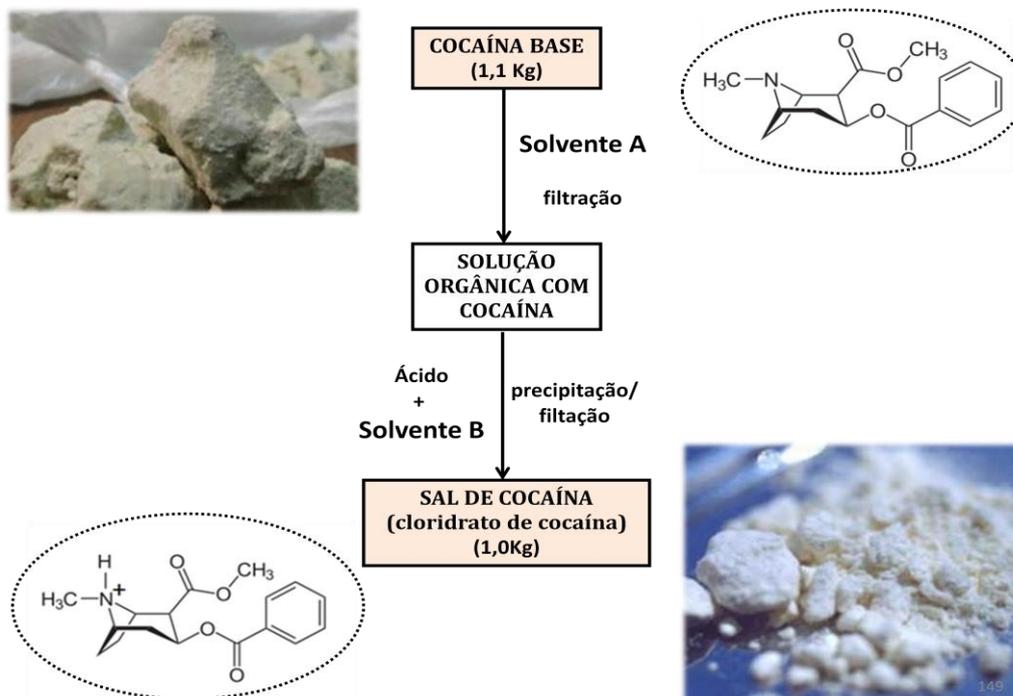


Figura 8: Passos para a produção de cocaína base a partir de pasta base, adaptadas da referência 37.

A combinação de solventes utilizados na conversão de cocaína base em sal de cocaína caracteriza o método de refino da cocaína. Estudos foram feitos e caracterizaram métodos de refino que utilizam uma combinação definida de solvente A e solvente B. Esses métodos são chamados na literatura de método tipicamente: colombiano, boliviano e peruano, que foram definidos pela Agência de Controle de Drogas dos Estados Unidos (DEA/EUA, do inglês *Drug Enforcement Agency*). A idéia inicial da DEA/EUA era estabelecer a origem geográfica das drogas ilícitas que entravam ilegalmente nos Estados Unidos e para isso fizeram um estudo com amostras apreendidas nesses três países e obtiveram os resultados dispostos na Tabela 3. Essa classificação será referida como classificação de acordo com o “método DEA”.³⁸

Collins *et al.*³⁹ e Dujourdy *et al.*¹⁹ realizaram o mesmo estudo de frequência e concentração de solventes para caracterizar amostras da Colômbia, Peru e Bolívia e obtiveram resultados consistentes com os perfis obtidos pela classificação DEA.

Tabela 3: Solventes utilizados em métodos de refino caracterizados pelo DEA/EUA.

Método de Refino	Solvente A	Solvente B
Peruano	Acetona	acetona
Colombiano	éter etílico	acetona
Boliviano	acetato*	metiletilcetona

* acetato de etila, acetato de n-propila, acetato de n-butila.

Os métodos descritos são característicos de cada país, mas não são necessariamente exclusivos desse país. Ou seja, um traficante brasileiro pode ter convertido cocaína base em sal de cocaína pelo método peruano, logo a identificação do método de refino não dá certeza da origem da droga apreendida. Além do mais, os métodos de refino podem estar combinados e ainda outros métodos não descritos na literatura podem ser utilizados.

Diversos solventes podem ser utilizados no processo de refino da cocaína, as características observadas na composição dos solventes A e B são: solvente A deve dissolver a cocaína base e solvente B deve ser miscível com o ácido utilizado e, ao mesmo tempo, não pode dissolver o sal de cocaína.⁴ Uma lista vasta de solventes que já foram encontrados em amostras de cocaína é descrita na literatura.¹⁹

Os solventes utilizados no processo de refino da cocaína normalmente são reciclados contendo impurezas: produtos de degradação da cocaína ou produtos gerados a partir de reações entre outros solventes utilizados na produção do cloridrato de cocaína e todas essas impurezas são percebidas na determinação de solventes residuais.⁴

Capítulo 4:

Headspace, Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas

4. *Headspace*, Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas

A combinação *Headspace* associada à Cromatografia Gasosa e detecção por Espectrometria de Massas (HS-GC-MS) oferece ao analista uma técnica eficaz para a determinação de traços de compostos orgânicos voláteis.⁴⁰ Nessa técnica, a amostra é colocada em um recipiente fechado; aquecida usando um perfil de temperatura conhecido e a fase vapor no recipiente é amostrada para análise. HS-GC-MS é considerada uma técnica rápida e confiável ao estabelecimento de correlações e métodos de refino entre apreensões de cocaína.²⁰ A seguir será apresentada uma breve revisão com os principais aspectos de HS-GC-MS.

4.1. Cromatografia Gasosa

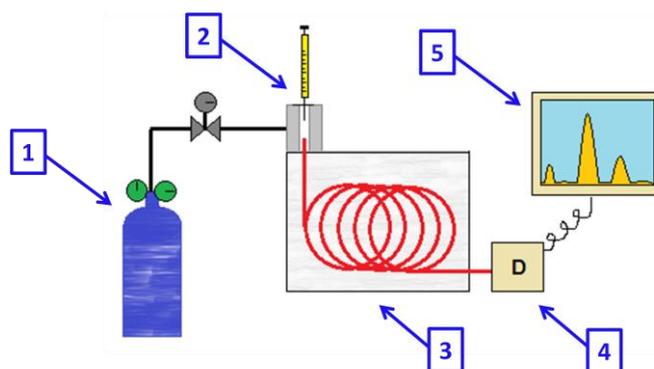
Cromatografia gasosa é uma técnica físico-química de separação de componentes em amostras, cujos analitos devem ser voláteis e termicamente estáveis. Esta técnica é fundamentada na migração diferencial dos componentes, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel (FM) e a fase estacionária (FE), ou seja, os componentes da amostra são separados por meio de interação diferencial entre as fases. Essa técnica é utilizada nas indústrias petroquímica, de alimentos e bebidas, de medicamentos, entre outras. Chiarotti e Fucci apontam sua alta resolução na separação de picos cromatográficos.²⁷

Na GC uma alíquota da amostra contendo os analitos é introduzida por um movimento de fluxo gasoso – FM ou gás de arraste (*carrier gas*) – o qual vai para dentro da coluna com a FE. Com o término da análise, os analitos surgem no final da coluna em tempos diferentes, que sob determinadas condições é característico de cada analito, enquanto a altura ou área dos picos é proporcional à sua concentração.

Se a fase estacionária é um líquido temos a cromatografia gás-líquido ou cromatografia de partição, onde o soluto se dissolve na parte líquida que envolve a superfície sólida da coluna. Se a fase estacionária é um sólido temos

a cromatografia gás-sólido ou cromatografia de adsorção, onde o soluto é retido pela superfície da FE através de interações químicas ou físicas. Em qualquer dos casos a coluna pode ser empacotada ou capilar.

A Figura 9 mostra as principais partes que constituem o cromatógrafo a gás: reservatório de gás, injetor de amostra, coluna cromatográfica, forno da coluna, detector, amplificador de sinal e registrador de sinal.



1. Reservatório de gás e controle de vazão e pressão.
2. Injetor de amostra.
3. Coluna cromatográfica e forno da coluna.
4. Detector.
5. Registrador de sinal (computador).

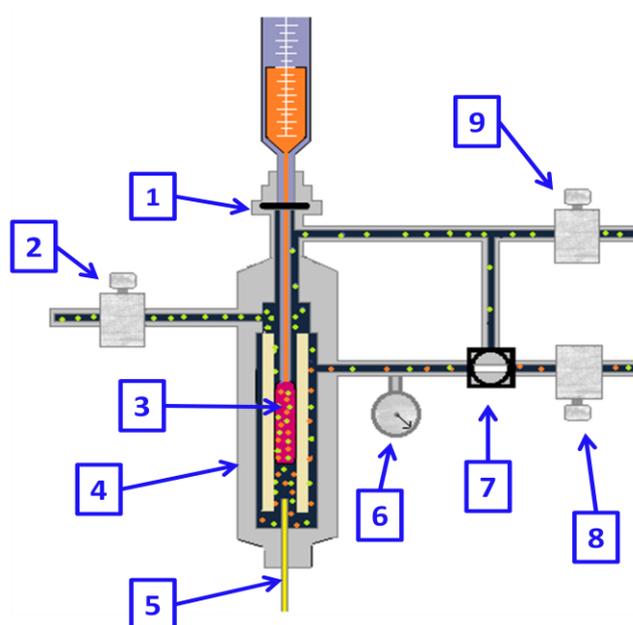
Figura 9: Principais componentes de um cromatógrafo à gás, adaptado da referência 41.

O reservatório de gás contém a fase móvel da GC. O gás deve ser inerte, normalmente nitrogênio, hélio ou hidrogênio; estar puro e ainda ser compatível com o detector, pois cada detector demanda um gás de arraste específico para melhor funcionamento. Alguns componentes necessários à linha de gás são controladores de vazão e pressão de gás e dispositivos para purificação do gás (*traps*).

O injetor de amostra deve ser capaz de oferecer meios de introdução instantânea da amostra na coluna cromatográfica para que seja obtida uma “banda” única e estreita formando picos ideais. Além disso, a quantidade de amostra não deve ultrapassar a capacidade da coluna e as amostras devem ser vaporizadas no injetor e arrastadas pela FM para a coluna, logo a temperatura no injetor deve ser controlada.

Existem diferentes tipos de injetores que devem ser escolhidos de acordo com a coluna utilizada e o modo de injeção pretendido. Alguns injetores para colunas capilares são: on-column, flash vaporization, split/splitless.

O injetor split/splitless é próprio para colunas capilares sendo o modo mais utilizado o split, ilustrado na Figura 10. Nesse modo de operação o fluxo total do gás de arraste é dividido em três partes: vazão da coluna, vazão de purga do septo e do injetor. O fluxo ou pressão através da coluna é constante bem como a vazão de purga do septo, diferentemente da vazão do injetor pode variar quando, por exemplo, o GC está acoplado com o HS.



- | | | |
|--|--|--|
| 1. Septo de silicone | 4. Corpo aquecido do injetor | 7. Válvula divisora (modo split) |
| 2. Controle de vazão do gás de arraste | 5. Coluna cromatográfica | 8. Controle de pressão na cabeça da coluna |
| 3. Misturador (liner) de vidro | 6. Manômetro (pressão na cabeça da coluna) | 9. Controle de vazão da purga do septo |

Figura 10: Injetor split/splitless, adaptado da referência 41.

A Figura 11 apresenta o funcionamento do injetor no modo *split*, onde: (A) a amostra é introduzida no injetor através do septo. (B) A amostra injetada no recheio do *liner* vaporiza-se com o gás de arraste. (C) A amostra dilui-se homogeneamente ao atravessar o *liner*. (D) A amostra divide-se em dois fluxos de saída: parte da amostra entra na coluna e parte vai para a purga do injetor.

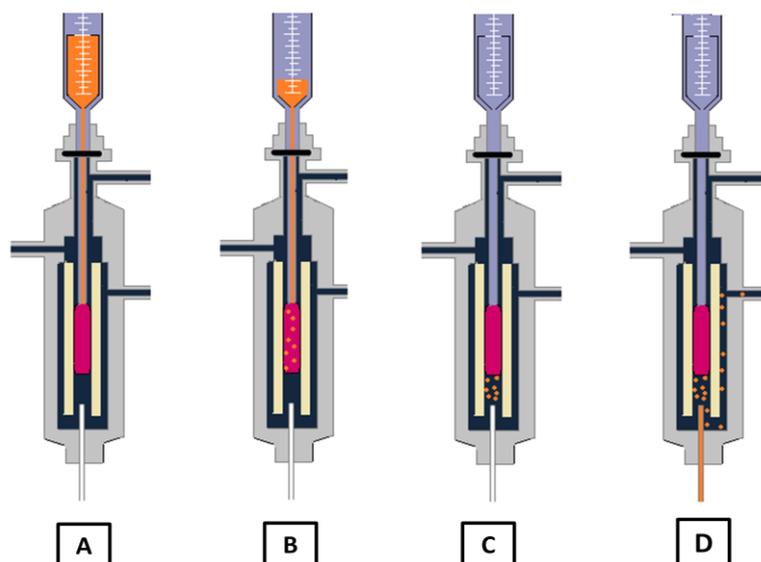


Figura 11: Esquema de funcionamento do injetor no modo split. (A) injeção da amostra, (B) vaporização da amostra, (C) homogeneização da amostra e (D) entrada da amostra na coluna. Adaptado da referência 41.

A amostra depois de injetada vai para a coluna cromatográfica, onde ocorre a separação dos componentes da amostra. A coluna deve ser escolhida conforme o tipo de amostra a ser analisada e considerando a resolução dos picos cromatográficos e a eficiência da coluna para os analitos de interesse. Resolução de uma coluna é sua capacidade de separar satisfatoriamente dois picos adjacentes. Eficiência de uma coluna é definida como sua capacidade de produzir picos estreitos e agudos. O diâmetro da coluna é o grande influenciador para a escolha do fluxo ou pressão do gás de arraste. As colunas capilares por serem mais compridas e possuírem mais pratos teóricos são mais eficientes, promovem melhor separação de misturas complexas. Porém, por ter um menor diâmetro suportam uma quantidade menor de amostra e podem saturar-se mais rapidamente.

Além do tipo de coluna utilizada e da interação com a FE, o tempo que o analito demora para percorrer toda a coluna depende também da sua pressão de vapor. Quanto maior a pressão de vapor do analito, maior a velocidade de migração na coluna e menor o tempo de retenção do analito. Sabendo que a pressão de vapor é diretamente proporcional à temperatura, o aumento de temperatura da coluna diminuirá o tempo de retenção do analito. Assim, o controle da temperatura da coluna melhora a precisão da medida do pico. Por

isso, na cromatografia gasosa é importante a instalação da coluna dentro de um forno com temperatura controlada.

Ao final da coluna cromatográfica é instalado um dispositivo capaz monitorar os compostos separados na coluna, chamado de detector. Esse dispositivo que gera um sinal elétrico registrado em um cromatograma no tempo específico de saída do analito e proporcional a sua quantidade eluída.

Na cromatografia gasosa existem diferentes detectores que devem ser selecionados de acordo com a amostra a ser analisada e são classificados como universais, seletivos e específicos.

O estudo dos cromatogramas dá informações valiosas sobre a amostra injetada o que faz da cromatografia gasosa uma técnica adequada para análise de amostras cujos compostos sejam voláteis. Contudo, cuidados com o preparo e injeção da amostra devem ser tomados para que resíduos sólidos não permaneçam no sistema de entrada.⁴² Uma vez que esta zona é aquecida, os resíduos sólidos podem, eventualmente, se decompor, criando produtos de degradação voláteis que podem entrar na coluna e, assim, aparecer no cromatograma, criando a impressão de que esses compostos estavam presentes na amostra original. Além disso, o resíduo da amostra pode interferir com injeções subseqüentes.

Devido a este problema, às vezes é necessário seguir um procedimento complexo na manipulação de amostras sólidas, como, por exemplo, fazer uma extração do analito de interesse e, em seguida, introduzir uma alíquota da solução resultante no cromatógrafo a gás. Mas há vários problemas com esta abordagem como, por exemplo, o gasto de muito tempo, a análise de amostras com baixa concentração e impurezas que podem interferir na cromatografia subsequente.

A técnica de *headspace* tem sido utilizada para eliminar esses problemas na análise de compostos sólidos, tais como cocaína.

4.2. *Headspace*

A técnica de *headspace* tem sido utilizada por possibilitar a amostragem de uma ampla gama de amostras sem degradação ou perda de analito. Stahl⁴³ foi o primeiro a usar a técnica de *headspace* em combinação com o GC. Uma amostra de gás foi tomada diretamente com seringa de 1 mL de embalagens flexíveis que foram perfuradas por um dispositivo especial. O HS-GC avançou significativamente com o trabalho pioneiro de Machata⁴⁴ que descreveu um sistema semi-automático para a determinação de etanol no sangue. O trabalho de Machata abriu o caminho para o desenvolvimento do primeiro instrumento automatizado para realizar as análises cromatográficas de amostras de *headspace* que, por sua vez, tornou possível a utilização HS-GC para a determinação de rotina do conteúdo de etanol no sangue e nos laboratórios de polícia forense.

Uma interpretação simplista para análise de *headspace* é o estudo do espaço livre acima da amostra. Para a realização desse estudo, a amostra original é colocada em um frasco fechado que é então aquecido a temperatura constante e os compostos voláteis vaporizam parcialmente da amostra para uma fase vapor acima dela. Depois de algum tempo, o sistema chega ao equilíbrio e os compostos voláteis presentes nessa fase vapor são analisados por outra técnica, como cromatografia gasosa. Ao tomar uma alíquota da fase vapor, podemos analisar os compostos voláteis sem interferência da matriz não-volátil.

A alíquota da fase vapor pode ser recolhida manualmente ou automaticamente para ser injetada no GC. Nesse último caso, a transferência da amostra é realizada por meio de pressurização do *vial* com a amostra, explicado a seguir. O equipamento utilizado no recolhimento do analito em fase gasosa também é chamado de *Headspace*.

No equipamento de *Headspace* alguns parâmetros importantes devem ser controlados. Tais parâmetros estão descritos a seguir juntamente com o esquema de funcionamento desse equipamento, sendo os mesmos importantes para minimizar variações no procedimento de injeção da amostra

no GC, o que reduz variações no tempo de retenção e na forma dos picos cromatográficos.

O tempo de equilíbrio do frasco, a velocidade de agitação do frasco e a temperatura do forno do *Headspace* são parâmetros que influenciam no equilíbrio entre a fase líquida, que contem a amostra, e a fase gasosa.

Durante o tempo de equilíbrio do frasco, o equipamento de *Headspace* encontra-se no modo *standby* onde as linhas de fluxo (em verde na Figura 12) são liberadas e o gás de pressurização (em azul na Figura 12) passa pelo loop e pela agulha para se preparar para receber a amostra e o gás de arraste (hélio) flui para o GC para proteger a coluna e detector.

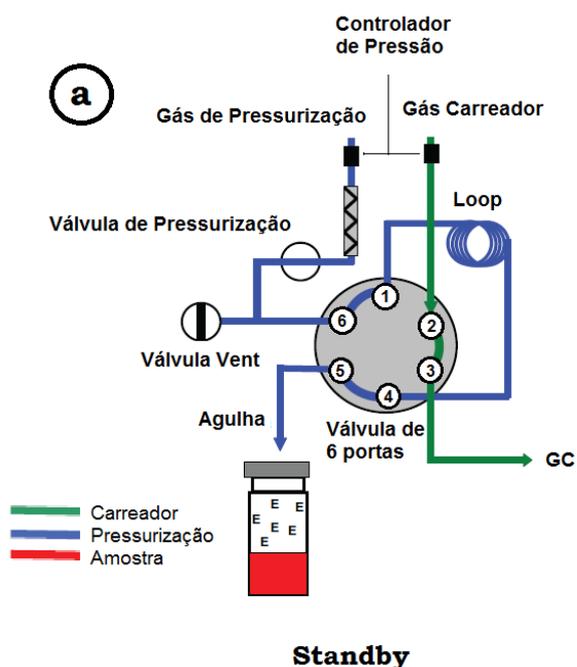
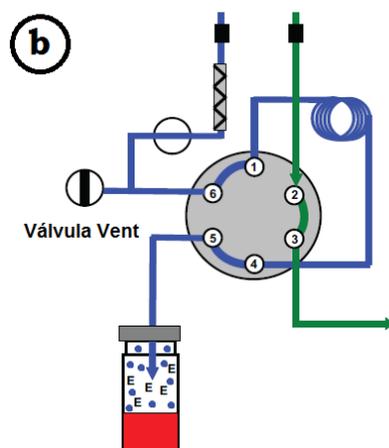


Figura 12: Estrutura de funcionamento do *headspace* no modo *Standby*: o gás de arraste (em verde) passa pela linha de fluxo e o gás de pressurização (em azul) passa pelo loop. Adaptada da referência 45.

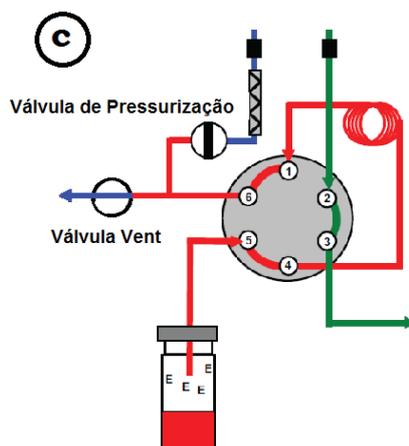
No próximo passo, ocorre a *pressurização do frasco*, onde o frasco com amostra é elevado à agulha, esta perfura o septo do frasco e o gás de pressurização preenche o frasco pressurizando-o, como observado na Figura 13. A pressurização do frasco ocorre porque a válvula *Vent*, que é a conexão do sistema com o meio externo está fechada.



Pressurização do frasco

Figura 13: Pressurização do frasco: o gás de pressurização passa pelo loop e pressuriza o frasco. Adaptada da referência 45.

Ao abrir a válvula *Vent* e fechar a válvula de pressurização, a amostra pressurizada preenche todo circuito que continha o gás de pressurização, preenchendo também o loop, como mostra a Figura 14. O tempo que a válvula *Vent* permanece aberta deve ser controlado, caso contrário a amostra será lançada no meio externo. O parâmetro que controla o tempo que a válvula *Vent* deve permanecer aberta é chamado de *loop fill time*.

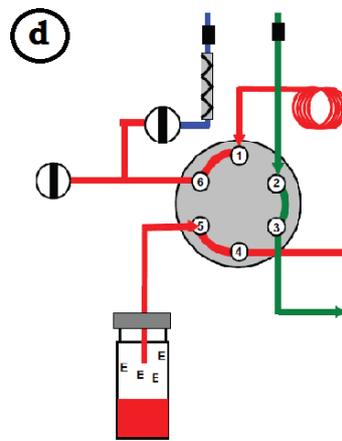


Preenchimento do loop com amostra

Figura 14: Preenchimento do loop com amostra: com a válvula *Vent* aberta, a amostra preenche o loop. Adaptada da referência 45.

Logo após o fechamento da válvula *Vent*, o sistema permanecerá por alguns instantes em equilíbrio para que haja a homogeneização da amostra por

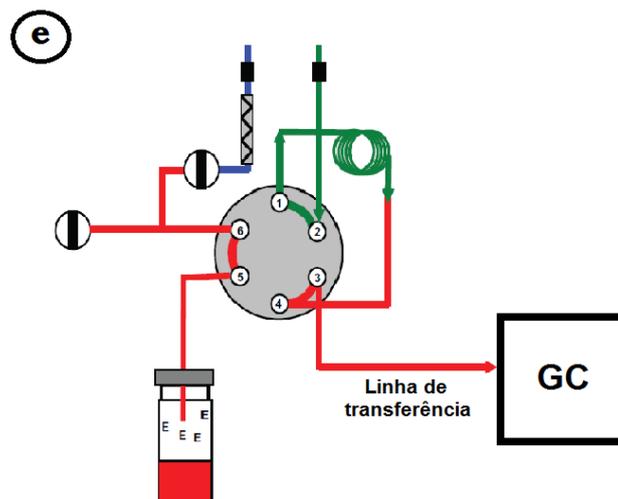
todo o sistema, esse período é chamado *tempo de equilíbrio do loop*, como mostra a Figura 15.



