

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

ROGÉRIO ARAUJO LORDEIRO

**CONSTRUÇÃO DE UMA FONTE EASI-MS
(EASY AMBIENT SONIC-SPRAY IONIZATION)
PARA ANÁLISE DIRETA DE SUPERFÍCIES E SUA
APLICAÇÃO EM AMOSTRAS DE INTERESSE FORENSE**

Belo Horizonte

2011

ROGÉRIO ARAUJO LORDEIRO

CONSTRUÇÃO DE UMA FONTE EASI-MS (EASY AMBIENT SONIC-SPRAY IONIZATION) PARA ANÁLISE DIRETA DE SUPERFÍCIES E SUA APLICAÇÃO EM AMOSTRAS DE INTERESSE FORENSE

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química – Química Analítica.

BELO HORIZONTE

2011

Lordeiro, Rogério Araujo,
Construção de uma fonte EASI-MS (Easy Ambient Sonic-
spray Ionization) para análise direta de superfícies e
sua aplicação em amostras de interesse forense/
Rogério Araujo Lordeiro. 2011.

viii, 78 f. : il.

Orientador: Rodinei Augusti.

Coorientadora: Clésia Cristina Nascentes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais. Departamento de Química.

Bibliografia: 75-78.

1. Química analítica - Teses 2. Espectrometria de
Massas - Teses 3. Análise direta de superfícies -
Teses 4. Química forense - Teses I. Augusti,
Rodinei, Orientador II. Nascentes, Clésia Cristina,



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEX
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG
TEL.: 031 - 3499-5732
FAX: 031 - 3499-5700
E-MAIL: pgquimic@zeus.qui.ufmg.br



**"Construção de uma Fonte EASI-MS (Easy Ambient Sonic-Spray Ionization)
para Análise Direta de Superfícies e sua Aplicação em Amostras de Interesse
Forense"**

Rogério Araújo Lordeiro

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Rodinei Augusti - Orientador
UFMG

Prof. Clésia Cristina Nascentes - Co-Orientadora
UFMG

Prof. Evandro Piccin
UFMG

Prof. Patterson Patrício de Souza
CEFET-MG

Belo Horizonte, 28 de fevereiro de 2011.

DEDICATÓRIA

A DEUS, por dirigir meus passos, proteger meus caminhos e dar a força para recomeçar.

A meus filhos e esposa, pelo que deixamos de compartilhar durante as horas distantes.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por me conduzir até este ponto.

Ao professor e Orientador Dr. Rodinei, por ter me dado a oportunidade de produzir este trabalho, pelos conhecimentos compartilhados e principalmente pela paciência dispendida.

À professora e Co-orientadora Dra. Clésia, pelas raras (por minha culpa), mas sempre proveitosas conversas.

À Dra. Ilza Dalmásio pelas dicas e impulso inicial e a todos que ajudaram na montagem da fonte;

A todos os professores que despertaram o desejo de buscar os caminhos árduos mas, muito glorificante das ciências.

Aos amigos do Laboratório de Espectrometria de Massas, pelo carinho e atenção dispensada.

Aos amigos da STQFL pela compreensão e apoio recebidos e, em especial ao meu chefe Washington, sem o qual eu não teria conseguido o tempo necessário.

Aos funcionários da pós-graduação pela atenção dispensada e instruções passadas.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para que eu conquistasse mais esta etapa.

Minha eterna gratidão! Gentileza!

RESUMO

Neste trabalho, uma fonte de ionização à pressão atmosférica para análise de superfícies, chamada Easy Ambient Sonic-Spray Ionization (EASI-MS), foi construída em nosso laboratório utilizando materiais de baixo custo. A fonte construída foi aplicada na análise de amostras de interesse forense, com resultados bastante satisfatórios.

Inicialmente, detectou-se cocaína em misturas sólidas preparadas em concentrações tão baixas quanto 0,1% p/p. Esta concentração está abaixo do limite de detecção dos reagentes utilizados na identificação preliminar desta droga. A aplicação desta metodologia permitiu, também, a identificação inequívoca de substâncias derivadas de anfetaminas diretamente da superfície de comprimidos apreendidos.

Realizou-se, também, a análise direta de selos (*blotters*) suspeitos de conter LSD. Todos os resultados obtidos por EASI-MS foram confirmados por medidas realizadas por CLAE-UV. A análise de tintas de caneta permitiu a identificação dos diferentes componentes presentes em tintas de diferentes cores e de diferentes marcas, demonstrando o potencial da técnica EASI-MS na detecção de fraudes documentais.

Finalmente, a detecção dos inseticidas aldicarb e carbofuran diretamente na superfície de grânulos, num procedimento rápido e que não envolve qualquer etapa de pré-tratamento, credencia a técnica EASI-MS para a análise destas substâncias, as quais estão ligadas à ocorrências freqüentes de intoxicação e envenenamento de seres humanos e animais.

Palavras-chave: EASI-MS, Espectrometria de massas, Análise direta de superfícies, Química forense, drogas de abuso.

ABSTRACT

*** In this work, an ionization source at atmospheric pressure for surface analysis, named Easy Ambient Sonic-Spray Ionization (EASI-MS), was constructed in our laboratory from low cost materials. This source was thus applied to the analysis of forensic samples with excellent results.

Initially, cocaine was detected in synthetic solid mixtures at concentrations as low as 0.1% w/w. This concentration is below the detection limit of the reagents usually employed in the preliminary identification of this drug. This methodology also allowed the unambiguous identification of amphetamine derivatives directly from the surface of seized tablets.

The direct analysis of blotters suspected of containing LSD was also conducted. All EASI-MS results were confirmed by HPLC-UV measurements. The analysis of paint pen allowed the identification of different components in inks of different colors and different brands, which demonstrated the superior potential of EASI-MS in detecting document fraud.

Finally, the detection of the insecticides carbofuran and aldicarb directly from the surface of granules, in a quick procedure that does not involve any pre-treatment step, accredits the EASI-MS technique for the detection of these substances, which are linked to frequent occurrences of intoxication and poisoning of humans and animals.

Key-words: Easy-MS, Mass Spectrometry, Direct analysis on surface, Forensic chemistry, drugs of abuse.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Analogia entre a separação da luz por difração no prisma e a espectrometria de massas;	4
Figura 1.2	Esquema básico de um espectrômetro de massas;	4
Figura 1.3	Esquema do processo de ionização por ESI;	7
Figura 1.4	Diagrama esquemático da técnica DESI-MS;	8
Figura 1.5	Diagrama esquemático da fonte de ionização EASI-MS;	12
Figura 1.6	Fórmulas estruturais: (A) Cocaína, (B) Cafeína, (C) Lidocaína;	18
Figura 1.7	Estruturas químicas de algumas substâncias da classe das anfetaminas: (A) Anfetamina, (B) Metilanfetamina (metanfetamina), (C) 3,4-Metilenodioxianfetamina (MDA), (D) 3,4-Metilenodioximetanfetamina (MDMA ou ecstasy), (E) 3,4-Metilenodioxietilanfetamina (MDEA);	19
Figura 1-8	Fórmulas Estruturais do Femproporex e do Ecstasy;	21
Figura 1-9	Fórmula Estrutural do LSD;	23
Figura 1-10	Fórmulas Estruturais com grupo carbamato circulado – (A) Aldicarb e (B) Carbofuran;	26
Figura 3.1	Válvula para o controle do fluxo de nitrogênio a ser utilizado na fonte EASI;	30
Figura 3.2	Conector para a seringa de solvente: (A) extremidade conectada na seringa e (B) extremidade conectada ao capilar que leva o solvente até a fonte;	30
Figura 3.3	Fonte de ionização EASI montada sobre um “conector T”: (A) ponta da fonte, (B) entrada do gás nitrogênio, (C) entrada do capilar com o solvente e (D) cabo para ligar a alta tensão (experimento DESI);	31
Figura 3.4	Plugue utilizado para permitir o funcionamento do espectrômetro de massas sem a presença da fonte ESI;	31
Figura 3.5	Visão geral do espectrômetro de massas e da fonte EASI montada na sua entrada;	32
Figura 3.6	Detalhe da entrada do espectrômetro de massas e da fonte EASI;	32

Figura 3.7	Detalhe para a ponta da fonte, a entrada do espectrômetro de massas e da placa que serve de suporte para as amostras;	33
Figura 3.8	Fotografia de uma placa suportando várias amostras;	33
Figura 4.1	Esquema de ionização e de fragmentação para a cocaína por electrospray (ESI-MS);	36
Figura 4.2	Espectro de massas (EASI-MS) do padrão de cocaína (A) Full scan, (B) MS ² do íon [M+H] ⁺ de <i>m/z</i> 304;	37
Figura 4.3	Espectro de massas (EASI-MS) do padrão de Lidocaína (A) Full scan, (B) MS ² do íon [M+H] ⁺ de <i>m/z</i> 235;	38
Figura 4.4	Espectro de massas (EASI-MS) Full scan da cafeína;	39
Figura 4.5	Espectros de massas Full Scan (EASI-MS) da mistura de base A com cocaína, sendo (A) 0% cocaína, (B) 1% Cocaína, (C) 5% Cocaína, (D) 10% Cocaína e (E) 20% de Cocaína;	41
Figura 4.6	Espectros de massas Full scan (EASI-MS) da mistura de base B com cocaína, sendo (A) 0% cocaína, (B) 1% Cocaína, (C) 5% Cocaína, (D) 10% Cocaína e (E) 20% de Cocaína;	41
Figura 4.7	Espectros de massas base A: (A) 0% cocaína, (B) 0,1% Cocaína, (C) 0,5% Cocaína e (D) MS ² do íon <i>m/z</i> 304 (da mistura contendo 0,1% p/p de cocaína e base A);	43
Figura 4.8	Espectros de massas base B: (A) 0% cocaína, (B) 0,1% Cocaína, (C) 0,5% Cocaína e (D) MS ² do íon <i>m/z</i> 304 (da mistura contendo 0,1% p/p de cocaína e base B);	44
Figura 4.9	Espectro de massas (EASI-MS) de um comprimido contendo ecstasy (MDMA): (A) Full scan, (B) MS ² do íon <i>m/z</i> 194;	47
Figura 4.10	Espectro de massas (EASI-MS) de um comprimido contendo femproporex (A) full scan e (B) MS ² do íon <i>m/z</i> 189;	48
Figura 4.11	Espectro de massas (EASI-MS) de um selo contendo LSD: (A) Full Scan, (B) MS ² do íon <i>m/z</i> 324;	50
Figura 4.12	Padrão de dissociação do íon de <i>m/z</i> 324 característico do LSD protonado;	51

Figura 4.13	Espectros de massas (EASI-MS) dos 15 selos analisados;	52
Figura 4.14	Espectros de massas MS2 do íon de m/z 324 provenientes dos selos 9, 12 e 15;	53
Figura 4.15	Espectros de massas do selo 7: (A) full scan – destaque para os íons de m/z 324, 304 e 194, (B) MS2 do íon m/z 324, (C) MS2 do íon m/z 194 e (D) MS2 do íon m/z 304;	55
Figura 4.16	Espectros de massas (EASI-MS) full scan e MS2 do selo 10, do microponto e da solução;	56
Figura 4.17	Fórmulas estruturais do LSD e do 9,10-diidro-LSD;	57
Figura 4.18	Círculos confeccionados para as análises de tinta. Sequência superior - caneta compactor sequência inferior – caneta Bic;	58
Figura 4.19	Gráfico das intensidades absolutas dos íons característicos de cada tinta em função do tipo de solvente utilizado;	60
Figura 4.20	Espectros de massas (EASI-MS) da tinta de caneta azul BIC(m/z 268) com cada um dos solventes utilizados nos estudos;	61
Figura 4.21	Espectros de massas full scan para o papel utilizado como suporte: (A) Etanol/água, (B) metanol/água (% 50/50), (C) metanol/água (% 80/20), (D) metanol/água (% 20/80), (E) Acetona/água (% 70/30), (F) acetonitrila/água (% 80/20), (G) acetonitrila/água (% 50/50) e (H) acetonitrila/água (% 80/20);	62
Figura 4.22	Espectro de massas (EASI-MS) para a tinta azul BIC: Superior – full scan e inferior - MS2 do íon m/z 268;	65
Figura 4.23	Espectro de massas (EASI-MS) para a tinta preta BIC: Esquerda – full scan e Direita - MS2 do íon m/z 372;	65
Figura 4.24	Espectros de massas (EASI-MS) para a tinta vermelha BIC: Superior – full scan, Intermediário - MS2 do íon m/z 268 e Inferior - MS2 do íon m/z 443;	66
Figura 4.25	Espectros de massas para a tinta azul Compactor: Superior esquerda– full scan, Inferior esquerda - MS2 do íon m/z 372, Superior direita - MS2 do íon m/z 358 e Inferior direita - MS2 do íon m/z 470;	67
Figura 4.26	Espectro de massas (EASI-MS) para a tinta preta Compactor: Esquerda – full scan e Direita - MS2 do íon m/z 372;	67

Figura 4.27	Espectro de massas (EASI-MS) para a tinta vermelha Compactor: Esquerda – full scan e Direita - MS2 do íon m/z 443;	68
Figura 4.28	Espectro de massas (EASI-MS) de todas as tintas analisadas. Superior – tintas da marca BIC e Inferior – tintas da marca Compactor;	69
Figura 4.29	Espectro de massas (EASI-MS) do Aldicarb;	72
Figura 4.30	Espectro de massas (EASI-MS) do Carbofuran: Superior – full scan, Inferior - MS2 do íon m/z 244;	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1	Fórmulas estruturais, nome e m/z esperado para os componentes de tintas de canetas selecionados para o estudo	64
------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	– Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde.
APCI	– <i>Atmospheric pressure chemical ionization</i>
API	– Ionização a pressão atmosférica (<i>Atmospheric pressure ionization</i>)
ATR-IR	– Espectroscopia na região do infravermelho acoplada com reflectância total atenuada
CLAE-UV	– Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de luz ultravioleta-visível
CCD	– Cromatografia em camada delgada
CG-MS	– Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CI	– Ionização química (<i>chemical ionization</i>)
CID	– Dissociação induzida por colisão (<i>collision induced dissociation</i>)
DESI-MS	– <i>Desorption electrospray ionization mass spectrometry</i>
EASI-MS	– <i>Easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry</i>
EI	– Ionização por Elétrons (<i>electron ionization</i>)
ESI	– Ionização por eletrospray (<i>electrospray ionization</i>)
FULL SCAN	– varredura total de íons
HPLC	– Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IT	– armadilha de íons (<i>Ion trap</i>)
LSD	– Dietilamida do ácido lisérgico

m/z	– Razão massa-sobre-carga
MALDI-MS	– <i>Matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry</i>
MDA	– Metilenodioxianfetamina
MDEA	– 3,4-metilenodioxietilamfetamina
MDMA	– 3,4-metilenodimetoxianfetamina
MS	– Espectrometria de Massas (<i>Mass Spectrometry</i>)
MSⁿ	- Espectrometria de Massas sequencial
NL	– Número total de íons dentro do íon trap
ONU	– Organização das Nações Unidas
SNC	– Sistema nervoso central
SSI	– Ionização por <i>spray</i> supersônico (<i>sonic spray ionization</i>)
THC	– (-)-trans- Δ^9 -tetrahydrocannabinol
TIC	– Corrente total de íons (<i>Total ion current</i>)
TOF	– Tempo de voo (<i>time-of-flight</i>)
UNODC	– Escritório das Nações Unidas para Drogas e Crimes

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 ESPECTROMETRIA DE MASSAS	1
1.1.1 Fundamentos e Definições	1
1.1.2 Componentes do Espectrômetro de Massas	5
1.1.3 Fontes de Ionização	5
1.1.3.1 Ionização por Electrospray (ESI)	5
1.1.3.2 Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry (DESI-MS)	7
1.1.3.3 Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry (EASI-MS)	10
1.2 QUÍMICA FORENSE	13
1.3 SUBSTÂNCIAS DE INTERESSE FORENSE TESTADAS NESTE TRABALHO	14

1.3.1	Drogas de Abuso	14
1.3.1.1	Cocaína	16
1.3.1.2	Derivados Anfetamínicos	18
1.3.1.3	LSD	21
1.3.2	Diferenciação de Tintas de Canetas Esferográficas	23
1.3.3	Identificação de Inseticidas Carbamatos em Grânulos	25
2.	OBJETIVOS	28
2.1	OBJETIVOS GERAIS DO TRABALHO	28
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
2.2.1	Drogas de Abuso	28
2.2.2	Tintas de Canetas Esferográficas	28
2.2.3	Inseticidas Carbamatos	28
3.	PARTE EXPERIMENTAL	29
3.1	A CONSTRUÇÃO DA FONTE EASI-MS	29
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1	DROGAS DE ABUSO	35

4.1.1	Cocaína	35
4.1.2	Derivados Anfetamínicos	46
4.1.3	LSD	49
4.2	IDENTIFICAÇÃO DE TINTAS DE CANETAS 8 ESFEROGRÁFICAS	
4.2.1	Detalhes Experimentais	58
4.2.2	Resultados	59
4.3	ANÁLISE DE GRÂNULOS CONTENDO INSETICIDAS CARBAMATOS	70
5.	CONCLUSÕES	74
5.1	CONCLUSÕES ESPECÍFICAS	74
5.2	CONCLUSÕES GERAIS	74
6.	REFERÊNCIAS	75

1 . INTRODUÇÃO

1.1 ESPECTROMETRIA DE MASSAS

1.1.1 Fundamentos e Definições

Partículas eletricamente carregadas, ao viajar por uma região sob a ação de um campo elétrico e/ou magnético, sofrem alterações em suas rotas, devido às interações entre a carga elétrica da partícula e o campo aplicado. A deflexão da rota da partícula é função da massa, da velocidade e do sentido do movimento em relação ao campo aplicado. Este é o princípio de funcionamento da maioria dos analisadores de massa atuais.^[1]

Ao interpretar os estudos dos raios catódicos (1897), J.J. Thomson concluiu que, invariavelmente, o raio apresentava carga elétrica negativa e a mesma razão massa sobre carga (m/z). Ele nomeou a partícula presente neste raio de elétron. Já nos estudos dos raios anódicos (1910), J.J. Thomson, entre outras observações, percebeu a existência de raios característicos dos gases presentes no tubo. A velocidade desses raios dependia da diferença de potencial entre os eletrodos e a deflexão da rota; quando sujeitos a campos magnéticos estáticos, dependia da relação entre o peso atômico do gás e sua carga (m/z). Além disso, o tubo com vários gases emitia manchas coloridas e bandas eram produzidas na tela sensível. Cada tipo de gás ocupava uma posição definida na banda, levando o autor a acreditar que isso levaria a um novo método para a detecção de pesos atômicos^[2].

Uma das primeiras aplicações do que foi observado por J.J. Thomson foi o trabalho de Francis Willian Aston, físico-químico inglês, que construiu em 1919, um aparelho denominado espectrógrafo de massas, com o qual foi capaz de separar íons com uma diferença de apenas 1% em suas massas e de registrá-las em uma placa fotográfica. Utilizando este aparelho ele descobriu 212 dos 281 isótopos que tem ocorrência natural e recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1922^[2].

Em 1918, Arthur Jeffrey Dempster, físico nascido em Toronto, Canadá, construiu o primeiro espectrômetro de massas moderno, com precisão mais de cem vezes maior que os equipamentos anteriores, o que tornou possível a descoberta do isótopo 235 do urânio. O equipamento de Dempster estabeleceu a teoria e o design de espectrômetros de massas que são utilizados até hoje^[2].

A partir de então várias inovações tecnológicas possibilitaram o surgimento dos espectrômetros de massas atuais. Além disso, permitiram o acoplamento do espectrômetro a outras técnicas analíticas consagradas, como as cromatografias gasosa e líquida, o que ampliou os horizontes para os químicos analíticos^[2].

A espectrometria de massas é, atualmente, a melhor técnica de detecção para se acoplar à cromatografia, pois o espectrômetro de massas é sensível a pequenas quantidades de analito, fornece informações qualitativas e quantitativas sobre os compostos eluídos e pode distinguir substâncias diferentes com o mesmo tempo de retenção^[2].

A espectrometria de massas é uma técnica utilizada para o estudo das massas de átomos, moléculas ou fragmentos de moléculas, desde que estes estejam eletricamente carregados. Um espectrômetro de massas determina a massa de uma molécula ou átomo medindo a razão massa/carga (m/z) dos íons gerados. Os íons são gerados através da indução, perda ou o ganho de carga por uma espécie eletricamente neutra. Uma vez formados, os íons são direcionados, por forças eletrostáticas, para dentro do analisador de massas, separados de acordo com suas razões m/z e finalmente detectados. O resultado da ionização molecular, a separação e detecção de íons é o espectro de massas, que mostra a intensidade relativa em função da razão m/z para cada íon.^[1]

John B. Fenn, o criador da técnica de ionização à pressão atmosférica conhecida como *electrospray* (ESI), laureado em 2002 com o Prêmio Nobel em

Química, provavelmente deu a definição mais adequada para a espectrometria de massas^[2]. Traduzindo livremente suas palavras:

Espectrometria de massas é a arte de medir átomos e moléculas para determinar seu peso molecular. Massa, ou informação de peso, às vezes é suficiente, muitas vezes necessário, e sempre útil para se determinar a identidade de uma espécie. Para praticar esta arte adiciona-se carga em moléculas de interesse (analito). Em seguida, são determinadas como as trajetórias dos íons resultantes respondem no vácuo às várias combinações de campos elétricos e magnéticos.

Claramente, a condição fundamental desse método é a conversão de moléculas neutras em íons. Para as espécies pequenas, a ionização é simples. Elas são facilmente transportadas para a fase gasosa e promove-se o encontro entre as moléculas neutras e elétrons, fótons, ou outros íons em ambientes a baixa pressão. Nos últimos anos, os esforços de muitos investigadores levaram a novas técnicas para a produção de íons de espécies muito grandes e complexas para serem vaporizadas sem substancial decomposição.

Uma analogia pode ser feita entre um espectrômetro de massas e um prisma, como mostrado na **Figura 1.1**. No prisma, a luz é separada em seus comprimentos de onda que são detectados com um receptor óptico. Da mesma forma, em um espectrômetro de massas os íons gerados são separados no analisador de massa e detectados por um detector de íons (como um multiplicador de elétrons)^[2].

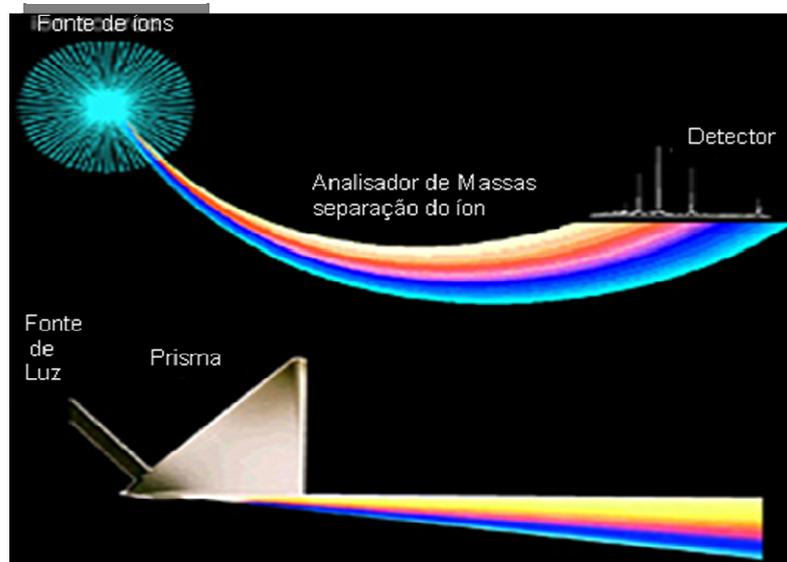


Figura 1.1 -Analogia entre a separação da luz por difração no prisma e a espectrometria de massas [2]

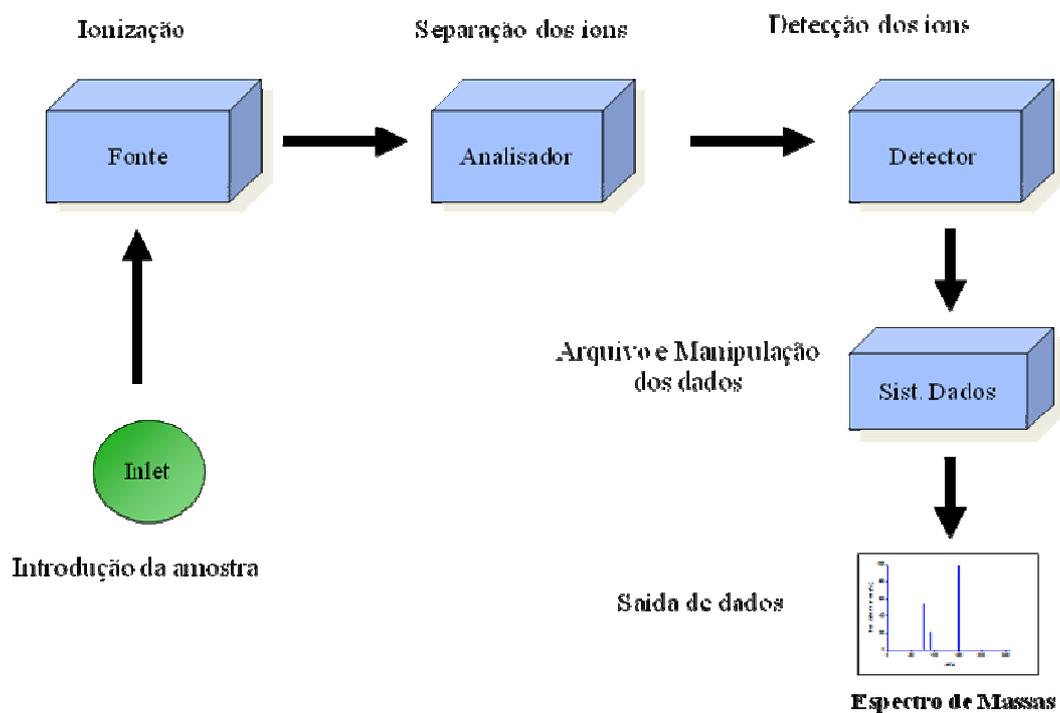


Figura 1.2 - Esquema básico de um espectrômetro de massas

1.1.2 Componentes do Espectrômetro de Massas

Na **Figura 1.2** temos um esquema simplificado de um espectrômetro de massas. A figura mostra que o analisador de massas e o sistema de detecção são mantidos sob alto vácuo, o que não se aplica necessariamente aos sistemas de ionização, pois alguns deles estão à pressão atmosférica, fato que revolucionou a espectrometria de massas.

Existem diferentes estratégias para se discriminar os íons dependendo do analisador de massas; neste trabalho foi utilizado o analisador de aprisionamento de íons, *íon trap* (IT), que possui resolução unitária – baixa resolução, permite a identificação de íons cuja massa difere de uma unidade – e possibilita o aprisionamento de um determinado íon (íon precursor). Se necessário o íon precursor pode ser fragmentado (dissociado) por colisão com moléculas de um gás neutro, gerando fragmentos do íon precursor (íons filho), que podem ser novamente fragmentados e separados, técnica conhecida como Espectrometria de Massas Sequencial (MSⁿ).

