

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**BÁRBARA CRISTINA DIAS**

**DESENVOLVIMENTO DE UMA LÍNGUA OPTOELETRÔNICA UTILIZANDO  
DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS EM PAPEL PARA IDENTIFICAÇÃO DE  
BEBIDAS CONTAMINADAS COM DROGAS DE ABUSO**

**UBERLÂNDIA-MG**

**JULHO/2021**

BÁRBARA CRISTINA DIAS

**DESENVOLVIMENTO DE UMA LÍNGUA OPTOELETRÔNICA UTILIZANDO  
DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS EM PAPEL PARA IDENTIFICAÇÃO DE  
BEBIDAS CONTAMINADAS COM DROGAS DE ABUSO**

Dissertação de mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação do Instituto  
de Química da Universidade Federal de  
Uberlândia, como requisito para obtenção  
do título de Mestre em Química.

**Orientador:** Prof. Dr. João Flavio da Silveira Petrucci

**Área de Concentração:** Química Analítica

UBERLÂNDIA-MG

JULHO/2021

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

D541 2021	<p>Dias, Bárbara Cristina, 1996- Desenvolvimento de uma língua optoeletrônica utilizando dispositivos microfluídicos em papel para identificação de bebidas contaminadas com drogas de abuso [recurso eletrônico] / Bárbara Cristina Dias. - 2021.</p> <p>Orientador: João Flávio da Silveira Petrucí. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química. Modo de acesso: Internet. Disponível em: <a href="http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.378">http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.378</a> Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Química. I. Petrucí, João Flávio da Silveira, 1984- , (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Química. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 54</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química  
 Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 5I - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
 Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 325, PPGQUI				
Data:	Vinte e dois de julho de dois mil e vinte e um	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	16:40
Matrícula do Discente:	11922QMI002				
Nome do Discente:	Bárbara Cristina Dias				
Título do Trabalho:	Desenvolvimento de uma língua optoeletrônica utilizando dispositivos microfluídicos em papel para identificação de bebidas contaminadas com drogas de abuso				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Instrumentação Analítica e Preparo de Amostras				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Narizes optoeletrônicos				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Conferência Web, link <https://conferenciaweb.rnp.br/webconf/joao-flavio-da-silveira-petruci>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Maiara Oliveira Salles, da Universidade Federal do Rio de Janeiro; Regina Massako Takeuchi, da Universidade Federal de Uberlândia e João Flávio da Silveira Petruc, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. João Flávio da Silveira Petruc, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **João Flávio da Silveira Petruc, Professor(a) do Magistério Superior**, em 22/07/2021, às 16:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---

SEI Nº 2876173



Documento assinado eletronicamente por **Regina Massako Takeuchi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 22/07/2021, às 16:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maiara Oliveira Salles, Usuário Externo**, em 22/07/2021, às 16:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2876173** e o código CRC **5A2A0A8F**.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, por ter abençoado todos os dias da minha vida, por iluminar meu caminho, por ser meu refúgio e o motivo que me fez chegar até aqui.

Aos meus pais, Antônio Fernando e Elaine, que sempre acreditaram e me apoiaram e não mediram esforços para a concretização dos meus sonhos. Sem vocês, nada seria possível. Sou e serei eternamente grata por tudo que dedicaram e dedicam a mim. Eu tenho muito orgulho de ser filha de vocês e muita admiração pelos pais que tenho. Amo vocês incondicionalmente.

As minhas irmãs ciumentas e protetoras, Nathália e Fernanda, peças-chaves que representam equilíbrio e exemplo, serei sempre grata por me apoiarem em tudo nesta vida. Obrigada por terem me dado de presente minhas sobrinhas lindas, Cecília e Isabela, que amo incondicionalmente e que veio dar um novo colorido à minha vida.

As minhas tias, meus tios, meus avós, meus cunhados que vibraram comigo, desde a aprovação na prova e sempre fizeram “propaganda” positiva a meu respeito. Obrigada pela força, pela paciência e compreensão com minha ausência durante essa longa jornada.