Equilíbrio do loop

Figura 15: Tempo de equilíbrio do *loop*: homogeneização da amostra no sistema. Adaptada da referência 45.

Por fim, as vias 1 e 2 da válvula de 6 vias se ligam por um tempo específico chamado de *tempo de injeção*, permitindo que a amostra presente no loop passe para a linha de fluxo com o gás de arraste. Esse gás leva o conteúdo de loop através da linha de transferência para a entrada do GC como mostra a Figura 16. Depois do *tempo de injeção* expirar, o HS retorna ao estado inicial (*standby*) para se preparar para a próxima amostra.



Injeção da amostra

Figura 16: Injeção da amostra no GC. Adaptada da referência 45.

4.2.1. Fundamentos teóricos do *headspace*

Em um *vial* de *headspace* tem-se duas fases: a fase com amostra (condensada) e a fase vapor (*headspace*). Tais fases são indicadas pelos subscritos L e G, respectivamente. Logo, o sistema representado por este *vial* é caracterizado pelos seguintes valores:

V_T = volume total do *vial*

V_L = volume da fase com amostra

V_G = volume da fase vapor

$$V_T = V_L + V_G \quad (2)$$

Os volumes relativos das duas fases no *vial* são caracterizados pela razão de fase (β), que representa a relação entre os volumes das duas fases presentes:

$$\beta = V_G/V_L \quad (3)$$

A distribuição do analito entre as duas fases em equilíbrio é expresso pela constante de equilíbrio termodinâmica, o coeficiente de partição (K):

$$K_i = \frac{C_{L,i}}{C_{G,i}} \quad (4)$$

onde $i = 1, 2, \dots, 33$ e representando os diferentes solventes.

O coeficiente de partição é um parâmetro fundamental que expressa a distribuição dos analitos no sistema de duas fases. Isso depende da solubilidade do analito na fase condensada: compostos com alta solubilidade terão uma elevada concentração em fase condensada em relação à fase gasosa ($C_{G,i} \ll C_{L,i}$), ou seja, o valor de K_i pode ser muito alto.⁴² Por outro lado, no caso de analitos com pouca solubilidade na fase condensada o valor de K_i será pequeno.

As equações 3 e 4 também podem ser escritas da seguinte maneira:

$$C_{G,i} = \frac{C_{O,i}}{K_i + \beta} \quad (5)$$

Em um sistema controlado e em equilíbrio, tanto K_i e β são constantes, assim, $(K_i + \beta)$ também será constante. Logo, a concentração do composto i no *headspace* é proporcional à concentração original desse composto na amostra.⁴² Assim, a área do pico obtido para um dado analito é proporcional à concentração do analito na amostra analisada:

$$A_i \propto C_{G,i} = \frac{C_{O,i}}{K_i + \beta} \quad (6)$$

Para uma concentração original da amostra $C_{O,i}$, pode-se manipular a concentração C_G da substância no *headspace* alterando os valores de K_i e β . Em outras palavras, pode-se mudar a sensibilidade do sistema de *headspace* para uma dada amostra, manipulando esses dois termos.

A alteração dos valores de K_i e β pode ser feita através de dois parâmetros: a temperatura da amostra em um *vial* de *headspace* e seu volume, respectivamente. Um aumento na temperatura, fará com que haja uma redução de K_i , logo haverá um aumento na área do pico cromatográfico. A diminuição de β promoverá um aumento na concentração do analito na fase vapor. A otimização de K_i e β foi utilizada na determinação dos parâmetros experimentais do *Headspace* utilizados nesse trabalho.

A sensibilidade do *Headspace* também pode ser alterada com a adição de um eletrólito forte à solução contendo a amostra. Um eletrólito forte é um sal com grande capacidade de dissociação. As complexas interações entre os íons do eletrólito e as moléculas da água podem alterar a solubilidade de um determinado componente nessa solução. Esta técnica, normalmente chama-se de *salting out* e diminui a solubilidade dos solventes orgânicos em água, aumentando o coeficiente de atividade γ_i de cada analito da solução. Como γ_i é inversamente proporcional ao coeficiente de partição K_i , a concentração dos solventes orgânicos na fase gasosa será aumentada.⁴²

$$K \propto \frac{1}{P_i^O \cdot \gamma_i} \quad (7)$$

Claramente, o efeito de *salting out* não é o mesmo para cada solvente, pois acrescentar sal na solução significa aumentar a força iônica da solução, aumentando assim a sua polaridade, e então solventes orgânicos polares

poderão ter pequenas interações com essa solução, diferentemente de solventes apolares que serão extraídos com mais facilidade.

4.3. Espectrometria de massas

Espectrometria de massas (MS) é uma técnica de detecção valiosa utilizada para obter informação do peso molecular e de características estruturais dos componentes da amostra. O espectrômetro de massa é um instrumento analítico capaz de converter moléculas neutras em íons e separá-las de acordo com a sua razão massa/carga (m/z), utilizando para isso campos eletromagnéticos. Como resultado é emitido um gráfico onde o eixo das ordenadas representa a intensidade do sinal dos íons e o eixo das abscissas, a razão m/z desses.^{46,47}

O processo de análise pela espectrometria de massas pode ser resumido da seguinte forma: um composto puro recebe alguma forma de energia e sofre ionização. Dependendo da intensidade da energia de ionização, o íon é fragmentado em íons de menor relação massa/carga que são detectados gerando o espectro de massas. Assim, espectrômetros de massa são constituídos por três partes principais: ionizador, analisador de íons e detector.

Na ionização por impacto de elétrons, há um bombardeamento das moléculas por um feixe de elétrons de alta energia fazendo com que os componentes de uma amostra sejam convertidos em íons. Imediatamente, no analisador de massas, os íons são acelerados em um campo elétrico ou magnético onde ocorre a separação pela razão massa/carga. Os espectrômetros de massa podem ser classificados de acordo com a natureza do analisador de massa. Finalmente um detector recebe os íons que foram separados pelo analisador, transformando a corrente de íons em sinais elétricos que são processados, armazenados na memória de um computador e mostrados em uma tela. Na Figura 17 estão apresentadas algumas combinações possíveis do tipo de introdução, ionização da amostra e analisador de íons.

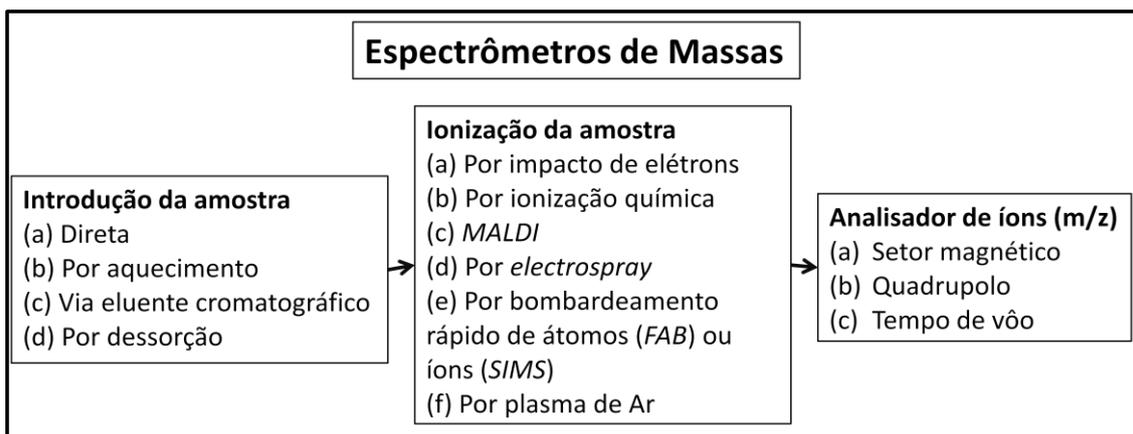


Figura 17: Exemplos de introdução e ionização da amostra e separação de íons na espectrometria de massa.

Nesse trabalho, a amostra foi introduzida via eluente cromatográfico, a ionização foi feita por impacto de elétrons e um analisador quadrupolo foi utilizado.

A ionização por impacto de elétrons é a mais comum em combinação à cromatografia gasosa. Nesse ionizador, as moléculas gaseificadas são bombardeadas com um feixe de elétrons (70 eV) de alta energia e aceleradas para o analisador, onde são defletidas por um campo magnético de acordo com a razão massa/carga para um tubo analisador e detectadas.⁴⁸

No analisador de íons quadrupolar, quatro cilindros metálicos paralelos estão sujeitos a uma corrente elétrica contínua (DC, do inglês *direct current*) e um potencial RF (rádio freqüência) alternante, gerando um campo elétrico oscilante pelo qual os íons atravessam. Íons com certa m/z têm oscilação estável de amplitude constante quando atingem o detector.^{47,48} A Figura 18 apresenta um esquema de funcionamento do analisador quadrupolar.

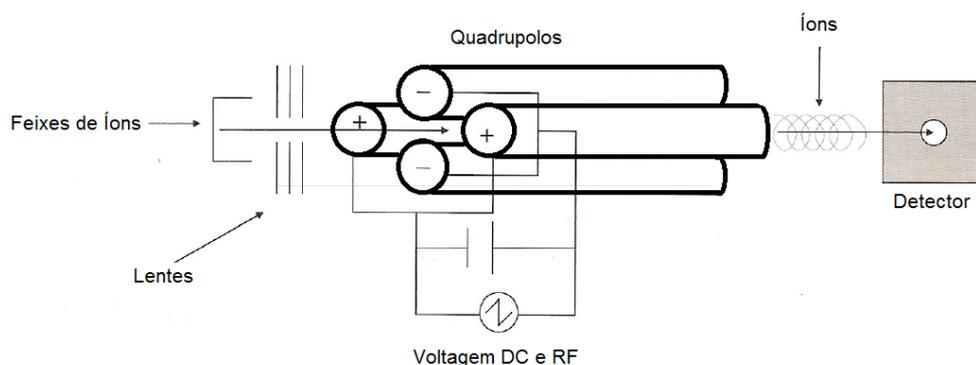


Figura 18: Esquema de funcionamento do analisador quadrupolar. Adaptada da referência 48.

Capítulo 5:

Ferramentas Quimiométricas

5. Ferramentas Quimiométricas

A quimiometria pode ser definida como área da química que desenvolve e aplica métodos estatísticos ou matemáticos na análise de dados de origem química.⁵² Nesse trabalho, ferramentas quimiométricas foram utilizadas para identificar o método de refino utilizado no processo de produção da cocaína e para comparar amostras a fim de verificar quais foram produzidas no mesmo lote de um mesmo laboratório.

5.1. Identificação do método de refino

A diferença entre um método de refino e outro pode ser determinada pelo tipo de solvente utilizado no processo de produção da cocaína. Assim, a identificação dos métodos de refino realizada nesse trabalho se baseia nos solventes residuais encontrados nas amostras de cocaína, conforme já proposto em outros trabalhos na literatura e pela classificação DEA.^{19,20,27,38,49}

Nem todos os solventes residuais encontrados numa amostra são importantes para a determinação do método de refino, pois alguns podem ser frutos de degradação ou impurezas. Por isso, a utilização de ferramentas quimiométricas que sumarizem os dados com muitas variáveis em um conjunto com um número menor de variáveis e interpretação mais simples é importante. A análise exploratória de dados é uma abordagem que tem essa finalidade e pode ser feita de diversas maneiras.⁵²

A identificação dos métodos de refino foi feita nesse trabalho utilizando a Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Components Analysis*) e Análise de Hierárquica de Agrupamentos (HCA, do inglês *Hierarchical Clusters Analysis*) como ferramenta para a análise exploratória de dados.

5.1.1. Análise de Componentes Principais (PCA)

A Análise de componentes principais é convenientemente utilizada quando os dados obtidos apresentam uma grande quantidade de variáveis, de forma que é difícil a identificação das informações relevantes. Assim, a PCA é um procedimento matemático que tem por finalidade básica a redução do

tamanho de um conjunto de dados onde há um grande número de variáveis inter-relacionadas. Para efetuar tal redução, sem perda de informações, a matriz de dados original passa a ser representada por novas variáveis, ortogonais entre si e direcionadas em função da distribuição espacial dos dados, essas variáveis são chamadas de componentes principais (PC, do inglês *Principal Components*). Tais componentes são ordenadas de forma que as primeiras guardam a maior parte da variância presente nas variáveis originais. A matriz de dados (X) é decomposta numa soma de matrizes que não podem mais ser reduzidas como mostra a Equação 8, onde F é o número de PC e E são os resíduos.

$$X = M_1 + M_2 + M_3 + \dots + M_F + E \quad (8)$$

Cada uma dessas matrizes (M) pode ser expressa como o produto de dois vetores: escores (T) e pesos (P):

$$M_F = T_F P_F^T \quad (9)$$

Logo,

$$X = T_1 P_1^T + T_2 P_2^T + \dots + T_F P_F^T + E \quad (10)$$

Os escores correspondem às coordenadas de cada amostra projetadas no espaço definido pelas PCs, como pode ser observado na Figura 19, e os pesos a contribuição de cada variável original na PC.⁵⁰

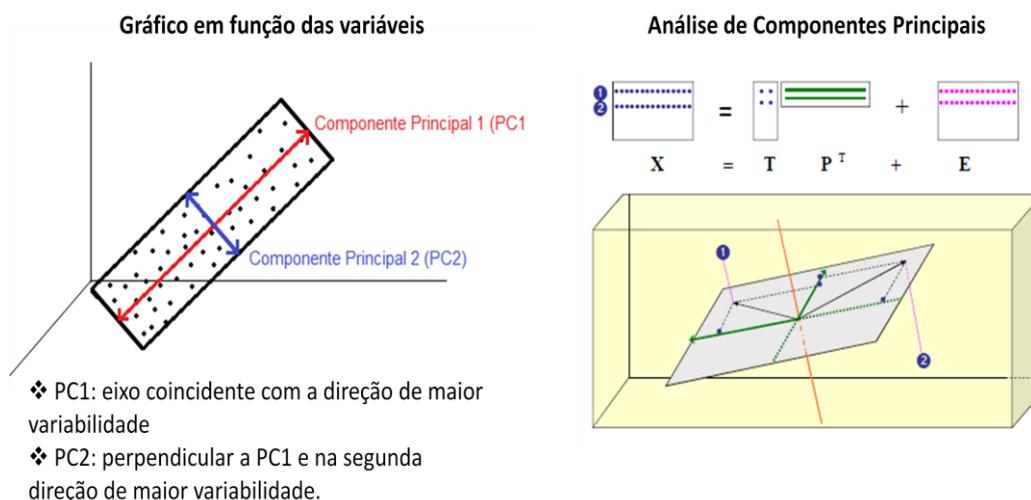


Figura 19: Esquema gráfico da obtenção das componentes principais e como a matriz (X) é decomposta em pesos (P) e escores (T), adaptada da referência 52.

A PCA é um dos métodos de reconhecimento de padrões não supervisionados, os quais são usados para examinar similaridades ou diferenças entre amostras.⁵¹ Um método não supervisionado é aquele que não exige o conhecimento prévio sobre as categoriais (ou classes) das amostras que irão ser modeladas.⁵²

5.1.2. Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA)

A HCA interliga amostras de acordo com suas similaridades que são baseadas na distância entre amostras. Existem várias maneiras de calcular a distância de um objeto i ao agrupamento k , tais como a ligação por média ponderada; ligação simples; ligação completa; ligação centróide (k *means*) ou método de *Ward*.^{52,53} Nesse trabalho foi utilizado o método de *Ward* como critério de agregação, um dos métodos mais empregados atualmente. No método de *Ward*, os agrupamentos são formados de modo que a soma de quadrados dos desvios em relação a cada centróide seja a menor possível considerando todos os agrupamentos, conforme a Equação 11.

$$d_{(r,s)} = \sqrt{\frac{2n_r n_s}{(n_r + n_s)}} \|\bar{x}_r - \bar{x}_s\|^2 \quad (11)$$

Onde,

$\|\bar{x}_r - \bar{x}_s\|^2$ é a distância Euclidiana,

x_r e x_s são os centróides dos agrupamentos r e s ,

n_r e n_s são os números dos elementos nos agrupamentos r e s .

Um resultado típico desta abordagem é uma árvore hierárquica, denominada dendrograma, como no exemplo ilustrado na Figura 20. Os dendrogramas são especialmente úteis na visualização de semelhanças entre amostras ou objetos representados por pontos em espaço com dimensão maior do que três, onde a representação de gráficos convencionais não é possível.⁵⁴

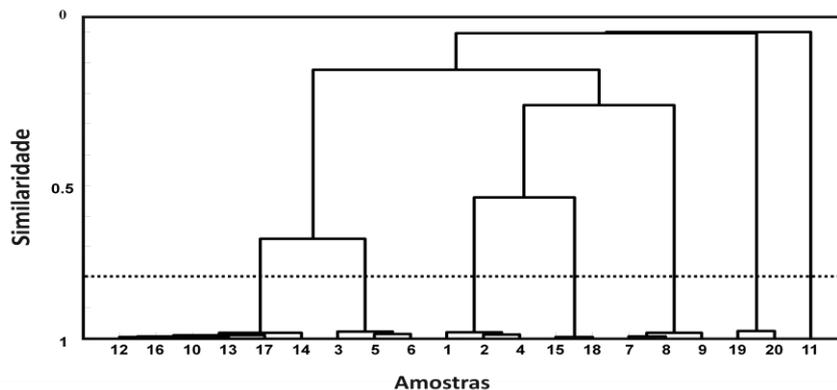


Figura 20: Exemplo de dendrograma, onde pode-se observar a clara distinção de 7 classes ou agrupamentos.

O dendrograma mostra a melhor separação existente entre as amostras e ainda, mostra todos os possíveis agrupamentos de amostras, ou seja, todas as classes que podem ser formadas. Por isso, HCA também foi utilizada para identificar grupos menores de amostras que possivelmente estão ligadas. No dendrograma quanto mais longos forem os ramos que distinguem uma classe da outra, melhor será a separação entre essas classes. Essa análise foi considerada observando todo o dendrograma para obter classes que se assemelham conforme o método de refino utilizado. No entanto, para identificar as classes de amostras produzidas no mesmo laboratório é necessário examinar a parte mais ramificada do dendrograma, pois nessa região é possível visualizar com mais detalhe as semelhanças entre amostras.

5.2. Comparações entre amostras

A fim de identificar as redes do tráfico de drogas muitos pesquisadores têm desenvolvido metodologias para comparações de apreensões de drogas ilícitas.³³ Esseiva *et al.*⁵⁵ estabeleceram com sucesso correlações entre amostras de heroína comparando seis tipos de impurezas presentes nas amostras de heroína que foram determinadas por GC-FID. Dujuordy e Besacier¹⁹ fizeram um estudo com amostras de sal de cocaína, apreendidas na França comparando solventes orgânicos residuais determinados por HS-GC-FID e estabeleceram limites que determinavam quando havia correlação entre apreensões. Em ambos os trabalhos o quadrado da função cosseno foi utilizado para calcular correlações entre amostras. Mas os estudos apresentados até hoje utilizaram metodologias que dependiam de informações

policiais que mostravam quais amostras pertenciam ao mesmo grupo, ou seja, quais amostras estavam ligadas.

O primeiro passo para comparar apreensões é conhecer as amostras apreendidas, ou seja, identificar suas características. Isso é possível fazendo a análise de perfil dessas amostras, que se baseia, em linhas gerais, na caracterização físico-química da droga em termos da determinação de sua pureza, identificação e quantificação de alcaloides minoritários, diluentes, adulterantes e solventes residuais.

O segundo passo para comparar apreensões é escolher uma métrica que possa medir similaridade entre amostras. Vários coeficientes podem medir o grau de correlação entre variáveis. Algumas métricas já testadas para correlação entre amostras ou variáveis são: correlação com base na função cosseno,⁵⁶ o coeficiente de Pearson,^{34,56} método de quociente,⁵⁵ distância euclidiana,^{34,57,58} o coeficiente de Canberra,⁵⁹ etc. Neste trabalho, a métrica para correlação entre amostras estudada foi o quadrado da função cosseno.

Finalmente, com a métrica de correlação escolhida, é necessário gerar um banco de dados com comparações entre todas as amostras para que estudos populacionais sejam feitos.

Estudos populacionais podem identificar a melhor abordagem estatística para a análise da matriz de dados, que permitiria o estabelecimento de valores limites e determinaria o valor de correlação onde as amostras podem ser consideradas ligadas, o que auxiliaria o trabalho de perícia da Polícia Federal e a análise nos diversos laboratórios espalhados pelo país.

5.2.1. Função Cosseno

A função cosseno é uma ferramenta capaz de determinar correlações entre amostras de drogas ilícitas. Essa correlação é feita calculando o cosseno quadrado do ângulo α existente entre dois cromatogramas transformados em vetores. O cosseno quadrado varia entre 0 a 1, quanto mais próximo de 1 maior a correlação entre duas amostras.

Para utilizar a função cosseno é necessário transformar dados de áreas cromatográficas em vetores. Considerando as áreas de cada solvente presente numa amostra como componentes é possível traçar um vetor único que caracterize a amostra. A comparação de dois vetores representantes de duas amostras permite o cálculo do cosseno quadrado do ângulo entre eles. Considere, por exemplo, duas amostras que possuam os mesmos 3 solventes residuais em concentrações distintas. Essas amostras podem ser representadas num espaço tridimensional por um vetor (L) e (K), como mostra a Figura 21.

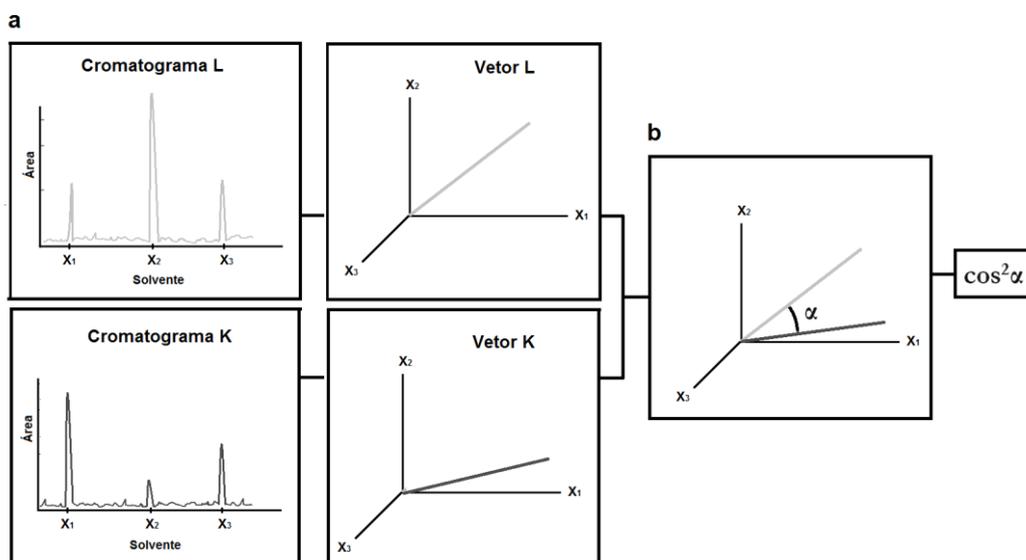


Figura 21: (a) Construção de vetores a partir do cromatograma. (b) Comparação de vetores característicos de duas amostras.