Os sistemas de ionização determinam a versatilidade da MS, pois são responsáveis pelos tipos de substâncias que podem ser analisadas. Inúmeros métodos para gerar íons foram desenvolvidos ao longo da história da MS. Desse modo, há métodos de ionização aplicáveis praticamente a todos os tipos de analitos, desde moléculas apolares e voláteis (ionização por elétrons (EI) ou ionização química (CI)); passando por moléculas polares (ionização por *eletrospray* (ESI) ou MALDI); até técnicas de ionização ambiente como a *easy ambient sonic-spray ionization* (EASI), que tornaram a introdução da amostra no espectrômetro de massas mais simples e prática.^[4]

1.1.3 Fontes de Ionização

1.1.3.1 Ionização por Eletrospray (ESI)

No que se refere à fontes de ionização, os estudos mais recentes têm sido focados na obtenção de sistemas menos agressivos às amostras, e também capazes

de ionizar as moléculas diretamente da matriz, o que facilita o processo de identificação e reduz o tempo de análise. Nesse sentido, uma nova vertente de fontes de ionização tem surgido, a qual permite que os íons sejam gerados em condições mais suaves em termos de temperatura e/ou pressão [5].

A primeira técnica menos agressiva de ionização e amplamente utilizada foi a ESI (do inglês *electrospray ionization*)^[6], sendo aplicada especificamente para amostras em solução. Na ionização por ESI, a amostra é misturada em grande quantidade com um solvente volátil, em meio ácido ou básico, de forma a causar a protonação ou desprotonação das moléculas, **Figura 1.3**. A mistura é conduzida por um capilar metálico submetido a um alto potencial elétrico, resultando na formação de uma dupla camada elétrica na interface capilar/solução. Conseqüentemente, formam-se gotas carregadas que, com a secagem do solvente, vão aumentando a densidade de cargas até o ponto em que ocorre um fenômeno chamado de explosão coulômbica. Assim, são formadas microgotas que, com a secagem, liberam os íons $[M+H]^+$ ou $[M-H]^-$ para serem analisados pelo analisador de massas^[4,7]. A técnica ESI tem sido amplamente utilizada nos últimos anos, tanto para a identificação e quantificação como também para estudos de determinação estrutural. Os íons podem também ser observados na forma de adutos, onde os analitos são coordenados por cátions ou ânions: $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$, $[M+NH_4]^+$ ou $[M+Cl]^-$. Em geral a ionização por ESI (**Figura 1.3**) é um processo que pode ser dividido em três etapas principais: (i) a nebulização da solução de amostra em gotículas carregadas produzidas pela aplicação direta de voltagem no capilar (2-5 kV), (ii) a liberação dos íons a partir das gotículas e (iii) o transporte dos íons da região de pressão atmosférica da fonte de ionização para a região de alto vácuo do analisador de massas^[8].

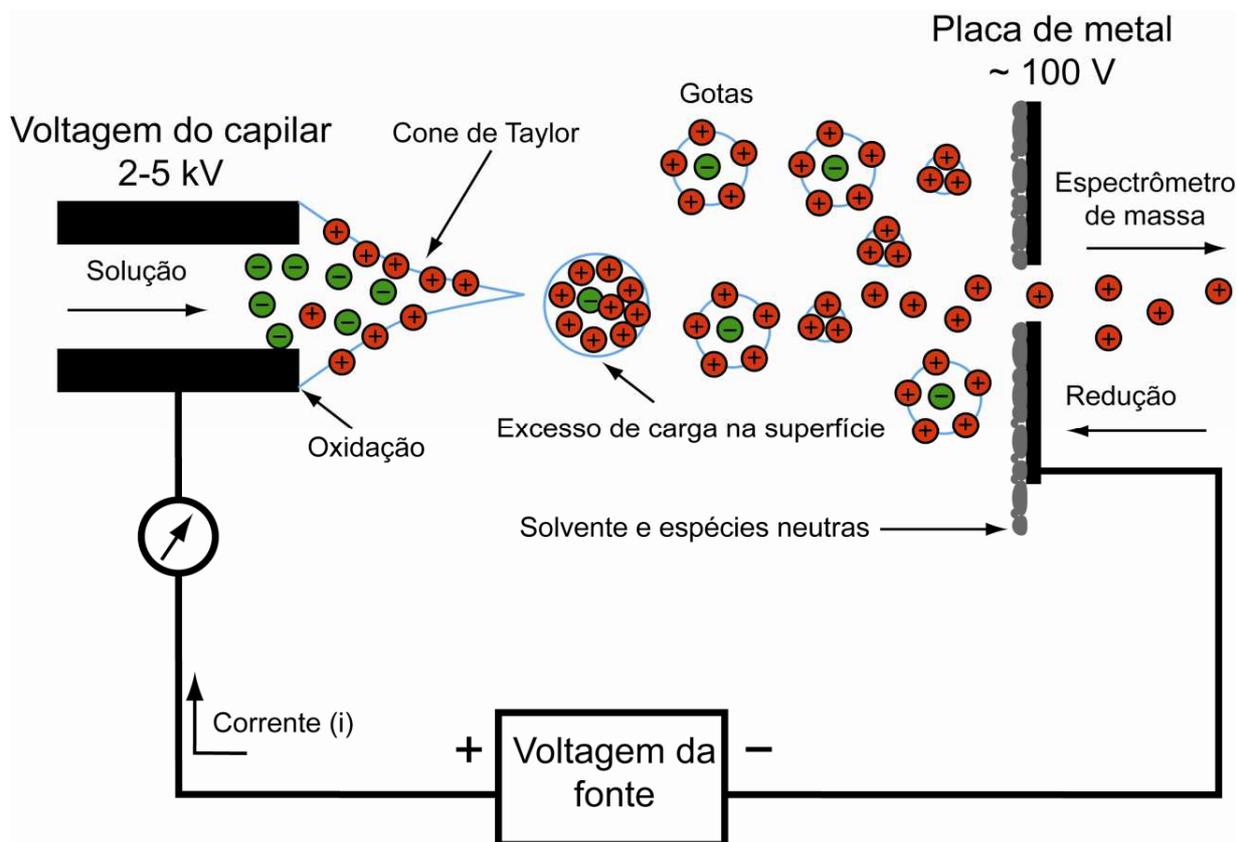


Figura 1.2 - Esquema do processo de ionização por ESI ^[8]

1.1.3.2 *Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry (DESI-MS)*

Embora dotada de diversas vantagens, a ESI tem como principal limitação o fato de ser aplicada somente para amostras em solução. Nesse contexto, Cooks e colaboradores ^[9] propuseram uma técnica denominada **DESI** (do inglês: *desorption electrospray ionization*), onde um spray de partículas carregadas bombardeia uma superfície de uma amostra sólida, líquida ou gasosa, dessolvendo e ionizando as moléculas presentes .

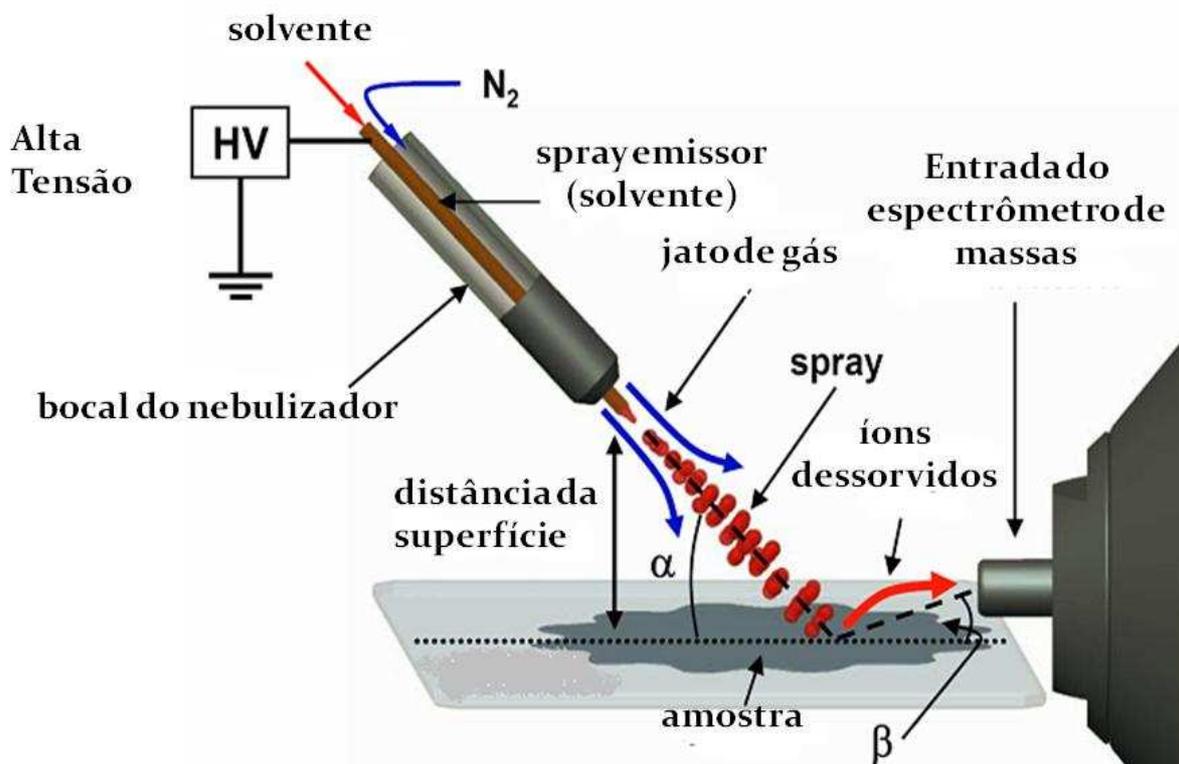


Figura 1.3 - Diagrama esquemático da técnica DESI-MS ^[9]

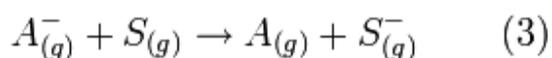
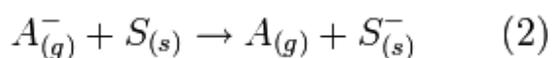
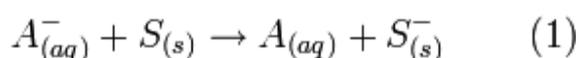
A partir da **Figura 1.4** pode-se explicar o mecanismo de funcionamento desta técnica de ionização. O solvente (geralmente uma mistura de metanol e água) entra por um tubo capilar no nebulizador. Lateralmente ao tubo capilar entra um jato de nitrogênio a alta pressão que vai produzir as pequenas gotículas. Entre o início e o fim do nebulizador existe uma grande diferença de potencial que irá deixar as gotículas eletricamente carregadas (eletrospray). Este feixe de minúsculas gotas eletricamente carregadas é direcionado à amostra por um ângulo α . Os íons desorvidos são direcionados para a entrada do espectrômetro de massas à pressão atmosférica, que faz um ângulo β com a superfície da amostra. O suporte onde se encontra a amostra é livre para se movimentar e, deste modo, pode-se analisar várias porções de um mesmo material.

Amostras sólidas podem ser analisadas diretamente, amostras líquidas devem ser absorvidas e amostras gasosas devem ser adsorvidas em uma superfície sólida.

Na técnica DESI ocorrem dois tipos de mecanismos de ionização. Um se aplica a moléculas de pequena massa molar e outro a moléculas com elevada massa molar.

Moléculas com massa molar grande, como peptídeos e proteínas apresentam íons com cargas múltiplas; isto se dá porque as cargas dos íons da gota são facilmente transferidas para o analito. A gota eletricamente carregada atinge a superfície da amostra e se espalha por um raio maior que o seu raio original e dissolvem as proteínas. As substâncias eletricamente carregadas são direcionadas a seguir para a entrada do espectrômetro de massas, levando junto o analito.

Para moléculas com pequena massa molar, a ionização ocorre por transferência de cargas: um elétron ou um próton. Existem três possibilidades de transferência de carga. Na primeira (1), a carga é transferida entre o íon do solvente e o analito na superfície. Na segunda (2), a transferência ocorre entre o íon do solvente na fase gasosa e o analito na superfície e, neste caso, o íon do solvente é evaporado antes de alcançar a superfície da amostra. Isto se dá quando a distância entre o spray e a superfície é muito grande. A terceira (3) possibilidade ocorre entre o íon do solvente na fase gasosa e a molécula do analito também na fase gasosa. Isto acontece quando a amostra tem uma alta pressão de vapor.



A eficiência da ionização DESI é complexa e depende de vários parâmetros como os efeitos de superfície, parâmetros do *eletrospray*, parâmetros químicos e geométricos. Os efeitos de superfície incluem a composição química, a temperatura e o potencial elétrico aplicado. Os parâmetros do *eletrospray* incluem a tensão e a razão entre os fluxos de líquido e gás. Os parâmetros químicos incluem a composição do

solvente a ser nebulizado, como por exemplo a adição de cloreto de sódio (NaCl) e os parâmetros geométricos incluem os ângulos α , β , bem como as distâncias entre a amostra e o nebulizador, e entre a amostra e a linha de transferência do íon.

Cooks e colaboradores [9] mostraram que para uma melhor eficiência da ionização devem ser otimizados: o ângulo entre o emissor de *spray* e a superfície da amostra (α), o ângulo entre a superfície da amostra e a entrada do espectrômetro de massas (β), bem como as distâncias entre o emissor de *spray* e a superfície e a distância entre a superfície e a entrada do espectrômetro de massas. Outros fatores importantes incluem pressão do gás, tipo de solvente e o valor da alta tensão.

Diversas aplicações da técnica DESI têm sido apresentadas na literatura, o que denota suas significativas vantagens, tais como a velocidade de análise, a especificidade química e a aplicação em amostras complexas [10].

1.1.3.3 ***Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry (EASI-MS)***

Hirabayashi e colaboradores [11-13] também revolucionaram o campo da espectrometria de massas, introduzindo em 1994, uma técnica de ionização a pressão atmosférica (API) denominada de ionização por *spray* supersônico (do inglês SSI). A SSI introduziu um novo conceito de ionização em espectrometria de massas. Os íons poderiam ser produzidos sem aplicação de nenhuma voltagem, radiação ou aquecimento, onde as gotas carregadas eram produzidas usando apenas um *spray* contendo uma solução de metanol acidificada a uma velocidade supersônica. As gotas carregadas (cargas positivas e negativas) surgem a partir de uma distribuição não balanceada estatisticamente de espécies protonadas e desprotonadas. Nenhum aquecimento é necessário para dessolvatação das gotas; logo, ambos os íons gasosos $[M + H]^+$ e $[M - H]^-$, dependendo da natureza do analito, surgem via SSI [14,15]. Poucos segundos são necessários para dessolver e ionizar o analito a partir da superfície investigada a condições ambientes e, devido sua simplicidade, essa técnica foi

denominada de *easy ambient sonic-spray ionization* (EASI) - **Figura 1.5**, a primeira técnica ambiente baseada em SSI ^[5].

Em seu primeiro trabalho sobre EASI-MS, Eberlin e colaboradores ^[14] empregaram o spray supersônico para a dessorção/ionização de diazepam, atenolol, tamoxifeno, propranolol, ciclobenzaprina, rosuvastatina cálcica, amlodipina, memantina e losartam, diretamente em seus comprimidos, e analisou em um espectrômetro de massas com armadilha de íons (IT). Os resultados foram satisfatórios, permitindo a identificação exata de cada fármaco. Além disso, foi feita uma comparação da eficiência de ionização entre as técnicas DESI e EASI, sendo que a última, na maioria dos casos, apresentou maior sinal analítico. Segundo os autores, a aplicação de potencial elétrico no capilar resulta em uma densa nuvem de gotas carregadas com alta quantidade de íons de solvente, sendo então minimizado o processo de ionização do analito.

Em outro trabalho, Haddad e colaboradores ^[15] demonstraram que uma membrana de celulose pode ser usada como interface na análise quantitativa de soluções aquosas de nicotina, losartan, rosuvastatina, memantina e propranolol por EASI-MS. Nesse caso, o fármaco, percolado como solução aquosa na face inferior de uma membrana de celulose, migrou para a parte superior da membrana onde, por ação do spray-sônico (EASI) foi ionizado e conduzido ao IT. Verificou-se, também, um aumento da sensibilidade, proporcional ao tempo de passagem da solução do fármaco pela parte inferior da membrana. Os limites de detecção obtidos para os fármacos encontraram-se entre 10 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$.

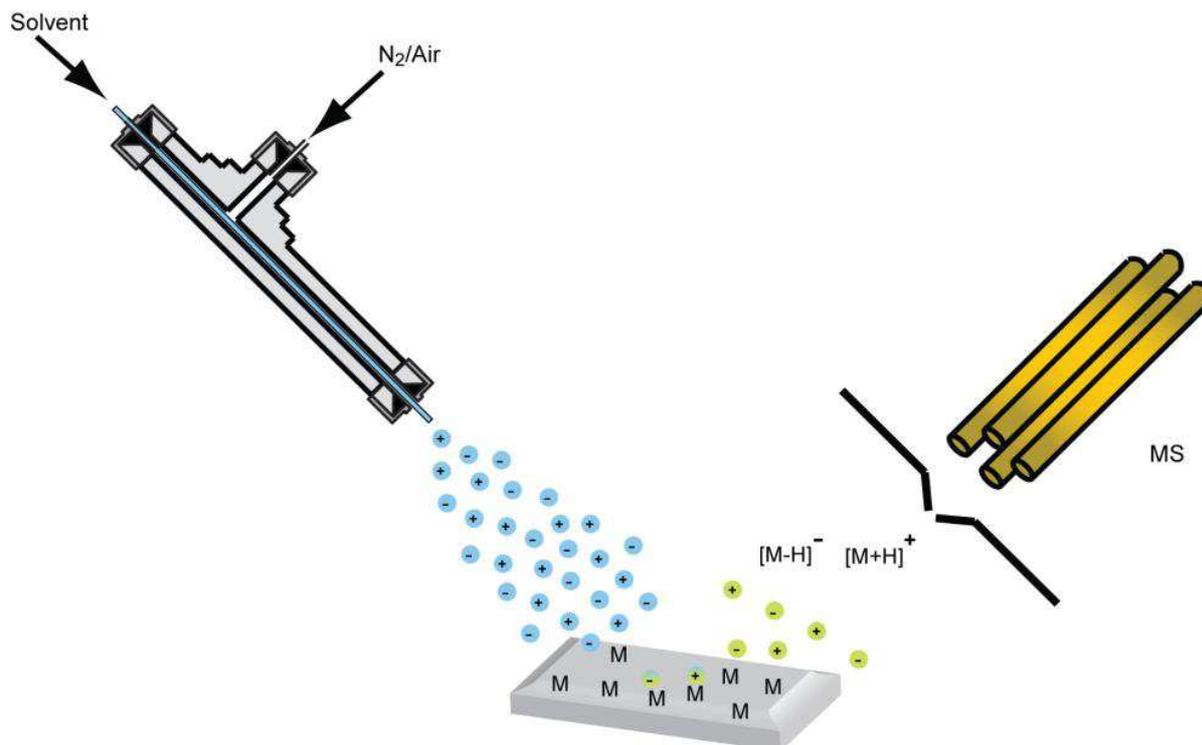


Figura 1.4 - Diagrama esquemático da fonte de ionização EASI-MS ^[5,14].

Trabalhos como o de Haddad^[17] que utiliza a EASI-MS para criar o fingerprint de perfumes identificando amostras falsas de amostras autênticas, o trabalho de Saraiva^[18] utiliza a EASI-MS na caracterização e no controle de qualidade de surfactantes catiônicos em amaciantes de roupa ou o trabalho de Alberici^[19] que usa a EASI-MS na análise de combustíveis, mostram o potencial da EASI-MS em aplicações forenses.

No presente trabalho a amostra foi analisada diretamente a partir de uma superfície, utilizando a técnica de ionização Easy Ambient Sonic-Spray Mass Spectrometry (EASI-MS), através de uma fonte construída em nosso laboratório. O analisador utilizado foi um aprisionador de íons (*ion trap*-IT) como detector uma multiplicadora de elétrons. A aquisição dos espectros de massas foi realizada através do software Thermo Scientific Xcalibur ^[3].

1.2 QUÍMICA FORENSE

Segundo Zarzuela ^[20] denomina-se Química Forense o ramo da Química que se ocupa da investigação forense no campo da química especializada, a fim de atender aspectos de interesse judiciário. Tal ramo da Química atende basicamente às áreas de estudos da Criminalística e da Medicina Forense.

São exames rotineiros nos laboratórios de criminalística brasileiros, a análise de resíduos de disparo de armas de fogo, a identificação de adulterações em numerações de veículos e armas, a análise de sangue em locais de crime, a constatação, identificação e, se possível, quantificação de substâncias químicas presentes em locais de crime, como venenos, medicamentos e substâncias psicotrópicas e/ou entorpecentes, inclusive as presentes no organismo do indivíduo, a análise de resíduos de incêndios visando a detecção de acelerantes da combustão e/ou explosivos, etc ^[20].

Para conseguir alcançar seus objetivos, o químico forense deve lançar mão de todos os recursos técnicos disponíveis e, frequentemente, utiliza ferramentas/técnicas da química analítica clássica e, quando disponível, utiliza instrumentos analíticos que possibilitam maior credibilidade e menor tempo de análise. Por isso é importante a pesquisa, o desenvolvimento e a aplicação de novas técnicas analíticas que possibilitem alto grau de confiança, rapidez e baixo custo, uma vez que o número de solicitações forenses (exames) tem apresentado crescimento nos últimos anos ^[21].

Dentro deste contexto, busca-se neste trabalho, avaliar a implementação da técnica EASI-MS, a qual é não destrutiva, de fácil manuseio e que proporciona pequeno tempo de análise e alto grau de confiabilidade, na rotina de laboratórios forenses que já possuam um espectrômetro de massas com fonte de ionização à pressão atmosférica.

1.3 SUBSTÂNCIAS DE INTERESSE FORENSE TESTADAS NESTE TRABALHO

1.3.1 DROGAS DE ABUSO

Droga pode ser definida como toda e qualquer substância, natural ou sintética, que, introduzida no organismo, modifica suas funções. As drogas naturais são obtidas através de determinadas plantas, de animais e de alguns minerais. Por exemplo, a cafeína (do café), a nicotina (presente no tabaco), o ópio (na papoula) e o THC (da maconha). As drogas sintéticas são obtidas a partir de complexas reações de síntese orgânica, exigindo para isso técnicas e equipamentos especiais^[21].

O termo droga possui vários significados; no entanto, popularmente está mais relacionado à idéia de uma substância de uso proibido, de uso ilegal e nocivo ao indivíduo, modificando-lhe as funções, as sensações, o humor e o comportamento. Sendo assim, as drogas envolvem substâncias de ação analgésica, estimulante, alucinógena, tranquilizante e barbitúrica, além do álcool e das substâncias voláteis^[21].

As drogas psicotrópicas são aquelas que tem tropismo (atração) pelo Sistema Nervoso Central (SNC), modificando as atividades psíquicas e o comportamento. Essas drogas podem ser absorvidas de várias formas: por inalação, via oral, injeção intravenosa ou aplicadas via retal (supositório).

As substâncias (drogas) psicotrópicas podem ser divididas, em função de sua ação no SNC, em 3 grandes grupos:

- 1 – Depressores do SNC, como os opiáceos/opióides, o etanol e os inalantes;
- 2 – Estimulantes do SNC, cocaína ou crack, anfetamina, nicotina;
- 3 – Perturbadores do SNC, canabinóides, drogas alucinógenas, como o LSD, o *ecstasy* e a mescalina, etc.

O uso de substâncias psicotrópicas e/ou entorpecentes pela sociedade data de longo tempo. No passado, o uso destas substâncias geralmente estava associado à rituais religiosos, com exceção do álcool, uma substância depressora do SNC, largamente utilizado e aceito por quase todas as sociedades antigas e modernas. No entanto, o uso de substâncias como a cocaína, em meados do século XIX, com finalidades recreativas dá início a uma nova era na história destas substâncias, fazendo com que seu uso seja proscrito na maioria dos países. Hoje, o uso indiscriminado das substâncias psicotrópicas constitui um grave problema social, que envolve todos os níveis da sociedade brasileira e mostra-se como um problema de difícil solução [21].

Como o problema da produção e tráfico de drogas envolve vultosos valores e vários países, a Organização das Nações Unidas (ONU) possui um escritório especialmente dedicado ao problema das drogas e crimes: UNODC [22]. Anualmente, o UNODC, divulga relatórios sobre o controle, produção e apreensão de drogas. A ONU divulga também procedimentos e recomendações laboratoriais adotados internacionalmente por laboratórios criminalísticos/forenses para a identificação de substâncias psicotrópicas.

Todas as substâncias de uso controlado, restrito ou proscrito no Brasil estão inscritas na Portaria nº 344 da Agência de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde [23]. Inicialmente publicada em 1998, esta portaria é regularmente revisada e novas substâncias são acrescentadas à mesma.

A lei nº 11.343 [24] de 23 de agosto de 2006, dispõe nos artigos 33º ao 47º as condutas consideradas crimes, relacionadas ao uso, produção, porte, transporte e comércio de entorpecentes. O artigo 50º - §1º impõe a exigência de um laudo de constatação (provisório, preliminar, precário) a fim de dar materialidade à conduta e, como determina a lei nº3.689 de 1941 (Código do Processo Penal) [25], um laudo definitivo deverá ser confeccionado afim de suprir a prova técnica da conduta delituosa em questão.

1.3.1.1 Cocaína

A cocaína é o principal alcalóide encontrado nas folhas do vegetal *Erytroxylum coca Lam.*, um arbusto ramificado que pode chegar a medir 3 metros de altura, originário da zona tropical dos Andes que se desenvolve em altitudes entre 700 e 1.700m. Em espécies selvagens a cocaína representa apenas cerca de 0,0005% do peso seco mas, em espécies cultivadas, pode chegar entre 0,5 e 1,5% do peso seco^[21].

O *Erytroxylum coca Lam* não é cultivado no Brasil. Deste modo, o Brasil não produz cocaína. A maior parte da cocaína consumida no Brasil é oriunda de países vizinhos, como a Colômbia, o Peru e a Bolívia e entra no país ilegalmente, geralmente na forma de pasta base, que pode ser refinada em laboratórios clandestinos e dar origem ao cloridrato de cocaína (pó), ao crack (pedra – base livre) e a merla (pasta rica em resíduos de solventes)^[21].

O uso das folhas do vegetal selvagem (folha de coca) *in natura* ou na formulação de chás é muito antigo e difundido entre as populações andinas, principalmente no Peru e Bolívia, como tônico para suportar os esforços físicos e fadiga, bem como para afugentar a fome, o frio e a sede^[21].

Friedrich Wöhler (1800-1882), químico alemão, foi o pioneiro no estudo da cocaína, que era extraída juntamente com outros alcalóides da folha da coca. Em 1860, outro químico alemão, Albert Niemann (1824-1884), isolou e caracterizou a cocaína, que passou a ser conhecida como “pó de Niemann”. O psicanalista Sigmund Freud (1856-1939), que chegou a defender o uso da cocaína em suas terapias, em seus últimos escritos discriminava o uso da cocaína, por reconhecer seus efeitos adversos^[21].

No início do século XX, a cocaína fazia parte de várias formulações farmacêuticas de uso livre; inclusive, era ingrediente de conhecida bebida gaseificada não alcoólica até 1903, quando foi proibida^[21].

No Brasil, a Polícia Federal tem a competência de investigação do tráfico, identificação de rotas e interceptação de grandes carregamentos que entram pelas nossas fronteiras. As polícias estaduais, em conjunto com a polícia federal, são responsáveis pelas investigações dentro dos estados e apreensões de menores quantidades, em geral no local de comércio destes entorpecentes (“bocas de fumo”).

Dificilmente, nas apreensões realizadas pelas polícias estaduais, tem-se uma amostra de cocaína com grau de pureza acima de 80%. Isto deve-se ao ineficiente processo de refino, bem como a adição intencional de outras substâncias a fim de aumentar o volume final e, deste modo, obter maior rendimento com a venda das porções. Vários são os adulterantes e excipientes orgânicos e inorgânicos que podem ser adicionados à cocaína^[21]. Entre os adulterantes orgânicos (substâncias que apresentam alguns efeitos semelhantes à molécula alvo) mais comuns destacam-se a cafeína – um estimulante natural – a lidocaína e a benzocaína – anestésicos de ação local. As fórmulas estruturais da cocaína, da cafeína e da lidocaína são mostradas na **Figura 1.6**.

Neste trabalho, a fonte EASI-MS, montada em nosso laboratório, foi utilizada para a análise de cocaína em amostras apreendidas pela Polícia Civil de Minas Gerais e em amostras simuladas.

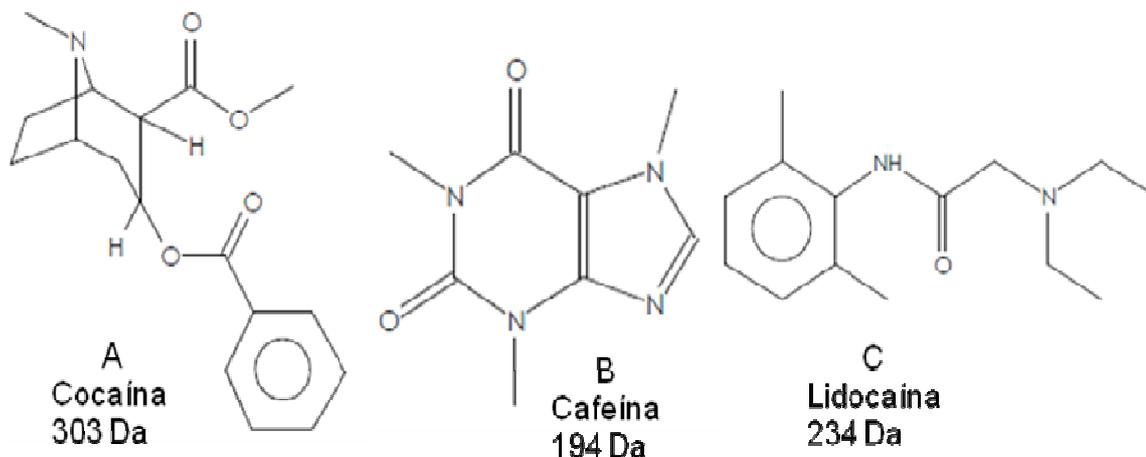


Figura 1.5 - Fórmulas estruturais: (A) cocaína, (B), cafeína e (C) lidocaína

1.3.1.2 Derivados Anfetamínicos

O termo “Anfetamínicos” refere-se ao grupo de substâncias compostas pela anfetamina e seus derivados. As anfetaminas com anel substituído são drogas com potente ação alucinógena e protótipos de uma classe de compostos não catecolamínicos que produzem ação estimulante no SNC mais persistente do que a ação da cocaína, o que torna estes compostos mais atrativos como drogas de abuso. Em estado puro, as anfetaminas têm a forma de cristais amarelados, com sabor intragavelmente amargo. Geralmente são ingeridas por via oral em comprimidos, mas podem ser consumidas por via intravenosa (diluídas em água destilada) ou ainda aspiradas na forma de pó, como a cocaína^[21].

Existe um grande número de substâncias controladas pertencentes ao grupo das anfetaminas. Destas, as mais encontradas em análises forenses, tem suas fórmulas estruturais dispostas a seguir:

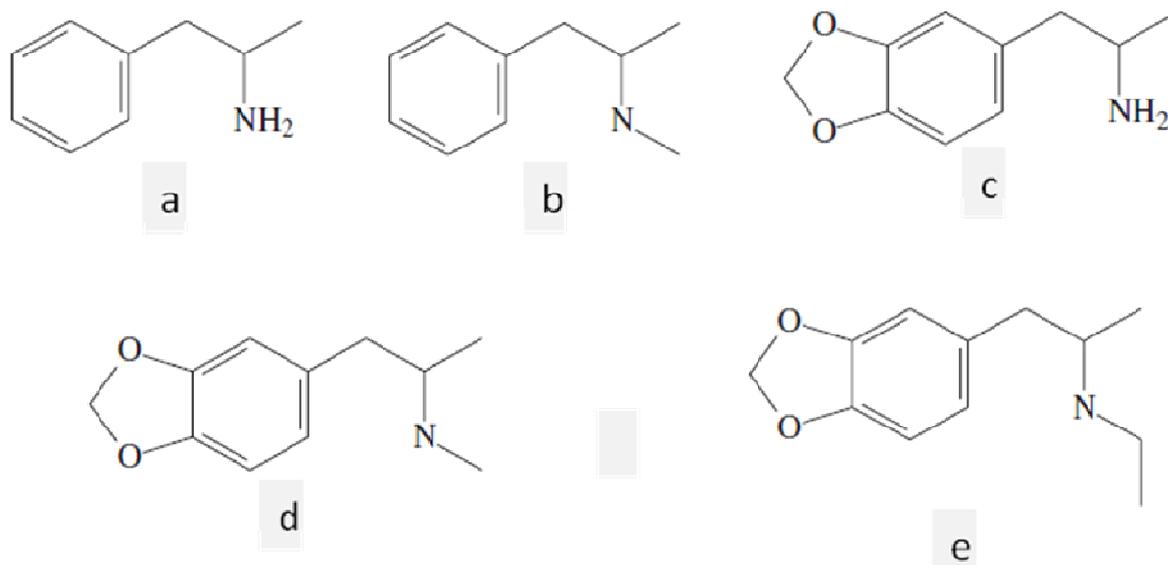


Figura 1.7 – Estruturas químicas de algumas substâncias da classe das anfetaminas: (A) anfetamina, (B) metilanfetamina (metanfetamina), (C) 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA), (D) 3,4-metilenodioximetilanfetamina (MDMA ou *Ecstasy*), (E) 3,4-metilenodioxietilanfetamina (MDEA).

A anfetamina surgiu no século XIX, tendo sido sintetizada pela primeira vez na Alemanha, em 1887. Cerca de 40 anos depois, a droga começou a ser usada pelos médicos para aliviar fadiga, alargar as passagens nasais e bronquiais e estimular o sistema nervoso central. Em 1932, era lançada na França a primeira versão comercial da droga, com o nome de Bazedrina, na forma de pó para inalação. Cinco anos mais tarde, a Bazedrina surgiu na forma de pílulas, chegando a vender mais de 50 milhões de unidades nos três primeiros anos após sua introdução no mercado^[28].

Durante a Segunda Guerra Mundial, tanto os aliados como as potências do Eixo empregaram sistematicamente as anfetaminas para elevar o moral, reforçar a resistência e eliminar a fadiga de combate de suas forças militares. Tropas alemãs, como as divisões Panzer, empregavam a Methedrina (metanfetamina). Já a Bazedrina foi usada pelo pessoal da Força Aérea norte-americana estacionado em bases na Grã-Bretanha^[28].

Nas últimas décadas, a anfetamina tem sido usada em massa em tratamentos para emagrecer, já que a droga é temporariamente eficaz na supressão do apetite. Entretanto, à medida que o tempo passa, o organismo desenvolve tolerância à anfetamina e torna-se necessário aumentar cada vez mais as doses para se conseguir os mesmos efeitos. A perda de apetite gerada pelo seu uso constante pode transformar-se em anorexia, um estado no qual a pessoa passa a sentir dificuldade para comer e até mesmo para engolir alimentos pastosos, resultando em sérias perdas de peso, desnutrição e até morte^[21].

As anfetaminas agem estimulando o SNC através de uma intensificação da noradrenalina, um hormônio neurotransmissor, que ativa partes do sistema nervoso simpático. Efeitos semelhantes aos produzidos pela adrenalina no cérebro são causados pelas anfetaminas, levando o coração e os sistemas orgânicos a funcionarem em alta velocidade. Resultado: o batimento cardíaco é acelerado e a pressão sanguínea sobe bastante. Ao agir sobre os centros de controle do hipotálamo, ao mesmo tempo em que reduz a atividade gastrintestinal, a droga inibe o apetite e seu efeito pode durar de quatro a 14 horas, dependendo da dosagem^[21].

Atualmente, a anfetamina é proibida em vários países. Em alguns países da Europa a substância foi totalmente proibida, sendo encontrada somente de forma clandestina, vinda de outros locais. No Brasil a substância é comercializada em forma de remédios para tratamento de obesidade e pessoas que sofrem de distúrbios psicológicos, sendo encontrada, portanto em medicamentos controlados que exigem receita médica do paciente^[21,28].

O Brasil é maior produtor e consumidor de femproporex no mundo, segundo o relatório do UNODC de 2009^[22] sobre drogas psicotrópicas e medicamentos controlados. O Femproporex é uma anfetamina com poder de dependência muito forte, proibida em muitos países do mundo. Os efeitos colaterais para o Femproporex são boca seca, insônia e irritabilidade. É extremamente contra-indicado para pessoas com distúrbios cardíacos, incluindo hipertensão arterial moderada.

Neste trabalho, a técnica EASI-MS foi utilizada na análise de comprimidos suspeitos de conter *ecstasy* ($[M+H]^+$ m/z 194) e femproporex ($[M+H]^+$ m/z 189), cujas fórmulas estruturais estão representadas a seguir na **Figura 1.8**.

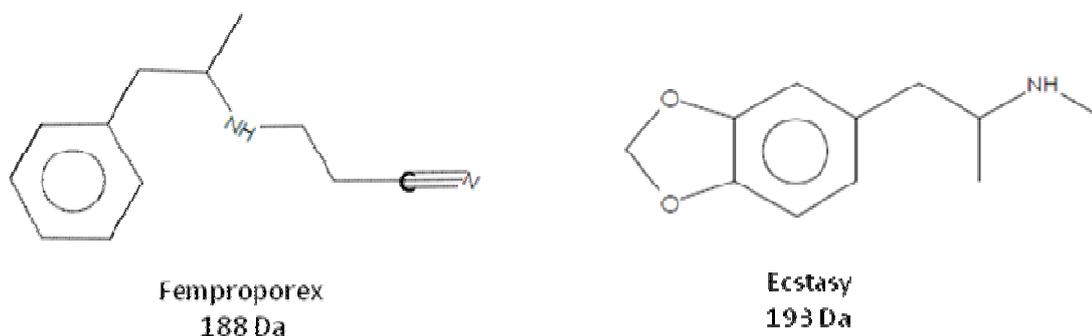


Figura 1.8 - Fórmula Estrutural do femproporex e do *ecstasy*

1.3.1.3 LSD

A dietilamida do ácido lisérgico (LSD) é uma substância semissintética, produzida a partir do ácido lisérgico, alcalóide produzido pelo *Claviceps purpúrea*, fungo pertencente ao gênero *Claviceps*, que representa um grupo de ascomicetos patogênicos. O LSD pode ser sintetizado por diversas rotas, partindo-se do ácido lisérgico natural ou produzido a partir da ergometrina ou ergotamina, que também são alcalóides produzidos pelo fungo^[21,37].

Foi sintetizado pela primeira vez pelo químico Albert Hoffmann no verão de 1938. Cinco anos após sua síntese, Hoffmann ingeriu acidentalmente uma pequena quantidade de LSD e experimentou uma série de efeitos sensoriais assustadores. Sem saber exatamente qual substância produzira tais efeitos e suspeitando do LSD que tinha manipulado naquele dia, Hoffmann ingeriu 250 μg da droga para tal confirmação e

experimentou desta vez efeitos mais pronunciados durante a sua ida para casa, em uma bicicleta. Hoje, sabe-se que a quantidade ingerida por Hoffmann foi de 10 vezes a concentração na qual iniciam-se os efeitos alucinógenos do LSD (25 µg) ^[21,37]. Só para efeito de comparação, os efeitos da cocaína se iniciam em torno de 50 mg^[21].

O LSD é considerado uma das substâncias psicotrópicas mais potentes, devido a baixa dose (25 µg) na qual seus efeitos são percebidos.

O LSD, via de regra, é administrado via oral (sublingual) e geralmente é encontrado na forma de selos de papel, contendo concentrações entre 25 e 150 µg da substância. Também pode ser encontrado na forma de pequenos comprimidos chamados de micropontos ou em solução líquida, dispersos em confeitos açucarados ou em colírios.

O LSD atua produzindo uma série de distorções no funcionamento do SNC. Estas distorções causam efeitos subjetivos, cujo grau depende da sensibilidade do indivíduo, do ambiente no qual está presente e do estado de espírito do mesmo. Dentre os efeitos relatados, destacam-se as distorções perceptivas, a fusão dos sentidos (visão e audição) e a perda da noção de tempo que se iniciam de 30 a 90 minutos após a ingestão da dose e perduram por 6 a 12 horas, mas possui poucos efeitos sistêmicos: o pulso pode ficar mais rápido, as pupilas mais dilatadas, além de sudorese e a sensação de excitação. Deste modo o perigo do LSD não está tanto na sua toxicidade para o organismo, mas sim no fato de que pela perturbação psíquica, há perda da habilidade de perceber e avaliar situações comuns de perigo^[21].

Em Minas Gerais, nos testes preliminares (laudo de constatação) são aplicados ensaios colorimétricos com o reativo de Ehrlich, que dá origem a uma solução de cor violeta na presença de LSD e possui limite de detecção na ordem de 1µg. Os testes confirmatórios são realizados por cromatografia de camada delgada (CCD), por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta (HPLC-UV) e por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Neste último

caso, há a necessidade de uma etapa prévia de derivatização, a fim de tornar o LSD mais volátil. A seguir é mostrada a fórmula estrutural do LSD.

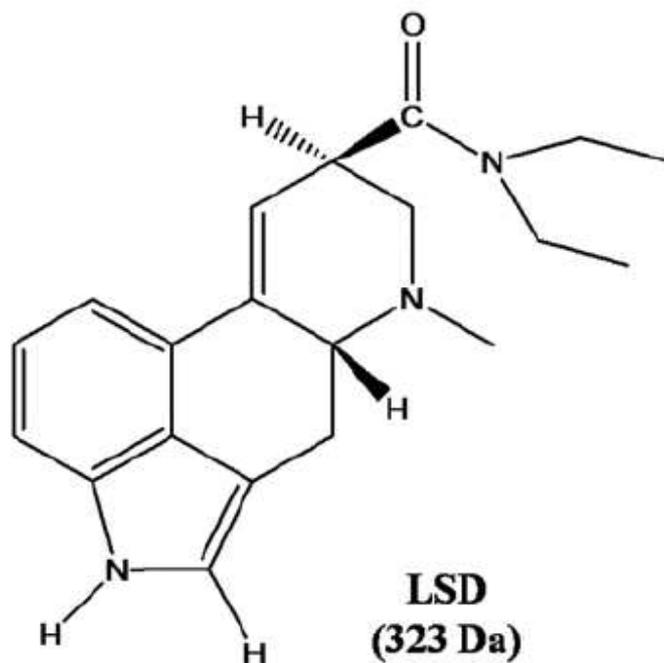


Figura 1.9 - Fórmula estrutural do LSD .

Neste trabalho, foi realizada a análise do LSD em 15 selos diferentes, em um microponto (pequeno comprimido) e em uma amostra líquida apreendidos pela polícia Civil de Minas Gerais utilizando a técnica EASI-MS e comparamos nossos resultados com os medidos por HPLC-UV.

1.3.2 Diferenciação de Tintas de Canetas Esferográficas

Canetas esferográficas ou simplesmente esferográficas são um tipo de caneta cuja tinta umidece uma esfera rolante que desliza sobre a superfície.

Na história da evolução da caneta, o uso de uma esfera na ponta possibilitou um avanço que popularizou o uso deste instrumento de escrita, ao tempo em que substituía com vantagem a caneta-tinteiro. É composta de uma carga de tinta colocada internamente a um tubo (ou *cano*), em geral de plástico, sendo a ponta dotada da esfera, que pode ser em aço ou tungstênio, que em contato com o papel gira e, assim, possibilita o fluxo contínuo e controlado da tinta em pequenas quantidades^[30].

As tintas modernas de secagem rápida são constituídas por três grupos de substâncias:

- o veículo ;
- ingredientes de coloração (pigmentos, agentes ou laca);
- aditivos.

O veículo da tinta pode ser de base vegetal (óleo de semente de linhaça, resina, ou óleos extraídos da madeira), o qual seca mediante a penetração e a oxidação, ou à base de solventes (como o querosene), que seca por meio da evaporação. Este veículo é uma solução levemente preto-azulada, e o traço feito com essa tinta é de difícil leitura^[30].

Para tornar a escrita mais escura e legível, os ingredientes de coloração (corantes) são adicionados. Os ingredientes de coloração podem ser pigmentos, que são partículas finas e sólidas fabricadas a partir de substâncias químicas, que em geral não dissolvem em água e são levemente solúveis em solventes orgânicos, podem ser agentes, e são fabricados a partir de substâncias químicas e solúveis tanto em água como em solventes orgânicos ou podem ser lacas, criadas por meio da fixação de agentes de coloração em alumínio pulverizado^[30].

Os aditivos estabilizam a mistura e dão à tinta outras características desejáveis. Dependendo da aplicação para qual a tinta é fabricada (canetas, gráficas ou

impressoras) e do tipo de material a ser impresso, as proporções dos constituintes das tintas mudam.

No caso da caneta esferográfica, a tinta é muito espessa e seca rápido. É espessa para que não vaze pelo reservatório, mas fina o suficiente para reagir à gravidade. É por isso que uma caneta esferográfica normal não escreve com a ponta virada para cima. Precisa da gravidade para empurrar a tinta para a esfera [30].

Por se tratar de um instrumento de escrita manual, muitos documentos importantes, são assinados em caneta esferográfica e podem sofrer alterações/adulterações naturais e/ou intencionais que podem ser de interesse forense. Um exemplo pode ser uma folha de cheque que teve o valor alterado por sobreposição de tinta sobre a escrita original ou a verificação de que partes de um documento foram produzidas/assinadas na mesma época (datação).

Técnicas analíticas usuais como a cromatografia gasosa, a cromatografia líquida ou a absorção atômica podem ser utilizadas para identificar as substâncias e/ou metais presentes, no entanto para aplicação destas técnicas se faz necessário fazer recortes no documento e posterior extração/digestão com solventes, o que destruiria parte da amostra (documento). Por isso, torna-se necessário o desenvolvimento de análises não destrutivas para problemas como este. Já existem estudos utilizando Espectroscopia Raman [31,32], Infravermelho [32,33] e até mesmo DESI e EASI-MS [34] para a análise não destrutiva de tintas em documentos.

Neste trabalho, aplicou-se a fonte EASI-MS construída em nosso laboratório, para a análise qualitativa de tintas de caneta da marca **BIC** e **Compactor** nas cores azul, vermelha, preta e verde.

1.3.3 IDENTIFICAÇÃO DE INSETICIDAS CARBAMATOS EM GRÂNULOS

Os pesticidas carbamatos surgiram junto com os organofosforados após a Segunda Guerra Mundial. Estes vieram em substituição aos pesticidas organoclorados

e tornaram-se uma alternativa mais promissora porque apresentavam maior seletividade e eram biodegradáveis^[21].

Os carbamatos são ésteres do ácido carbâmico, contendo o mesmo grupo funcional(-NH(CO)O-) e apresentam pouca solubilidade em água, mas são solúveis em solventes orgânicos. Possuem ação anticolinesterásica, com grau variado de toxicidade para o ser humano, podendo ser absorvidos por via oral, respiratória e dérmica. Sua toxicidade é grandemente influenciada pela via de absorção. Uma vez absorvidos são distribuídos rapidamente aos tecidos moles e órgãos. Atualmente são utilizados como fungicidas, inseticidas e parasiticidas. Existem atualmente vinte e cinco princípios ativos que estão distribuídos em centenas de produtos comerciais no mercado nacional^[21].

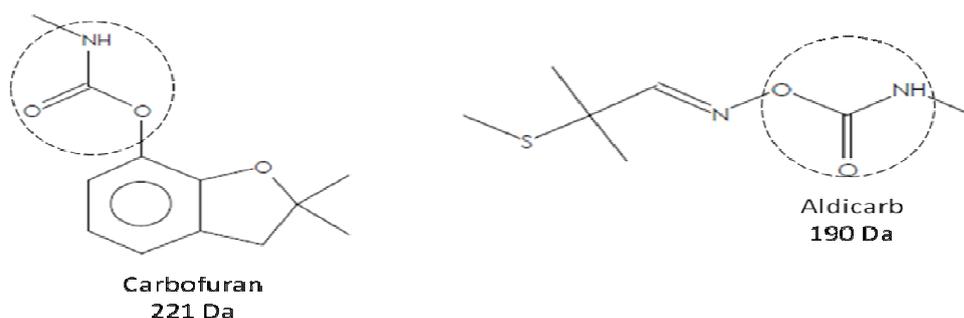


Figura 1.10 - Fórmulas estruturais – com grupo carbamato circulado - (A) aldicarb e (B) carbofuran.

Do ponto de vista forense, os carbamatos de maior interesse são o aldicarb e o carbofuran (**Figura 1.10**), inseticidas de uso exclusivamente agrícola vendidos apenas a agricultores cadastrados nos estados de Minas Gerais, Bahia e São Paulo. No entanto, são comercializados ilegalmente em casas de ração e feiras livres como o rodenticida conhecido como “chumbinho”, também podendo ser encontrados na forma líquida. Estes carbamatos são os maiores responsáveis pelas mortes por intoxicação aguda em casos acidentais, de auto-extermínio e de homicídios em Minas Gerais^[21].

Na análise de restos de alimentos contaminados e dos próprios grânulos, a técnica analítica mais utilizada pela Seção Técnica de Química e Física Legal do Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Minas Gerais é a cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta (HPLC-UV), uma vez que o aldicarb é termolábil o que inviabiliza sua análise por cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas sem uma etapa inicial de derivatização.

No presente trabalho, foi testada a análise direta da superfície de grânulos com aldicarb e carbofuran utilizando a técnica EASI-MS.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS DO TRABALHO

O presente trabalho tem por objetivo a montagem e a implantação de uma fonte de ionização EASI-MS sobre a plataforma de um espectrômetro de massas, originalmente com uma fonte de ionização por *electrospray* (ESI).

Após a montagem da fonte buscou-se aplicações em química forense, visando melhorar e ampliar a qualidade e confiabilidade dos ensaios de constatação preliminares e, se possível, realizar testes de natureza semi-quantitativa, visando estabelecer limites de detecção para a técnica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Drogas de Abuso

Pretende-se aplicar a fonte de ionização EASI-MS para a identificação de substâncias de abuso, buscando maior confiança do que as técnicas colorimétricas geralmente empregadas, com tempo de análise e menor uso de solventes, que as técnicas de cromatografia gasosa e cromatografia líquida. Ademais, se possível, termos informações a respeito das concentrações destas substâncias nas amostras apreendidas, mesmo que a nível percentual.

2.2.2 Tintas de Canetas Esferográficas

Outra amostra que pretende-se aplicar a fonte é na análise de tintas de caneta com a finalidade de avaliar o perfil de ionização de cada tinta, mostrando, se possível, a diferença existente entre cores diferentes e entre as mesmas cores de marcas diferentes.

2.2.3 Inseticidas Carbamatos

Pretende-se também, aplicar a fonte de ionização EASI-MS para a análise da superfície de grânulos suspeitos de conter os inseticidas carbamatos carbofuran e aldicarb.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 A CONSTRUÇÃO DA FONTE EASI

As análises foram todas conduzidas num espectrômetro de massas modelo LCQFleet (ThermoElectron, San Jose, CA). O spray foi gerado pelo bombeamento dos solventes (metanol, acetona, etanol ou acetonitrila) com grau HPLC e água MiliQ (50/50 v/v), com fluxo que variou entre 13 e 20 $\mu\text{L min}^{-1}$, o qual foi submetido a um jato de nitrogênio a uma pressão de 100 psi (6,80 atm). O *spray* assim gerado foi direcionado à superfície das amostras, as quais foram colocadas próximo à entrada do espectrômetro de massas.

Para a construção da fonte, foram utilizados suprimentos e materiais comumente utilizados na cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (**Figuras 3.1 a 3.3**) como :

- Capilares de sílica inerte utilizados na condução do fluxo de solvente até a região próxima à ponta da fonte (**Figura 3.2**);
- Ducto metálico, (ponta da fonte), no qual ocorre a nebulização supersônica, devido a passagem do gás nitrogênio a alta pressão pelo fluxo de solvente na extremidade do capilar (**Figura 3.3**);
- Um conector “tipo T” metálico que permite a entrada do gás e do solvente na fonte (**Figura 3.3**);
- Ductos de polietileno de alta densidade responsáveis pela condução do gás nitrogênio sob alta pressão (**Figura 3.1**);
- Válvula para o controle do fluxo de gás nitrogênio (**Figura 3.1**);
- Uma seringa de 500 μL , que funciona como depósito de solvente (canto inferior esquerdo da **Figura 3.5**);
- Bomba de injeção automática própria do aparelho, onde se encaixa a seringa (canto inferior esquerdo da **Figura 3.5**);
- Sistema de garras e pinças que possibilitavam o posicionamento da fonte e rotação sobre seu eixo próximo à entrada do espectrômetro de massas

permitindo a otimização das distâncias e dos ângulos que são pontos críticos na ionização por EASI (**Figura 3.6**);

- Uma base metálica que permite movimentação nos eixos x,y e z , onde foram colocadas as amostras a serem analisadas (**Figura 3.6**);

As figuras a seguir descrevem as peças utilizadas na construção da fonte EASI

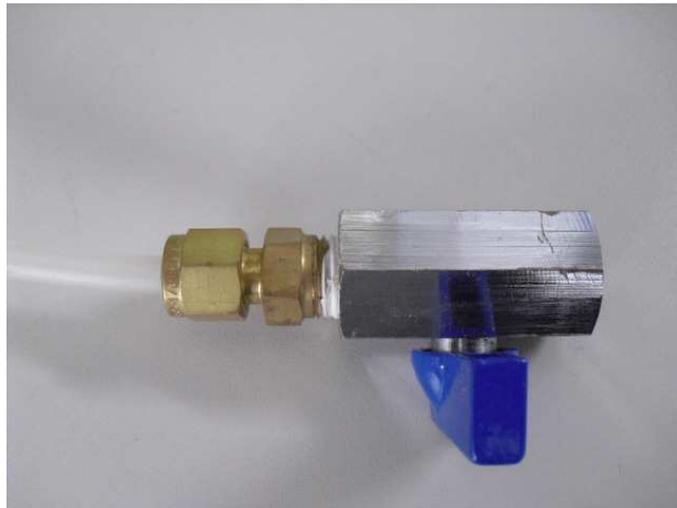


Figura 3.1 - Válvula para o controle do fluxo de nitrogênio a ser utilizado na fonte EASI.