Sabendo que o produto escalar desses dois vetores hipotéticos é:

$$\vec{L} \cdot \vec{K} = \|\vec{L}\| \times \|\vec{K}\| \times \cos \alpha \quad (12)$$

Logo:

$$\cos^2 \alpha = \frac{(\vec{L} \cdot \vec{K})^2}{\|\vec{L}\|^2 \times \|\vec{K}\|^2} \quad (13)$$

Onde:

$$\vec{L} \cdot \vec{K} = l_1 k_1 + l_2 k_2 + \dots + l_n k_n \quad (14)$$

$$\|\vec{L}\| = \sqrt{l_1^2 + l_2^2 + \dots + l_n^2} \quad (15)$$

Assim, o cosseno quadrado de α pode ser calculado da seguinte maneira:⁵⁵

$$\rho = \cos^2 \alpha = \frac{(l_1 k_1 + l_2 k_2 + \dots + l_n k_n)^2}{(l_1^2 + l_2^2 + \dots + l_n^2) \times (k_1^2 + k_2^2 + \dots + k_n^2)} \quad (16)$$

5.2.2. Correlações intra e interclasses

Com o quadrado de função cosseno (ρ) é possível alcançar um dos objetivos iniciais: determinar as correlações entre todos os pares de amostras. No entanto, é necessário identificar valores limites de ρ que discriminam amostras ligadas das não ligadas. Para isso, construiu-se um dendrograma e estudos correlações intra e interclasses das amostras de sal de cocaína foram feitos a fim de avaliar os agrupamentos sugeridos pela HCA.

O estudo do comportamento dos valores de ρ dentro de cada classe, ou seja, o estudo intraclasse, avalia as medidas de similaridade entre as amostras agrupadas pela HCA dentro de uma mesma classe. Já o estudo de ρ entre as classes, correlações interclasse, avalia o grau de similaridade existente entre classes distintas agrupadas pela HCA. Na Figura 22 são apresentadas as correlações interclasse e intra classe entre 5 amostras divididas em dois agrupamentos.

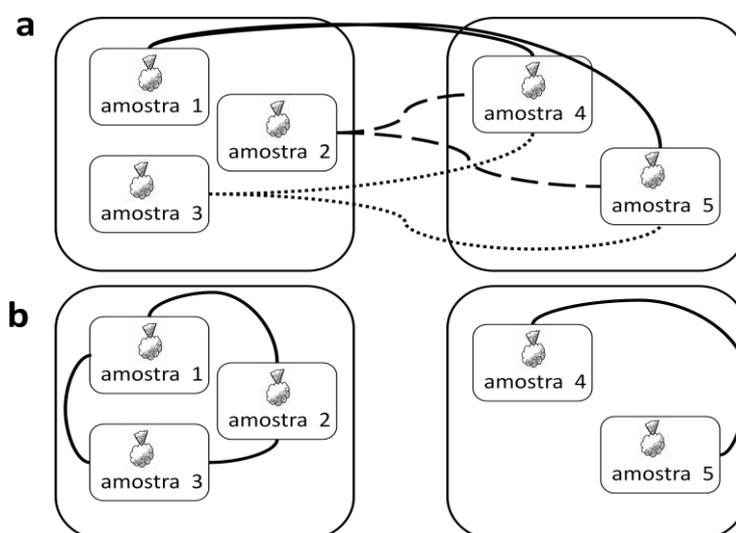


Figura 22: Correlações de amostras (a) inter e (b) intraclassas.

A visualização da distribuição dos coeficientes de correlação presentes para cada número de classes dá uma visão geral da classificação das amostras ligadas e não-ligadas. Histogramas são construídos para essa visualização.

5.2.3. Histogramas

Histogramas permitem identificar os valores de ρ característicos onde ocorre a separação entre amostras ligadas e não ligadas. São gráficos que no eixo das abscissas tem-se a variável de interesse, no caso, o valor de ρ , e na ordenada, a frequência normalizada dessa variável.

Na construção do histograma de amostras de cocaína duas curvas são plotadas, uma com as correlações interclasses e outra com correlações intra classe. Obtendo-se as curvas de amostras não ligadas (correlações interclasse) e de amostras ligadas (correlações intraclasse), respectivamente.

Histogramas podem ter a forma gaussiana e não-gaussiana, sendo que o formato típico para correlações entre amostras de cocaína é o não gaussiano, como mostra a Figura 23. O formato do histograma traz diversas informações sobre o comportamento das classes e mostra tendências que indicam se o número de classes apresentado é maior ou menor que o número verdadeiro de classes.

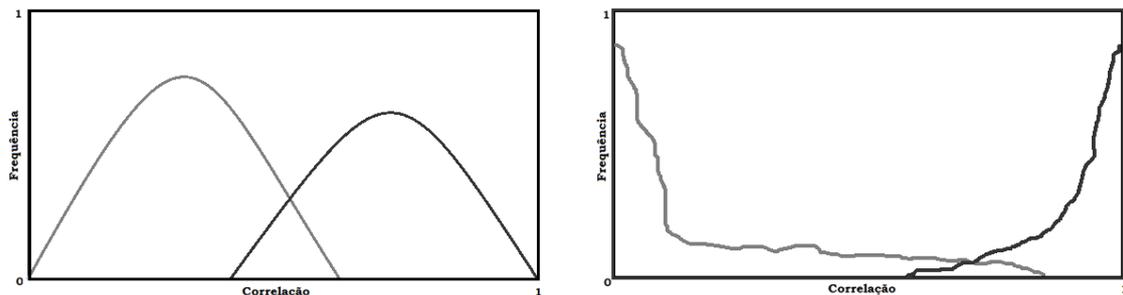


Figura 23: (a) Histograma com curvas gaussianas. (b) Histograma com curvas não-gaussianas, típicas para correlações entre amostras de cocaína.

Em geral, quatro resultados são possíveis para a comparação ou classificação de amostras, sendo que dois desses resultados são erros, conforme mostrado na Tabela 4. Se o cosseno quadrado entre amostras for alto e as amostras forem ligadas (tiverem sido produzidas no mesmo laboratório), temos como resultado o chamado verdadeiro positivo (VP). Se o cosseno quadrado entre amostras é alto e as amostras não forem ligadas, o resultado é chamado de falso positivo (FP). Amostras com baixo cosseno que não são ligadas são chamadas de verdadeiro negativo (VN) e amostras com baixo cosseno que são ligadas são as chamadas falso positivo (FP).

Tabela 4: Possíveis resultados para comparações entre quaisquer amostras.

Cosseno Quadrado	POPULAÇÕES	
	LIGADAS	NÃO-LIGADAS
Alto	Verdadeiro Positivo (VP)	Falso Positivo (FP)
Baixo	Falso Negativo (FN)	Verdadeiro Negativo (VN)
Total de Resultados	VP + FN = 1	FP + VN = 1

Quanto menor for o erro de falsos negativos e falsos positivos melhor será a classificação de amostras, como pode ser observado na Figura 24.

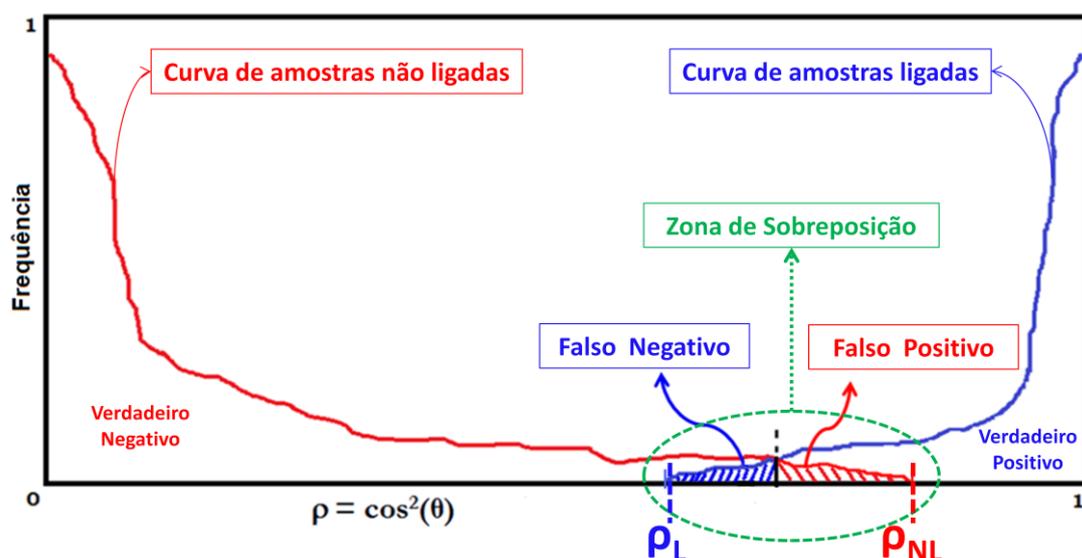


Figura 24: Histograma com curva de correlações entre amostras ligadas e não ligadas, erros falsos positivos e falsos negativos, zona de sobreposição entre ρ_L e ρ_{NL} .

Diminuir a taxa de falsos positivos e falsos negativos é para auxiliar a investigação policial sem descartar informações relevantes. Do ponto de vista judicial, é importante reduzir esses erros para minimizar o risco de fornecer informações falsas ao processo de persecução penal, não incriminando um inocente nem deixando impune um culpado. Diminuir essas taxas é o mesmo que minimizar a zona de sobreposição entre as curvas dos histogramas de amostras não-ligadas e ligadas. A menor zona de sobreposição ocorre quando o número de classes de amostras agrupa somente amostras que realmente estão ligadas, ou seja, amostras que foram produzidas em um mesmo lote e laboratório.

Um histograma é plotado para cada número de classe obtido pela HCA. Um critério matemático que permite a comparação das diversas áreas de sobreposição das curvas dos histogramas com diferentes números de classe é a curva ROC (do inglês, *Receiving Operating Characteristics*).

5.2.4. ROC – *Receiving Operating Characteristics*

A análise das curvas ROC é uma técnica utilizada para avaliar classificadores. A curva ROC é uma demonstração bidimensional da eficiência de um classificador, ou seja, é uma curva que plota todos os possíveis valores limites de um classificador.⁶⁰ No caso do presente trabalho, o classificador utilizado é o quadrado da função cosseno.

Para um dado número de classes a curva de ROC é construída plotando a taxa de verdadeiros positivos (VP) em função de falsos positivos (FP). Em termos de sensibilidade e especificidade a ROC é construída plotando (SE) em função de (1-SP) para diferentes ρ , Erro! Indicador não definido. como mostra a Figura 25.

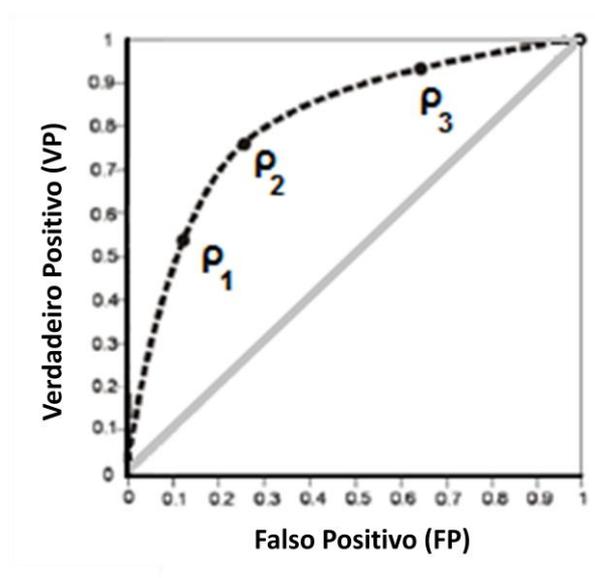


Figura 25: Exemplo de curva ROC, onde está plotado (1-Sp) na abscissa e (Se) na ordenada.

A Figura 26 mostra histogramas ilustrativos com diferentes sobreposições e suas respectivas curvas ROC onde cada ponto da curva corresponde a um par específico de sensibilidade e especificidade sendo que $\rho_1 > \rho_2 > \rho_3$.

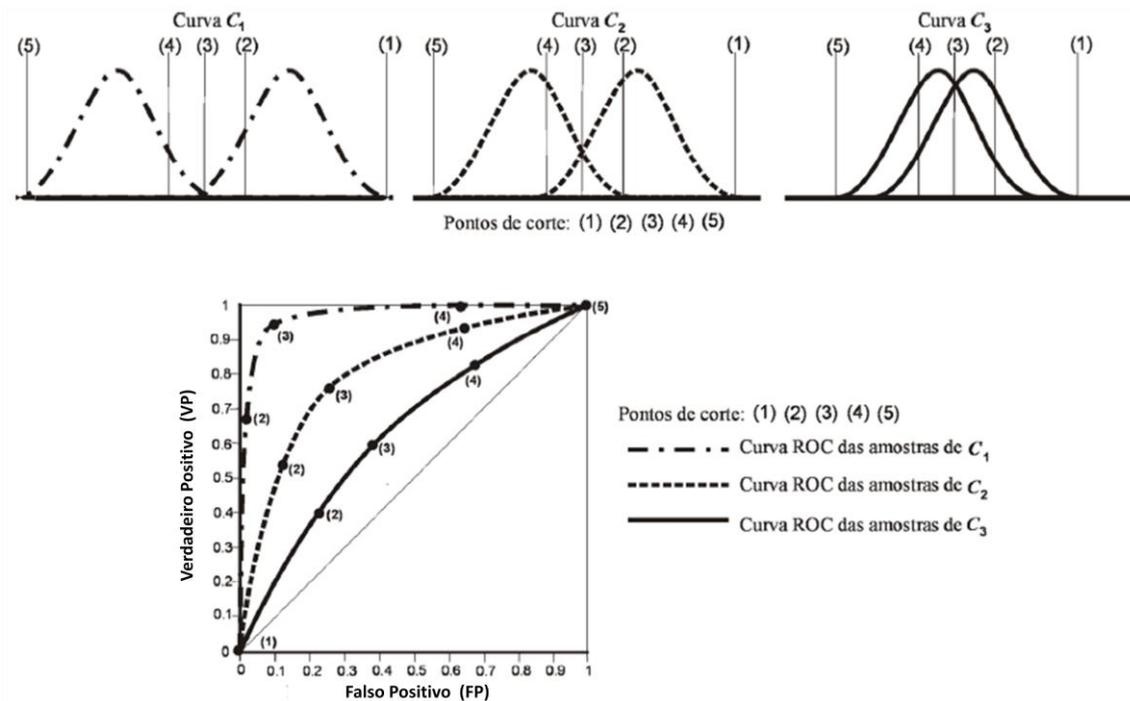


Figura 26: Curvas de ROC para histogramas com diferentes sobreposições, adaptada da referencia 61.

Comparar diferentes curvas de ROC significa avaliar a zona de sobreposição entre as curvas de amostras ligadas e não ligadas. As curvas com menor sobreposição serão as estão mais próximas ao canto superior esquerdo, ou seja, mais próximas do ponto (0,1). A área sob a curva ROC (AUC, do inglês *area under the curve*) é uma medida do desempenho da ROC, ou seja, mede indiretamente a separação que ocorre entre as curvas de amostras ligadas e não ligadas. Erro! Indicador não definido. Na Figura 27 pode-se observar a AUC numa curva ROC.

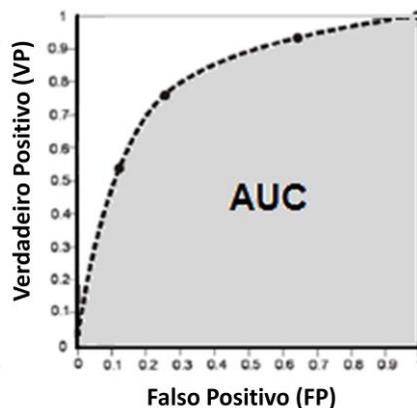


Figura 27: AUC para uma curva ROC.

Em experimentos, geralmente há apenas um conjunto finito de pontos para a construção da curva ROC e por isso só é possível encontrar uma aproximação da área sob a curva. Existem várias maneiras de calcular a área sob uma curva ROC, a que foi utilizada nesse trabalho foi a integração trapezoidal. A integração trapezoidal é uma aproximação da AUC mediante a área de trapézios.

O valor máximo para a AUC é de 1, indicando assim uma separação perfeita das distribuições. Um valor de AUC de 0,5 indica que o número de classes não é discriminativo. Nas curvas apresentadas na Figura 26, a que apresenta maior AUC é a que possui menor área de sobreposição, ou seja, é a que representa o melhor classificador. Portanto, a escolha do número de classes que melhor classifique amostras de cocaína produzidas no mesmo laboratório considera o maior valor de AUC encontrado ao comparar todas as curvas ROC construídas para os diferentes números de classes.

A área sob a Curva ROC é uma medida capaz de determinar o melhor número de classes. No entanto, em uma curva ROC, cada p é considerado possível. Logo, a escolha para o valor limite é arbitrária e deve levar em conta outros critérios.⁶² Neste trabalho, os valores limites de p foram escolhidos considerando a chance de obter 2% de erro nos falsos negativos (valor utilizado no LPS/França⁶³) e nenhum falso positivo. Assim, a região de incerteza do método, ou seja, a zona de sobreposição no histograma está compreendida entre a probabilidade de 2% da curva das amostras ligadas ($\rho_{L(2\%)}$) e o final da curva das amostras não ligadas (ρ_{NL}), como mostra a Figura 28. Dessa forma, todas as amostras que possuem p menor que $\rho_{L(2\%)}$ são consideradas não ligadas, amostras com p maior que ρ_{NL} são consideradas ligadas e amostras com $\rho_{L(2\%)} < p < \rho_{NL}$ estão na região que necessita de mais informações, como, por exemplo, investigações policiais.

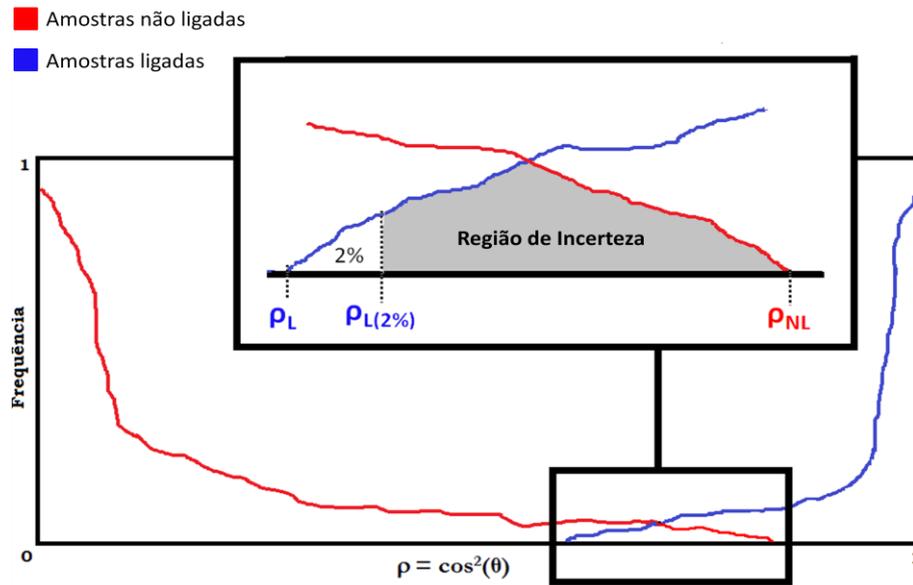


Figura 28: Histograma ilustrando os valores limites para a classificação de amostras e a zona cinza ou região de incerteza, onde haverá dúvida sobre a classificação de amostras.

Capítulo 6:
Materiais e Métodos

6. Materiais e Métodos

Todas as análises feitas no desenvolvimento desse trabalho foram realizadas no Serviço de Perícias em Laboratório e Balística do Instituto Nacional de Criminalista do Departamento de Polícia Federal em Brasília (SEPLAB/INC/PF).

6.1. Equipamentos

As análises foram conduzidas em um sistema *Headspace* (*Agilent Technologies G1888*) acoplado ao cromatógrafo a gás (*Agilent Technologies 6890N*), com detector seletivo de massas operando a 70eV (*Agilent Technologies 5973 Inert*). Foi utilizada uma coluna HP-PONA (100% metil siloxano) com dimensões de 50 m x 200 µm x 0.5 µm (*J & W Scientific*).

As amostras foram pesadas em uma balança analítica *Mettler Toledo* modelo *XP205-Excellence Plus* e colocadas em frascos de *headspace* de 22 mL da *Agilent Technologies*, com septos de silicone e lacres de alumínio.

O preparo de soluções salinas, soluções de padrão interno e soluções para validação do método foram feitos utilizando balões volumétricos *Pyrex* de 10, 25, 50, 100 e 500 mL; agitador magnético (*Fanen modelo 258*) e banho-maria com circulação interna de água (*Nova Técnica NT 248*). Os volumes das soluções foram medidos com micropipetas de volume variável de 1- 10 mL e micropipeta de volume variável de 20 – 100 µL e de 200 – 1000 µL.

6.2. Reagentes

Todos os solventes orgânicos utilizados foram adquiridos das empresas *Sigma-Aldrich*, *Aldrich*, *Merck*, *Vetec*, *Fluka*, *SAFC*, *Tedia*, *Synth* e *J.T. Baker*. A pureza dos solventes utilizados foi confirmada por um cromatógrafo a gás com detecção por espectroscopia de massas (GC-MS) e nenhum solvente precisou ser purificado.

A solução salina foi preparada utilizando água ultra-purificada obtida com equipamento *Milli-Q Millipore*[®] e sulfato de sódio adquirido na empresa *Cinética*.

6.3. Amostras

Um total de 491 amostras de sal de cocaína encaminhadas por diversos Estados da Federação para o Laboratório da Polícia Federal de Brasília para análise de Perfil Químico foram analisadas. Estas amostras foram obtidas em aproximadamente 70 apreensões feitas pela Polícia Federal Brasileira em diferentes localidades no período de 2007 a 2010. A Figura 29 apresenta um mapa com o número de amostras analisadas por Estado, onde observam-se algumas amostras apreendidas na fronteira entre Mato Grosso do Sul e Paraguai. Grandes apreensões, como uma feita no Porto de Paranaguá-PR com 138 amostras correspondendo a mais de 3 toneladas de cocaína apreendidas, foram incluídas nas análises. Para todas essas amostras o método de refino característico foi determinado por HS-GC-MS.



Figura 29: Mapa com a distribuição do número de amostras analisadas por HS-GC-MS.

No estudo de determinação dos valores limites que indicam quando amostras estão ligadas ou não, foi necessário selecionar subconjuntos de amostras, mostrados na Figura 30, a partir das 491 amostras analisadas para o desenvolvimento e aplicação do método.

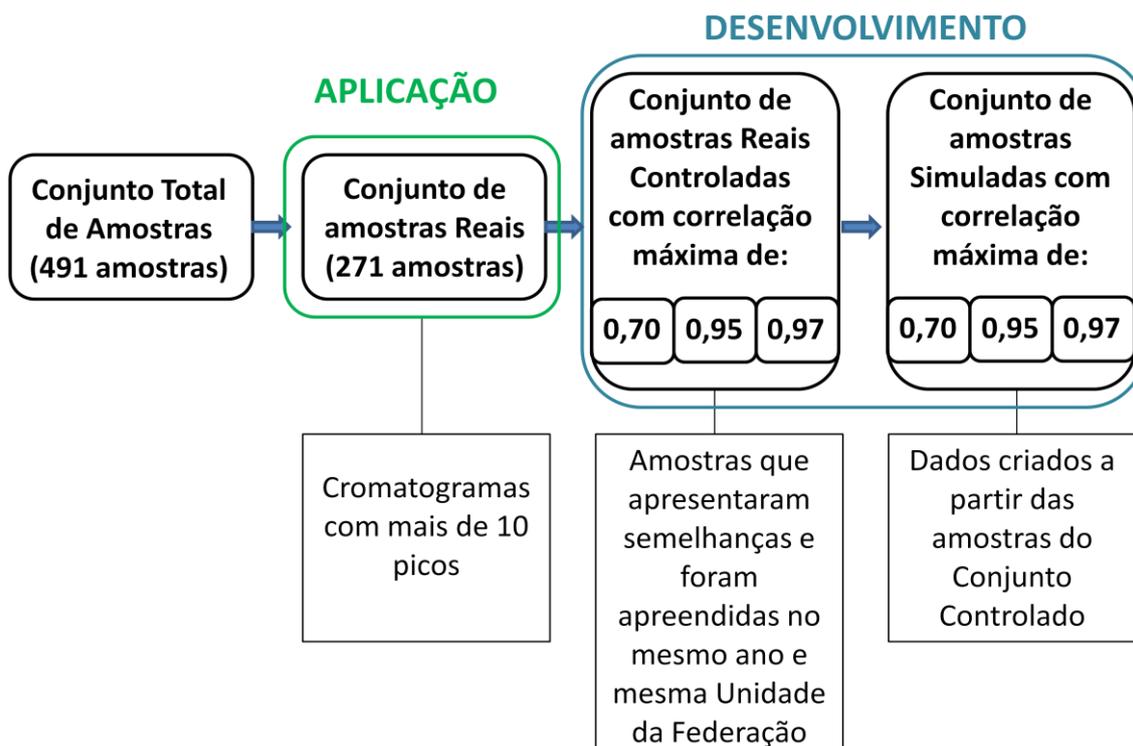


Figura 30: Conjuntos e subconjuntos de amostras analisados para desenvolvimento e aplicação do método proposto.