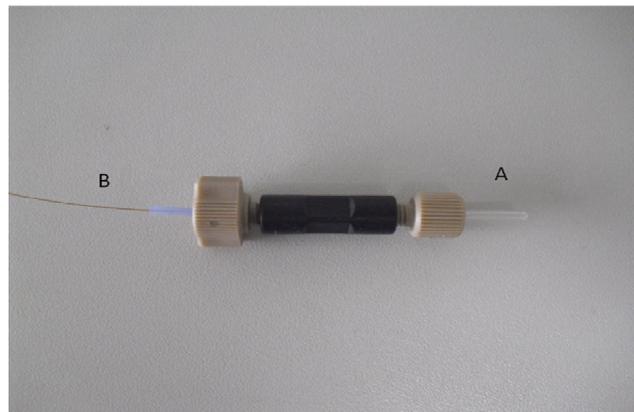


Figura 3.2 - Conector para a seringa de solvente: (A) extremidade conectada na seringa e (B) extremidade conectada ao capilar que leva o solvente até a fonte

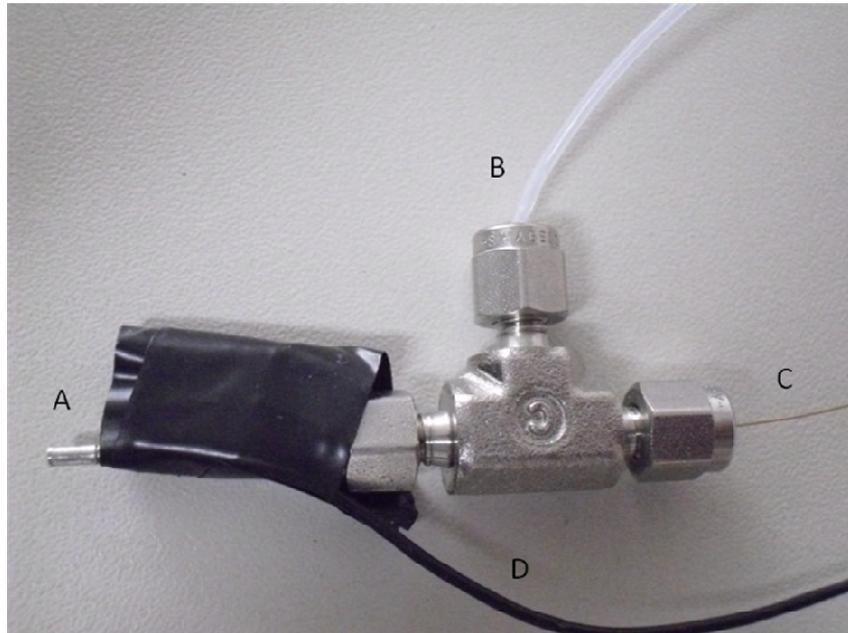


Figura 3.3 - Fonte de Ionização EASI montada sobre um “conector T”: (A) ponta da fonte, (B) entrada do gás nitrogênio, (C) entrada do capilar com o solvente e (D) cabo para ligar a alta tensão – (experimento DESI)



Figura 3.4 - Plugue utilizado para permitir o funcionamento do espectrômetro de massas sem a presença da fonte ESI.



Figura 3.5 - Visão geral do espectrômetro de massas e da fonte EASI montada na sua entrada.



Figura 3.6 - Detalhe da entrada do espectrômetro de massas e da fonte EASI.



Figura 3.7 - Detalhe para a ponta da fonte, a entrada do espectrômetro de massas e da placa que serve de suporte para a amostra.

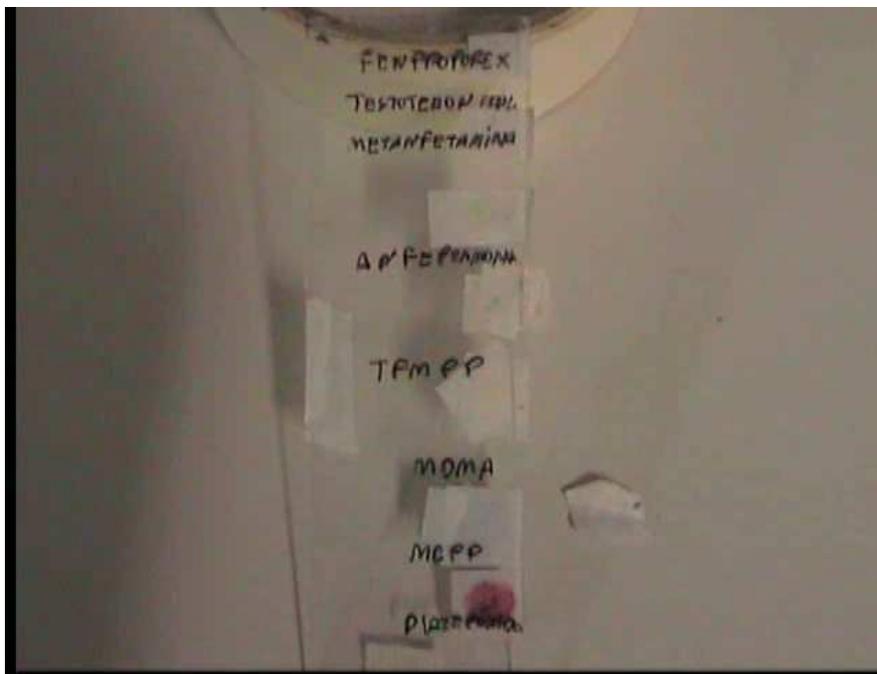


Figura 3.8 - Fotografia de uma placa suportando várias amostras

Para o funcionamento do sistema, a fonte de *electrospray* (ESI) do equipamento foi removida e um plugue com um resistor foi conectado para fazer com que o equipamento funcionasse sem a presença da fonte original.

As análises foram feitas inicialmente com varredura total de íons (*full scan*) medindo íons de m/z de 50 a 2000 no modo positivo. Durante a análise foram selecionados os íons $[M+H]^+$ de interesse e a seguir fragmentados por dissociação induzida por colisão (CID) e os íons resultantes (íons filho) analisados com o objetivo de se confirmar a identidade do analito.

Para a seleção dos parâmetros da técnica (ângulos, distâncias, fluxo de solvente) a substância a ser analisada era fixada na placa e colocada na posição de análise, ou seja, próximo à entrada do espectrômetro e em frente a ponta do nebulizador. A seguir foram observados o número total de íons no espectrômetro, medida dada pela grandeza **NL**, em função da variação dos parâmetros individualmente. A escolha da condição analítica foi feita em função do maior valor de NL obtido.

Após as análises, a fita adesiva foi retirada da placa de vidro e descartada. As placas de vidro foram então lavadas inicialmente com detergente comum e água em abundância e depois limpas com uma solução de acetona/etanol e colocadas para secar ao ar livre.

Detalhes sobre os experimentos envolvendo drogas de abuso, tintas de caneta e inseticidas carbamatos são fornecidos no próximo capítulo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DROGAS DE ABUSO

4.1.1 Cocaína

Para realizarmos estes experimentos, cerca de 1mg de padrões farmacêuticos de cafeína e lidocaína e um padrão de cocaína purificado na Seção Técnica de Química e Física Legal do Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Minas Gerais (DIVLAB-IC-PC/MG) foram fixados na superfície de uma fita dupla face que, por sua vez estava presa a uma lâmina de vidro.

A fonte EASI foi, então, direcionada para a superfície da fita e os parâmetros, como ângulos, vazão do gás e fluxo do solvente otimizados. Para isso determinamos um ângulo (α) entre a fonte e a superfície da amostra (**Figura 1.4**) de aproximadamente 35° e 7mm de distância, e entre a superfície da amostra e a entrada do espectrômetro de massas um ângulo (β) de cerca de 10° e 3 mm de distância. O solvente foi uma mistura de acetonitrila/água 50% v/v num fluxo de 13 μ L/min e o gás nitrogênio a 100 psi de pressão, utilizando um tempo de aquisição equivalente a 50 varreduras (scans), o que leva em torno de 45 segundos. É bom frisar que o controle destes parâmetros eram bem difícil em nossa fonte, devido à simplicidade do modelo aplicado.

Obtivemos os seguintes resultados (**Figura 4.2 a 4.4**) para padrões purificados de cocaína, lidocaína e cafeína. Sempre que possível, foram analisados os fragmentos (MS^2) resultantes da CID dos íons $[M+H]^+$ [35].

Fragmentos Característicos da Cocaína

A cocaína, assim como qualquer outra substância, possui um padrão característico de fragmentação por Ionização por Elétrons (EI) a 70 eV. O fato de uma substância apresentar um padrão de fragmentação por EI não significa que um íon gerado por EASI-MS, venha a ter o mesmo padrão de fragmentação. Neste trabalho, muitas vezes, será utilizado o espectro de massas por EI [26] apenas para a ilustração

didática da fórmula molecular e porque foram feitos, na grande maioria dos casos a confirmação dos resultados obtidos pela EASI-MS por HPLC-UV [21], e GC-MS [21] esta sim, com fonte de ionização EI.

A seguir são apresentados os caminhos possíveis para fragmentação da cocaína protonada na ionização a pressão atmosférica ESI, justificando os íons apresentados no espectro de massas. De acordo com a **Figura 4.1**, no modo positivo, será esperado o íon de m/z 304 referente ao $[M+H]^+$ e os íons de m/z 182 e m/z 150 característicos da dissociação do íon de m/z 304 da cocaína.

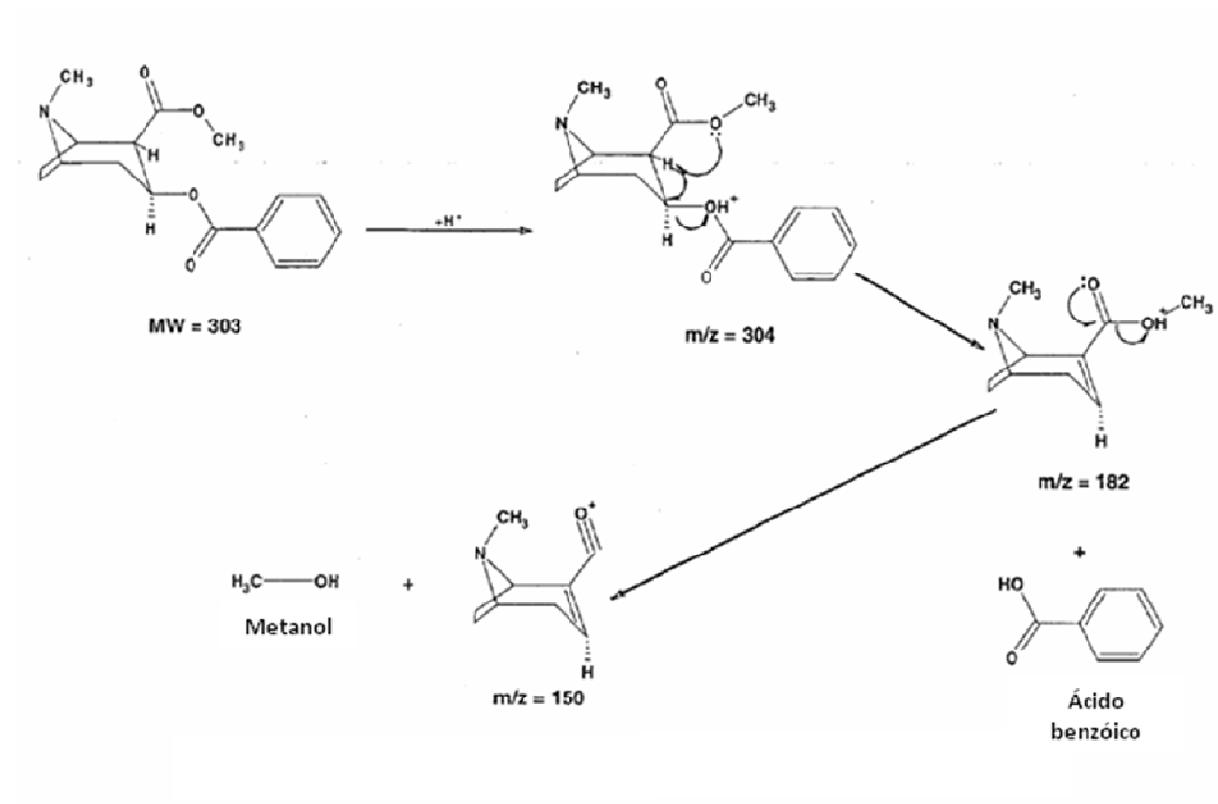


Figura 4.1- Esquema de Ionização e de fragmentação para a cocaína por *electrospray* (ESI-MS) [27].

Uma vez que a técnica EASI-MS possibilita uma ionização onde ocorrem pouca ou nenhuma fragmentação, é esperado para a cocaína a presença do íon de m/z 304,

referente à fórmula $[M+H]^+$. Para a confirmação de identidade do pico m/z 304 pode-se proceder a dissociação induzida por colisão (**CID**) do íon 304 (precursor), resultando nos íons de m/z igual a 182 e 150. Para os adulterantes, geralmente presentes na amostra de droga de rua, temos para a Cafeína $[M+H]^+$ com m/z igual a 195 Da e para a lidocaína $[M+H]^+$ com m/z igual a 235 Da. O termo NL é um valor equivalente da intensidade de íons que chegam ao detector.

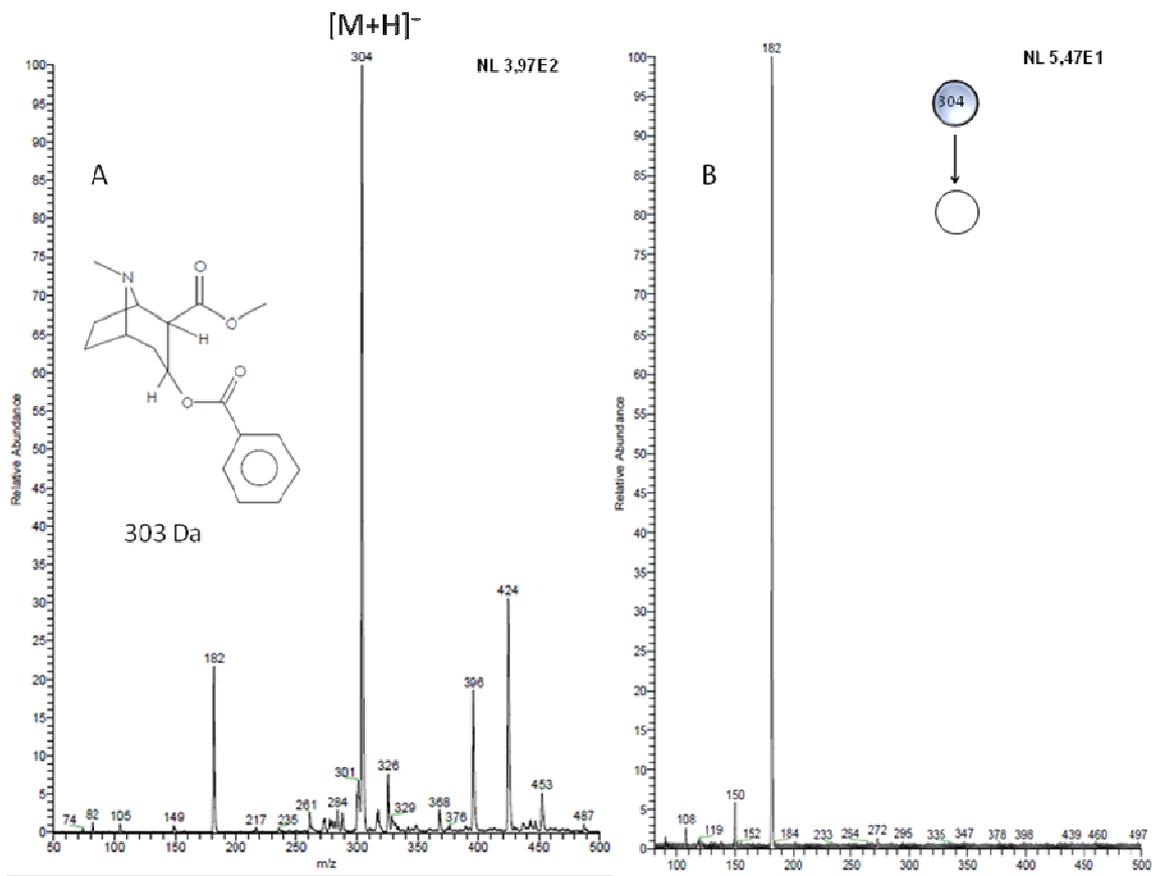


Figura 4.2 - Espectro de massas (EASI-MS) do padrão de cocaína (A) *full scan* (B) MS² do íon $[M+H]^+$ de m/z 304.

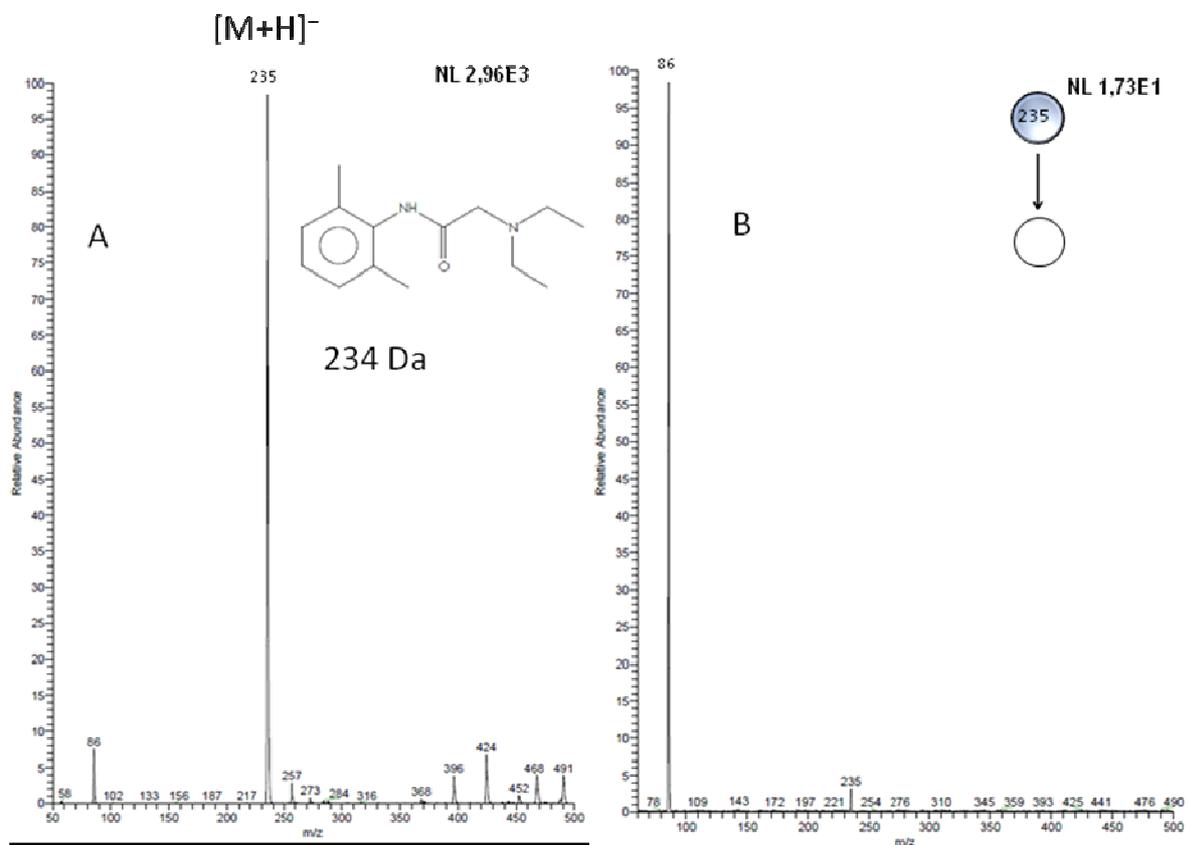


Figura 4.3 - Espectro de massas (EASI-MS) do padrão de Lidocaína (A) *full scan* (B) MS^2 do íon $[M+H]^+$ de m/z 235.

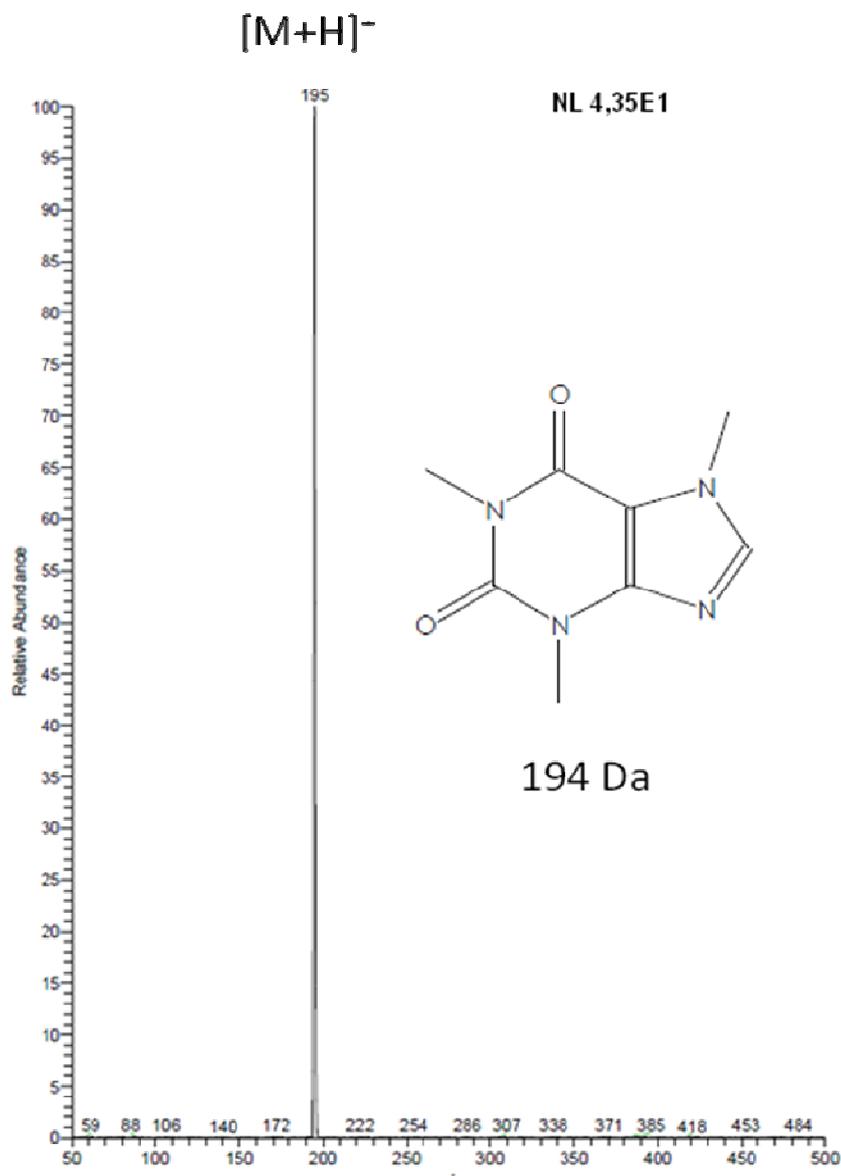


Figura 4.4 - Espectro de massas (EASI-MS) *full scan* Cafeína

Pode-se observar, nas **Figuras 4.2 a 4.4** que o espectro de massas com ionização EASI é limpo e apresenta baixo ruído e, nestes casos, o íon mais intenso foi o $[M+H]^+$.

A técnica EASI-MS foi então aplicada em um lote de amostras reais de cocaína apreendidas e já analisadas por GC-MS. Os resultados mostraram-se concordantes,

isto é, todas as amostras classificadas como positivas para a presença de cocaína por GC-MS também foram classificadas como positivas por EASI-MS. Após a obtenção desses resultados, foi montado um novo experimento, onde foram simuladas a adição de diluentes/adulterantes na cocaína criando, então, uma base, na qual a cocaína estaria dispersa em concentrações percentuais. Estas bases foram assim enumeradas:

Base A (mistura de ácido bórico e bicarbonato de sódio 50/50 % p/p);

Base B (mistura de farinha de trigo e ácido bórico 50/50 % p/p);

Estas bases foram escolhidas porque os seus constituintes (ácido bórico, amido e bicarbonato de sódio) são muito utilizados para a diluição da cocaína em amostras apreendidas em Minas Gerais. Os componentes pulverizados de cada base foram colocados em um invólucro plástico fechado e a seguir vigorosamente agitados manualmente por cerca de quatro minutos, a fim de se garantir a homogeneidade da mistura final.

Para cada base foi adicionado cocaína na proporção de: 0 – 1 – 5 - 10 e 20% p/p. Para o preparo das misturas, as massas de cocaína e da base foram dispostas em um microtubo que permaneceu sob agitação manual por aproximadamente 3 minutos. A seguir cerca de 1 mg da mistura foi afixado numa placa de vidro como descrito anteriormente.

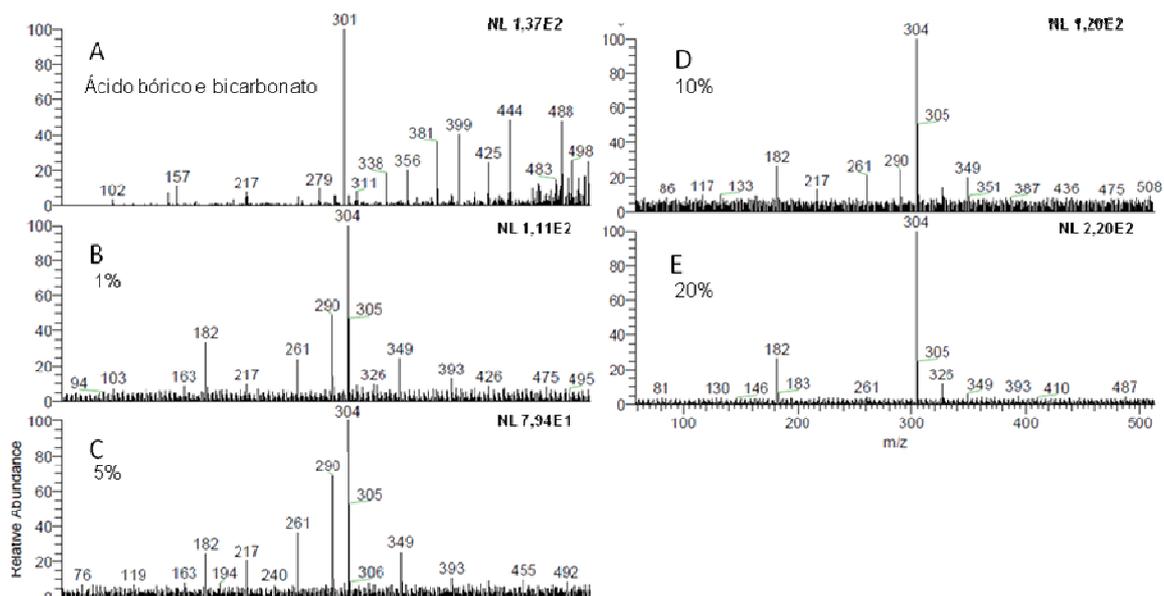


Figura 4.5 - Espectros de massas *Full Scan* (EASI-MS) da mistura de base A com cocaína, sendo (A) 0% Cocaína, (B) 1% Cocaína, (C) 5% Cocaína, (D) 10% Cocaína e (E) 20% Cocaína.