O primeiro conjunto continha 271 amostras e era composto apenas por amostras que apresentavam mais de 10 picos cromatográficos na determinação de solventes residuais por HS-CG-MS. Essa seleção foi feita para diminuir possíveis correlações falsas, pois quanto menor o número de picos cromatográficos, menor é o grau de confiança no estabelecimento de correlações. Esse subconjunto de amostras com mais de 10 picos cromatográficos foi chamado de Conjunto de Amostras Reais e foi utilizado na aplicação do método de determinação de valores limites proposto neste trabalho.

O segundo conjunto de amostras que foi utilizado na determinação dos valores limites é o Conjunto Controlado de Amostras Reais que foi obtido a partir de uma seleção do Conjunto de Amostras Reais, citado anteriormente. Esse conjunto é composto por 10 classes de amostras identificados por observação visual dos cromatogramas e a partir de informações como ano e local de apreensão da amostra. Informações policiais a respeito de ligações entre traficantes não foram utilizadas para selecionar os grupos de amostras ligadas.

O Conjunto Controlado de Amostras Reais foi subdividido em três subconjuntos de acordo com as correlações de cosseno quadrado máximas apresentadas entre a média das áreas cromatográficas de cada grupo. Esses subconjuntos tiveram correlação máxima entre amostras não ligadas de 0,70; 0,95 e 0,97 respectivamente. Esse conjunto foi utilizado no desenvolvimento do método proposto.

Finalmente, o último conjunto utilizado no desenvolvimento do método proposto foi o Conjunto Simulado de Amostras, que contém também três subconjuntos com correlação máxima entre amostras não ligadas de 0,70; 0,95 e 0,97. Esse conjunto foi obtido com as médias e desvios-padrão dos solventes de cada classe dos subconjuntos do Conjunto Controlado de Amostras Reais, como mostra a Tabela 5.

Tabela 5: Matriz de dados cromatográficos com cálculo da média e desvio padrão de cada solvente.

Área dos Picos Cromatográficos				
Amostra	Solvente 1	Solvente 2	...	Solvente n
1	314072	4934		73851
2	291533	4997		75915
...	324447	5890		74198
N	309885	5328		74819
Média (M)	309984	5287		74695
Desvio Padrão (s)	13739	437		906

Para a simulação de diferentes amostras em cada classe, à média das áreas de cada solvente dentro de uma mesma classe foi acrescentado o desvio padrão multiplicado por um fator que segue uma distribuição normal. A Equação 17 mostra como foi adicionado ruído à área de um pico cromatográfico. Aplicando essa equação em todos os picos obteve-se uma amostra do conjunto simulado. Para cada uma das 10 classes de amostras ligadas do Conjunto Controlado de Amostras Reais foram criadas 50 amostras, totalizando 500 amostras no Conjunto Simulado de Amostras.

$$A_i = \bar{A}_i + randN(0,1) * s_{exp,i} \quad (17)$$

Onde, *randN* é uma função que gera um número aleatório com média zero e desvio-padrão unitário e *s_{exp,i}* é o desvio-padrão da área do pico cromatográfico do solvente *i*.

Amostras que continham menos de dez picos cromatográficos não foram utilizadas no estudo da determinação de valores limites, porém foram incluídas na classificação conforme o método de refino feita por HCA e PCA.

Os conjuntos de dados de sal de cocaína que foram analisados para a determinação dos valores limite que indicam quando amostras estão ligadas estão resumidos na Tabela 6.

Tabela 6: Características dos conjuntos de amostras estudados.

CONJUNTO DE AMOSTRAS	ρ máximo entre classes	Nº de amostras	Nº de classes	Nº de correlações
REAIS	A determinar	271	A determinar	36585
REAL CONTROLADO	0,97	90	10	4005
	0,95	87	9	3741
	0,70	66	7	2145
SIMULADO	0,97	500	10	124750
	0,95	450	9	101025
	0,70	350	7	61075

6.4. Determinação de Solventes Residuais

A determinação do perfil químico de solventes residuais utilizou a técnica de injeção por *Headspace* (HS) associada à Cromatografia Gasosa com detecção por Espectrometria de Massas (GC-MS), por mostrar-se uma alternativa rápida e confiável ao estabelecimento de correlações e métodos de refino entre apreensões de cocaína.

Depois de escolher o método pelo qual os solventes presentes nas amostras de cocaína serão determinados, é necessário escolher quais solventes devem ser analisados. Essa escolha depende do objetivo que se pretende alcançar. Na presente dissertação optou-se por trabalhar com dois grupos de solventes: um utilizado para a determinação do método de refino da cocaína e outro para comparar as amostras. Esses grupos de solventes e algumas de suas características estão descritos nas Tabelas 7 e 8, respectivamente.

Dos 19 solventes utilizados na determinação do método de refino da cocaína, 11 foram escolhidos com base no estudo realizado por Dujourdy e

Besacier.¹⁹ Nesse estudo foi feito um levantamento dos solventes mais comumente encontrados em amostras de sal de cocaína. Alguns solventes, que estão incluídos no trabalho de Dujourdy e Besacier,¹⁹ não foram escolhidos por não serem encontrados em quantidades significativas nas amostras analisadas no presente trabalho. Alguns hidrocarbonetos, não citados no trabalho de Dujourdy e Besacier,¹⁹ foram encontrados nas amostras analisadas (2,3-dimetilpentano, heptano e xilenos), possivelmente oriundos de combustíveis ou solventes tipo *thinner*, que podem ter sido utilizados em alguma etapa do refino da cocaína, foram acrescentados à lista de solventes analisados. Outros solventes como MEK e Acetato de Isobutila também foram acrescentados à lista por caracterizarem o Método de Refino tipicamente Colombiano.

Tabela 7: Solventes utilizados na determinação do método de refino da cocaína.

N	Nome	Tempo de Retenção (min)	Razão massa/carga do Ion Principal (m/z)	Razão massa/carga do Ion Qualificador (m/z)
1	acetona	4,524	43	58
2	éter etílico	5,073	59	74
3	metiletilcetona (MEK)	7,566	43	72
4	hexano	8,698	57	41/86
5	clorofórmio	8,767	83	47
6	acetato de etila	9,101	43	70
7	benzeno	11,524	78	77/50/51
8	acetato de isopropila	11,709	43	61
9	ciclohexano	11,878	84	56
10	2,3-dimetilpentano	12,294	56	41
11	heptano	12,537	43	71
12	acetato de n-propila	13,304	43	61/73/42
13	metilisobutilcetona (MIBK)	13,900	43	58
14	tolueno	14,662	91	65
15	acetato de isobutila	14,770	43	56
16	óxido de mesitila	15,168	83	55
17	m-xileno	16,349	91	106
18	p-xileno	16,459	91	106
19	o-xileno	16,752	91	106

Para comparação de amostras um número maior de solventes foi escolhido. A identificação do método de refino envolve determinação de solventes específicos, logo a redução de dados não afeta a análise. No entanto, para comparação entre amostras é necessário considerar um número maior de dados para que pequenos detalhes sejam observados. A escolha desses solventes também considerou o trabalho de Dujourdy e Besacier.¹⁹

Tabela 8: Solventes utilizados para comparações de amostras de cocaína.

	Nome	Tempo de Retenção (min)	Razão massa/carga do Ion Principal (m/z)	Razão massa/carga do Ion Qualificador (m/z)
1	clorometano	3,272	50	52
2	metanol	3,422	31	29
3	isopentano	4,526	41	57
4	acetona	4,524	43	58
5	2-propanol	4,751	45	59
6	pentano	5,018	43	51
7	éter etílico	5,073	59	74
8	metilpropiléter	5,498	45	74
9	1-cloropropano	5,951	42	41
10	etanol	4,075	31	45
11	1-propanol	6,434	31	59
12	ciclopentano	6,902	42	55
13	2-metilpentano	7,146	43	42/41
14	metiletilcetona (MEK)	7,566	43	72
15	3-metilpentano	7,792	57	41
16	hexano	8,698	57	41/86
17	clorofórmio	8,767	83	47
18	acetato de etila	9,101	43	70
19	isobutanol	9,979	43	41/39
20	benzeno	11,524	78	77/50/51
21	acetato de isopropila	11,709	43	61
22	ciclohexano	11,878	84	56
23	2,3-dimetilpentano	12,294	56	41
24	heptano	12,537	43	71
25	acetato de n-propila	13,304	43	61/73/42
26	metilisobutilcetona (MIBK)	13,900	43	58
27	tolueno	14,662	91	65
28	acetato de isobutila	14,770	43	56
29	óxido de mesitila	15,168	83	55
30	m-xileno	16,349	91	106
31	p-xileno	16,459	91	106
32	o-xileno	16,752	91	106
33	Mesitileno	17,546	105	120

6.5. Procedimento Experimental

A Figura 31 ilustra o procedimento experimental utilizado para a determinação de solventes residuais em amostras de sal de cocaína.

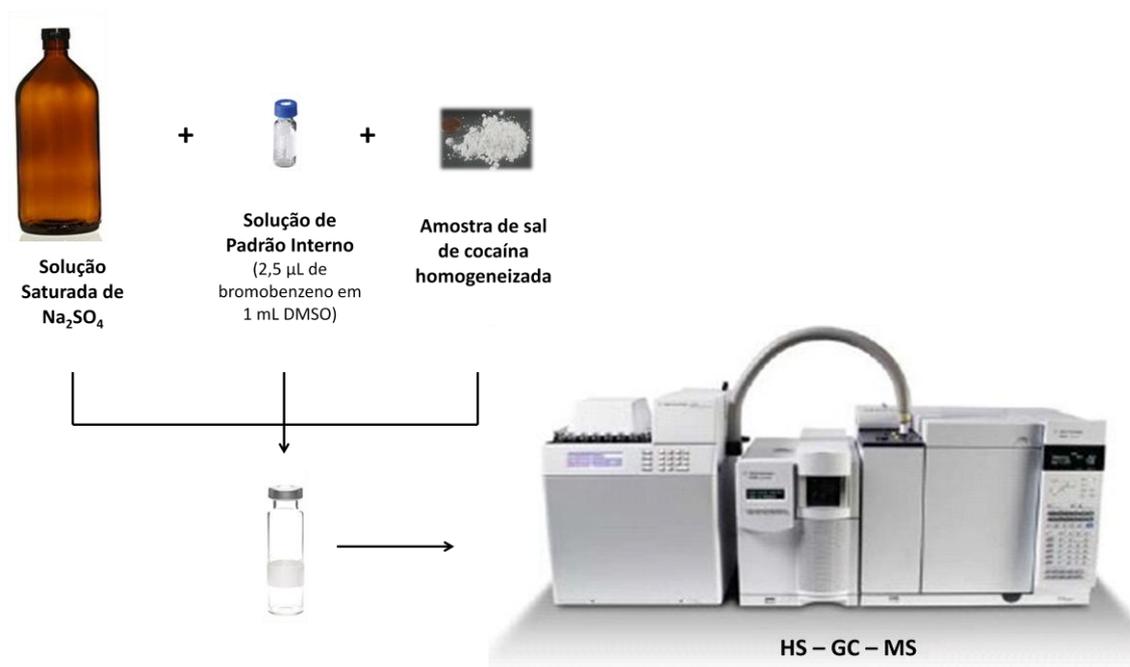


Figura 31: Procedimento experimental para determinar solventes residuais em amostras de sal de cocaína.

Em um *Erlenmeyer*, foram pipetados 100 mL da solução saturada de sulfato de sódio e 100 μL da solução de PI. A mistura foi agitada por 20 segundos manualmente. Essa mistura foi preparada diariamente para não haver precipitação do sulfato de sódio ou perda do PI.

Posteriormente, foram pesados 100,00 ($\pm 0,05$) mg de cocaína em um frasco de *headspace* de 22 mL e acrescentou-se 10 mL da mistura preparada anteriormente de solução de sulfato de sódio com solução de PI.

O frasco foi fechado em seguida com o conjunto de septo e tampa utilizando um lacrador de frascos de *headspace*. Nessa etapa é importante que o fechamento do frasco esteja correto, pois o fechamento ineficiente do frasco pode causar vazamento da fase gasosa com os solventes residuais. Finalmente, o frasco com amostra foi colocado no HS ligado, estabilizado e conectado no GC.

6.5.1. Preparo da solução saturada de sulfato de sódio

A solução saturada de sulfato de sódio foi preparada em um frasco âmbar com 500 mL de água ultra purificada a 80°C aquecida em um banho-maria. 110 g de sulfato de sódio foram adicionadas no frasco com agitação até completa solubilização do sal.

6.5.2. Preparo da solução de Padrão Interno (PI)

A solução de padrão interno foi preparada com a mistura de 25 µL de bromobenzeno e 10 mL de dimetilsulfoxido (DMSO). Essa solução foi dividida em frações de 1 mL guardadas em frascos fechados no refrigerador a 4°C. A concentração da solução de PI foi:

$$C = \frac{2,5 \mu\text{L de Bromobenzeno}}{1 \text{ mL de DMSO}}$$

6.5.3. Preparação da amostra

6.5.3.1. Homogeneização

Todas as amostras de sal de cocaína foram homogeneizadas com simples maceração em gral com pistilo.

6.5.3.2. Teste para determinar o tipo de cocaína

Para determinar se a amostra em questão trata-se de sal de cocaína ou cocaína base, foi feito o teste de solubilidade descrito na Figura 32.

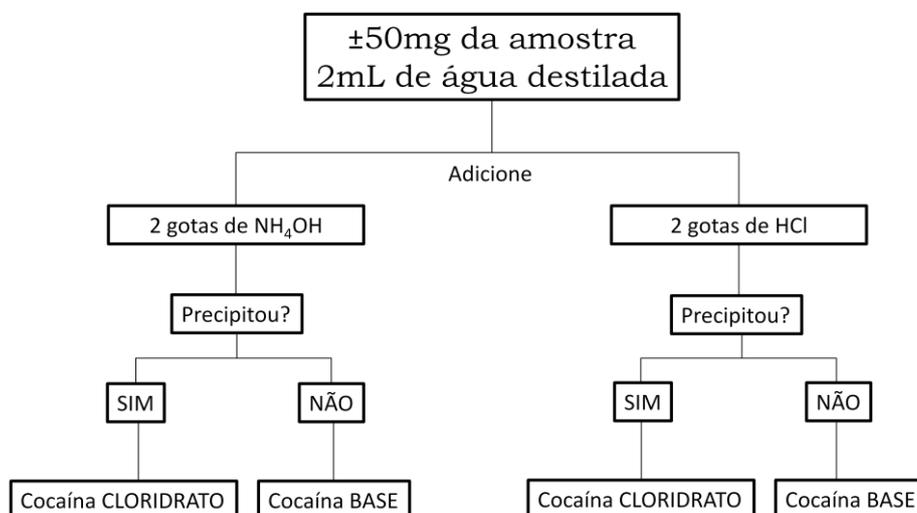


Figura 32: Procedimento utilizado para a determinação do tipo de cocaína.

6.6. Parâmetros Experimentais

A escolha do PI foi feita depois de testes realizados com 9 (nove) solventes orgânicos diferentes e que não foram encontrados em amostras de sal de cocaína, sendo eles: n-octanol, 2-etilhexanol, isopropilamina, trietilamina, etilenoamina, n-butilamina, hexilamina, bromobenzeno e clorobenzeno. Sendo que o bromobenzeno foi escolhido por não coeluir com os solventes mais comumente encontrados em amostras de sal de cocaína. Além disso, o bromobenzeno é facilmente identificado no espectro de massas por possuir íons característicos com relações massa/carga de 156 e 158.

A adição de 10 µL de solução de PI à solução de sulfato de sódio apresenta uma área de picos cromatográficos com ordem de grandeza similar às áreas de solventes residuais encontrados nas amostras de sal de cocaína. O volume de bromobenzeno adicionado em cada amostra é $2,5 \times 10^{-3}$ µL em 10 mL de solução salina.

6.7. Parâmetros do Método

Para o estabelecimento dos parâmetros utilizados no CG e no HS, um levantamento bibliográfico de estudos similares desenvolvidos por laboratórios forenses da França (LPS – *Laboratoire de Police Scientifique*) e Estados Unidos (DEA) foi feito. Esse levantamento forneceu os parâmetros utilizados neste trabalho.^{19,63} Os parâmetros utilizados no HS-CG-MS para a determinação de solventes residuais em amostras de sal de cocaína estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9: Parâmetros do HS-GC-MS.

PARÂMETROS DO HEADSPACE	
Tempo de injeção (min)	1,00
Tempo de equilíbrio do <i>loop</i> (min)	0,05
<i>Loop fill time</i> (min)	0,10
Volume do <i>loop</i> (mL)	1,00
Temperature do <i>loop</i> (°C)	175
Temperatura do forno (°C)	85
Nível de agitação	ALTO (agitação máxima do HS)
Temperatura da linha de transferência (°C)	175
Tempo de equilíbrio do <i>vial</i> (min)	14.0
Tempo de pressurização do <i>vial</i> (min)	0.20
PARÂMETROS DO GC	
Programação de temperatura do forno	30°C por 10 min 20°C/min até 150°C 60°C/min até 200°C
Tempo total de análise (min)	30
Temperatura do injetor (°C)	180
Modo de operação	Pressão constante (29.06 psi)
Fluxo do septo de purga	3 mL/min
Razão de <i>Split</i>	20:1 (<i>split flow</i> 20,7mL/min)
Temperatura do detector (°C)	250
Fluxo inicial do gás de arraste (He)	1,0 mL/min
Velocidade linear média	28 cm/s
PARÂMETROS DE AQUISIÇÃO DO MS	
Modo de aquisição	Scan
<i>Low mass</i>	29,0
<i>High mass</i>	200,0
<i>MS source</i>	230°C max 250°C
<i>MS quad</i>	200°C max 200°C

6.8. Figuras de Mérito do Método HS-CG-MS

Figuras de mérito de um método são estabelecidas por estudos sistemáticos realizados em laboratório e tem como objetivo mostrar que o método atende ao seu propósito, ou seja, estudos sistemáticos são feitos para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos pelo método proposto.⁶⁴ Nesse trabalho as figuras de mérito avaliadas foram: precisão, linearidade, limite de detecção e robustez.

Os solventes utilizados na validação foram dissolvidos em DMSO por este ser capaz de solubilizar pequenas quantidades de solventes orgânicos e ser miscível em água, essa solução foi chamada de solução-mãe de solventes.

Os solventes tiveram suas massas medidas ao invés do volume porque não havia instrumentos que pudessem medir com precisão a quantidade necessária para as análises. As respectivas massas estão na Tabela 10.

Tabela 10: Solventes utilizados para verificar figuras de mérito do método cromatográfico.

N	SOLVENTE	MASSA (mg)
1	acetato de etila	541
2	acetato de isobutila	43
3	acetato de isopropila	43
4	acetato de n-propila	533
5	acetona	317
6	benzeno	43
7	clorofórmio	45
8	éter etílico	282
9	MEK	322
10	metanol	475
11	tolueno	43
12	m-xileno	26
13	p-xileno	26
14	o-xileno	26

6.8.1. Precisão

A precisão pode ser definida como sendo o grau de concordância que existe entre os valores obtidos em uma múltipla análise da mesma amostra homogeneizada.⁶⁴ A precisão pode ser avaliada através de três determinações:

- Repetibilidade: expressa a precisão de uma mesma amostra homogeneizada sob a mesma condição operacional, com curtos intervalos de tempo.
- Precisão intermediária: é a precisão expressa através das variáveis laboratoriais como diferentes dias ou diferentes analistas.
- Reprodutibilidade: expressa a precisão entre diferentes laboratórios.

A repetibilidade foi avaliada fazendo a determinação de solventes de uma mesma amostra seis vezes no mesmo dia, com o mesmo operador e equipamento. Para isso, todo o procedimento de preparação da amostra foi repetido seis vezes.

Para a determinação da precisão intermediária, a preparação e determinação dos solventes residuais de uma mesma amostra foram feitas seis vezes por operador diferente e em dias diferentes.

A reprodutibilidade não foi determinada por não ser objetivo do projeto Pequi instalar o método em outros laboratórios a princípio.

6.8.2. Linearidade

A linearidade se refere à existência de uma relação linear entre a concentração inicial do analito e uma resposta instrumental como, por exemplo, a área do pico cromatográfico.⁶⁴ O coeficiente de correlação r e o coeficiente de determinação r^2 é um dos parâmetros que mostram a linearidade do método. O intervalo em que o valor de r pode ser encontrado é $-1 \leq r \leq 1$ e ele é determinado pela equação 25.

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sqrt{\{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]\}}} \quad (25)$$

A curva de calibração foi construída experimentalmente com a determinação das áreas cromatográficas dos solventes presentes na solução-mãe e diluições que correspondiam 80, 50, 20, 10, 5, 2 e 0,5% da solução-mãe original. Triplicatas de 50 μ L da solução-mãe e suas diluições foram adicionadas em frascos distintos com 10 mL de solução salina e PI, lacrados e submetidos ao sistema HS-GC-MS nas mesmas condições de determinação de solventes residuais em amostras de cocaína.

Para as diluições um volume da solução-mãe foi adicionado em um balão volumétrico que teve seu volume completado com DMSO. Os volumes pipetados e dos balões utilizados nas diluições estão descritos na Tabela 11.

Tabela 11: Diluições da solução-mãe.

(%)	PROPORÇÃO	VOLUME DE SOLUÇÃO-MÃE ADICIONADO	VOLUME DO BALÃO
80	4:5	8 mL	10 mL
50	1:2	5 mL	10 mL
20	1:5	2 mL	10 mL
10	1:10	1 mL	10 mL
5	1:20	500 µL	10 mL
2	1:50	1 mL	50 mL
0,5	1:200	250 µL	50 mL

6.8.3. Limite de Detecção

O limite de detecção é por definição a menor quantidade que pode ser detectada do analito, com segurança e sem a necessidade de uma quantificação. Pode ser calculado com base no sinal ruído de acordo com a Equação 18.⁶⁴

$$LD = 3,3 \frac{S_B}{\alpha} \quad (18)$$

Onde α é a inclinação da curva e S_b é o desvio-padrão do valor do branco, que é a média dos desvios-padrão das áreas de cada solvente obtidas nas diversas concentrações analisadas.

O desvio-padrão obtido para cada nível de concentração do solvente foi determinado segundo a Equação 19.

$$S_B = \sqrt{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2} \quad (19)$$

O método de determinação utilizado nesse trabalho considerou as equações descritas anteriormente.

6.8.4. Estabilidade

Estabilidade significa o quanto o método analítico resiste às mudanças nos seus fatores, durante o processo de rotina.

Para avaliar a estabilidade, a determinação de solventes residuais de uma mesma amostra foi feita mensalmente em triplicata durante 18 meses.

6.9. Análise quimiométrica

As análises quimiométricas foram feitas utilizando o programa Matlab versão 7.12 (R2011a) e funções do *toolbox statistics*.

Capítulo 7:

Resultados

7. Resultados

7.1. Figuras de Mérito do Método HS-GC-MS

Para avaliar a eficiência do método cromatográfico em estimar os solventes residuais foram estimados a precisão, linearidade, limite de detecção e robustez do método.