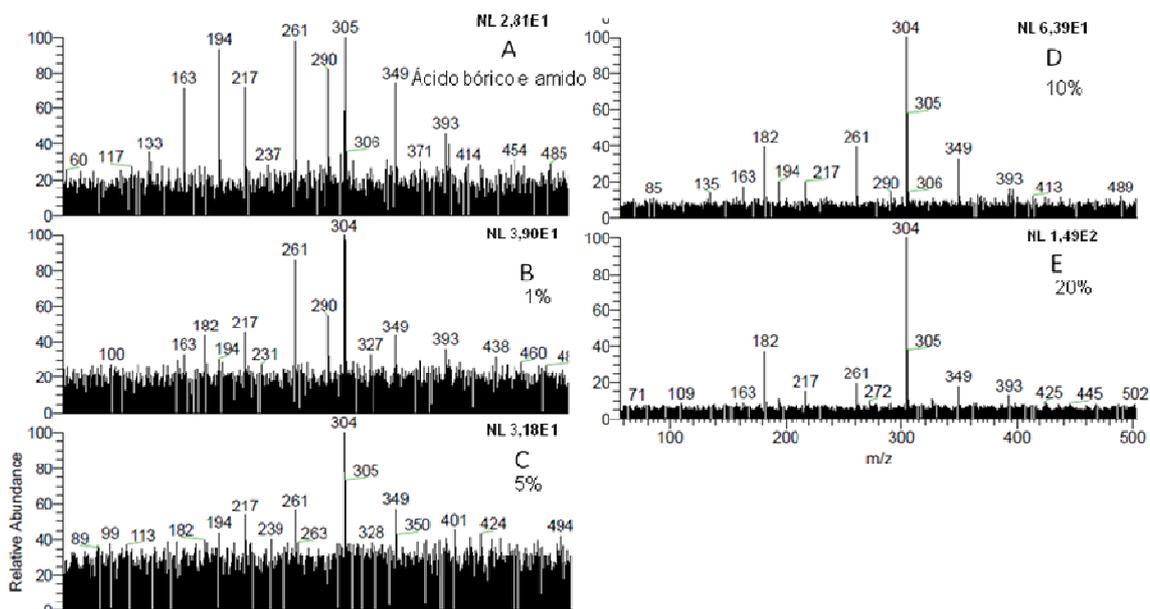


Figura 4.6 Espectros de massas *Full scan* (EASI-MS) da mistura de base B com cocaína, sendo (A) 0% Cocaína, (B) 1% Cocaína, (C) 5% Cocaína, (D) 10% Cocaína e (E) 20% Cocaína.

A análise dos espectros de massas das misturas de cocaína e bases A e B, (**Figura 4.5 e 4.6**, respectivamente) permite concluir que em ambas foi possível a identificação do pico $[M+H]^+$ característico da cocaína (m/z 304) em concentrações mínimas de 1% em massa. Percebe-se também que a Base A e a Base B podem ser diferenciadas pelos seus respectivos espectros de massas.

Para a detecção da cocaína foi feito, ainda, um outro experimento, desta vez utilizando as mesmas bases A e B, agora com concentrações de cocaína de 0,1 e 0,5 % p/p. Os espectros de massas referentes a estes experimentos são mostrados a seguir (**Figuras 4.7 e 4.8**). Pode-se notar que o espectro de massas (*full scan*) da mistura a 0,1% p/p, a presença do íon de m/z 304, referente a cocaína protonada, o que pode ser confirmado pelo espectro de massas MS^2 , que apresenta os íons filhos característicos da cocaína.

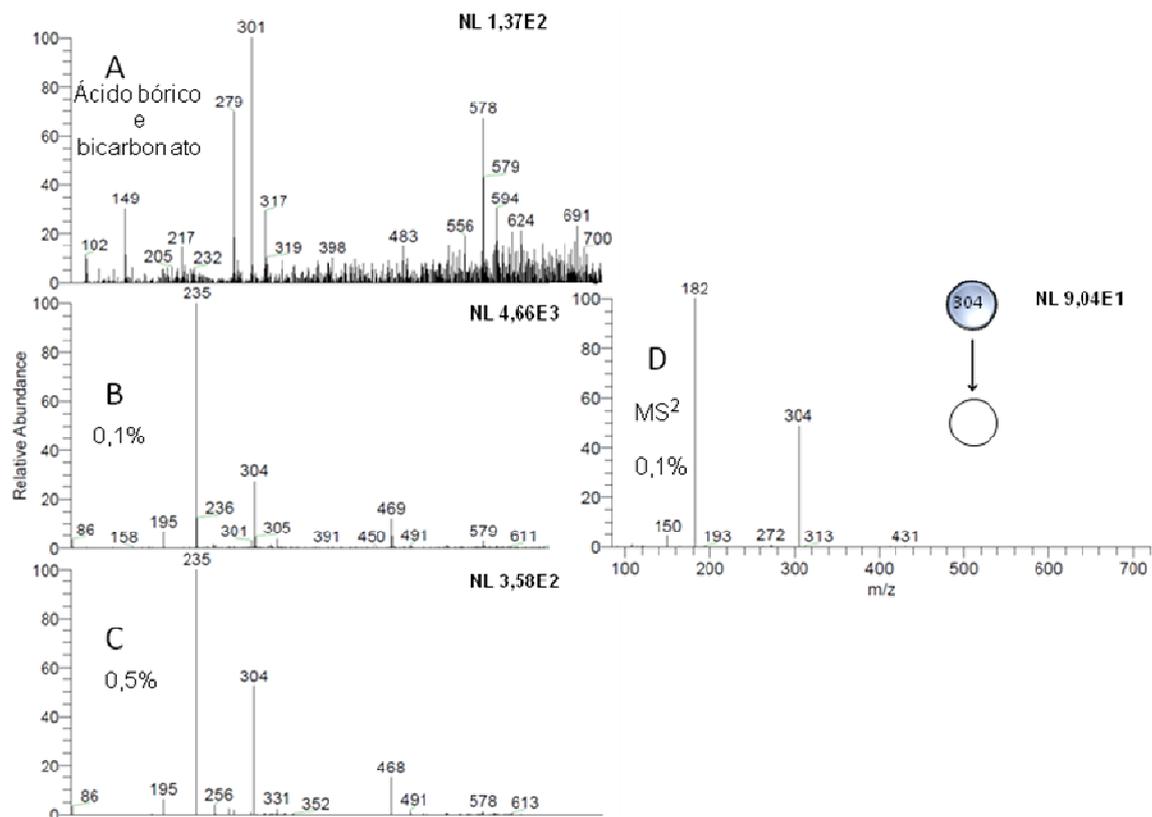


Figura 4.7 - Espectros de massas base A: (A) 0% cocaína, (B) 0,1% de cocaína, (C) 0,5% cocaína e (D) MS² do íon m/z 304 (da mistura contendo 0,1% p/p de cocaína e base A).

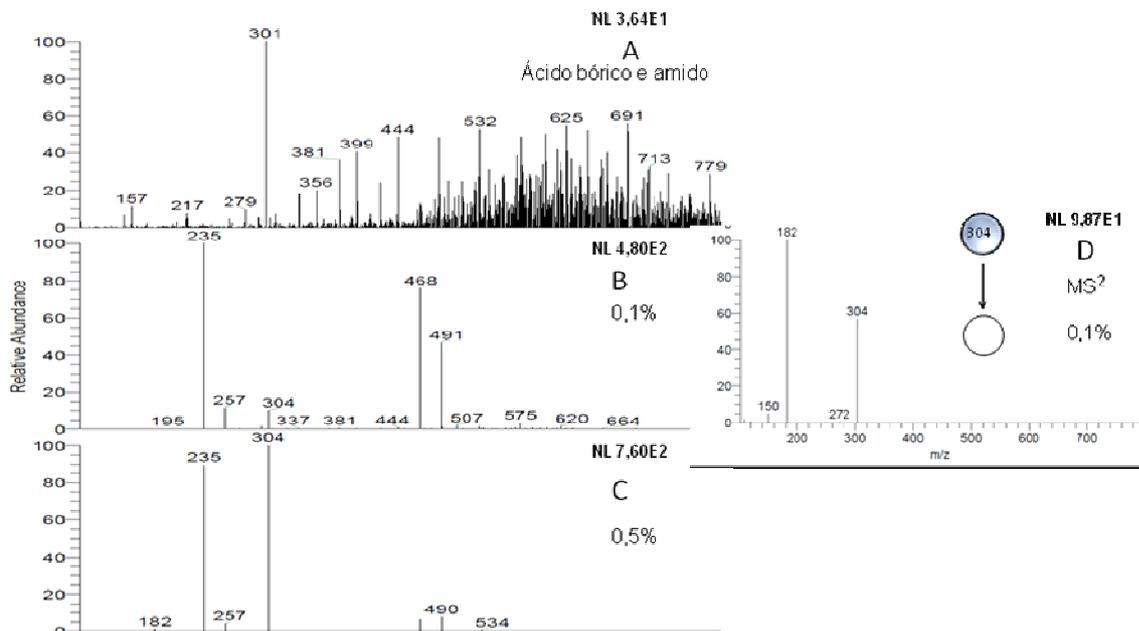


Figura 4.8 - Espectros de massas base B: (A) 0% cocaína, (B) 0,1% de cocaína, (C) 0,5% cocaína e (D) MS² do íon m/z 304 (da mistura contendo 0,1% p/p de cocaína e base B).

Os resultados obtidos e mostrados nas **Figuras 4.7 e 4.8**, mostram que a técnica de ionização EASI-MS pode detectar concentrações de cocaína tão baixas quanto 0,1% p/p.

Deve-se considerar que as análises por EASI-MS foram realizadas em uma quantidade equivalente a 0,02g de amostra, a quantidade de cocaína em uma amostra a 0,1% p/p dá em torno de 20 µg de cocaína.

Esta quantidade de cocaína (20 µg) é comparável ao limite de detecção do Reagente de Mayer ^[21], um reagente colorimétrico, utilizado para detectar a presença de alcalóides sendo, portanto, inespecífico para a cocaína. Não obstante, o valor de 20 µg de cocaína é inferior ao limite de detecção apresentado pelo reagente Tiocianato de Cobalto acidificado ^[16,21], reagente comumente utilizado para os testes de constatação de cocaína, constando inclusive nos manuais da ONU, sendo atualmente

aplicado nos testes de constatação da presença de cocaína pelos peritos da Polícia Civil de Minas Gerais.

Podemos concluir então que a técnica de ionização EASI-MS tem sensibilidade para poder ser utilizada na análise de rotina, para a pesquisa de cocaína nas amostras de drogas apreendidas, com a vantagem de ser muito mais precisa que os reagentes colorimétricos ora utilizados, eliminando o uso de solventes e descartes químicos, além de não necessitar de preparo de amostra e ser muito rápida e menos susceptível a resultados falso-positivos.

Para uma análise de 10 amostras de cocaína foram gastos: cerca de 7 minutos para a fixação das amostras na placa de vidro; 40 segundos para a aquisição dos espectros de massas para cada amostra; 60 segundos entre uma análise e outra para diminuição do ruído/limpeza do íon trap e conseqüente ocorrência de resultado falso positivo. Totalizando eram gastos cerca de 22 minutos para a análise de 10 amostras. Os métodos de análise de cocaína atualmente utilizados na Seção Técnica de Química e Física Legal da Divisão de Laboratórios do Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Minas Gerais (STQFL-DIVLAB-IC-PC/MG), tanto por GC-MS quanto por HPLC-UV, gastam em torno de 12 minutos por análise. Assim, não computando o tempo de preparo de amostras para GC-MS e HPLC-UV, poderiam ser analisadas 10 (dez) amostras de cocaína por EASI-MS no tempo em que seriam injetadas/analizadas apenas 2 (duas) amostras nos sistemas convencionais.

Acredita-se, portanto, que a técnica EASI-MS, caso disponível em um Laboratório de Criminalística, poderia servir como triagem de amostras de cocaína nos exames definitivos, bastando para isso estabelecer os limites de detecção da técnica. Tal procedimento traria a vantagem de reduzir o número de amostras a serem analisadas por HPLC-UV ou por GC-MS que, embora sejam técnicas mais sensíveis, são mais caras e demoradas.

4.1.2 Derivados Anfetamínicos

Os derivados anfetamínicos, geralmente chegam para a análise na forma de comprimidos de diversas cores e formas. Para a análise destes derivados pela técnica EASI-MS, o comprimido era fixado por uma fita adesiva na placa de vidro e a seguir foi encaminhado para a análise. As análises foram efetuadas diretamente na superfície do comprimido e, quando muito, foi raspada uma pequena parte da superfície do mesmo a fim de evitar as contaminações que poderiam estar presentes nesta superfície.

Diferentemente da cocaína, os parâmetros da técnica (**Figura 1.4**) foram otimizados individualmente para cada amostra em função do maior valor de NL, uma vez que os comprimidos diferiam de forma e tamanho uns dos outros. Os espectros de massas foram registrados e, quando possível, foram realizadas as fragmentações dos íons de maior intensidade a fim de confirmar a identidade de cada substância.

O espectro de massas (**Figura 4.9**) obtido a partir da superfície de um comprimido com suspeita de conter *ecstasy* (MDMA) apresentou o íon de m/z 194 que representa o íon $[M+H]^+$. A fragmentação de tal íon dá origem ao íon de m/z 163, que confirma a identidade do *ecstasy*^[35,36]. O mesmo ocorreu com um comprimido com suspeita de conter femproporex, cujo espectro de massas (**Figura 4.10**) apresentou o íon $[M+H]^+$ de m/z 189 e cuja fragmentação dá origem ao íon de m/z 119, confirmando a identidade desta substância^[35].

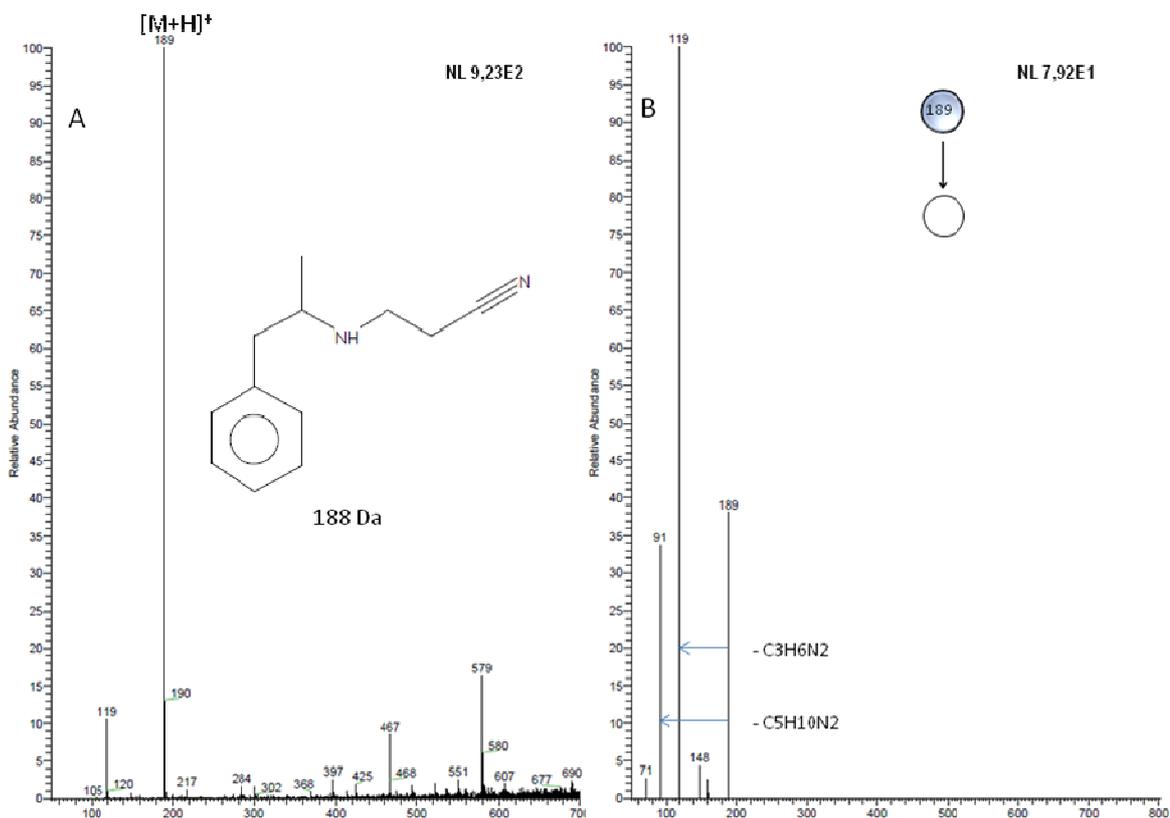


Figura 4.10 - Espectro de massas (EASI-MS) de um comprimido contendo femproporex (A) full scan (B) MS² do íon m/z 189.

Ao todo foram analisados cinco comprimidos suspeitos de conterem *ecstasy*. Destes dois apresentaram resultado positivo, em outros dois foi detectada a presença de femproporex e um resultou negativo. Todos os resultados obtidos por EASI-MS foram confirmados, por GC-MS (análises conduzidas na STQFL-DIVLAB-IC-PC/MG utilizando os métodos descritos em Passagli e colaboradores [21]).

Sempre é bom lembrar que a análise por EASI-MS se processa na superfície da amostra, sem qualquer tipo de etapa de preparo a não ser a sua fixação. Embora os resultados aqui apresentados para o femproporex e o *ecstasy* tenham sido confirmados por GC-MS, a técnica EASI, por si só, já identifica a natureza das substâncias, conforme pode se ver nos espectros de massas mostrados nas **Figuras 4.9 e 4.10**.

Mesmo utilizando um espectrômetro de massas de baixa resolução, a dissociação induzida por colisão (CID) nos dá uma boa garantia da identidade da substância questionada. Por isso, tal técnica tem aplicação direta nos exames de triagem de um laboratório forense.

4.1.3 LSD

Nesta parte do trabalho, foram analisados 15 selos, um microponto e uma amostra líquida (solução). Para a pesquisa nos selos ou no microponto, os mesmos foram fixados (colados) na superfície de uma fita dupla face e, esta por sua vez, colada a uma placa de vidro. Para a análise do líquido suspeito de conter LSD, 100 µL da solução foram depositados sobre a superfície de um quadrado de 1 cm de lado confeccionado em papel absorvente. Após a secagem do papel o mesmo foi fixado à placa de vidro da mesma maneira que os selos. Os resultados foram confirmados por HPLC-UV em um método já validado descrito por Marinho e colaboradores [37].

Os parâmetros instrumentais para as análises foram: gás nebulizador a 100 psi, temperatura do capilar 275 °C, solvente acetonitrila/água 50% v/v, análise no modo positivo (+) e ângulos e distâncias da fonte até a amostra e da amostra à entrada do espectrômetro (**Figura 1.4**) otimizadas para terem o maior valor de NL possível, condição esta obtida com ângulo α de 35° e ângulo beta de 15° além das distâncias entre a fonte e a amostra de 10 mm e entre a amostra e a entrada do espectrômetro de 5 mm.

A **Figura 4.11** mostra o espectro de massas (*full scan* e MS^2) para um selo em que foi detectada a presença de LSD. A presença do LSD é confirmada pelo íon $[M+H]^+$ de m/z 324 e seu padrão de fragmentação. Os picos de intensidades menores no espectro de massas podem estar relacionados a impurezas ou a corantes presentes na superfície do selo. [38].

A **Figura 4.12** [38] mostra os caminhos de fragmentação do íon de m/z 324 após sua seleção e posterior fragmentação por dissociação induzida por colisão (CID).

Resultados similares para a dissociação do íon de m/z 324 foram obtidos num trabalho anterior (*Figura 4.12*)^[38]. Comparando as *Figuras 4.12 e 4.11-B*, observamos a presença dos mesmos fragmentos com alterações apenas nas intensidades relativas dos mesmos.

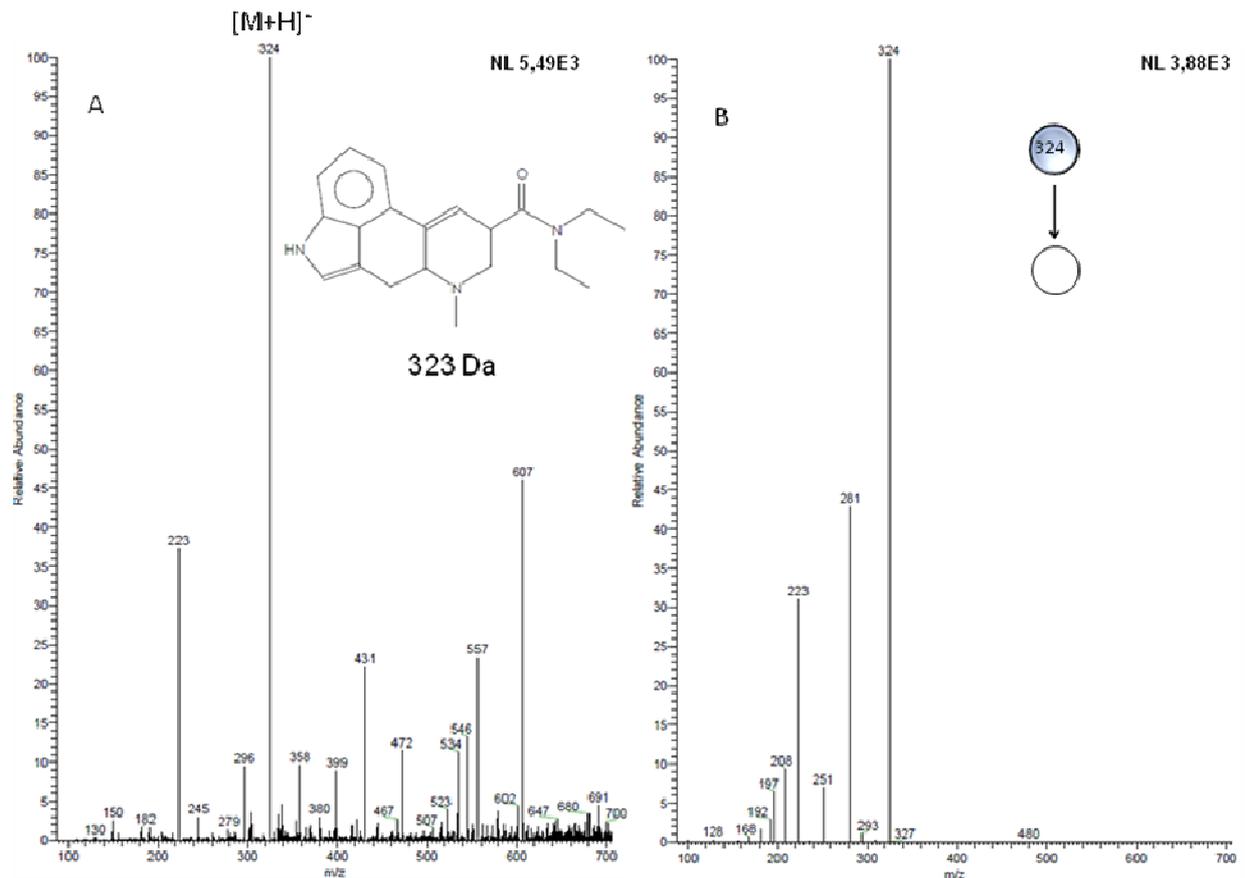


Figura 4.11 - Espectro de massas (EASI-MS) de um selo contendo LSD: (A) full scan (B) MS² do íon m/z 324.

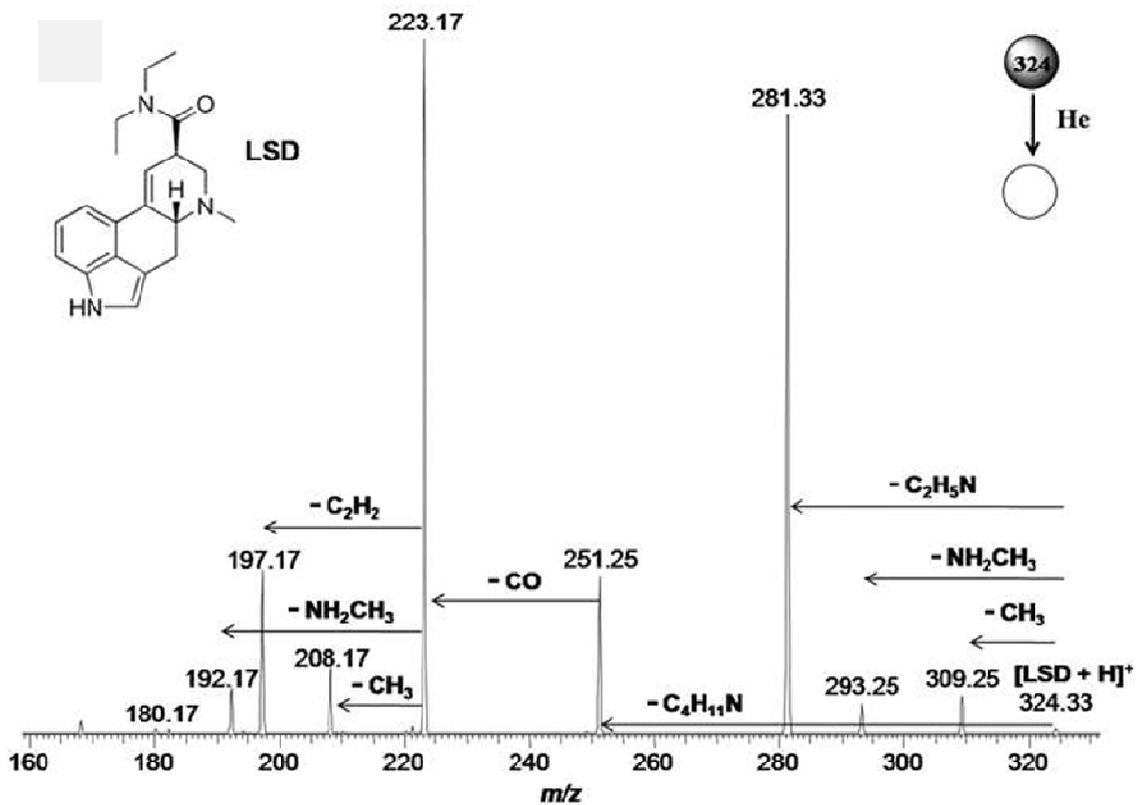


Figura 4.12 – Padrão de dissociação do íon de m/z 324 característico do LSD protonado [38].

A **Figura 4.13**, a seguir, apresenta os espectros de massa (*full scan*) de cada um dos 15 selos analisados. Por uma análise visual, percebe-se que os selos, 11, 12, 13 e 15, ao contrário dos demais, não apresentam o íon de m/z 324 como o de maior intensidade relativa nos espectros. Para a confirmação da presença ou não do LSD, foram selecionados os íons de m/z 324 e realizadas as fragmentações (CID) de todos eles. A **Figura 4.14** mostra os espectros de massa para os selos 10, 12 e 15 após a seleção do íon m/z 324, corresponde ao $[LSD+H]^+$ e fragmentação (CID) dos mesmos. Nota-se que os selos 10 e 12 apresentam os fragmentos típicos e característicos do LSD enquanto que o selo 15, não.

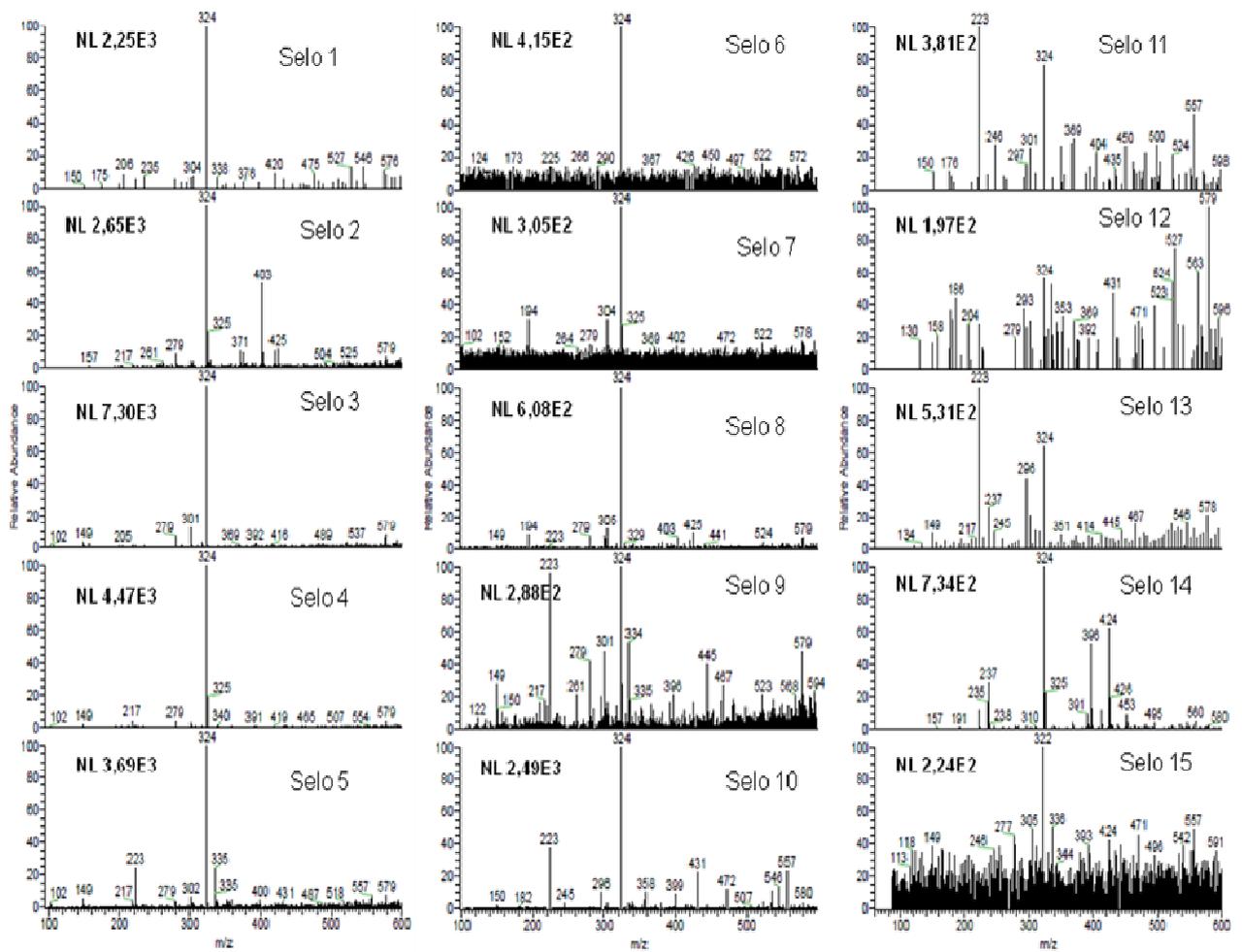


Figura 4.13- Espectros de massas (EASI-MS) dos 15 selos analisados

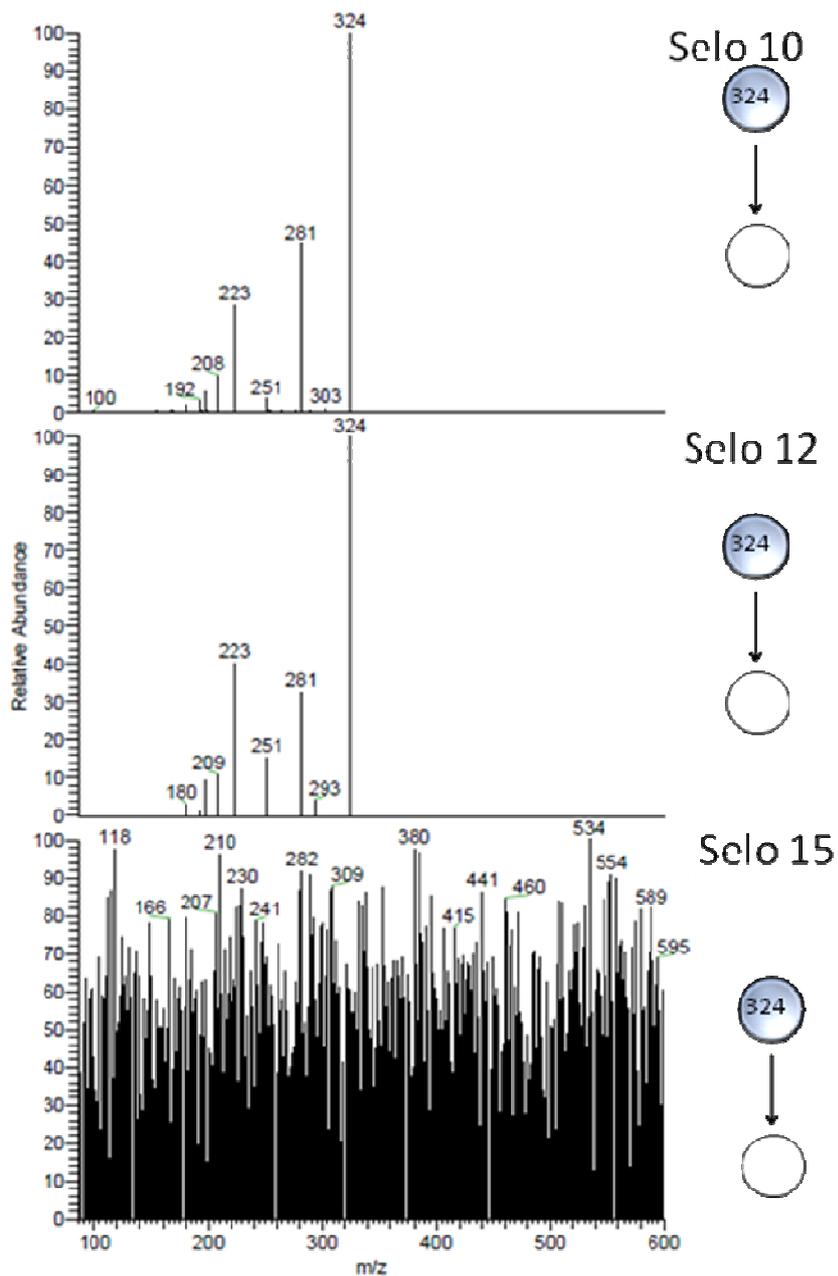


Figura 4.14 - Espectros MS² dos íons de m/z 324 provenientes dos selos 10, 12 e 15

Após as análises quantitativas por HPLC-UV [37] nestes mesmos 15 selos, foi verificado que a concentração de LSD nos mesmos variava entre 10 e 90 μg , e no selo 15, não foi detectada a presença do LSD. Outro fato interessante é que os selos 9, 11,

12 e 13 foram os que apresentaram concentrações mais baixas, entre 10 e 30 µg por selo, o que já era esperado uma vez que os espectros de massas (**Figura 4.13**) destes selos são os que mais apresentam ruído.

A partir da análise destas informações, foi possível se perceber que, no geral, quanto maior a relação sinal/ruído do íon de m/z 324 no espectro de massas maior é a concentração do LSD no selo. Deste modo, após a análise do espectro de massas do selo 12 pode-se inferir que a concentração de LSD no mesmo é menor que a do selo 3, que possui um espectro mais limpo e, portanto, maior relação sinal/ruído. Tal inferência pode ser comprovada após as análises das concentrações de LSD nos selos medidas por HPLC-UV.

A **Figura 4.15** mostra uma curiosidade observada durante a análise do selo 7, que serve para evidenciar o poder e a sensibilidade da técnica de ionização EASI-MS para a análise de superfícies. O espectro de massas completo (**Figura 4.15A**) deste selo mostra, em destaque, os íons de m/z 324, 304 e 194. Ao fazer seleção de cada íon e sua posterior fragmentação (CID) pôde-se concluir que o íon de m/z 324 era característico do LSD (**Figura 4.15B**), o íon de m/z 304 era característico da cocaína (**Figura 4.15D**) e o íon de m/z 194 era característico do *ecstasy* (**Figura 4.15C**). Buscando o histórico policial da apreensão deste selo, foi informado que, juntamente com o selo em questão, foram apreendidos comprimidos de *ecstasy* e papérolotes de cocaína durante uma festa “rave”, com o mesmo indivíduo. Tais amostras, em algum momento, estiveram em contato, justificando assim o fato de termos todas estas substâncias presentes em um mesmo selo.

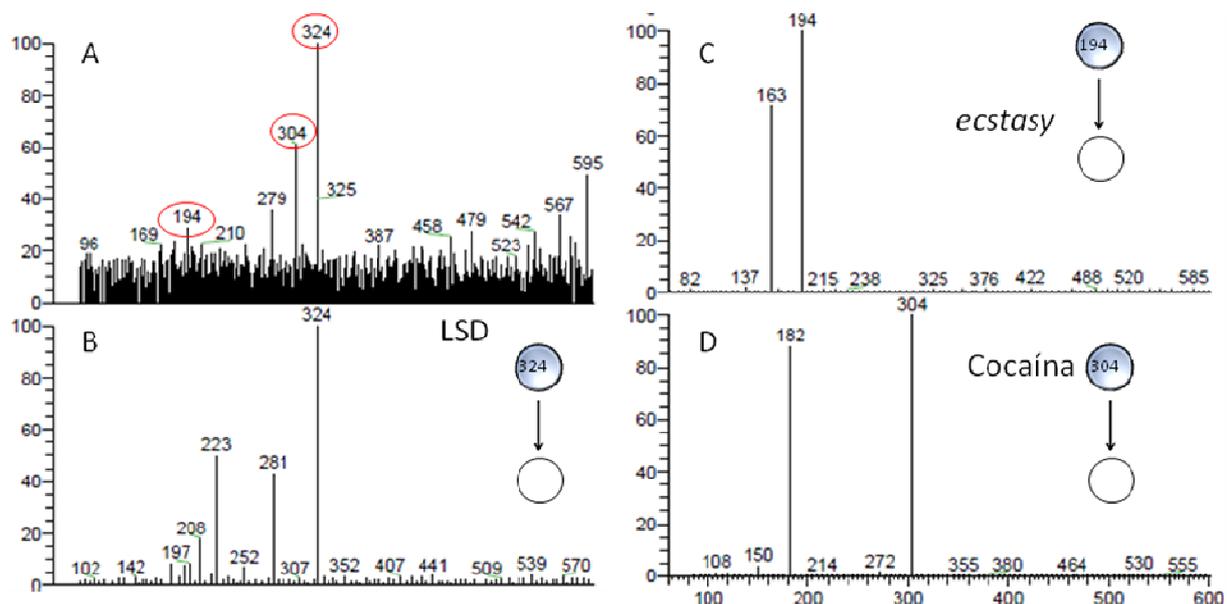


Figura 4.15 - Espectros de massas do selo 7: (A) *full scan* - destaque para os íons de m/z 324, 304 e 194, (B) MS^2 m/z 324, (C) MS^2 m/z 194 e (D) MS^2 m/z 304

Na **Figura 4.16** estão dispostos os espectros de massas completos (*full scan*) e os referentes à seleção e fragmentação de íons presentes nos espectros de massas do selo 10, do microponeto e do líquido. Para o selo 10, o espectro de massas total tem o íon m/z 324 e a CID confirma a presença dos fragmentos característicos do LSD. Para o microponeto, o íon de 324 m/z e sua posterior fragmentação, evidencia a presença do LSD. Entretanto, para a amostra líquida, a presença do íon de m/z 324, característico do LSD, não é detectada, tanto no espectro total quanto no MS^2 – a análise por HPLC-UV também resultou negativa para o LSD. Por outro lado, aparece no espectro de massas outro íon, ainda não relatado, de m/z 326.

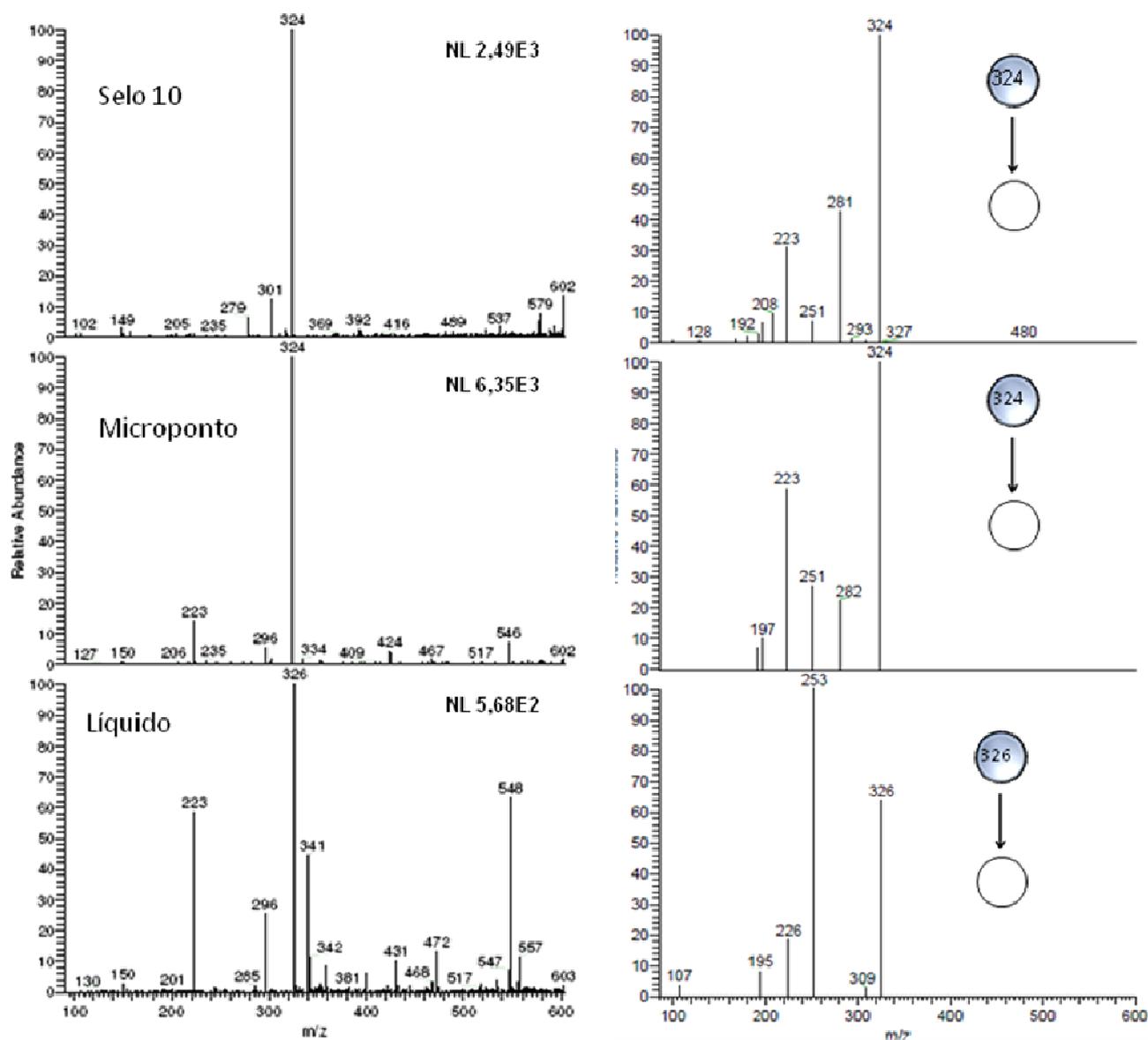


Figura 4.16 - Espectros de massas (EASI-MS) full scan e MS²: do selo 10, do microponto e do líquido.

O trabalho de Maldaner e colaboradores^[29] apresenta uma nova substância encontrada em selos e com estrutura molecular derivada do LSD, o 9,10-diidro-LSD (**Figura 4.17**). Ao selecionar e dissociar o íon de m/z 326 encontrado na análise do líquido e compararmos com os resultados obtidos no trabalho de Romão e

colaboradores^[38] pode-se confirmar, que a amostra de líquido analisada em neste trabalho tem a presença do 9,10-diidro-LSD.

O 9,10-diidro-LSD difere do LSD pela hidrogenação da dupla ligação presente entre os carbonos 9 e 10 do LSD e não está relacionado na portaria nº 344 da ANVISA [23]. Supõem-se, que tal composto também presente, em alguma intensidade, os efeitos alucinógenos causados pelo LSD. Tal suposição deve-se ao fato de selos contendo apenas esta substância já terem sido apreendidos pela Polícia Federal e pela Polícia Civil do Rio de Janeiro^[38].

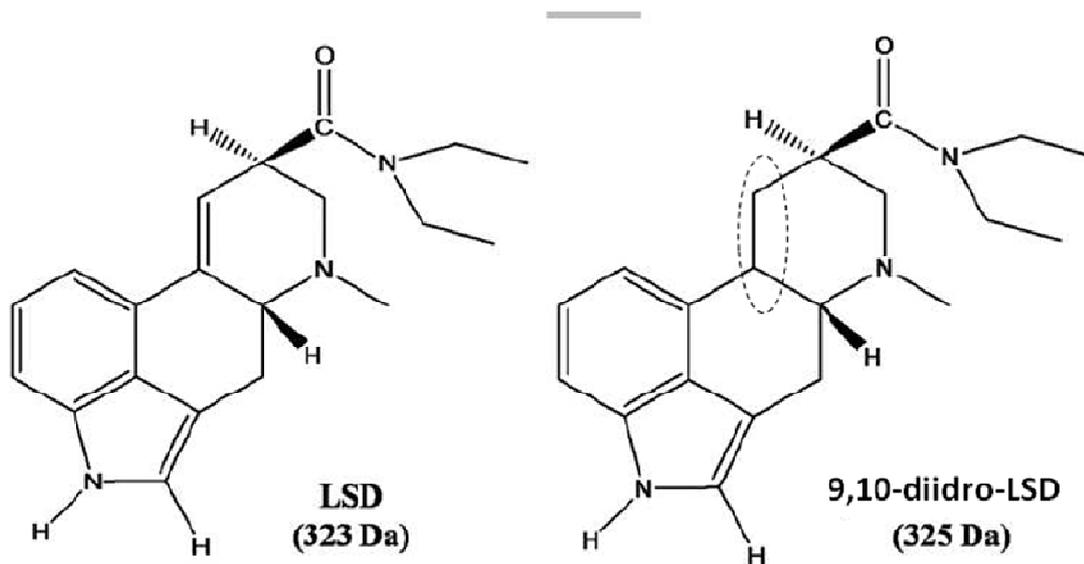


Figura 4.17 - Fórmulas estruturais do LSD e do 9,10-diidro-LSD.

4.2 IDENTIFICAÇÃO DE TINTAS DE CANETAS ESFEROGRÁFICAS

4.2.1 Detalhes experimentais

Para a análise das tintas de caneta foram confeccionados círculos, com 1cm de diâmetro, sobre um suporte de papel ofício. Os círculos foram totalmente preenchidos (pintados) com a tinta a ser analisada em triplicata. Deste modo, formaram-se sete círculos (**Figura 4.18**) assim discriminados, referentes às tintas a serem analisadas:

- Círculo preenchido com caneta compactor preta;
- Círculo preenchido com caneta compactor azul;
- Círculo preenchido com caneta compactor vermelha;
- Círculo preenchido com caneta Bic preta;
- Círculo preenchido com caneta Bic azul;
- Círculo preenchido com caneta Bic vermelha;
- Círculo preenchido com caneta Bic verde.

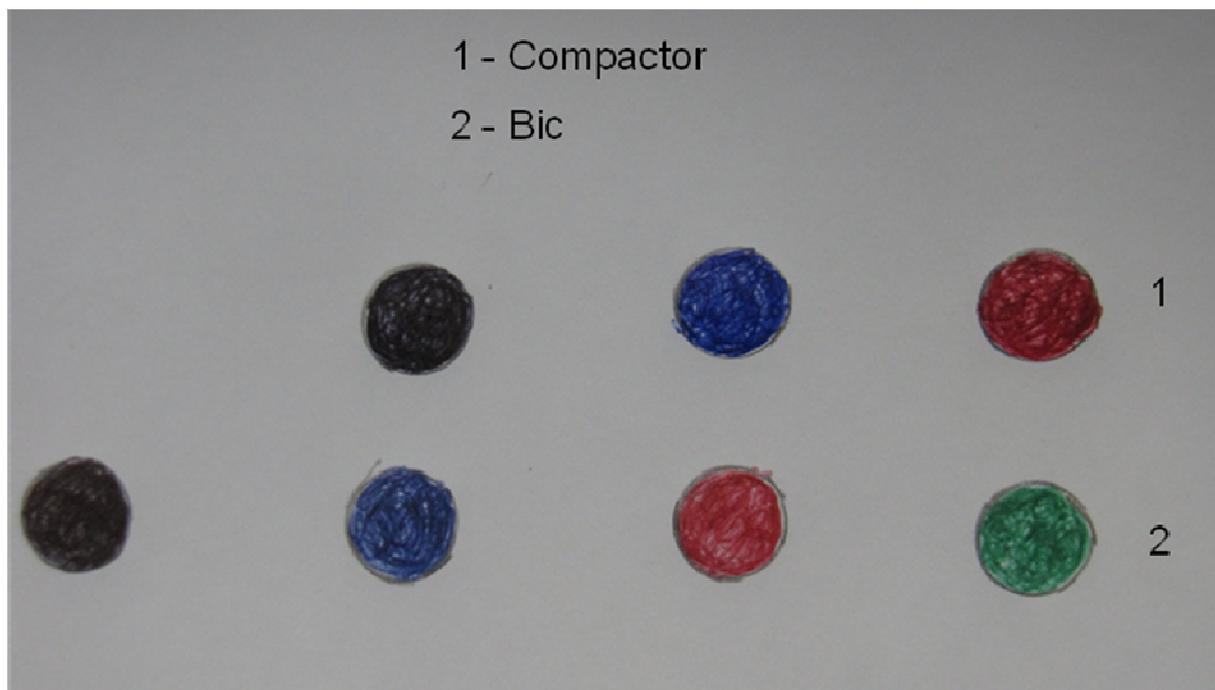


Figura 4.18 - Círculos confeccionados para as análises de tinta. Sequência superior, caneta compactor e sequência inferior, caneta Bic

Cada círculo foi recortado e a seguir afixado com fita adesiva à superfície de uma placa de vidro, para que pudessem ser feitas as análises por EASI-MS. A pressão de nitrogênio – gás nebulizador - foi de 100 psi e os ângulos e distâncias foram fixados em função da intensidade da corrente total de íons (TIC – total ion current) registrados pelo espectrômetro de massas.

Foram preparados 10 mL das seguintes soluções:

- Etanol/água MiliQ (na proporção % 50/50 v/v);
- Metanol/ água MiliQ (na proporção % 50/50 v/v);
- Metanol/água MiliQ (na proporção % 80/20 v/v);
- Metanol/água MiliQ (na proporção % 20/80 v/v);
- Acetona/água MiliQ (na proporção% 70/30 v/v);
- Acetonitrila/água MiliQ (na proporção % 80/20 v/v);
- Acetonitrila/água MiliQ (na proporção % 50/50 v/v);
- Acetonitrila/água MiliQ (na proporção % 20/80 v/v).

4.2.2 Resultados

Primeiramente foram obtidos os espectros de massas (EASI-MS) para as tintas de caneta BIC utilizando-se as soluções de solventes descritas anteriormente. A **Figura 4.19** mostra o gráfico das intensidades absolutas, em unidades arbitrárias, dos íons selecionados para cada cor de tinta em função do tipo de solvente utilizado. Para a tinta azul foi escolhido o íon de m/z 268, para a tinta preta o íon de m/z 372, para a tinta vermelha o íon de m/z 443 e para a tinta verde o íon de m/z 571 ^[40].

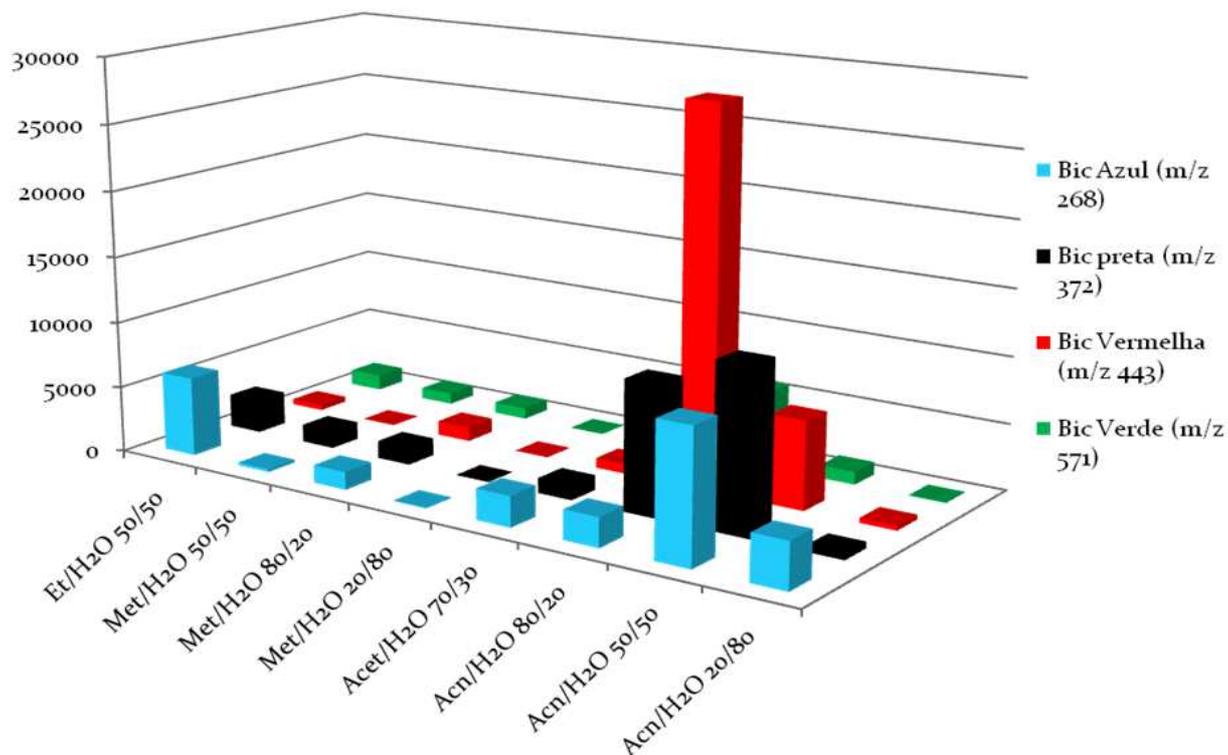


Figura 4.19 - Gráfico das intensidades absolutas dos íons característicos de cada tinta em função do tipo de solvente utilizado.