A repetibilidade foi avaliada através da determinação dos solventes residuais de uma amostra seis vezes no mesmo dia, com o mesmo operador e equipamento. Os valores ρ encontrados na correlação dos resultados, apresentados na Figura 33 (a), mostram que todas as amostras estão ligadas com um ρ médio de 0,99992, máximo de 0,99999 e mínimo de 0,99966 o que significa que o método é repetitivo, pois consegue correlacionar a mesma amostra com um alto valor de ρ . Para a determinação da precisão intermediária, a preparação e determinação dos solventes residuais da mesma amostra foi realizada doze vezes por dois operadores distintos e em dias diferentes. Os valores de ρ encontrados na correlação desses resultados estão apresentados na Figura 33 (b), onde foi possível observar que o valor médio de ρ foi 0,99990, também um valor alto mostrando que o método é preciso.

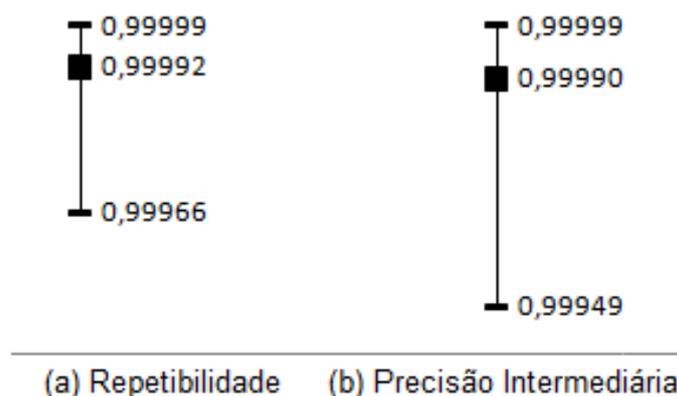


Figura 33: (a) Valores de ρ para a Amostra A analisada seis vezes no mesmo dia com o mesmo operador e equipamento. (b) Valores de ρ para a Amostra A analisada seis vezes com operador diferente.

A avaliação da linearidade utilizou o coeficiente de determinação r^2 e mostrou que r^2 varia entre 0,945 para o acetato de n-propila, coeficiente relativamente baixo, e 0,999 para acetona, clorofórmio e metanol, maiores coeficientes encontrados. As concentrações dos solventes encontrados nas

amostras de cocaína quantificadas foram maiores que os limites de detecção (LD) de cada solvente analisado, exceto para o acetato de isobutila nas amostras B e C, acetato de n-propila e MEK para a amostra A. A determinação dos LD e r^2 para o acetato de etila e m-xileno não foi possível, pois esses solventes coeluíram com clorofórmio e p-xileno, respectivamente. Tal fenômeno não ocorre em análises de amostras de cocaína, sugerindo que a determinação de solventes residuais pode ser afetada pelo efeito de matriz. Logo, os LD do clorofórmio, acetato de etila, m-xileno e p-xileno podem estar superiores aos limites verdadeiros. Os valores de r^2 , LD e concentração dos solventes em três diferentes amostras estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Valores que caracterizam a linearidade do método (r^2), limite de detecção (LD) e concentração de solventes em três amostras distintas.

SOLVENTE	r^2	LD (mg/L*)	[amostra A] ($\mu\text{L/g}^{**}$)	[amostra B] ($\mu\text{L/g}^{**}$)	[amostra C] ($\mu\text{L/g}^{**}$)
Acetato de Etila	ND	ND	0,00	0,00	0,00
Acetato de isobutila	0,950	0,119	190	0,02	0,02
Acetato de isopropila	0,988	0,101	228	0,00	0,00
Acetato de n-propila	0,945	5,088	95	0,00	0,00
Acetona	0,999	0,144	95	30,54	51,09
Benzeno	0,998	0,042	5	0,00	0,04
Clorofórmio	0,999	0,041	2	0,00	0,00
Éter etílico	0,997	0,103	23	0,00	0,00
MEK	0,994	1,261	63	0,00	0,00
Metanol	0,999	0,734	1224	118,80	131,10
Tolueno	0,998	0,044	0,00	0,06	0,06
P-Xileno	0,998	0,002	1	0,00	0,00
M-Xileno	ND	ND	0,00	0,00	ND
O-Xileno	0,998	0,002	8	0,00	0,00

ND (não determinado).

* mL de solvente por L de solução saturada de sulfato de sódio.

* μL de solvente por grama de cocaína.

Para avaliar a estabilidade, a determinação de solventes residuais de uma amostra foi feita durante 18 meses em triplicata, os coeficientes de correlação ρ obtidos são apresentadas na Figura 34 e variam de 0,9999 a 0,994 valores que consideram amostras como ligadas conforme metodologia descrita nesse trabalho. Logo, o método analítico pode ser considerado estável

com relação às variações instrumentais e ambientais ocorridas no período de 18 meses.

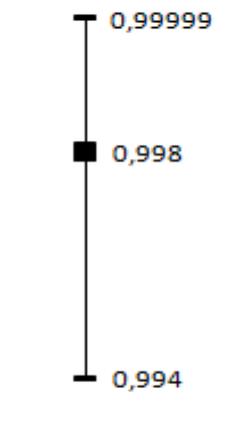


Figura 34: Valores de p para uma amostra analisada por 18 meses.

7.2. Solventes

A partir dos cromatogramas obtidos, as áreas cromatográficas de cada um dos solventes selecionados foram calculadas e um levantamento da quantidade de amostras que continham os solventes analisados foi feito juntamente com a análise da concentração relativa de cada solvente residual nas amostras de cocaína. A concentração relativa dos solventes foi obtida com base na área e concentração do padrão interno. Assim é possível verificar quais solventes vêm sendo utilizados com maior frequência e quantidade nas apreensões brasileiras. Os resultados estão apresentados nas Figura 35 e Figura 36.

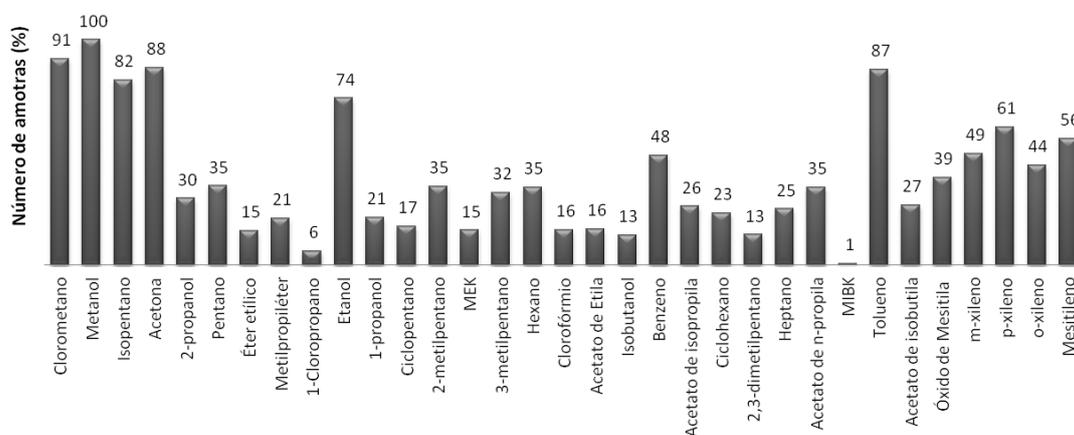


Figura 35: Porcentagem de amostras com determinado solvente.

A Figura 35 mostra que os solventes encontrados em ao menos 50% das amostras são: clorometano, metanol, isopentano, acetona, etanol, tolueno, p-xileno e mesitileno. É importante destacar que, desses solventes, o metanol é um dos produtos de degradação da cocaína, o clorometano é gerado a partir da reação do ácido clorídrico com o metanol e mesitileno, tolueno e xileno provavelmente são oriundos de solventes contendo hidrocarbonetos (provavelmente oriundos de gasolina ou solventes tipo *Thinner*).

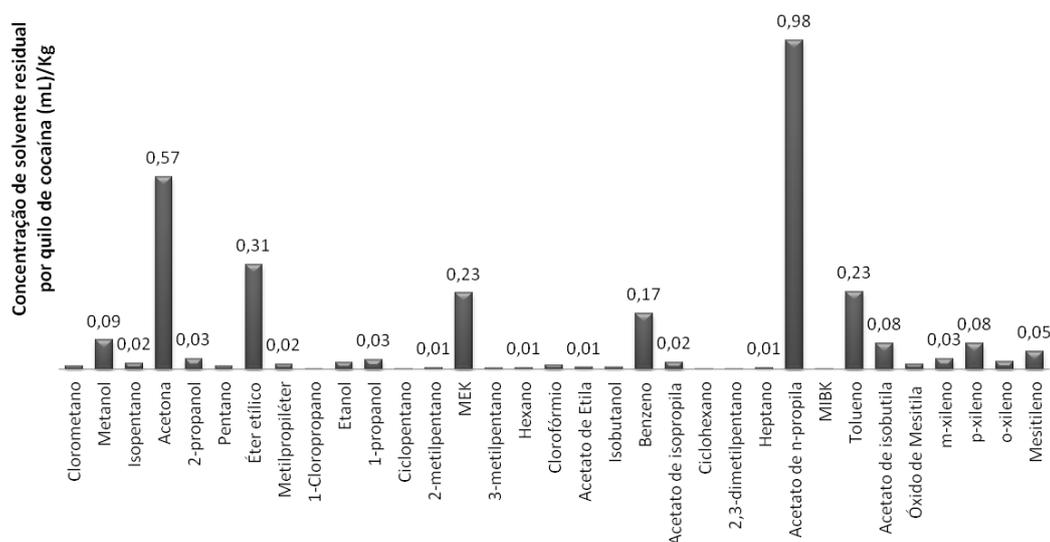


Figura 36: Concentração aproximada de solvente (mL)/Kg em amostras de sal de cocaína.

A Figura 36 mostra que nas apreensões brasileiras de sal de cocaína os solventes encontrados em maior concentração são: acetona, éter etílico, MEK, benzeno, acetato de n-propila e tolueno. Esses solventes são os mesmos descritos no “método DEA” de refino, com excessão do benzeno e tolueno. Tais solventes têm sido desviados de suas legítimas aplicações para serem usados illicitamente na produção da cocaína. A acetona, por exemplo, é comumente comercializada como solvente para graxas, óleos e plásticos. O éter etílico é bastante utilizado na indústria farmacêutica. O MEK é utilizado como removedor de colas e componente na fabricação do *thinner*. O benzeno é também usado na fabricação de alguns tipos de borrachas, lubrificantes, medicamentos e pesticidas. O acetato de n-propila é empregado na produção de tintas de impressão. O tolueno é um solvente industrial utilizado na elaboração de vários produtos químicos.²

O estudo da frequência e concentração de solventes permite o melhoramento da fiscalização do comércio de produtos químicos, dificultando a aquisição desses precursores da cocaína. Além disso, permite que dentre os solventes escolhidos sejam identificados os que são mais significantes para a determinação do método de refino utilizado no preparo da cocaína. A seguir estão apresentados os resultados obtidos por estudos quimiométricos feitos para indicar o método de refino pelo qual o cloridrato de cocaína foi produzido.

7.3. Método de Refino

Para indicar o método de refino utilizado, a análise exploratória dos dados foi feita através da Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA). Foram analisadas 491 amostras de cloridrato de cocaína e avaliadas as contribuições de 19 solventes, descritos anteriormente na Tabela 7. A matriz de dados foi composta pelas áreas cromatográficas normalizadas pelo PI e em 100%. Para identificar o método de refino pelo qual a amostra de cocaína foi produzida, os dados foram centrados na média, decompostos por PCA, sendo retidas três componentes principais; utilizada a distância de Mahalanobis e o método Ward como critério de agregação de amostras.

Na análise de HCA foi possível identificar 4 classes principais, no entanto, não é possível retirar informações detalhadas de qual o método de refino é característico de cada classe. A Figura 37 mostra o dendrograma para as 491 amostras de cloridrato de cocaína analisadas.

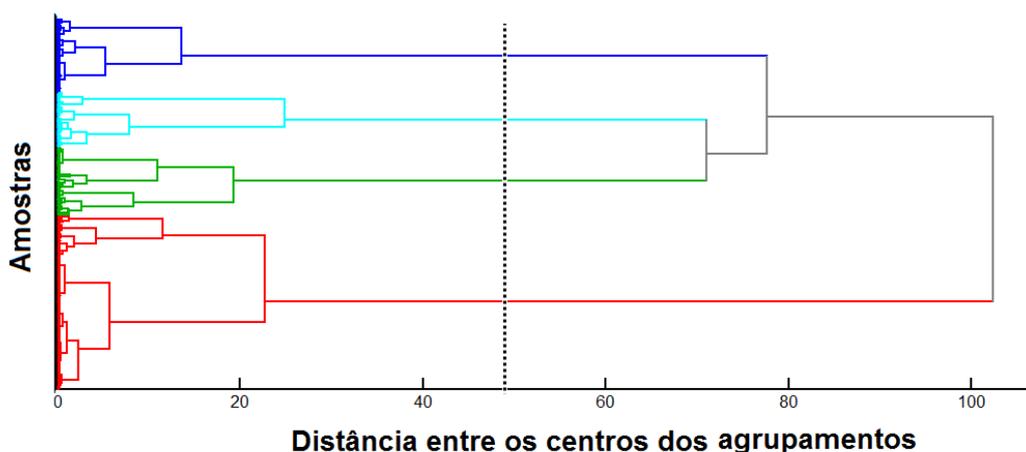


Figura 37: Dendrograma de amostras de cloridrato de cocaína com marcação em 4 classes.

Através da PCA, construíram-se os gráficos de escores e pesos mostrados nas Figura 38 e Figura 39, respectivamente, que mostram a classificação das amostras e os solventes que foram responsáveis por essa classificação.

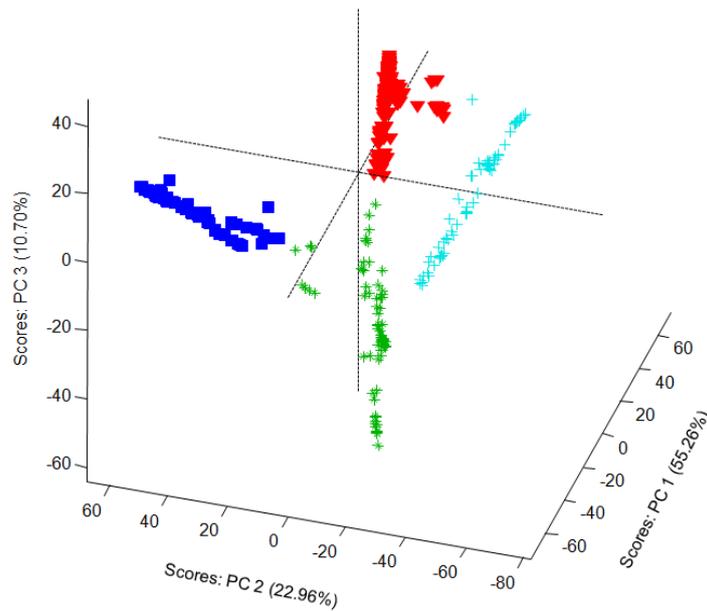


Figura 38: Gráfico de escores, onde (▼) representa a classe 1, (■) a classe 2, (+) a classe 3 e (*) a classe 4.

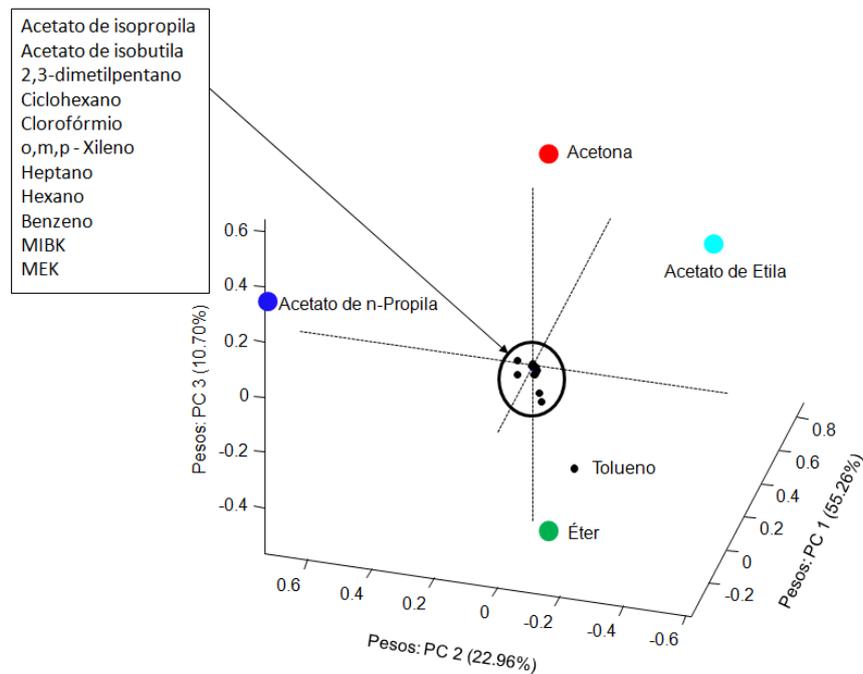


Figura 39: Gráfico de pesos, onde a acetona é característica da classe 1, o acetato de n-propila da classe 2, o acetato de etila da classe 3 e o éter da classe 4.

Através da Figura 38 e da Figura 39 é possível identificar aproximadamente 4 classes de amostras pertencentes a alguns dos principais métodos de refino. Na classe 1 utiliza-se principalmente a acetona como solvente de cristalização, o que caracteriza o método de refino tipicamente Peruano pela definição DEA³⁸. A classe 2 utiliza principalmente acetato de n-propila e a classe 3, o acetato de etila, o que indica o método Colombiano de refino. A classe 4 utiliza o éter etílico como um dos principais solventes para a cristalização, indicando o método Boliviano. No gráfico de pesos foi possível observar que o tolueno também influencia a caracterização dessa classe, no entanto, esse solvente provavelmente é proveniente de combustíveis utilizados na extração de cocaína das folhas de coca. Interpretando a classificação por PCA e HCA conjuntamente, observam-se 3 grupos principais: o grupo que utilizou o método de refino tipicamente Peruano, tipicamente Boliviano e tipicamente Colombiano. Algumas amostras não puderam ser bem classificadas somente com as três componentes principais que explicam 88% da variância total.

Os números que descrevem o perfil dos métodos de refino utilizados na produção de amostras de cloridrato de cocaína apreendidas no Território Brasileiro estão apresentados na Figura 40 e revelam que a maior parte das apreensões de cocaína no Brasil utiliza acetona como solvente principal caracterizando o método Peruano. No entanto, esse resultado apresenta uma estimativa da realidade, pois apenas alguns Estados, participantes do Projeto PEQUI, enviam amostras para análise de solventes residuais. Assim, o desenho do perfil das amostras apreendidas no Brasil é uma tarefa que ainda precisa do envolvimento de todas as Unidades da Federação.

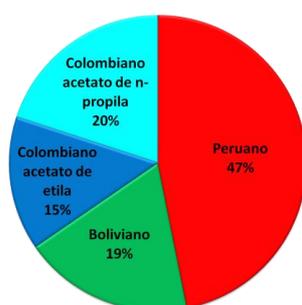


Figura 40: Perfil brasileiro do método de refino de cocaína.

7.4. Correlações entre amostras

Para correlacionar amostras, esse trabalho propôs um método simples com respaldo estatístico para estabelecer limites (valores de ρ) que caracterizem amostras ligadas ou não-ligadas e que não dependesse, a princípio, de informações policiais. A Figura 41 mostra a sequência de passos seguidos para o método proposto.

Para determinar os valores limites foi necessário conhecer como as amostras podem ser agrupadas, por isso o primeiro passo foi examinar as classificações obtidas pela HCA.

O segundo passo para determinar os valores limites foi a construção dos histogramas formados por cada classe identificados pela HCA. Diversos histogramas foram construídos para essa análise variando o número de classes. No caso do Conjunto Controlado de Amostras Reais e no Conjunto Simulado de Amostras variou-se o número de classes unitariamente de 2 até 30 classes, enquanto que para o Conjunto de Amostras Reais variou-se unitariamente de 2 até 90 classes.

Nos histogramas, observou-se a área de sobreposição das curvas de amostras ligadas e não ligadas. O estudo dessa sobreposição é considerado o mais relevante para a fixação dos valores limites que discriminam amostras correlacionadas.

Com base nos histogramas, foram plotadas curvas de ROC para cada número de classes e foram calculadas as áreas sob essas curvas (AUC). O maior valor de AUC indica o número de classes que melhor classifica amostras.

Após encontrar o maior valor de AUC deve-se verificar se o valor de ρ_L é maior que 0,90 para o número de classes indicado. E ainda, deve-se buscar a menor distância entre ρ_L e ρ_{NL} .

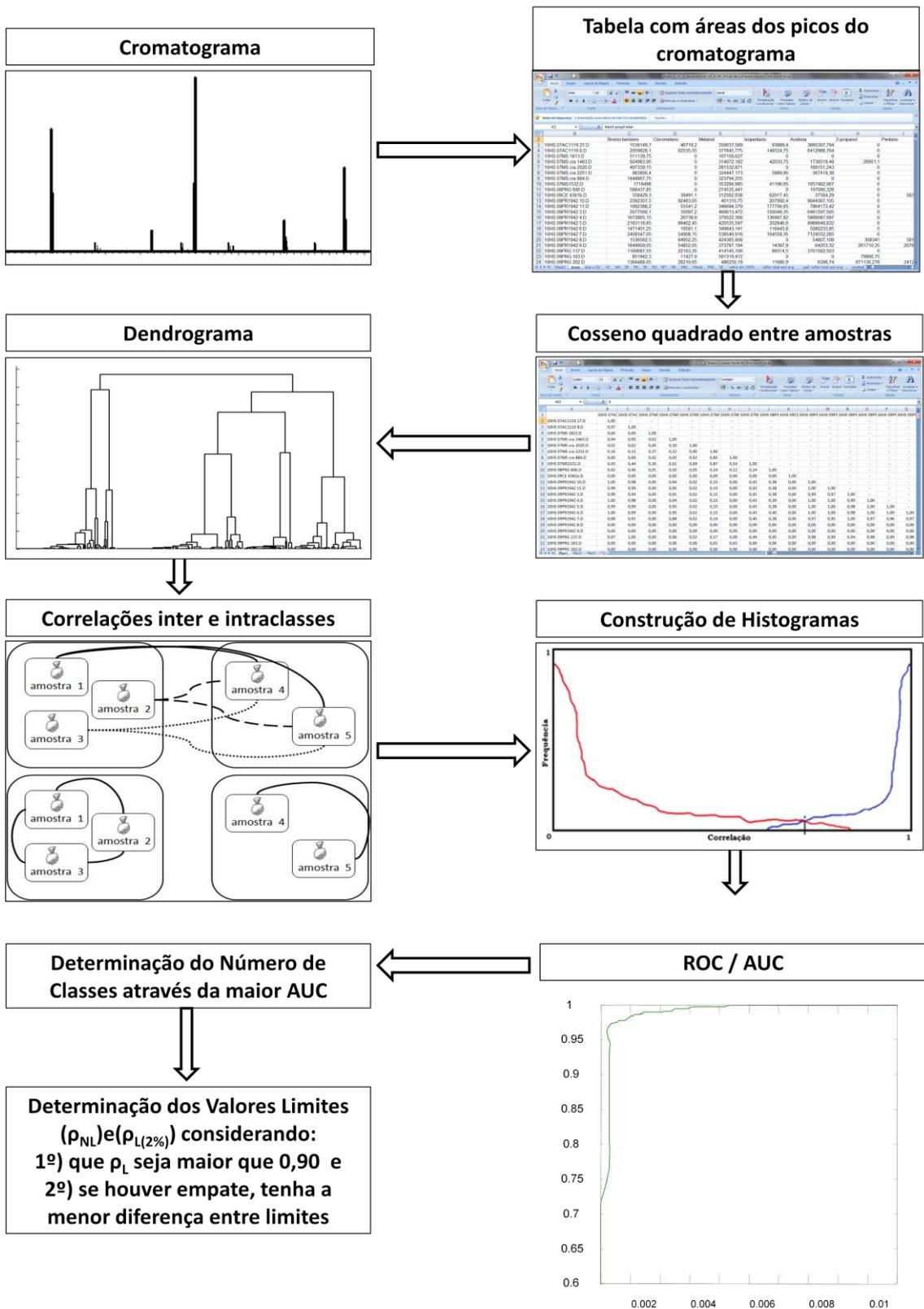


Figura 41: Passos para a determinação dos limites que discriminam amostras ligadas e não ligadas no método proposto neste trabalho.