O estudo com vários solventes, na ionização por EASI-MS, foi feito com o intuito de saber se o tipo de solvente era um fator significativo na análise das tintas de caneta, tal suspeita surgiu durante a revisão bibliográfica, quando tomamos conhecimento do trabalho de Abraham Badu-Tawiah^[39] que estudou o efeito dos solventes na ionização por DESI-MS de várias substâncias diferentes.

Pela análise do gráfico da **Figura 4.19** pode-se perceber que, para os íons selecionados, as misturas contendo acetonitrila/água foram as que obtiveram melhor resultado, em termos de intensidade absoluta. A mistura acetonitrila/água 80/20 v/v, foi a que apresentou melhor resultado para as tintas vermelha e verde.

No entanto, a solução escolhida para o restante de nossas análises foi a que apresentou os melhores resultados para as tintas preta e azul (mistura acetonitrila/água 50/50 v/v). Tal escolha deve-se ao fato de que, em uma futura aplicação forense, como

uma fraude em um documento provocada por superposição de tintas, dificilmente seria analisada uma tinta de cor vermelha ou verde.

A **Figura 4.20** mostra os espectros de massas completos (*full scan*) da tinta de caneta Bic de cor azul para cada uma das misturas de solventes testadas. A mistura de solventes acetonitrila/água 50/50 v/v, é a que apresenta maior relação sinal ruído para o íon de m/z 268. Este fato corrobora com a escolha de tal mistura para as análises seguintes.

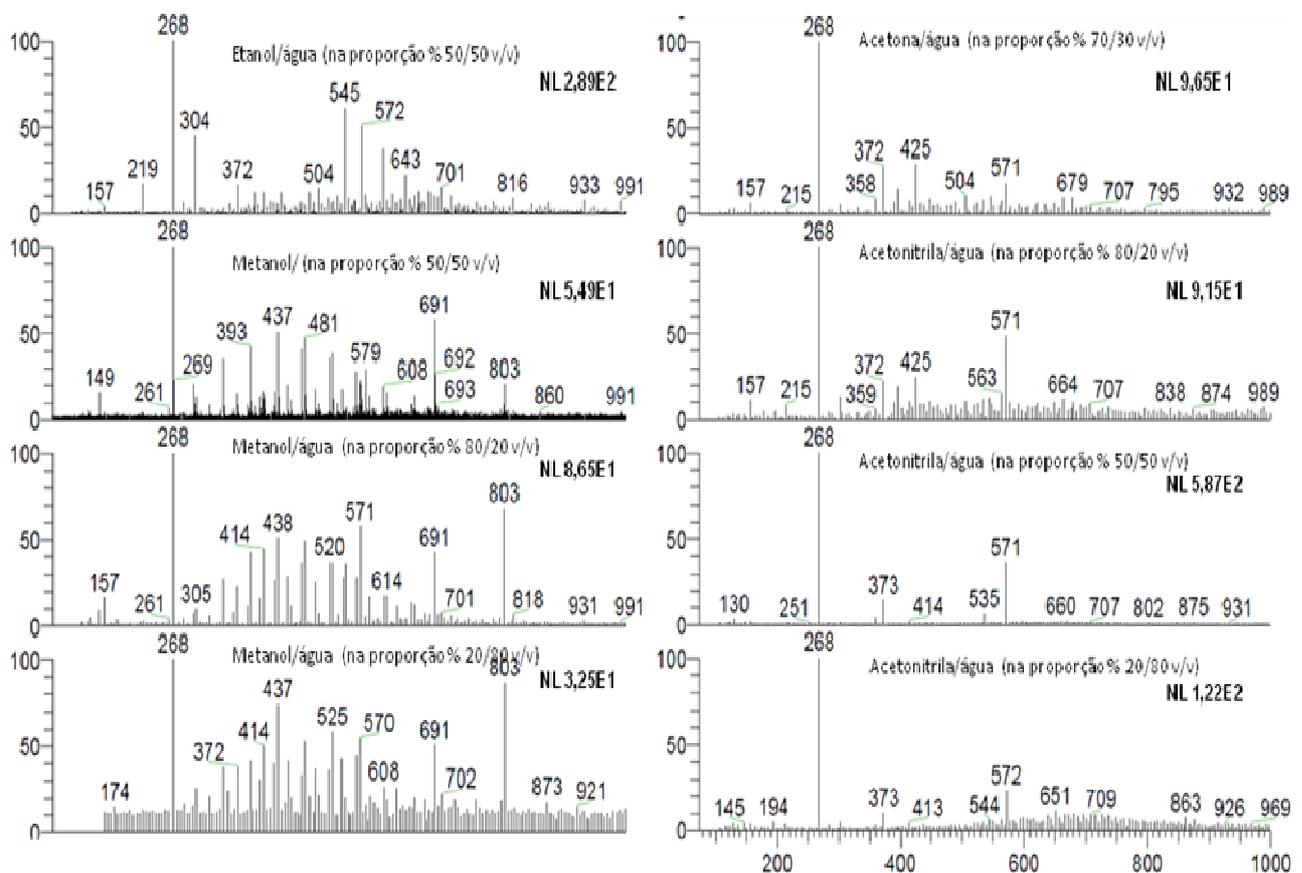


Figura 4.20 - Espectros de massas (EASI-MS) da tinta de caneta azul Bic (m/z 268) com cada um dos solventes utilizados nos estudos.

Para verificar se o íon analisado faz mesmo parte da composição da tinta e não do papel usado como suporte, foram feitas análises do papel (em branco) para cada

um dos solventes avaliados anteriormente. O espectro de massas do papel, ionizado com o solvente escolhido para a análise das tintas (mistura acetona/água 50/50 v/v), é o representado pela letra **G**, na **Figura 4.21** e apresenta o íon m/z 413 com a maior intensidade relativa. Comparando o espectro de massas da **Figura 4.21 G** com os espectros de massas da **Figura 4.20**, percebemos que o papel não causa interferência na análise das tintas Bic de cor azul. Resultados semelhantes foram encontrados para as outras marcas e cores de tinta de caneta.

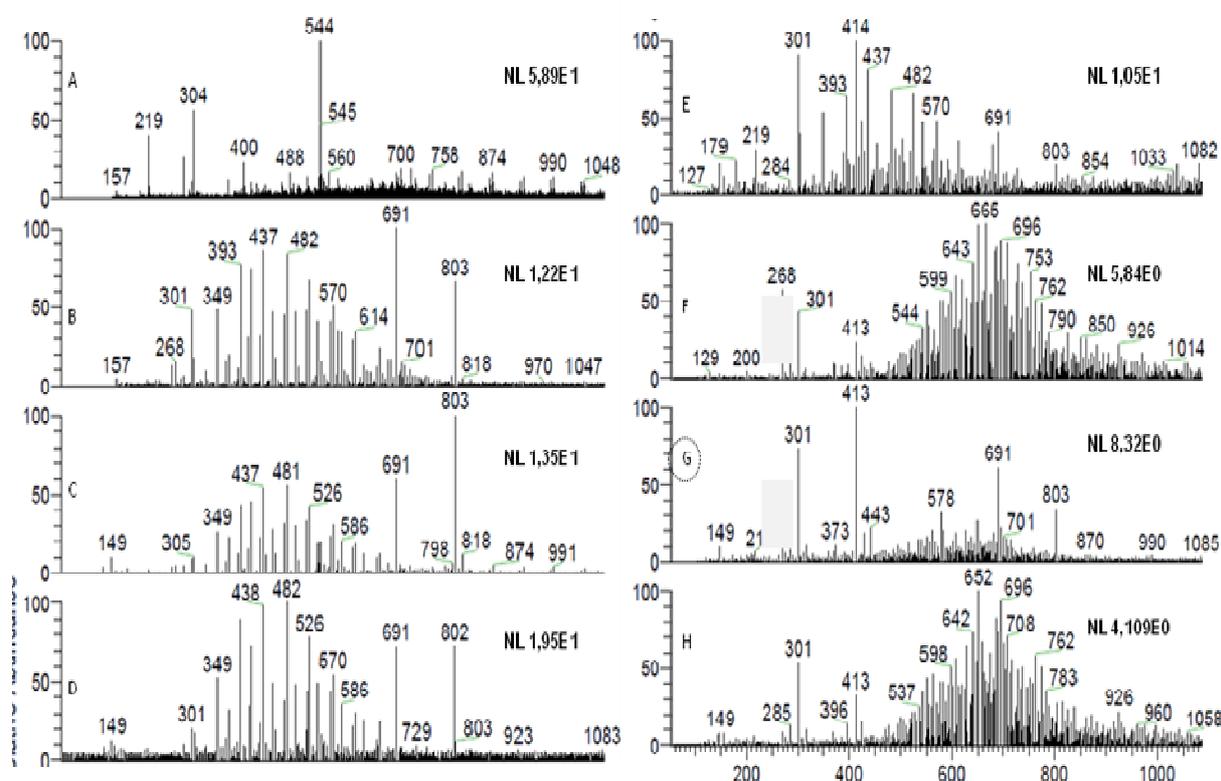


Figura 4.21 - Espectros de massas (*full scan*) para o papel utilizado como suporte (A) Etanol/água, (B) metanol/água (% 50/50), (C) metanol/água (% 80/20), (D) metanol/água (% 20/80), (E) Acetona/água (% 70/30), (F) acetona/água (% 80/20), (G) acetona/água (50/50) e (H) acetona/água (% 80/20).

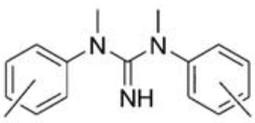
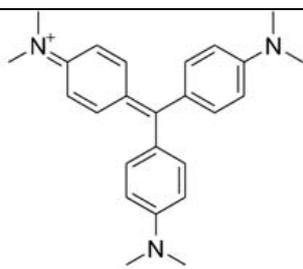
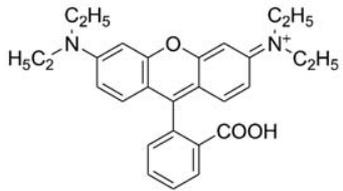
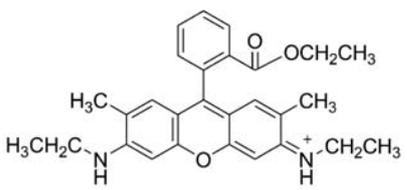
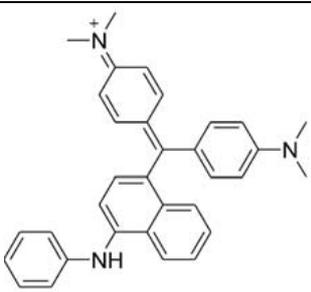
A **tabela 1** contem as fórmulas estruturais, os nomes e o m/z esperados para cada um dos componentes presentes em tintas de canetas esferográficas selecionados na revisão bibliográfica prévia [40-42].

Neste trabalho não foram priorizadas as análises de tinta de caneta da cor verde, uma vez que tal análise foi realizada apenas em uma marca e os resultados, para esta cor, não ficaram bons para a mistura de solventes utilizada, além do fato de a tinta ser muito pouco utilizada em documentos oficiais.

Após a tabela, são exibidos os espectros de massas (EASI-MS) de cada cor de tinta das duas marcas de canetas utilizadas neste estudo, com exceção da cor verde.

Para cada tinta de caneta utilizada os íons de m/z mais intensos foram selecionados e em seguida dissociados a fim de podermos confirmar a identidade da substância que foi ionizada.

Tabela 1 - Fórmulas estruturais, nome e *m/z* esperado para os componentes de tintas de canetas selecionados para o estudo.

Fórmula Estrutural	Nome	<i>m/z</i> esperado
	1,3-dimetil-1,3- ditoluilguanidina	268
	Violeta Básico 3	372
	Violeta Básico 10 (Rodamina B)	443
	Vermelho Básico 1 (Rodamina 6G)	443
	Azul Básico 26 (Azul Victória)	470

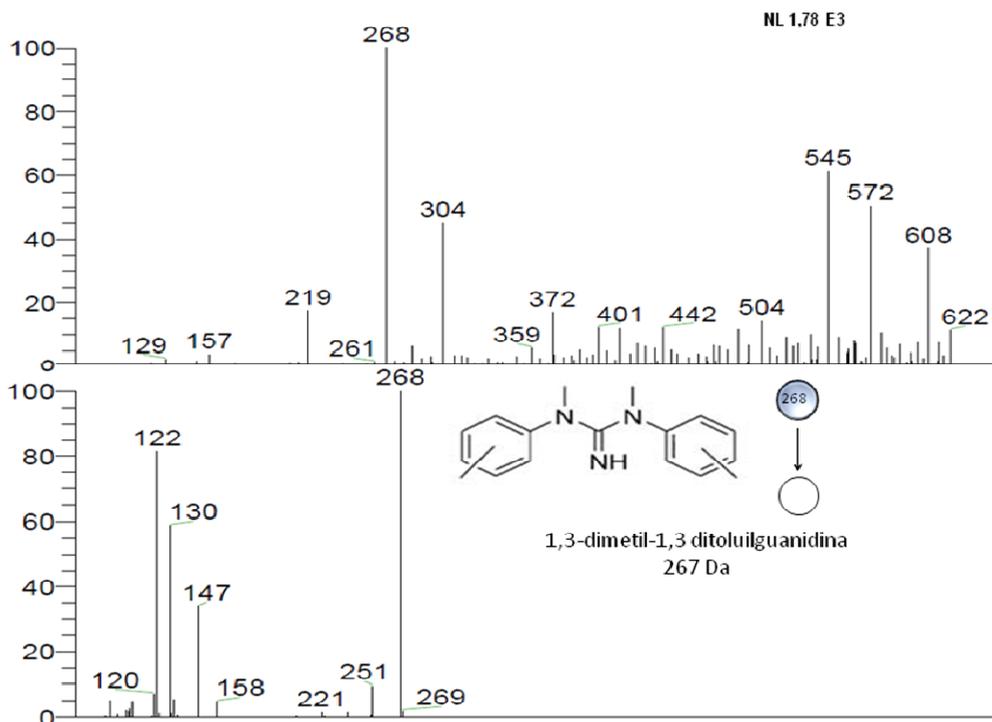


Figura 4.22 - Espectro de massas (EASI-MS) para a tinta azul BIC: superior - full scan e inferior - MS^2 para o íon de m/z 268.

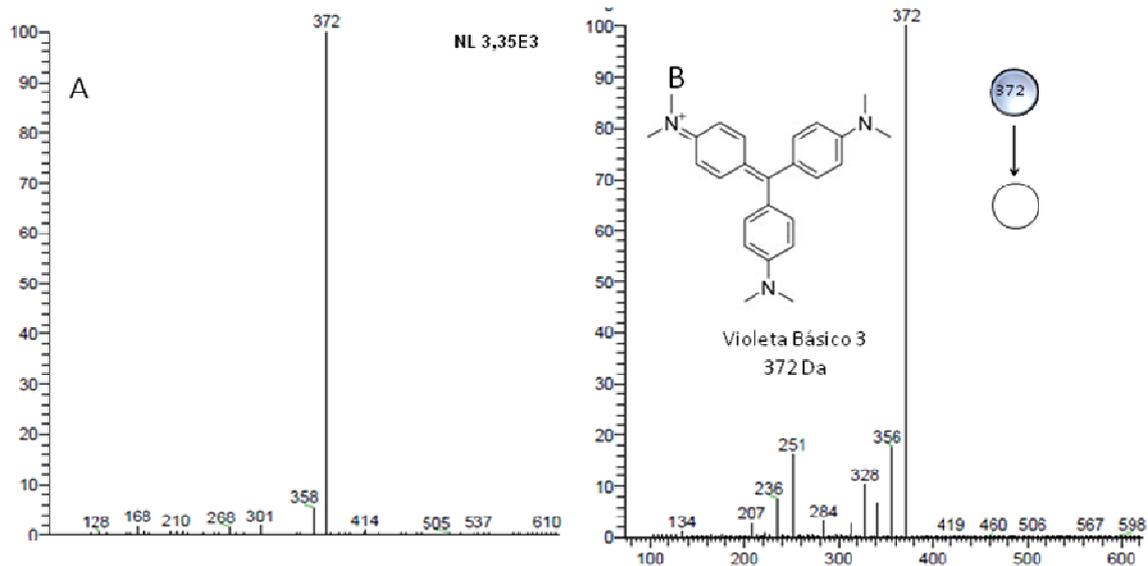


Figura 4.23 - Espectro de massas (EASI-MS) para a tinta preta BIC: Esquerda - full scan e Direita - MS^2 para o íon de m/z 372.

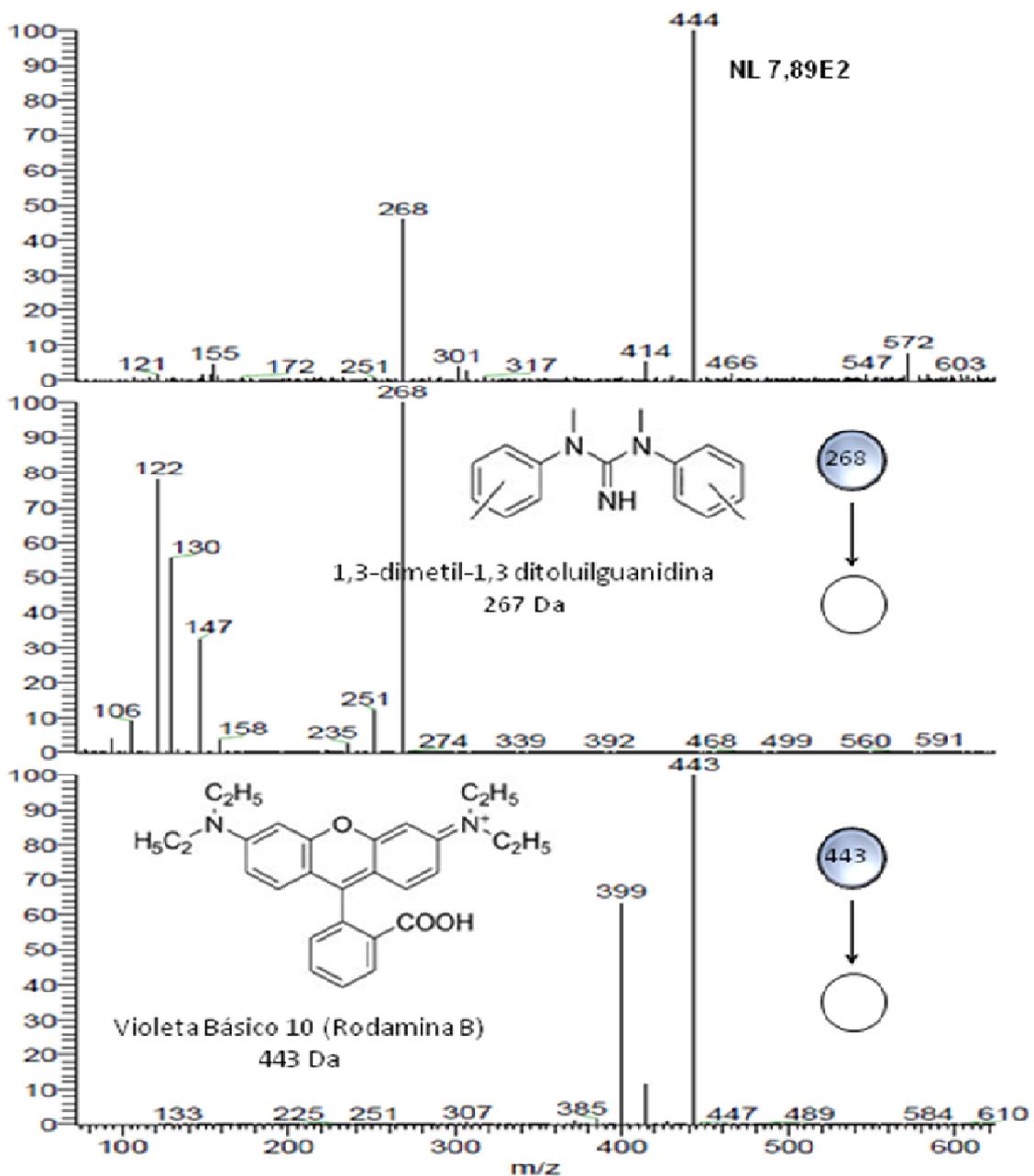


Figura 4.24 - Espectro de massas (EASI-MS) para a tinta vermelha BIC: Superior – full scan, Intermediário - MS² para o íon de m/z 268 e Inferior - MS² para o íon de m/z 443.

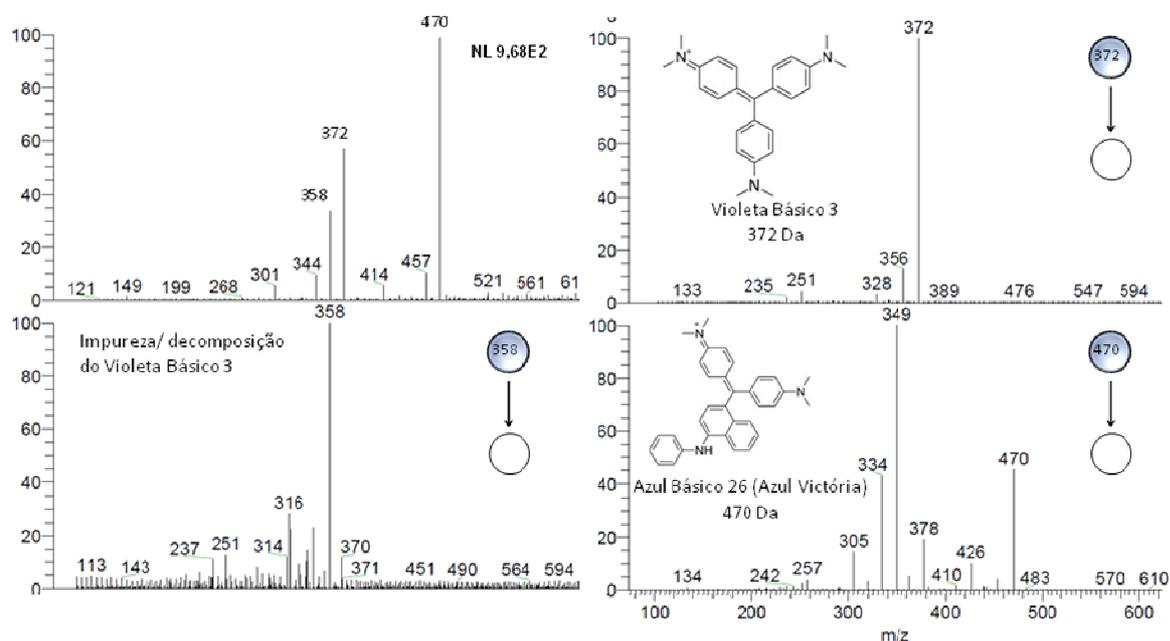


Figura 4.25 - Espectro de massas (EASI-MS) para a tinta azul Compactor: Superior esquerda – full scan, Inferior esquerda - MS² para o íon de m/z 358, Superior direita - MS² para o íon de m/z 372 e Inferior direita - MS² para o íon de m/z 470.

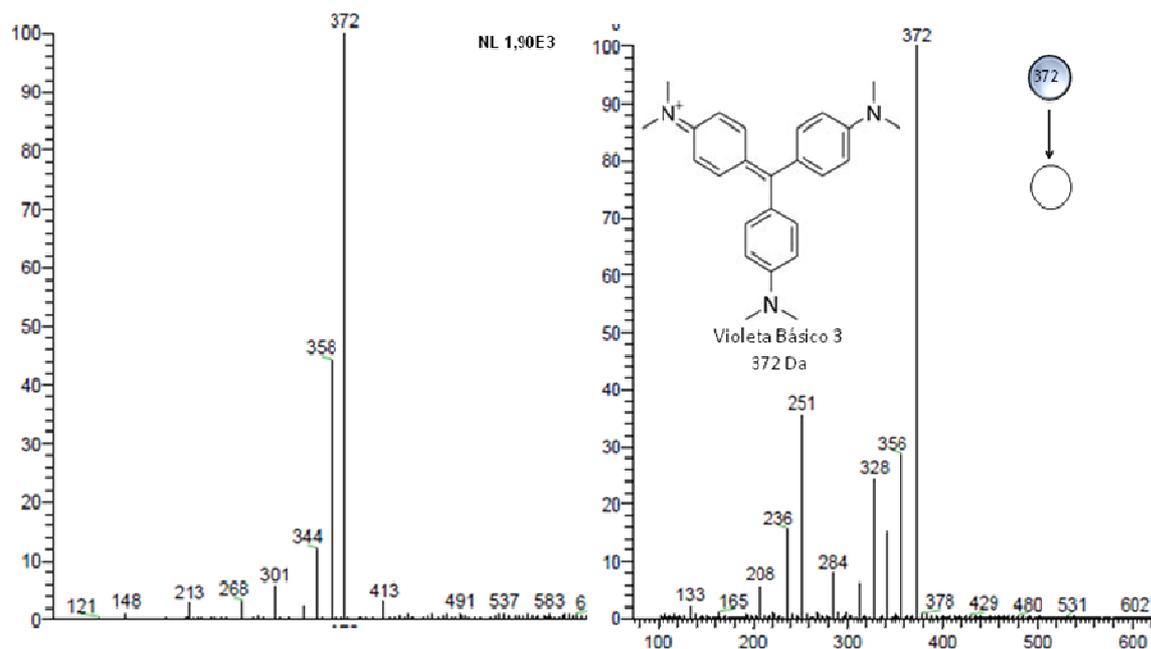


Figura 4.26- Espectro de massas (EASI-MS) para a tinta preta Compactor: Esquerda – full scan e Direita - MS² para os íons de m/z 372.