Observações feitas durante esse processo e os resultados obtidos para todos os conjuntos de amostras estudados são apresentadas a seguir, sendo o

Conjunto controlado de Amostras Reais e o Conjunto Simulado de Amostras utilizados para verificar o funcionamento do método de análise em casos cada vez mais complexos do ponto de vista do número de amostras.

7.4.1. Conjunto Controlado de Amostras Reais

Os cromatogramas que caracterizam os 10 grupos de amostras que formam o Conjunto Controlado de Amostras Reais estão apresentados no anexo. Na Tabela 13 estão as correlações (cosseno quadrado multiplicado por 100 para melhor visualização de números de pequeno valor) obtidas entre as áreas médias dos solventes entre as classes de amostras desse conjunto. Nessa Tabela é possível observar as classes que formam os sub-conjuntos de amostras. O sub-conjunto com correlação máxima de 0,70 é formado pelas primeiras 7 classes; o sub-conjunto com correlação máxima de 0,95 é formado pelas primeiras 9 classes e o sub-conjunto com correlação máxima de 0,97 é formado por todas as 10 classes.

Tabela 13: Cosseno quadrado das médias das áreas dos picos cromatográficos de cada classe.

Cosseno quadrado (multiplicado por 100)										
Classe	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	100	43,3	0,13	59,4	13,1	0,01	0,02	0,02	22,6	43,8
2	-	100	0,08	0,12	38,67	1,16	0,05	0,21	60,7	97,1
3	-	-	100	0,001	0,02	0,02	0,0007	0,002	0,02	0,81
4	-	-	-	100	0,07	0,03	0,01	0,004	0,09	0,16
5	-	-	-	-	100	70,0	1,02	6,57	94,3	33,9
6	-	-	-	-	-	100	1,37	8,94	48,1	0,23
7	-	-	-	-	-	-	100	94,6	0,69	0,02
8	-	-	-	-	-	-	-	100	4,60	0,08
9	-	-	-	-	-	-	-	-	100	55,7
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100

7.4.1.1. Caso 1: Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70

O dendrograma obtido por HCA para o conjunto é apresentado na Figura 42, onde 7 é o número correto de classes obtido a partir dessa análise preliminar. O dendrograma é importante para conhecer todas as

possíveis classes de amostras e para a construção de histogramas, onde nesse caso observou-se uma clara distinção de 7 classes.

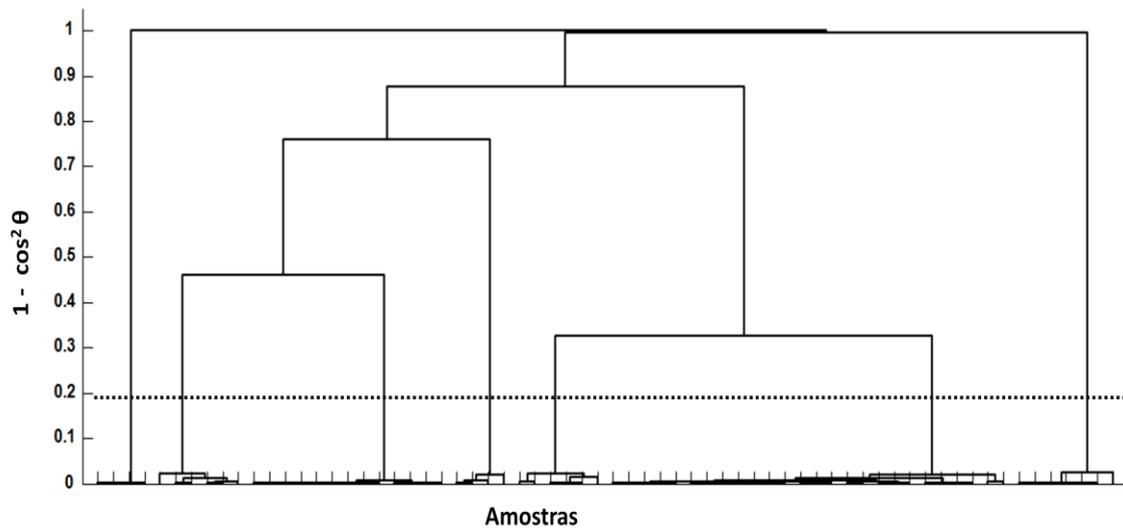


Figura 42: Dendrograma do Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70.

Depois de identificadas as classes através do dendrograma, um histograma foi construído para cada número de classes. E, de forma geral, pôde ser observado nas curvas dos histogramas que: quando o número de classes é pequeno, inferior ao número verdadeiro de classes, as classes consideradas ligadas apresentam correlações baixas (abaixo de 0,90), como mostra a Figura 43 (a); e, quando o número de classes é alto, superior ao verdadeiro, a curva das amostras consideradas não-ligadas apresentam correlações altas (acima de 0,99), como mostra a Figura 43 (c). À medida que o número de classes se aproxima do valor correto há uma redução da extensão das curvas das amostras ligadas e não ligadas e, conseqüentemente, uma separação ou eliminação da área de sobreposição de curvas, como mostra a Figura 43 (b).

Os histogramas mostram que esse conjunto é um caso ideal por haver a separação completa no número de classes correto, o que não ocorre normalmente. Nesse caso, a observação visual da forma dos histogramas permite indicar com precisão o número correto de classes.

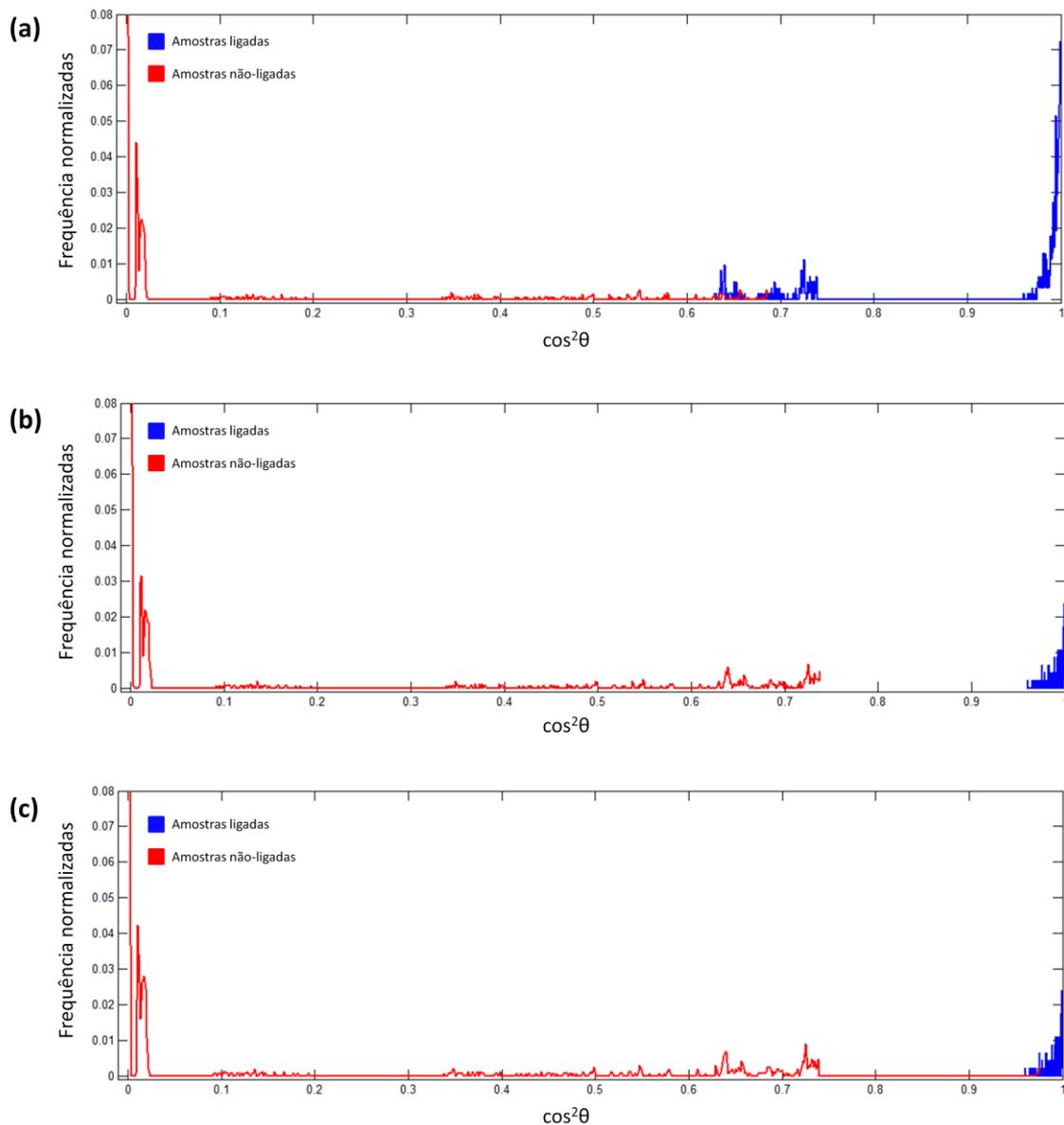


Figura 43: Histogramas construídos para o Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70 considerando o número de classes igual a: (a) 6, inferior ao número correto de classes; (b) 7, número correto de classes; e (c) 8, superior ao número correto de classes. Onde a curva vermelha é de correlações entre amostras não ligadas e a curva azul é de correlações entre amostras ligadas.

A curva ROC avalia a proporção de falsos positivos (FP) e verdadeiros positivos (VP). A Figura 44 mostra curvas ROC para os três histogramas plotados anteriormente, com número de classes igual a 6,7 e 8.

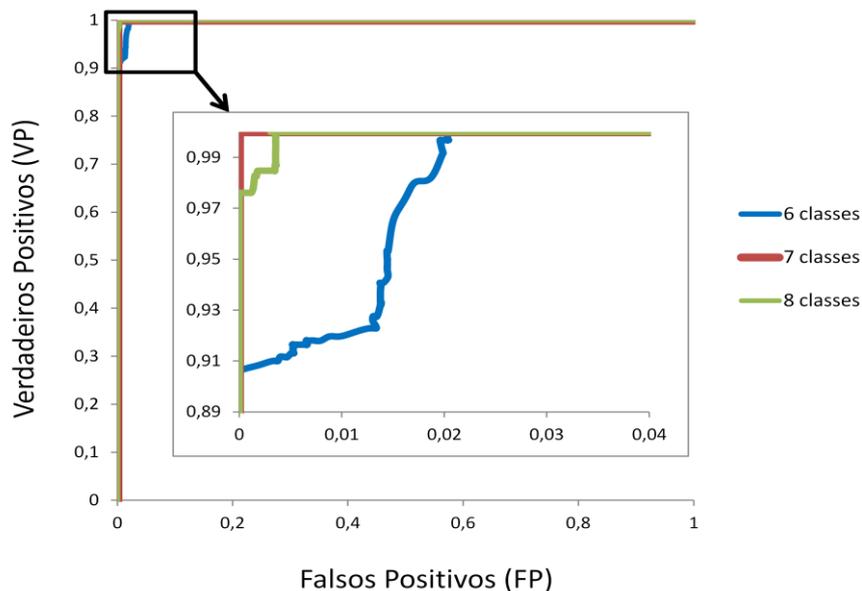


Figura 44: Curva ROC para o Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70 com 6, 7 e 8 classes.

É possível observar que a curva que mais se aproxima do canto superior esquerdo do gráfico é a que representa o número de classes correto, igual a 7, pois o Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70 apresentou separação completa das curvas de amostras ligadas e não ligadas. Nessa situação, não existem falsos positivos e falsos negativos. A área sob a curva ROC – AUC – apresentou o valor máximo no número de classes igual a 7, como pode ser observado na Figura 45. A identificação do número de classes, identificado inicialmente através de análises visuais, pela AUC mostra que o método proposto para a determinação de valores limites utilizando ROC e AUC funciona.

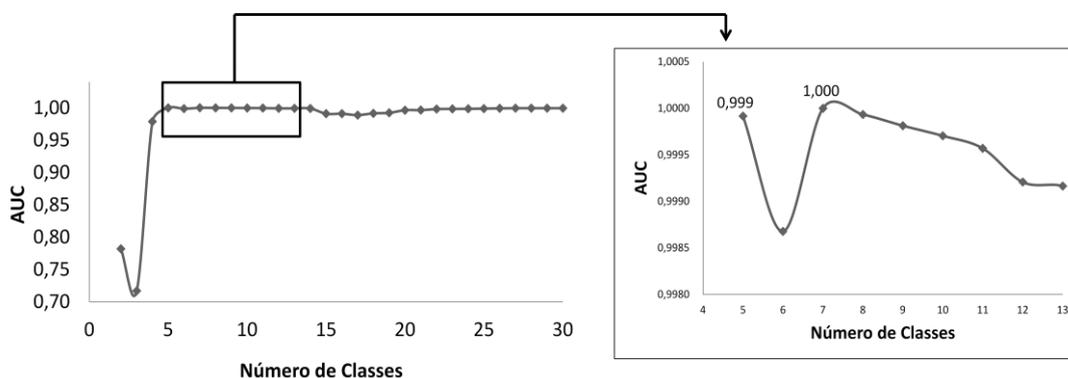


Figura 45: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70.

Após determinar o número correto de classes para o conjunto, os limites que discriminem amostras ligadas e não ligadas são estabelecidos pelo início e fim das curvas do histograma.

No caso desse conjunto, não existe região de incerteza no histograma. As amostras são consideradas não ligadas quando apresentarem cosseno quadrado (ρ) de 0 a 0,738 e amostras são consideradas ligadas quando apresentarem cosseno quadrado (ρ) de 0,961 a 1, como mostra a Figura 46.

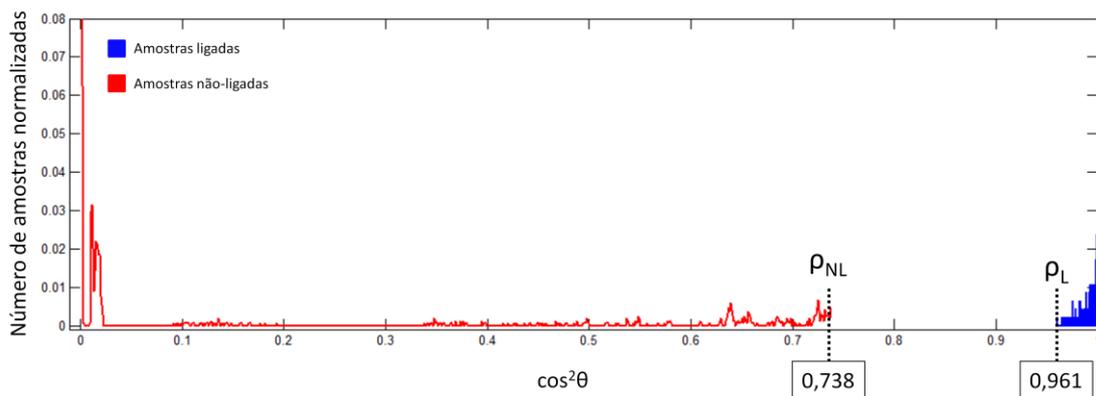


Figura 46: Histograma com amostras do Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70 com número de classes igual a 7 indicando os valores limites que separam amostras ligadas e não ligadas.

7.4.1.2. Caso 2: Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95

Seguindo o procedimento do método proposto neste trabalho, o primeiro maior valor de AUC encontrado para o Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95 indica que o número correto de classe pode ser 7, como mostrado na Tabela 14, que descreve os valores de AUC e o valor de ρ que marca o início da curva das amostras ligadas. No entanto, com esse número de classe, a curva das amostras ligadas no histograma inicia-se com correlações inferiores a 0,90. Então, deve-se olhar o próximo maior valor de AUC, que indica 9 como sendo o número de classe correto para esse conjunto de amostras. Com esse número de classes o início da curva das amostras ligadas ocorre em um valor superior a 0,90. Logo, 9 deve ser o número que mais se aproxima da classificação real de amostras ligadas.

Tabela 14: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95.

Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}	Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}
2	0,8460	0,000	0,002	17	0,9945	0,977	0,999
3	0,7705	0,000	0,148	18	0,9953	0,986	0,999
4	0,9743	0,010	0,538	19	0,9953	0,986	0,999
5	0,9954	0,444	0,643	20	0,9937	0,989	0,999
6	0,9889	0,444	0,687	21	0,9960	0,990	0,999
7	1,0000	0,869	0,739	22	0,9949	0,994	0,999
8	0,9987	0,906	0,968	23	0,9979	0,995	0,999
9	1,0000	0,961	0,976	24	0,9980	0,995	0,999
10	0,9999	0,961	0,977	25	0,9984	0,995	0,999
11	0,9999	0,961	0,988	26	0,9986	0,996	0,999
12	0,9998	0,965	0,988	27	0,9987	0,996	0,999
13	0,9998	0,975	0,992	28	0,9988	0,996	0,999
14	0,9994	0,975	0,992	29	0,9989	0,996	0,999
15	0,9993	0,975	0,992	30	0,9990	0,996	0,999
16	0,9992	0,975	0,993				

Encontrado o número de classes correto com o método proposto, os valores limites foram determinados a partir do histograma. Nesse conjunto, os valores onde a probabilidade de 2% da curva das amostras ligadas ($\rho_{L(2\%)}$) e o final da curva das amostras não ligadas (ρ_{NL}) coincidiram, assim, não há zona de sobreposição. Nesse caso, as amostras foram consideradas não ligadas com cosseno quadrado (ρ) de 0 a 0,975 e ligadas com cosseno quadrado (ρ) de 0,975 a 1, como mostra a Figura 47.

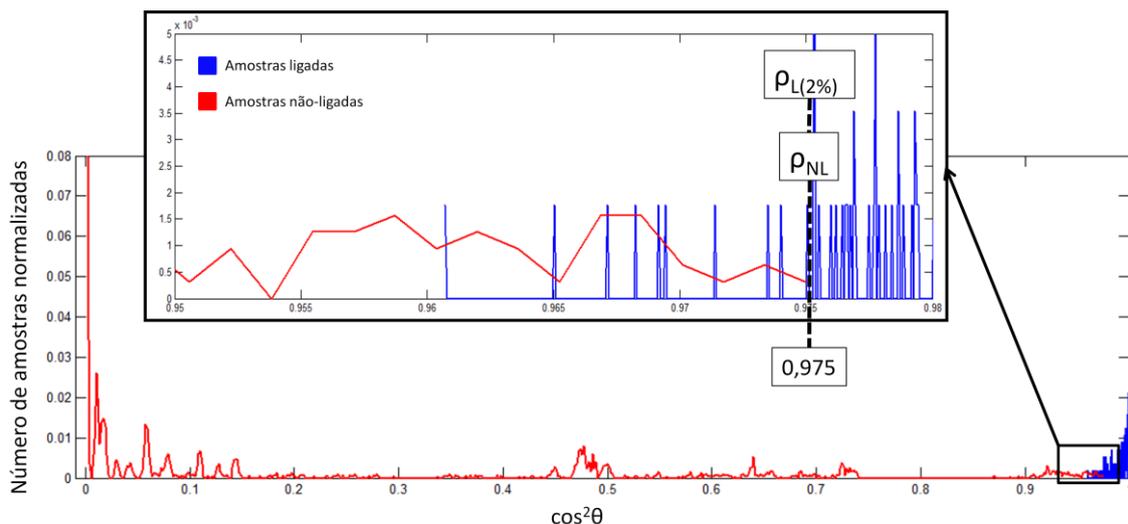


Figura 47: Histograma com amostras do Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95 com número de classes igual a 9, mostrando que não há zona de sobreposição com os valores limites coincidentes.

7.4.1.3. Caso 3: Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,97

A curva ROC para o Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,97 com o número de classes igual a 10 é apresentada na Figura 48 e as AUCs encontradas para cada curva ROC encontram-se na Tabela 15, as quais mostram que o primeiro maior valor indicou que o número correto de classes pode ser 7. No entanto, esse valor é descartado porque o início da curva das amostras ligadas é inferior a 0,90. O próximo maior valor de AUC indica que o número correto de classes é 10, mostrando o funcionamento do método proposto também para esse conjunto de amostras.

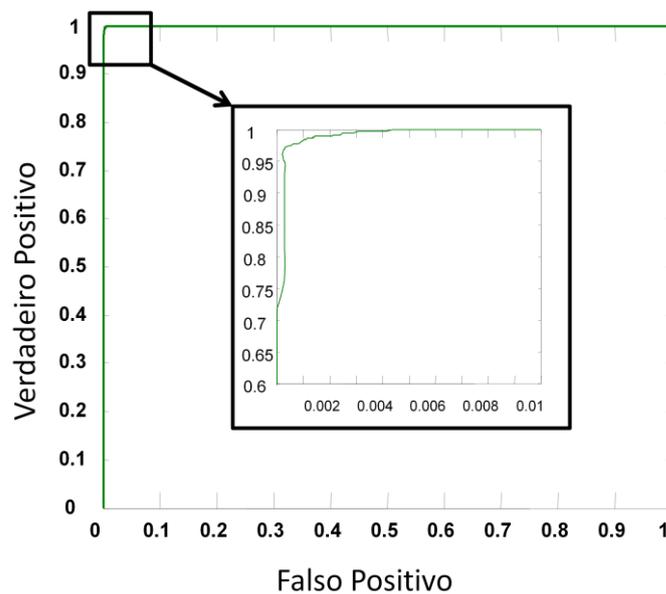


Figura 48: Curva ROC para o Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,97 com número de classes igual a 10.

Tabela 15: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,97.

Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}	Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}
2	0,8449	0,000	0,017	17	0,9992	0,975	0,993
3	0,7635	0,000	0,148	18	0,9949	0,977	0,999
4	0,9572	0,001	0,538	19	0,9957	0,986	0,999
5	0,9929	0,444	0,643	20	0,9957	0,986	0,999
6	0,9871	0,444	0,687	21	0,9940	0,989	0,999
7	1,0000	0,869	0,739	22	0,9962	0,990	0,999
8	0,9987	0,906	0,968	23	0,9968	0,994	0,999
9	0,99983	0,941	0,976	24	0,9950	0,994	0,999
10	0,99988	0,961	0,992	25	0,9981	0,995	0,999
11	0,99987	0,961	0,992	26	0,9981	0,995	0,999
12	0,99982	0,961	0,992	27	0,9985	0,995	0,999
13	0,99977	0,975	0,992	28	0,9987	0,996	0,999
14	0,9994	0,975	0,992	29	0,9988	0,996	0,999
15	0,9994	0,975	0,992	30	0,9989	0,996	0,999
16	0,9994	0,975	0,992				

Os limites encontrados para Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,97 são mostrados na Figura 49. As amostras são consideradas não ligadas se tiverem um cosseno quadrado (ρ) entre 0 e 0,975. Enquanto que as amostras são consideradas ligadas se tiverem um cosseno quadrado (ρ) entre 0,992 e 1. Portanto, nesse caso, a região de incerteza se encontra entre os valores de ρ : 0,975 e 0,992.