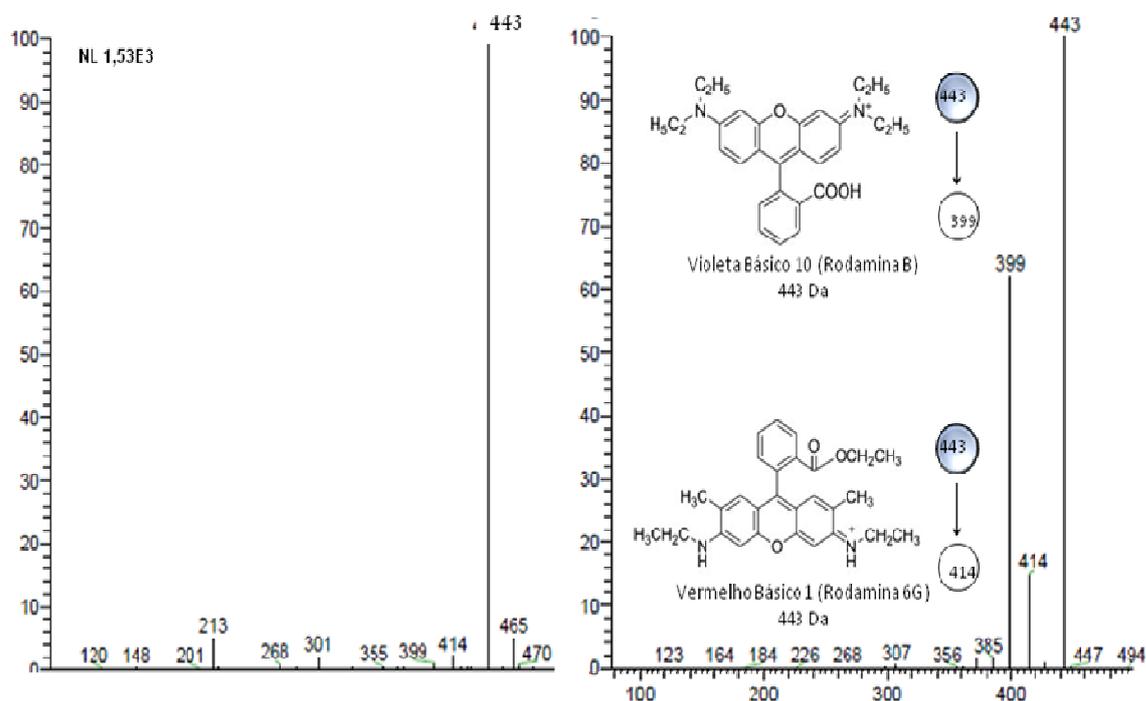


Figura 4.27 - Espectro de massas (EASI-MS) para a tinta vermelha Compactor: Esquerda – full scan e Direita - MS² para os íons de m/z 443.

Para a caneta de cor vermelha das marcas estudadas um fato interessante foi notado. Ambas as canetas apresentaram o íon de m/z igual a 443 que é o íon característico para os corantes Rodamina B e Rodamina 6G. A diferenciação entre estes corantes só pode ser feita após a dissociação induzida por colisão. A Rodamina B tem como fragmento principal o íon de m/z 399 e a Rodamina 6G o íon de m/z 414^[40-42]. O espectro de massas completo para a caneta vermelha da marca compactor e o espectro **CID** para o íon m/z 443 são mostrados na **Figura 4.27**. O espectro de massas após a seleção e fragmentação do íon de m/z 443 apresenta os íons de m/z 399 e 414, evidenciando que a cor vermelha da caneta compactor é devida à presença de uma mistura dos corantes Rodamina B e Rodamina 6G. O mesmo foi observado para o íon de m/z 443 da tinta vermelha da caneta da marca BIC.

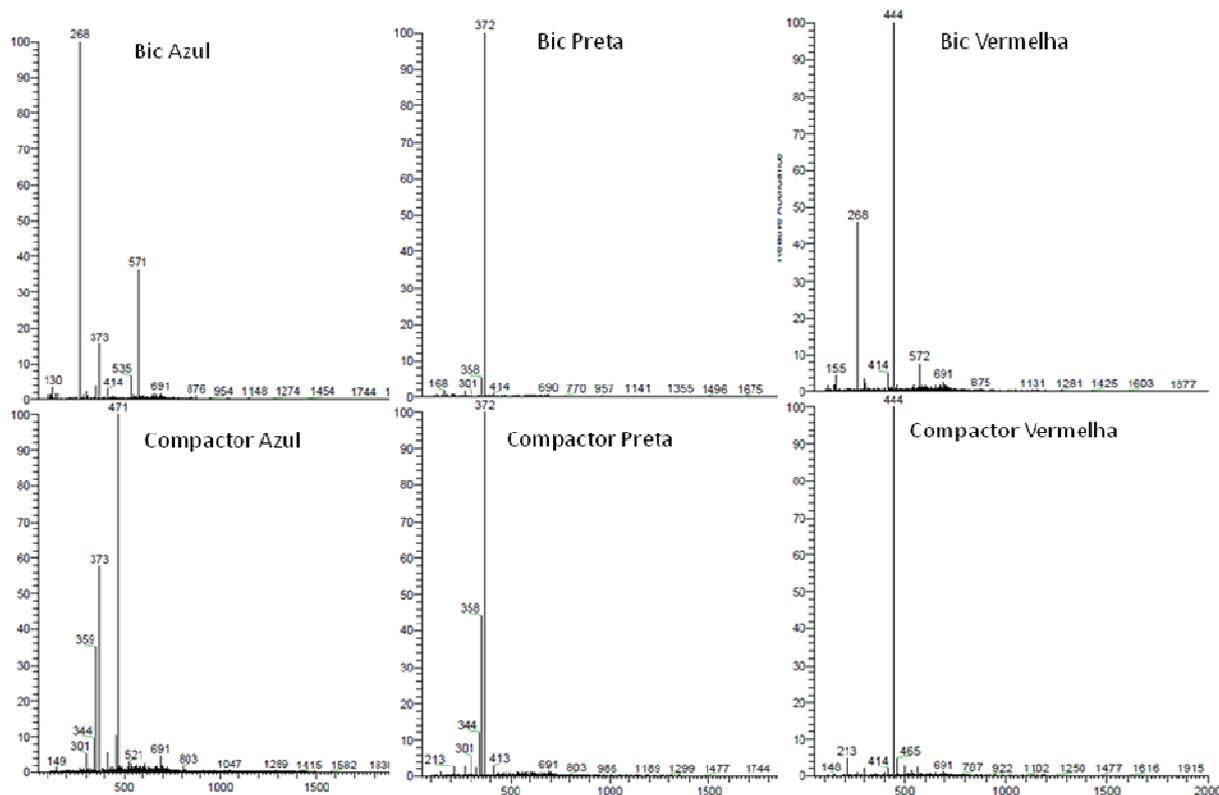


Figura 4.28 - Espectro de massas(EASI-MS) de todas as tintas analisadas. Superior - canetas BIC e Inferior - canetas Compactor.

Ao dispor os espectros de massas de cada tinta lado a lado, como na **Figura 4.28**, percebe-se melhor a diferença de perfil (fingerprint) que existe entre elas, sendo possível distinguir visualmente os espectros de massas de cores diferentes e também é possível perceber as diferenças entre os espectros de massas das mesmas cores, mas de marcas diferentes. Deste modo, pode-se facilmente diferenciar uma tinta de outra, estando estas depositadas sobre o papel em lugares distintos.

Na **Figura 4.28**, percebe-se que a cor azul da Bic e compactor tem corantes diferentes (íons de m/z diferentes). A cor preta deve-se ao mesmo corante, porém a caneta da marca Bic apresenta um corante mais puro que a caneta compactor (a presença do íon m/z 358, geralmente está associado a contaminantes de corantes azo ou oxidações da tinta referentes ao tempo de escrita^[40]). A cor vermelha está associada a uma mistura de corantes diferentes: 1,3-dimetil-1,3-ditoluilguanidina (m/z

268), violeta básico 10 e vermelho básico 1 (m/z 443) na caneta da marca BIC e violeta básico 10 e vermelho básico 1 na caneta da marca Compactor, que não apresenta o íon de m/z 268.

No entanto, um estudo mais detalhado deve ser realizado sobre o comportamento dos espectros de massas (EASI-MS), quando se tem uma sobreposição de tintas como, por exemplo, no caso de uma adulteração de valor em um documento além de uma ampliação no número de marcas de canetas esferográficas avaliadas. Tal avaliação deverá ser realizada a fim de podermos propor esta técnica como mais uma ferramenta a disposição dos peritos em documentoscopia na análise de fraudes.

4.3 ANÁLISE DE GRÂNULOS CONTENDO INSETICIDAS CARBAMATOS

Nesta etapa do trabalho, utilizamos a fonte EASI-MS na análise de grânulos suspeitos de conter inseticidas da classe dos carbamatos. O principal objetivo era a detecção dos inseticidas carbofuran e aldicarb, frequentemente relacionados a casos de acidentes, homicídios ou tentativas, além de casos de auto-extermínio (suicídio).

Para a análise, grânulos, cujos componentes já haviam sido detectados por HPLC-UV ^[21], e foram fixados, com a ajuda de fita adesiva, em uma placa de vidro. A seguir os grânulos foram bombardeados com o *spray* constituído pelo gás nitrogênio (100 psi) e da mistura de acetonitrila/água 50% v/v num fluxo de 15 μ L por minuto. Os parâmetros como ângulos e distâncias, característicos da técnica EASI-MS (**Figura 1.4**) e já descritos anteriormente em outras aplicações, foram otimizados em função do máximo valor de NL , ou seja, foram otimizados visando a maior quantidade possível de íons entrando no detector do espectrômetro de massas.

Foram testadas as misturas de solventes acetonitrila/água 50% v/v e metanol/água 50% v/v e metanol/água 50% + 0,1% de ácido fórmico. Os melhores resultados foram obtidos pela mistura acetonitrila/água.

A **Figura 4.29** mostra o espectro de massas para o aldicarb. O íon $[M+Na]^+$ de m/z 213 é o que caracteriza a presença do aldicarb no grânulo. A formação do aduto com sódio, ao invés de hidrogênio, é relativamente comum na ionização ESI, quando se tem um composto rico em oxigênio como é o caso do aldicarb.

A **Figura 4.30** mostra o espectro de massas para o carbofuran. Neste espectro de massas temos a presença dos íons $[M+Na]^+$ de m/z 244 e do íon $[M+H]^+$ de m/z 222. A fragmentação tanto do íon m/z 244 quanto do m/z 222 fornece o íon m/z 165 com a maior intensidade relativa.

Estes resultados indicam que a técnica de EASI-MS pode ser utilizada na detecção de tais inseticidas nos grânulos apreendidos pela Polícia Civil de Minas Gerais.

Novos experimentos devem ser realizados, principalmente para se testar os limites de detecção e a sensibilidade da técnica quando se tem a mistura das substâncias e quando os grânulos são adicionados a outras matrizes, como alimentos.

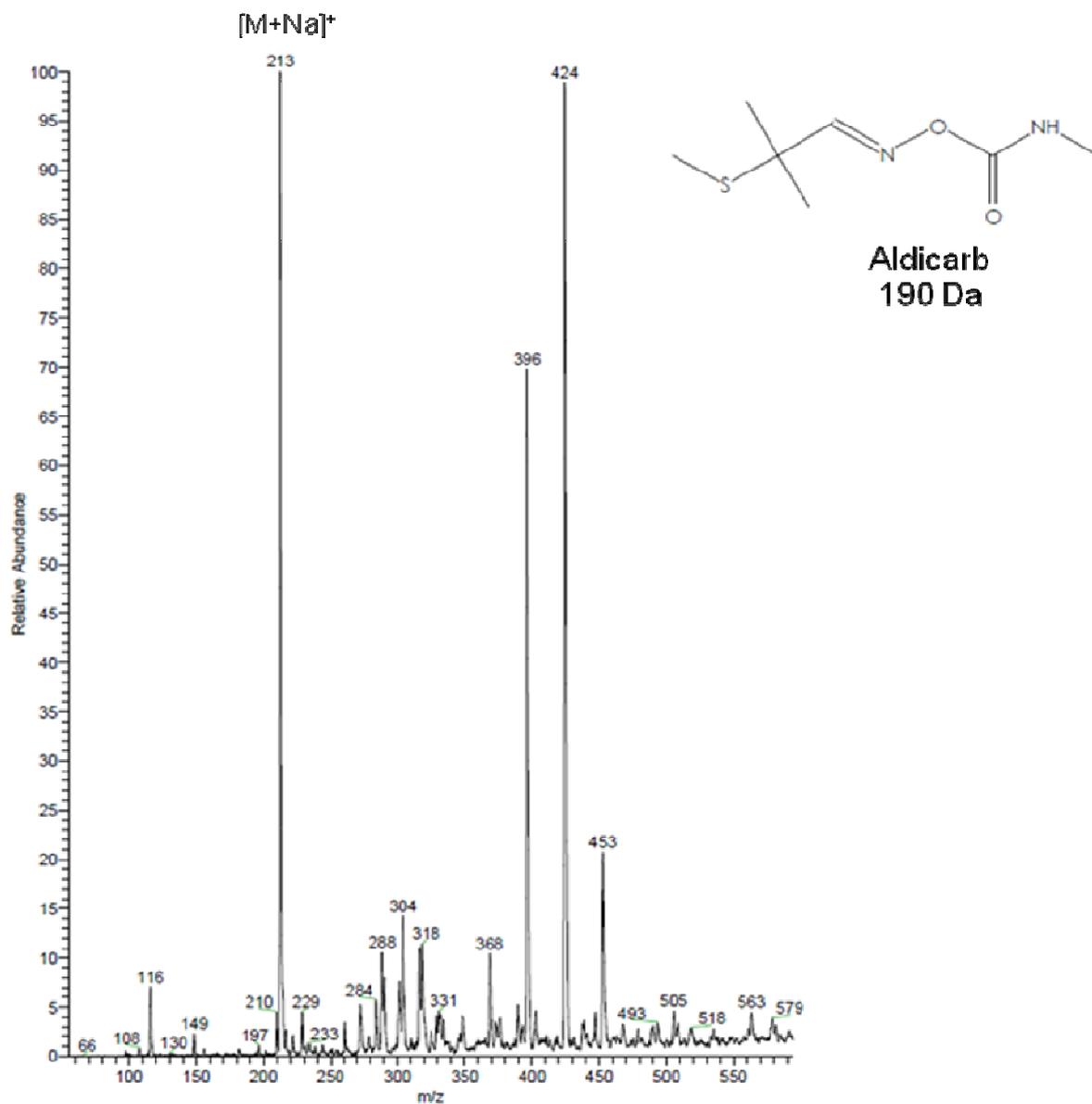


Figura 4.29 - Espectro de massas (EASI-MS) do aldicarb.

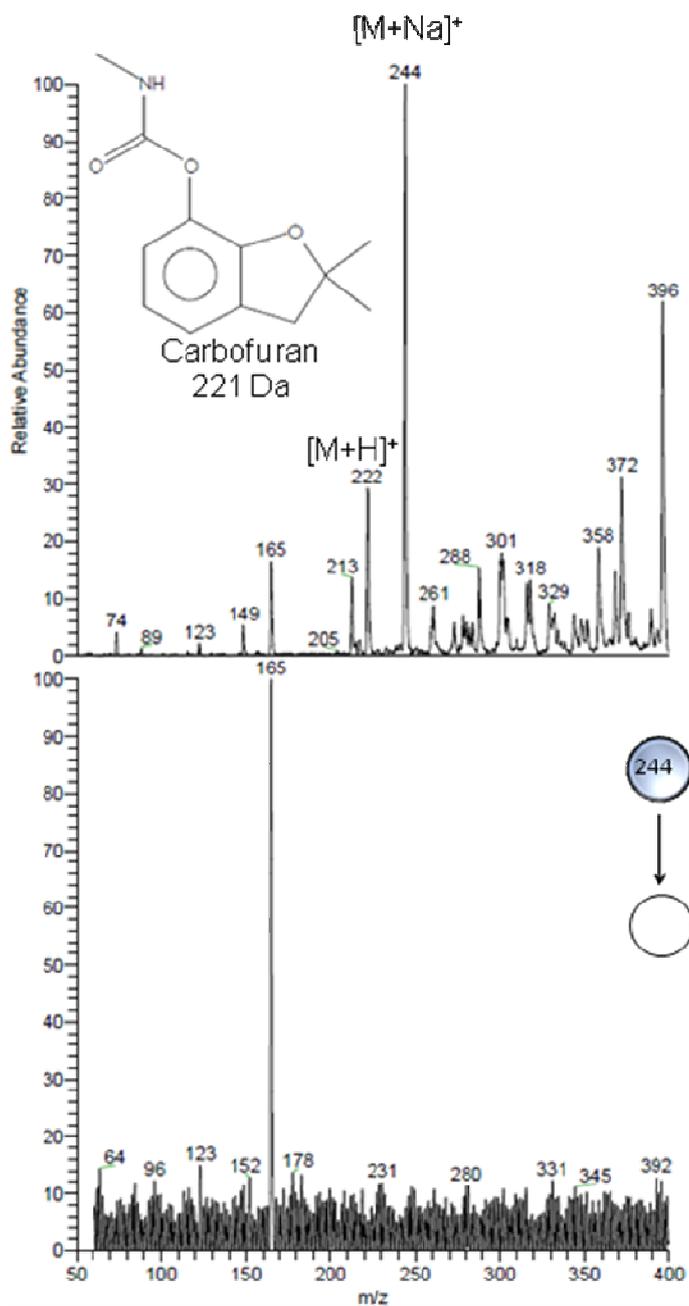


Figura 4.30 - Espectro de massas (EASI-MS) do Carbofuran: Superior – full scan e Inferior - MS^2 para o íon de m/z 244.

5. CONCLUSÕES

5.1 CONCLUSÕES ESPECÍFICAS

A análise de drogas de abuso e de inseticidas carbamatos mostrou-se eficiente e novos estudos a fim de se estabelecer limites de detecção, e o comportamento dos espectros de massas gerados pela técnica frente a misturas de várias substâncias deve ser o próximo passo a fim de tornar a técnica disponível para análises da rotina de laboratórios forenses.

A análise de tintas de caneta precisa ser melhor trabalhada. É necessário o estudo de identificação por sobreposição e de envelhecimento (tempo de escrita), bem como a avaliação de uma gama maior de marcas disponíveis no mercado para, a partir daí, tentarmos alguma aplicação forense. Mas o fato da fonte “artesanal” já permitir uma análise do perfil das tintas testadas é um avanço, pois, em nosso estado, a Polícia Civil, ainda não dispõe de nenhum outro recurso para este tipo de análise.

5.2 CONCLUSÕES GERAIS

A fonte de ionização desenvolvida em nosso trabalho, apesar de configuração ainda, bastante simplificada, mostrou-se eficiente na análise qualitativa das amostras na qual foi testada.

Acreditamos que a próxima etapa do desenvolvimento da fonte seja a melhora do seu design, permitindo ajustes mais precisos nas distâncias e ângulos que são fundamentais para o bom desempenho da técnica de ionização, permitindo assim análises com melhor repetitividade.

Outro fator que também consideramos importante para um futuro próximo é o acoplamento de uma fonte de alta tensão, transformando a fonte EASI-MS também em uma fonte DESI-MS podendo assim, compararmos os resultados obtidos pelas duas técnicas irmãs.

6. REFERÊNCIAS

- [1] Harris, D. C., **Análise Química Quantitativa**. Editora LTC, 6ª Edição, São Paulo, 2005
- [2] <<http://masspec.scripps.edu/index.php>> acessado em janeiro de 2011.
- [3] Thermo Fisher Scientific – **MS Software Xcalibur versão 2.1**, 2009.
- [4] Romão, W., **Novas aplicações da espectrometria de massas na química forense**, Tese apresentada para obtenção do Título de Doutor na UNICAMP, 2010.
- [5] Alberici, Rosana M.; Simas, Rosineide C.; Sanvido, Gustavo B.; Romão, W.; Lalli, P. M.; Benassi, M.; Cunha, I. B. S.; Eberlin, M. N. **Ambient mass spectrometry: bringing MS into the “real world”**. Anal Bioanal Chem, v. 398, p. 265, 2010.
- [6] Fenn, J. B.; Mann, M.; Meng, C.K.; Wong, S.F.; Whitehouse, C.M. **Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules**. Science, v. 246, p. 64, 1989.
- [7] Crotti, A. E. M.; Vessechi, R.; Lopes, J. L. C.; Lopes, N. P. **Espectrometria de massas com ionização por “electrospray”: Processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular**. Quím Nova, v. 29, p. 287, 2006.
- [8] Cole, R. B. **“Electrospray ionization mass spectrometry: fundamentals instrumentation and applications”**. John Wiley & Sons Ed., New York, 1997
- [9] Cooks, R. G.; Ouyang, Z.; Takats, Z.; Wiseman, J. M. **Ambient Mass Spectrometry**, Science, v. 311, p. 1566, 2006.
- [10] Ifa, D. R.; Jackson, A. U.;Paglia, G.; Cooks, R. G. **Forensic Applications of ambient ionization mass spectrometry**. Anal. Bioanal. Chem. V. 394, p. 1995, 2009
- [11] Hirabayashi, A.; Sakairi, M.; Koizumi, H. **Sonic Spray Ionization Method for Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry**. Anal Chem, v. 66, p. 4557, 1994.
- [12] Hirabayashi, A.; Sakairi, M.; Koizumi, H. **Sonic Spray Mass Spectrometry**. Anal Chem, v. 67, p. 2878, 1995.

- [13] Hirabayashi, A.; Hirabayashi, Y.; Sakairi, M.; Koizumi, H., **Multiply-charged Ion Formation by Sonic Spray**, Rapid Commun Mass Spectrom, v. 10, p. 1703, 1996.
- [14] Haddad, R.; Sparrapan, R.; Eberlin, M. N., **Desorption sonic spray ionization for (high) voltage-free ambient mass spectrometry**, Rapid Commun Mass Spectrom., v. 20, p. 2901, 2006.
- [15] Haddad, R.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T.; Eberlin, M. N. **Easy Ambient Sonic-Spray Ionization-Membrane Interface Mass Spectrometry for Direct Analysis of Solution Constituents**. Anal Chem, v. 80, p. 898, 2008.
- [16] O'Neal, C. L., Crouch, D. J., Fatah, A. A., **Validation of twelve chemical spot tests for the detection of drugs of abuse**. Forensic Science International, v. 109, p. 189, 2000.
- [17] Haddad, R.; Catharino, R. R.; Marques, L. A.; Eberlin, M. N. **Perfume fingerprinting by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry: nearly instantaneous typification and counterfeit detection**. Rapid Commun Mass Spectrom, v. 22, p. 3662, 2008.
- [18] Saraiva, A. S.; Abdelnur, P. V.; Catharino, R. R.; Nunes, G.; Eberlin, M. N. **Fabric softeners: nearly instantaneous characterization and quality control of cationic surfactants by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry**. Rapid Commun Mass Spectrom, v. 23, p. 357, 2009.
- [19] Alberici, R. M.; Simas, R. C.; de Souza, V.; de Sá, G. F.; Daroda, R. J.; Eberlin, M. N. **Analysis of fuels via easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry**. Anal Chim Acta, v. 659, p. 15, 2010.
- [20] ZARZUELA, J.L. Química Legal. **Tratado de perícias criminalísticas**. Editora Sagra-DC Luzzatto. p. 164. 1995.
- [21] Passagli, M.; **"Toxicologia Forense"**, 2a Ed, ed. Millennium, Campinas, 2009.
- [22] <<http://www.unodc.org/southerncone/pt/index.html>> **UNODC Cone Sul** – (acessado em janeiro 2011).
- [23] < http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/344_98.htm>, **Portaria nº 344**, Agência de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde do Brasil, 1998 (acessado em janeiro de 2011).
- [24] < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/l11343.htm>, **Lei 11.343** , República Federativa do Brasil, 2006 (acessado em janeiro de 2011).

- [25] < <http://www.planalto.gov.br/ccivil/decreto-lei/del3689.htm>> **Decreto-Lei 3.689, Código do Processo Penal**, República Federativa do Brasil, 1941 (acessado em janeiro de 2011).
- [26] **The NIST Mass Spectral Search Program – for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library** – version 2.0d - 2005
- [27] Dixon, S. J., Brereton, R. G., Carter, J. F., Sleeman, R., **Determination of cocaine contamination on banknotes using tandem mass spectrometry and pattern recognition**, *Analytica Chimica Acta*, v. 559, p.54, 2006.
- [28] < <http://pt.wikipedia.org/wiki/Anfetamina>> acessado em janeiro de 2011
- [29] Maldaner A.O., Souza D. L., Botelho E. D., Talhavini, M., **9,10-Dihidro-LSD: Uma nova substância encontrada em selos e micropontos**. 32a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2009
- [30] <<http://home.howstuffworks.com/pen.htm>>, Ausley, M. R., How ballpoint pens work – in, 2000 (acessado em janeiro de 2011)
- [31] Geiman, I., Leona, M., Lombardi, J. R., **.Application of Raman Spectroscopy and Surface-Enhanced Raman Scattering to the Analysis of Synthetic Dyes Found in Ballpoint Pen Inks** - *J Forensic Sci*, v. 54, No. 4, p. 947, 2009,
- [32] Palus, J. Z., Kunicki, M., **Application of the micro-FTIR spectroscopy, Raman spectroscopy and XRF method examination of inks**, *Forensic Science International*, v. 58, nº 2, p. 164 - 2006
- [33] Dirwono, W., Park, J. S., Camacho, M. R. A., Kim, J., Park, H. M., Lee, Y., Lee, K. B., **Application of micro-attenuated total reflectance FTIR spectroscopy in the forensic study of questioned documents involving red seal inks**, *Forensic Science International*, v. 199, nº 1, p. 6 - 2010
- [34] Lalli, P. M., Sanvido, G. B., Garcia, J. S., Haddad, R., Cosso, R. G., Maia, D. R. J., Zacca, J. J., Maldaner, A. O., Eberlin, M. N., **Fingerprint and aging of ink by easy ambient sonic-spray ionization-mass spectrometry** – *Analyst*, v. 135, p. 745 – 2010
- [35] Mueller, C. A., Weinmann, W., Dresen, S., Schreiber, A., Gergov, M., **Development of multi-target screening analysis for 301 drugs using Qtrap liquid chromatography/tandem mass spectrometry system and automated library searching**, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, v. 19, p. 1332 - 2005

- [36] Sabino, B. D., Sodr , M. L., Alves, E. A., Rozenbaum, H. F., Alonso, F. O. M., Correa, D. N., Eberlin, M. N., Rom o, W., **Analysis of street ecstasy tablets by thin layer chromatography coupled to easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry**, Br. J. Anal. Chem. V 2. , p 6. , - 2010
- [37] Marinho P. A, Leite E. M. A. **Quantification of LSD in illicit samples by high performance liquid chromatography**. Braz J Pharm Scie (*submitted*).
- [38] Rom o W., Sabino, B. D., Bueno, M. I. M. S., Vaz, B. G., J nior, A. C., Maldaner, A. O., Castro, E. V. R., Lordeiro, R. A., Nascentes, C. C., Augusti, R., Eberlin, M. N., **LSD and 9,10-Dihydro-LSD Analyses in Street Drug Blotter Samples via Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry (EASI-MS)**, Journal of Forensic Sciences (*submitted*).
- [39] Badu-Tawiah, A., Bland C., Campbell, D. I., Cooks, R. G., **Non-Aqueous Spray Solvents and Solubility Effects in Desorption Electrospray Ionization**, J Am Soc Mass Spectrom v. 21, p. 572 - 2010
- [40] Lalli, P. M., Sanvido, G. B., Garcia, G. S., Haddad, R., Cosso, R. G., Maia, D. R. J., Zacca, J. J, Maldaner, A. O., Eberlin, M. N., **Fingerprinting and aging of ink by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry** - Analyst, v. 135, p.745 - 2010.
- [41] Ifa, D. R., Gumaelius, L. M., Eberlin, L. S., Manickea, N. E., Cooks, R. G., **Forensic analysis of inks by imaging desorption electrospray ionization (DESI) mass spectrometry**, Analyst, v.132, p. 461 – 2007.
- [42] Cole, R. B. **Electrospray ionization mass spectrometry: Fundamentals instrumentation and applications**. Jonh Wiley & Sons Ed., New York, 1997.