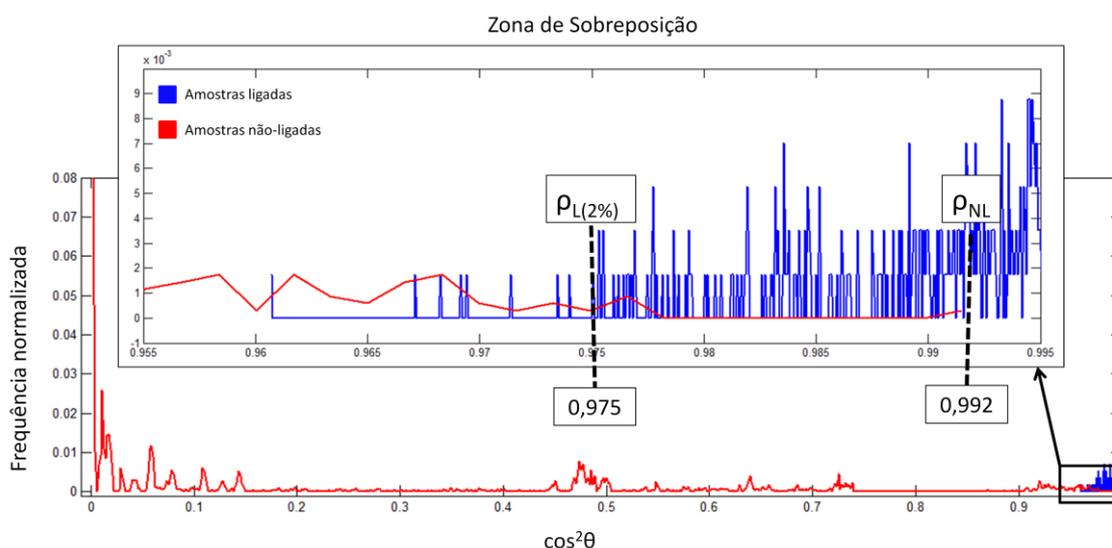


Figura 49: Histograma com amostras do Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,97 com número de classes igual a 10, mostrando a zona de sobreposição com os valores limites.

7.4.2. Conjunto Simulado de Amostras

O Conjunto de Amostras Simuladas foi criado com o objetivo de aumentar a variabilidade no número de amostras e verificar o funcionamento do método proposto para a determinação dos valores limites que separem amostras ligadas das não ligadas a partir da identificação do número correto de classes.

A seguir estão apresentados os resultados para os três sub-conjuntos de amostras simuladas.

7.4.2.1. Caso 1: Conjunto de Amostras Simuladas com correlação máxima de 0,70

O dendrograma do Conjunto de Amostras Simuladas, mostrado na Figura 50, foi obtido utilizando HCA da mesma forma que os dendrogramas obtidos para os Conjuntos Controlados de Amostras Reais.

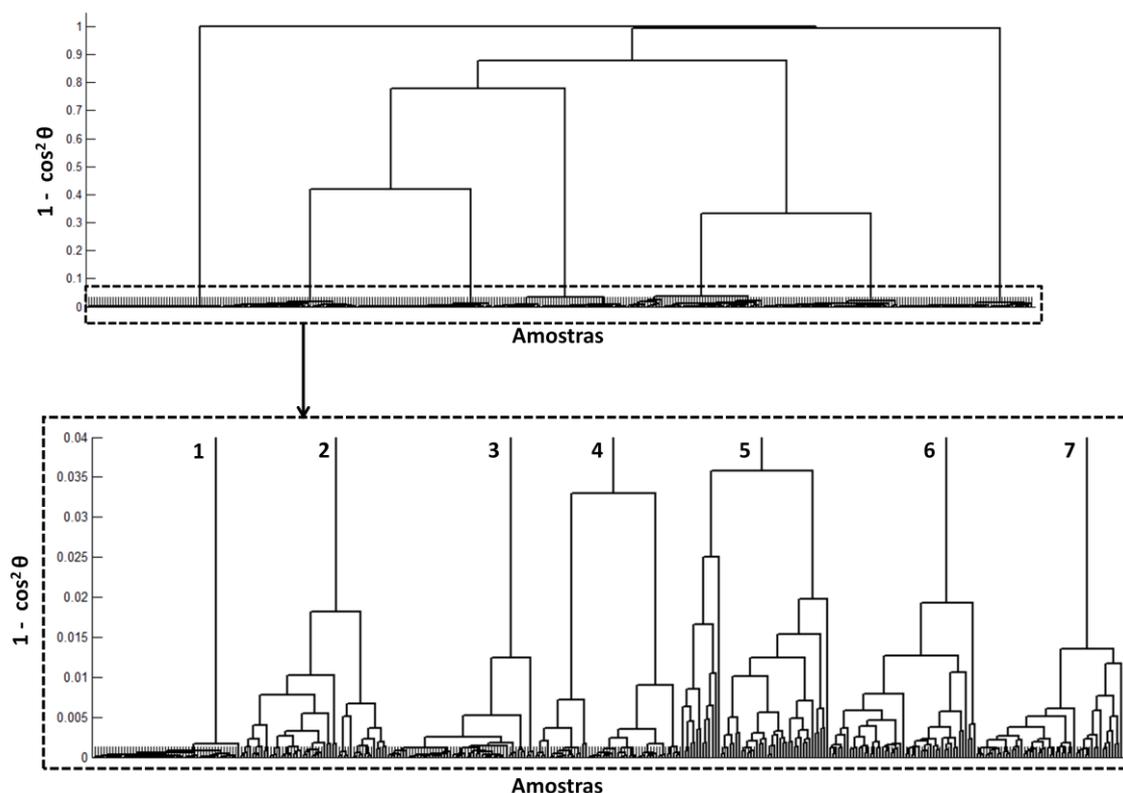


Figura 50: Dendrograma do Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,70 e ampliação da região mais ramificada mostrando as 7 classes indicadas pela HCA.

O histograma do Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,70 dividido em 7 classes, mostrado na Figura 51, também não

apresenta zona de sobreposição, pois embora esse conjunto tenha sido criado artificialmente, ele utilizou dados do Conjunto Controlado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,70 que não apresenta nenhum valor de ρ entre 0,738 e 0,918.

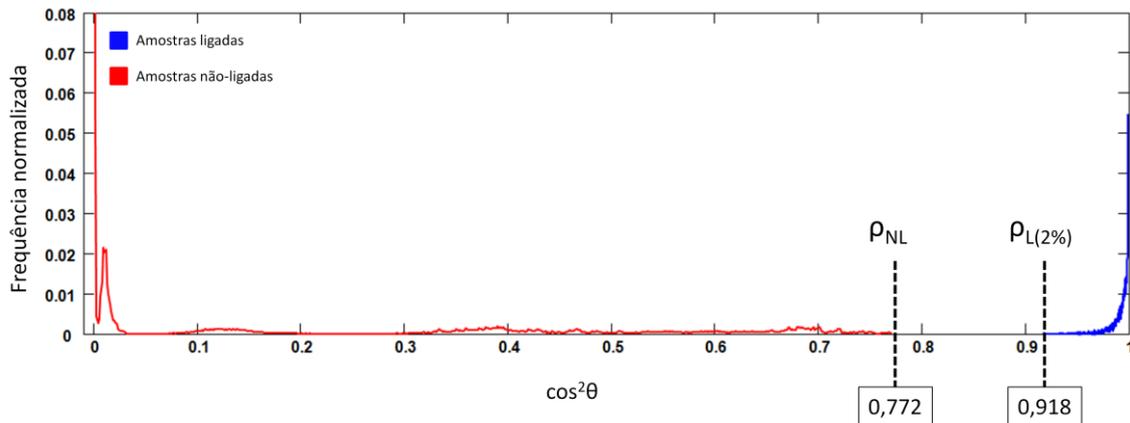


Figura 51: Histograma com amostras do Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,70 com número de classes igual a 7, mostrando os valores limites.

Os valores de AUC obtidos a partir das curvas ROC estão apresentados na Tabela 16. O primeiro maior valor encontrado indica que 7 é o número de classes correto, valor coincidente com os dados utilizados na criação desse conjunto. Assim, o método proposto foi eficaz para identificar o número de classes e, conseqüentemente, os valores limites para esse conjunto.

Tabela 16: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,70.

Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}	Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}
2	0,7965	0,000	0,004	17	0,9945	0,973	1,000
3	0,8068	0,000	0,031	18	0,9943	0,973	1,000
4	0,9406	0,000	0,493	19	0,9945	0,975	1,000
5	0,9999	0,463	0,541	20	0,9945	0,975	1,000
6	0,9991	0,590	0,730	21	0,9945	0,975	1,000
7	1,0000	0,918	0,772	22	0,9946	0,975	1,000
8	0,9988	0,923	0,998	23	0,9945	0,975	1,000
9	0,9974	0,947	1,000	24	0,9950	0,975	1,000
10	0,9974	0,947	1,000	25	0,9955	0,982	1,000
11	0,9974	0,947	1,000	26	0,9955	0,982	1,000
12	0,9972	0,947	1,000	27	0,9956	0,982	1,000
13	0,9963	0,960	1,000	28	0,9959	0,984	1,000
14	0,9963	0,960	1,000	29	0,9960	0,984	1,000
15	0,9965	0,971	1,000	30	0,9960	0,985	1,000
16	0,9954	0,973	1,000				

Para o Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,70 amostras são consideradas não ligadas quando apresentarem cosseno quadrado (ρ) de 0 a 0,772 e amostras são consideradas ligadas quando apresentarem cosseno quadrado (ρ) de 0,918 a 1, como mostra a Figura 51.

7.4.2.2. Caso 2: Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,95

Seguindo o procedimento sugerido pelo método proposto neste trabalho, a curva ROC para o Conjunto Simulado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95 foi obtida e está apresentada na Figura 52. Observa-se que nesse caso tem-se uma curva mais suave devido a quantidade de amostras disponíveis.

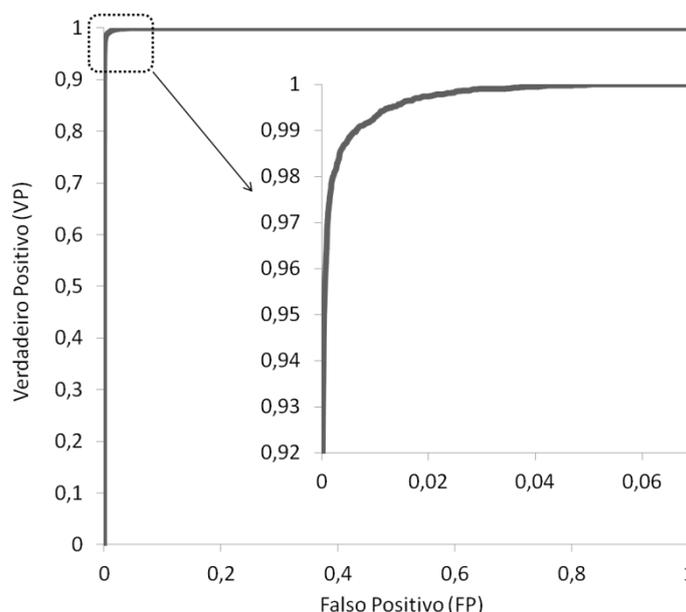


Figura 52: Curva ROC para Conjunto Simulado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95 com número de classes igual a 9.

Os valores de AUC obtidos para os diversos números de classe testados estão dispostos na Tabela 17, onde observa-se que o primeiro maior valor de AUC indica que o número correto de classes deveria ser 7, porém com esse número de classes o início da curva das amostras ligadas ($\rho_L=0,879$) ocorre com correlações inferiores a 0,90 indicando que amostras não ligadas foram classificadas como ligadas. Por isso, o segundo maior valor de AUC é encontrado (AUC=0,9997). Esse valor indica que o número correto de classe pode ser 9, valor que corresponde ao número de classes utilizado para criar

esse conjunto, o que mostra o funcionamento do método proposto para esse conjunto de amostras.

Tabela 17: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,95.

Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}	Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}
2	0,8472	0,000	0,004	17	0,9982	0,971	1,000
3	0,8588	0,000	0,132	18	0,9970	0,971	1,000
4	0,9767	0,006	0,541	19	0,9967	0,971	1,000
5	0,9942	0,445	0,657	20	0,9966	0,971	1,000
6	0,9917	0,445	0,730	21	0,9960	0,975	1,000
7	1,0000	0,879	0,772	22	0,9960	0,975	1,000
8	0,9965	0,879	0,985	23	0,9960	0,975	1,000
9	0,9997	0,918	0,993	24	0,9962	0,975	1,000
10	0,9993	0,923	0,998	25	0,9961	0,975	1,000
11	0,9987	0,947	1,000	26	0,9965	0,981	1,000
12	0,9987	0,947	1,000	27	0,9965	0,981	1,000
13	0,9987	0,947	1,000	28	0,9965	0,981	1,000
14	0,9982	0,960	1,000	29	0,9966	0,981	1,000
15	0,9982	0,960	1,000	30	0,9967	0,981	1,000
16	0,9982	0,965	1,000				

Com o número de classes determinado é possível verificar no histograma (Figura 53) que os valores limites para esse conjunto classificam as amostras como ligadas quando apresentam cosseno quadrado (ρ) entre 0,993 e 1 e amostras são consideradas não ligadas se apresentarem cosseno quadrado (ρ) entre 0 e 0,970. A região de incerteza foi determinada entre o intervalo de 0,970 e 0,993. Para amostras que possuem ρ dentro do intervalo de incerteza outras análises deverão ser feitas e outras informações adicionais são necessárias para verificar se existe ligação entre tais amostras.

Também é possível observar no histograma da Figura 53 que, em comparação com a Figura 47, a zona de sobreposição do conjunto simulado é maior porque possui um número maior de amostras e um maior nível de ruído, adicionado artificialmente.

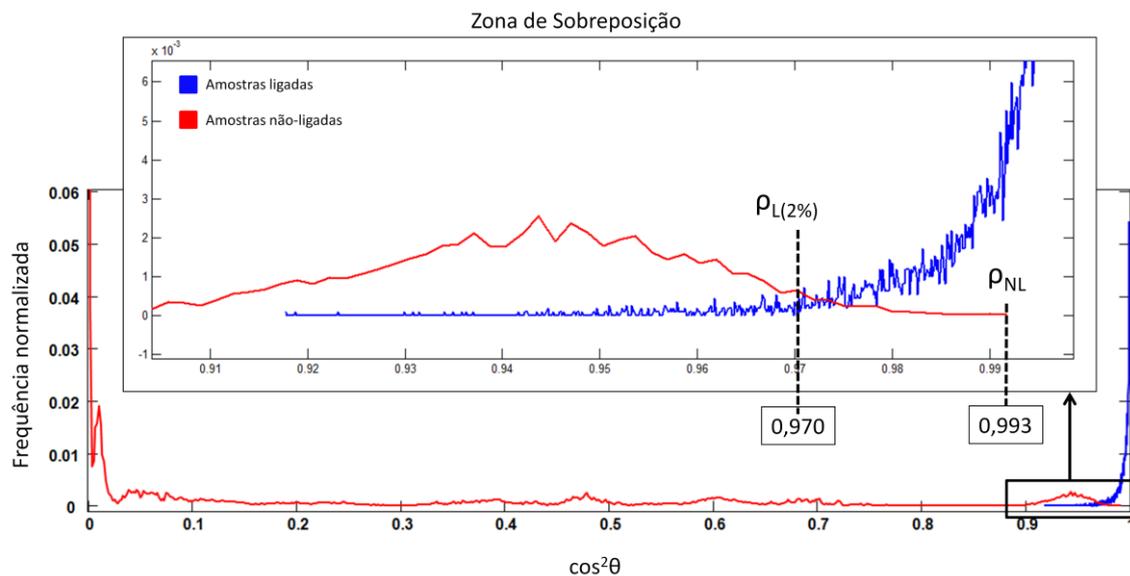


Figura 53: Histograma com amostras do Conjunto Simulado de Amostras Reais com correlação máxima de 0,95 com número de classes igual a 9, mostrando a zona de sobreposição com os valores limites.

7.4.2.3. Caso 3: Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,97

O último conjunto utilizado para testar o funcionamento do método proposto para a determinação dos valores limites na separação de amostras ligadas e não ligadas é o Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,97.

Os histogramas obtidos para esse conjunto de amostras seguiram as mesmas tendências observadas nos demais casos, quando as amostras são distribuídas em poucas classes, a curva de amostras ligadas inicia-se com baixos valores de correlação. Quando as amostras são distribuídas em muitas classes, o histograma apresenta um número elevado de correlações com valores acima de 0,90 na curva de amostras não ligadas, conforme pode ser observado na Figura 54.

Observa-se na Tabela 18 que para o Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,97 o maior valor de AUC indicou que o número correto de classes deveria ser 7, no entanto, para esse valor o início da curva de amostras ligadas é inferior a 0,90 ($\rho_L=0,880$). O segundo maior valor de AUC indica o número correto de classes: 10. Porém, o início da curva de

amostras ligadas também é inferior a 0,90 ($\rho_L=0,880$). O terceiro maior valor de AUC indica que o número correto de classes é 11 ($\rho_L=0,942$).

A diferença encontrada na determinação do número correto de classes e o número de classes utilizado inicialmente para a construção do Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,97 pode ser explicada pelo acréscimo de variabilidade aos dados, promovendo um possível surgimento de novas classes. Porém, mesmo com o surgimento de uma nova classe a variação nos limites da região de incerteza não foi significativo. Para o número de classes igual a 10 os limites são: 0,971 a 0,9995 e para o número de classes igual a 11 os limites são: 0,974 a 0,9995.

Tabela 18: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,97.

Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}	$\rho_{L(2\%)}$	Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}	$\rho_{L(2\%)}$
2	0,7579	0,000	0,554	ND	17	0,9977	0,967	0,9996	0,986
3	0,9050	0,000	0,554	ND	18	0,9976	0,968	0,9996	0,986
4	0,9556	0,001	0,554	ND	19	0,9976	0,968	0,9996	0,987
5	0,9929	0,447	0,652	0,480	20	0,9970	0,968	0,9996	0,987
6	0,9956	0,460	0,772	0,578	21	0,9973	0,973	0,9996	0,988
7	1,0000	0,880	0,772	0,922	22	0,9974	0,973	0,9996	0,988
8	0,9979	0,880	0,981	0,927	23	0,9968	0,973	0,9997	0,989
9	0,9986	0,880	0,982	0,953	24	0,9961	0,973	0,9998	0,990
10	0,9992	0,880	0,9995	0,971	25	0,9962	0,976	0,9998	0,990
11	0,9991	0,942	0,9995	0,974	26	0,9963	0,976	0,9998	0,990
12	0,9987	0,944	0,9995	0,983	27	0,9965	0,980	0,9998	0,991
13	0,9983	0,944	0,9995	0,983	28	0,9966	0,980	0,9998	0,991
14	0,9980	0,944	0,9995	0,984	29	0,9968	0,980	0,9998	0,992
15	0,9981	0,960	0,9996	0,982	30	0,9969	0,980	0,9998	0,992
16	0,9980	0,967	0,9996	0,985					

ND: Valores não determinados.

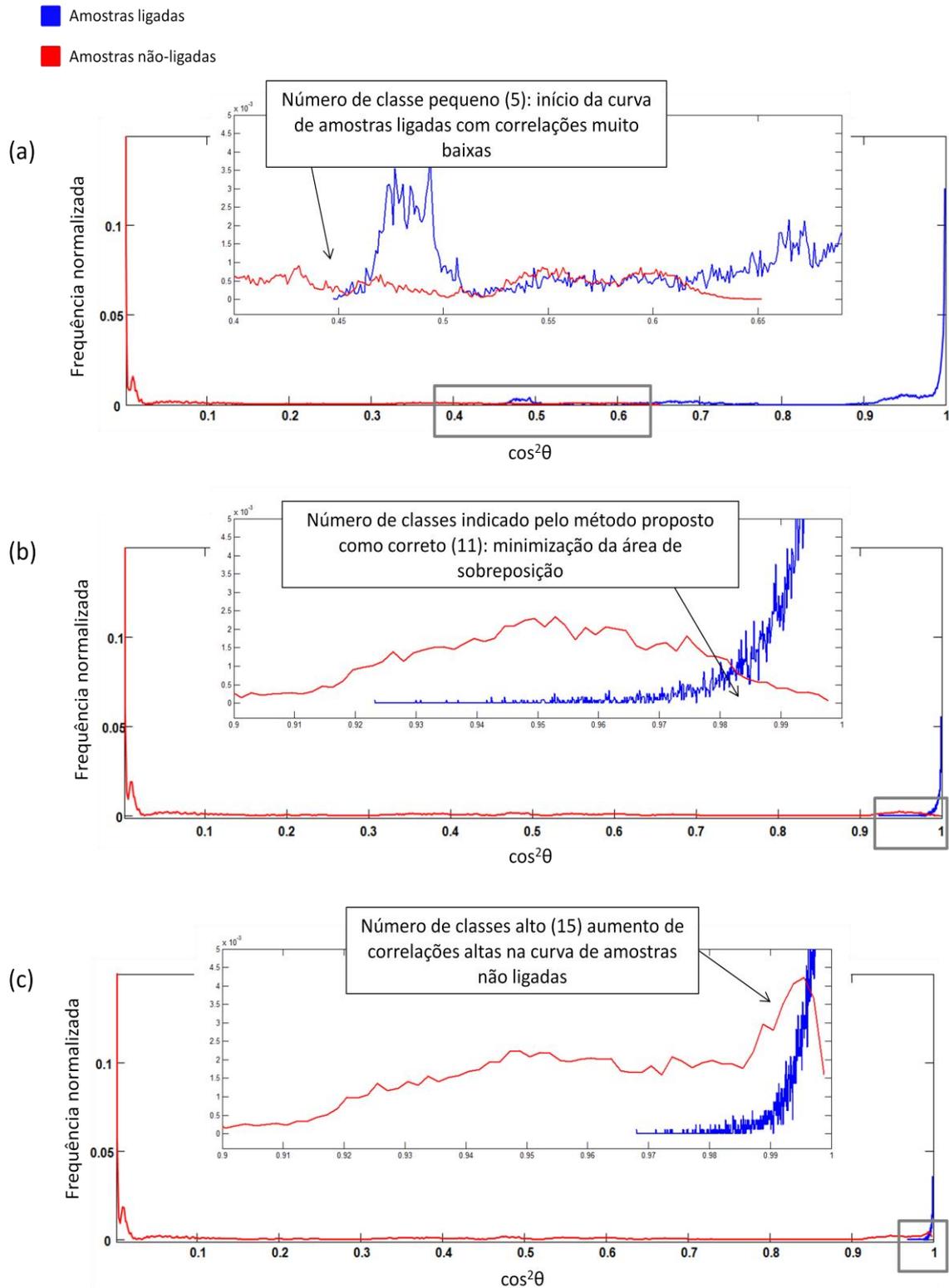


Figura 54: Histogramas para o Conjunto Simulado de Amostras com correlação máxima de 0,97: (a) com número de classes inferior ao número real, (b) com número de classes ideal e (c) com número de classes superior ao número real.

Os limites encontrados para esse Conjunto considerando o número de classes utilizadas na criação do conjunto, 10 classes, caracteriza amostras não ligadas como sendo as que apresentam cosseno quadrado (ρ) entre 0 e 0,971 e amostras ligadas como sendo as que apresentam cosseno quadrado entre 0,9995 e 1. Já os limites encontrados para o conjunto que considera o número de classes determinado pela metodologia apresentada, 11 classes, classificam amostras como não ligadas quando o cosseno quadrado (ρ) entre seus vetores está entre 0 e 0,973 e classificam amostras ligadas quando o cosseno quadrado está entre 0,9995 e 1. A diferença observada entre as classificações encontra-se na terceira casa decimal não sendo, portanto, significativa.

7.4.3. Conjunto de Amostras Reais com mais de 10 picos

Esse conjunto representa o estudo de um caso real que forneceu subsídios para o estabelecimento de correlações entre amostras apreendidas pela Polícia Federal.

O dendrograma obtido para esse Conjunto com mais de 10 picos é apresentado na Figura 55, onde observa-se uma maior ramificação do que para os casos dos Conjuntos Controlados de Amostras Reais.

Na Figura 56 foram apresentados histogramas representantes das três faixas de classes citadas anteriormente. A primeira faixa com números de classe entre 10 e 13, a segunda faixa com números de classe entre 19 e 28 e a terceira faixa com valores superiores a 28 classes.

As tendências observadas na análise visual dos histogramas foram as mesmas observadas em todos os casos, a primeira faixa apresentada com números de classe entre 10 e 13 provavelmente possui um número inferior ao número correto de classes desse Conjunto, pois amostras com coeficientes de correlação inferiores a 0,90 são consideradas ligadas. As observações dos histogramas da segunda faixa sugeriram que o número correto de classes está entre 19 e 28 classes. Já os histogramas com número de classes superior a 28 indicam que esses são valores muito elevados para classificar amostras visto que muitas amostras com correlações altas, acima de 0,99 são consideradas como não ligadas.

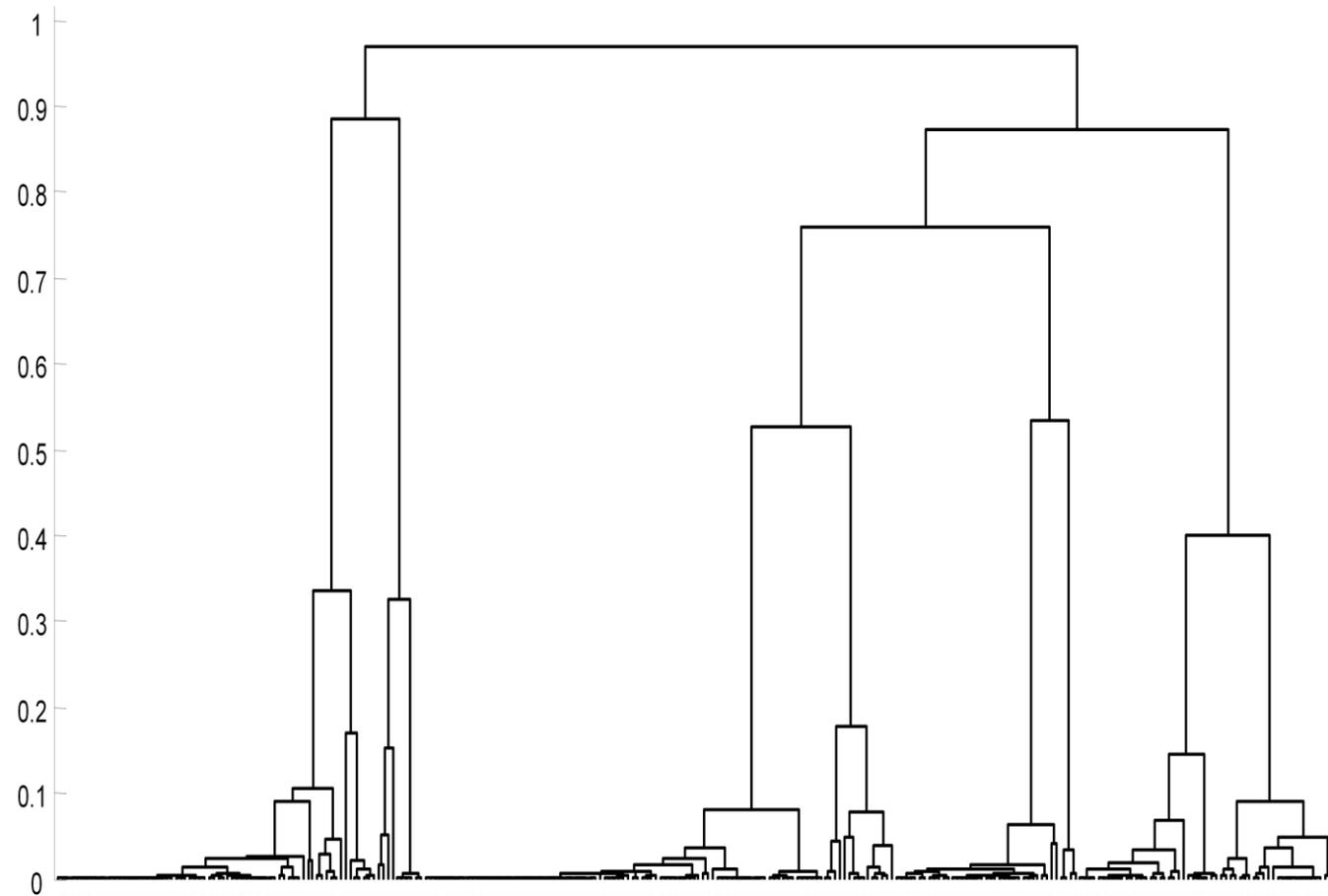


Figura 55: Dendrograma do Conjunto de Amostras Reais.

Conjunto de Amostras Reais com mais de 10 picos cromatográficos

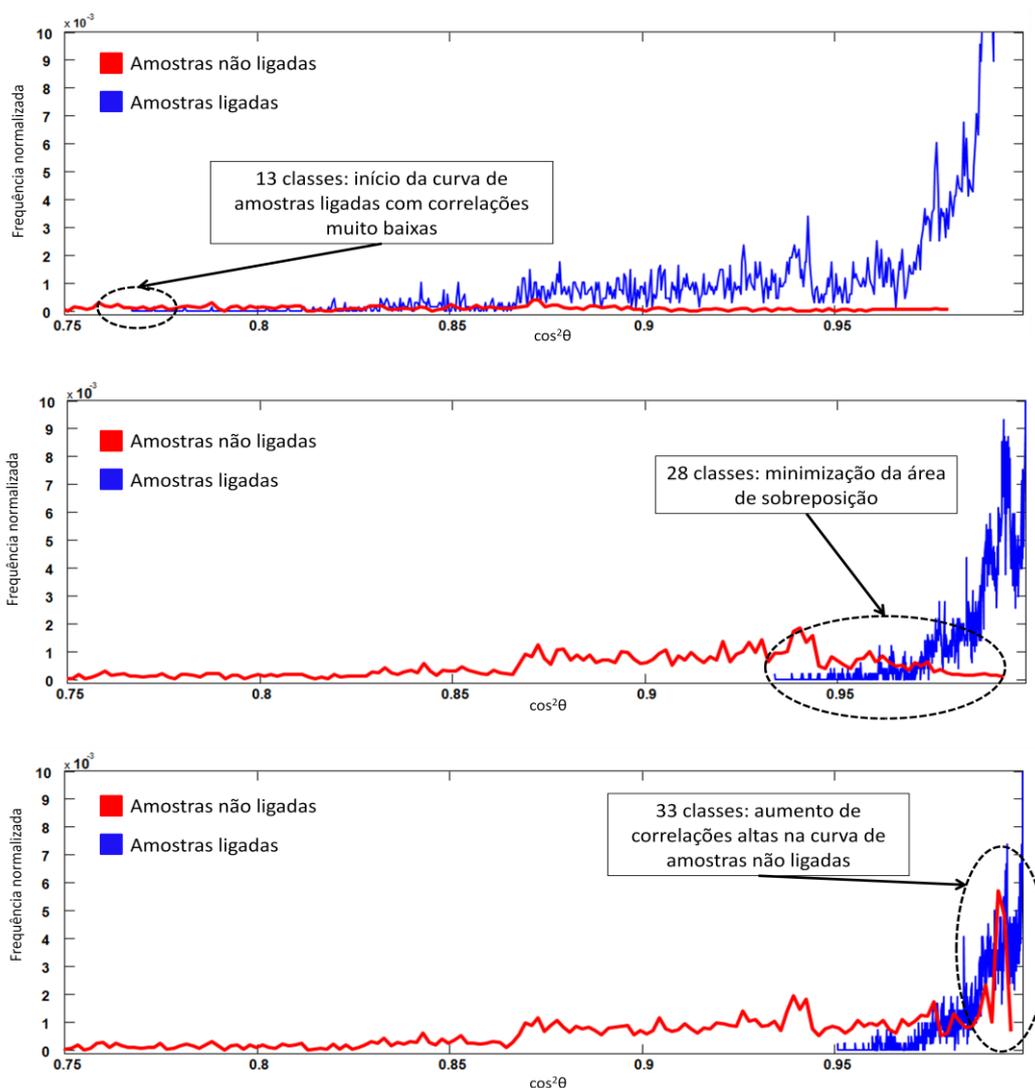


Figura 56: Histogramas para o Conjunto de Amostras Reais: (a) com número de classes inferior ao número real, (b) com número de classes ideal e (c) com número de classes superior ao número real.

Na Tabela 19 estão apresentados os valores de AUC com marcação nos valores mais altos de AUC. O primeiro maior valor de AUC indica que o número de classes do conjunto deveria ser 10 classes, porém com esse número de classe amostras com baixos valores de correlações são consideradas ligadas. O próximo maior valor de AUC indica que o número de classes correto deve estar entre 24 e 28 classes.

Tabela 19: Valores de AUC para os diversos números de classes estudados no Conjunto de Amostras Reais com mais de 10 picos.

Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}	$\rho_{L(2\%)}$	Nº de classes	AUC	ρ_L	ρ_{NL}	$\rho_{L(2\%)}$
8	0,9975	0,428	0,974	0,548	31	0,9934	0,948	0,997	0,971
9	0,9995	0,531	0,974	0,847	32	0,9934	0,949	0,997	0,971
10	0,9996	0,619	0,974	0,852	33	0,9934	0,951	0,997	0,971
11	0,9995	0,759	0,980	0,856	34	0,9935	0,951	0,997	0,972
12	0,9995	0,759	0,980	0,859	35	0,9935	0,951	0,997	0,972
13	0,9995	0,767	0,980	0,859	36	0,9939	0,951	0,997	0,973
14	0,9991	0,808	0,980	0,868	37	0,9946	0,959	0,997	0,978
15	0,9976	0,812	0,994	0,871	38	0,9946	0,967	0,997	0,978
16	0,9973	0,812	0,994	0,873	39	0,9946	0,967	0,997	0,978
17	0,9975	0,852	0,994	0,879	40	0,9948	0,971	0,997	0,978
18	0,9989	0,885	0,994	0,941	41	0,9950	0,971	0,997	0,979
19	0,9989	0,885	0,994	0,948	42	0,9950	0,971	0,997	0,979
20	0,9990	0,885	0,994	0,951	43	0,9950	0,971	0,997	0,979
21	0,9994	0,925	0,994	0,961	44	0,9950	0,971	0,997	0,979
22	0,9994	0,925	0,994	0,961	45	0,9937	0,975	0,999	0,986
23	0,9994	0,925	0,994	0,961	46	0,9938	0,975	0,999	0,986
24	0,9995	0,930	0,9941	0,9624	47	0,9938	0,975	0,999	0,986
25	0,9995	0,934	0,9941	0,9627	48	0,9939	0,975	0,999	0,986
26	0,9995	0,934	0,9941	0,9628	49	0,9939	0,975	0,999	0,986
27	0,9995	0,934	0,9941	0,9631	50	0,9939	0,975	0,999	0,986
28	0,9995	0,934	0,9941	0,9635	51	0,9939	0,975	0,999	0,986
29	0,9931	0,934	0,997	0,963	52	0,9936	0,977	0,999	0,987
30	0,9932	0,941	0,997	0,965	53	0,9937	0,977	0,999	0,987

Nesse caso, o segundo critério que pode ser avaliado para determinar o número de classes correto é a minimização da zona de sobreposição. Assim, comparando a distancia entre $\rho_{L(2\%)}$ e ρ_{NL} (0,9635 a 0,9941), foi possível indicar que o número de classes que melhor classifica a população de amostras para esse conjunto é 28.

Após determinar os valores limites do conjunto, esses valores foram comparados com limites descritos na literatura que também estabeleceram valores limites para identificar correlações entre amostras de sal de cocaína utilizando o quadrado da função cosseno. Na Tabela 20 foram mostrados os resultados obtidos.

Tabela 20: Valores de ρ_{NL} e $\rho_{L(2\%)}$ para um conjunto de dados encontrado na literatura e para o Conjunto de Amostras Reais com mais de 10 picos estudado nesse trabalho.

Laboratório	$\rho_{L(2\%)}$	ρ_{NL}
INC – Brasília, Brasil: <i>Amostras Reais com mais de 10 picos</i>	0,963	0,994
LPS – Lyon, França*	0,985	0,994

*O trabalho realizado pelo Laboratório de Lyon na França em 2008 utilizando um conjunto de amostras conhecidas.¹⁹

Os valores limites encontrados nesse trabalho diferem pouco do valor encontrado na literatura, o que não caracteriza um problema ou incoerência, pois valores limites podem variar de acordo com o conjunto de amostras analisadas.

7.4.3.1. Aplicação para casos reais

A partir dos limites fixados pela aplicação da metodologia proposta nesse trabalho, correlações puderam estabelecidas entre diferentes apreensões de sal de cocaína realizadas pela Polícia Federal.

Um caso observado, caso 1, correlacionou quatro apreensões que foram feitas em Estados diferentes. Amostras dessas apreensões apresentaram ρ maior que 0,994. Essas correlações foram confirmadas por outras análises e investigações policiais. A Figura 57 mostra onde foram realizadas as apreensões e a quantidade de cocaína que foi apreendida nesse caso.

Outra aplicação desse método pode ser observada na Figura 58, onde foi possível correlacionar amostras de três diferentes apreensões. Nesse caso particular, pode-se inferir que as amostras foram produzidas em um laboratório de um dos três estados e distribuídas para dois traficantes que reprocessaram as amostras. Esse segundo processamento das amostras é uma provável explicação para as correlações encontradas entre as amostras apreendidas no Estado do Paraná e no Distrito Federal terem valores dentro da região de incerteza.



Figura 57: Caso 1 - Apreensões correlacionadas feitas pela Polícia Federal de amostras de sal de cocaína.



Figura 58: Caso 2 - Apreensões correlacionadas feitas pela Polícia Federal de amostras de sal de cocaína.

Conclusão

8. Conclusão

A determinação de solventes residuais em amostras de sal de cocaína através de HS-CG-MS e sua análise através de ferramentas quimiométricas se mostrou útil para aplicações forenses, pois permitiu a identificação do método de refino e a comparação de amostras apreendidas.

O grande número de amostras analisadas permitiu a criação de um banco de dados que caracterizou as apreensões de sal de cocaína feitas pela Polícia Federal entre 2007 e 2010. As análises de HCA e PCA classificaram essas amostras de acordo com métodos de refino utilizados no processo de produção da cocaína, sendo possível apresentar os tipos de solventes que vêm sendo utilizados no preparo das amostras apreendidas com mais frequência no Brasil. Esse estudo permite melhorar o controle e a venda de produtos químicos no país, com intenção de dificultar a produção de cocaína.

Estudos estatísticos feitos para o conjunto de dados possibilitou a criação de uma metodologia que permite a identificação de correlações entre apreensões de amostras de sal de cocaína. Além disso, os estudos estatísticos definiram valores limites de correlação que discriminam amostras como sendo ligadas e não ligadas. Os valores limites encontrados nesse trabalho são comparáveis com valores determinados por outros métodos descritos na literatura.

A metodologia apresentada nesse trabalho é promissora, pois não necessita do conhecimento *a priori* da população de amostras e permite o ajuste dinâmico dos valores limites. Assim, periodicamente novas amostras, analisadas em trabalhos rotineiros, podem ser incorporadas ao conjunto de dados e amostras que provavelmente não estão mais no mercado do tráfico podem ser retiradas do conjunto de dados. Logo, características de novas amostras podem ser retratadas dinamicamente no estabelecimento dos valores limites.

9. Referências

1. Drug Identification Bible. **2006**, 251-261. (ISBN: 0-9635626-8-1).
2. Oropesa Ortuno L., Oropesa Garcia J.C., Oropesa Garcia F., Manual internacional de investigation y control quimico antonarcoticos, Ed. FTM, La Paz, Bolivia, 2ª edição, **2005**.
3. Campos Bahls, F.; Clair Bahls, S.; *Interação em Psicologia*. **2002**, 6, 177-181.
4. Casale, J. F.; Klein, R. F. X.; *Forensic Science Review*. **1993**, 5, 95–107.
5. Singh, S.; *Chemical Reviews*. **2000**, 100, 925–1024.
6. Paula, S.; Tabet, M. R.; Farr, C. D.; Norman, A. B.; Ball, W. J.; *Journal of Medicinal Chemistry*. **2004**, 47, 133–142.
7. <http://www.obid.senad.gov.br/portais/OBID/index.php#historico>, acessado em 23/11/2011.
8. Carlini E.A.; Galduróz J.C.; Noto A.R.; Nappo S.A.; I Levantamento domiciliar nacional sobre uso de drogas psicotrópicas no Brasil (**2001**). São Paulo: Secretaria Nacional Antidrogas/Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas - CEBRID.
9. Duailibi, L.B.; Ribeiro, M.; Laranjeira, R.; *Caderno de Saúde Pública*. **2008**, 24, 545-557.
10. Hamid A.; *The international journal of the addiction*. **1991**, 26(8), 825-836.
11. Hamid A.; *The international journal of the addiction*. **1991**, 26(8), 913-922.
12. United Nations Office on Drugs and Crime, World Drug Report: Analysis, United Nations Publications, **2009**.
13. Código Civil, Lei no 11.343/06, de 23 de agosto de 2006.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria SVS/MS 344. Diário Oficial da União, Brasília 12 de Maio de **1998**.
15. Chiarotti, M.; Fucci, N.; *Forensic Science International*. **1999**, 733, 127-136.
16. Cole, M. D. The Analysis of Controlled Substances. Ed. John Willey & Sons: Chichester, WS, **2003**.
17. Casale, J.F.; Waggoner, R.W.; *Journal of Chromatography A*. **1991**, 36, 1312–1330.
18. Esseiva, P.; Dujourdy, L.; Besacier, F.; Margot, P.; Locicero, S.; Hayoz, P.; *Forensic Science International*. **2007**, 167, 220-228.

-
19. Dujourdy, L.; Besacier, F.; *Forensic Science International*. **2008**, 179, 111-122.
20. Chiarotti, M.; Marsili, R.; Moreda-Piñero, A.; *Journal of Chromatography*. **2002**, 772, 249-256.
21. Casale, J. F.; James, B. S.; Ehleringer, J. R.; Morello, D. R.; Loot, M. J.; *Journal of Forensic Science*. **2005**, 50(6), 1-7.
22. Dräger, B.; *Journal of Chromatography*. **2002**, 978, 1-35.
23. Lydon, J.; Casale, J. F.; Kong, H. Sullivan, J.H.; Daughtry, C. S. T.; Bailey, B.; *Photochemistry and Photobiology*. **2009**, 85, 1156-1161.
24. Moore, J. M.; Casale, J. F.; Cooper, D. A.; *Journal of Chromatography*. **1996**, 756, 193-201.
25. Morello, D.R.; Meyers, R.P.; *Journal of Forensic Science*. **1995**, 40, 957-963.
26. Rossi, R. C.; Determinação de componentes voláteis minoritários em amostras de cocaína empregando extração por *headspace* estático e cromatografia a gás. Nova Hamburgo, **2009**.
27. Chiarotti, M.; Fucci, N.; *Forensic Science International*. **1988**, 37, 47-53.
28. Esseiva, P.; Anglada, F.; Dujourdy, L.; Taroni, F.; Margot, P.; Du Pasquier, E.; Dawson, M.; Roux, C.; Doble, P.; *Talanta*. **2005**, 67,360–367.
29. Farmacopeia Brasileira, volume 1 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, **2010**.
30. Avdovich, H. W.; Lebelle, M. J.; Savard, C. ; Wilson, W. L.; .; *Forensic Science International*. **1991**, 49, 225-235.
31. Cole, M. D.; Cartier, J.; Guéniat, O.; *Science and Justice*. **1997**, 37, 175-181.
32. Otero, R.; Carrera, G.; Dulsat, J.F.; Fabrega, J.L.; Claramunt, J.; *Journal of Chromatography A*. **2004**, 1057, 193–201.
33. Esseiva, P.; Gaste, L.; Alvarez, D.; Anglada, F.; *Forensic Science International*. **2011**, 207, 27–34.
34. Margot, P.; Dujourdy, L.; Barbat, G.; Taroni, F.; Guéniat , O.; Esseiva, P.; Anglada, F.; *Forensic Science International*. **2003**, 131, 171-183.
35. Esseiva, P.; Locicero, S.; Hayoz, P.; Dujourdy, L.; Besacier, F.; Margot, P.; *Forensic Science International*. **2008**, 177, 199-206.

36. CICAD OAS. The Toxicology of Selected Substances Used in the Production and Refining of Cocaine and Heroin: A Tier-Two Assessment. Ed. Organization of American States, Washington, DC, USA, **2005**.

37. <http://nuno-ontheroad.blogspot.com/2007/10/cidade-perdida-dos-taironas.html>

38. *Microgram Bulletin*, Vol. Xxxvi, 2, 37, **2003**.

39. Collins, M. ; Casale, J.; Cocaine profiling—detail, in: 18th International Symposium on the Forensic Sciences The Australian and New Zealand Forensic Science Society (ANZFSS), Trends in Drug Profiling Workshop, Perth, April, **2006**.

40. Camarasu, C.C.; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2000**, 23, 197-210.

41. http://www.crq4.org.br/sms/files/file/cromatografia_site_mini2010.pdf acessado em 30/11/2011.

42. B. Kolb, L. S. Ettre in *Static headspace-gas chromatography Theory and Practice*. Wiley Interscience, Hoboken, **2006**.

43. Stahl, W. H.; Voelker, W. A.; Sullivan, J. H.; *Food Technology*. **1960**, 14, 14–16.

44. Machata, G.; *Mikrochimica Acta*. **1964**, (2/4), 262–271.

45. <http://www.chem.agilent.com>, acessado em 30/01/2012.

46. Carvalho, P.C.; Fischer, J.S.G.; Degrave, W.M.; Carvalho, M.G.C.; *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, **2006**, 42(6), 431-436.

47. De Grande, S.M.B.; Aquino Neto, F.R.; *Química Nova*, **1990**, 13(3), 191-199.

48. <http://bondingorbital.com/espectros/EM.pdf> acessada em 13/01/2012.

49. Cole, M.D.; *Forensic Science Review*, **1998**, 10, 113–120.

50. Massart, D.L; Vandeginste, B.G.M.; Buydens, L.M.C.; de Jong, S.; Lewi, P.J.; Smeyers-Verbeke, J.; *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part A*; Ed. Elsevier, 3a edição, **2003**.

51. Roggo, Y.; Chalus, P.; Maurer, L.; Lema-Martinez, C.; Edmond, A.; Jent, N.; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2007**, 44, 683-700.

52. M. Otto. *Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry*, John Wiley, New York, 1999.

53. <http://www.mathworks.com>, acessado em 30/11/2011.

-
54. Neto, J.M.M.; Moita, G.C.; *Química Nova*. **1998**, 21(4), 467-469.
55. Esseiva, P.; Dujourdy, L.; Taroni, F.; Anglada, F.; Margot, P.; *Forensic Science International*. **2003**, 132, 139-152.
56. Weywrmann, C.; Marquis, R.; Delaporte, C.; Esseiva, P.; Lock, E.; Aalberg, L.; Bozenko Jr., J.S.; Dieckmann, S.; Dujourdy, L.; Zrcek, F.; *Forensic Science International*. **2008**, 177, 11-16.
57. Tanaka, K.; Ohmorit, T.; Inoue, T.; Seta, S.; *Forensic Science International*. **1994**, 39(2), 500-511.
58. Janzen, K.E.; Fernando, A.R.; Walter, L.; *Forensic Science International*. **1994**, 69, 23-29.
59. Perkal, M.; Pearson, J.; *Forensic Science International*. **1994**, 69, 77-87.
60. Thornton, J.I.; *Journal Forensic Science*. **1975**, 19(4), 873-883.
61. http://www2.dbd.puc-rio.br/pergamum/tesesabertas/0016025_04_cap_02.pdf acessado em 30/11/2011.
62. Obuchowski, N.A.; *American Journal of Roentgenology*. **2005**, 184(2), 364-372.
63. Zacca, J. J.: Training Report at the Laboratoire de Police Scientifique Lyon – France, **2009**.
64. Brendolan, G.: Validação de Métodos Analíticos. Apostila de curso. São Paulo, 4ª edição, **2010**.

Anexo

Cromatogramas característicos para as classes que formam o *Conjunto de Controlado de Amostras*.