A minha cachorra, Jujuba, por me dar tanto carinho e me acompanhar nos meus momentos de estudos, tantas vezes. Aos meus cachorros, Maya Cristina, Montila, Tequila, Feia, Nino, Zeca e Jack, agradeço os momentos de distração e companheirismo o que me faziam esquecer os problemas e entender como é simples ser feliz.

Ao meu orientador, João Flávio, por todo apoio, pelas palavras de incentivo e por cada ensinamento. Obrigada pela confiança e por me atender sempre com paciência todas as vezes que estava com dúvida ou perda. Agradeço imensamente por me guiar nos primeiros passos da pós-graduação, não tenho palavras significativas para tamanha gratidão, obrigada por tudo.

As minhas amigas de sempre, Mellyna, Mirella, Cíntia e Joice, por só quererem o meu bem e por estarem sempre presentes mesmo na distância. Obrigada pelo

companheirismo, apoio e amizade incondicional. São pessoas como vocês que dão cor ao mundo, que dão brilho à vida.

A Taynara, amiga que fiz durante a graduação e embarcou comigo no sonho da pós-graduação. Obrigada por todo apoio ao longo desta caminhada. Dividimos o apartamento, os sonhos e as dificuldades juntas. Ter você por perto foi essencial para que conseguisse seguir em frente. Obrigada por tudo e por não ter me jogado da sacada do terceiro andar.

A Gabi, minha amiga desde a graduação, que tem um papel fundamental nessa minha caminhada. Agradeço por ter me acolhido como irmã e parte da sua família na minha graduação, sou e serei eternamente grata por tudo. Você é um exemplo de dedicação, empenho e solidariedade. Muito obrigada pela amizade, pelo apoio e incentivo. Agradeço também o carinho que sua mãe Adriana, seu pai Jose Eilson e sua irmã Júlia sempre tiveram comigo.

A minha amiga, Josi, pessoa iluminada e prova de que Deus coloca anjos em nosso caminho. Um grande exemplo de força e serenidade. Obrigada por toda ajuda durante a realização deste trabalho, você foi fundamental. A você, minha eterna gratidão e amizade incondicional.

A Poliana, amiga especial com quem tive a honra de conviver durante a graduação. Agradeço pela confiança, pelas viagens e pelos momentos inesquecíveis que passamos juntas. Mesmo na distância, nosso carinho e preocupação uma com a outra, não foi abalada.

Aos professores incentivadores e inspiradores durante minha jornada no IFTM, por todos os ensinamentos transmitidos e pela contribuição no meu processo de aprendizado. Embora o destino nos tenha traçado caminhos diferentes, ficaram as marcas de memórias inesquecíveis de pessoas e experiências incríveis.

Aos membros da banca examinadora, Prof<sup>a</sup> Regina, Prof<sup>a</sup> Mayara e Prof. Anízio, que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar com esta dissertação.

Aos amigos do Grisa, Diandra, Weida, Fernando, Vanderli, Gabriel, por todo momento compartilhado. Conviver com vocês ao longo desses dois anos foi

sensacional. Muito obrigada por toda forma de ajuda, pela companhia durante um café, pelas inúmeras conversas, risadas e saídas.

Aos professores do Instituto de Química - UFU pelos ensinamentos e pela enorme contribuição na minha formação.

A todos os funcionários do IQ-UFU, obrigada por toda paciência e prontidão.

Às demais pessoas que contribuíram direta ou indiretamente na elaboração deste trabalho ou participaram da minha vida, e que, por ventura, eu tenha me esquecido de agradecer.



“Seja quem você for, seja qualquer posição que você tenha na vida, nível altíssimo ou mais baixo, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

*Ayrton Senna*

## RESUMO

A escopolamina (SCP) é um alcaloide natural extraído de plantas da família *Solanaceae* e é amplamente utilizado para diversas aplicações, desde fins medicinais até atividades criminosas. Por exemplo, esse composto é adicionado a bebidas com intenção criminosa, numa prática conhecida popularmente como “Boa Noite, Cinderela”, causando efeitos sobre o sistema nervoso central do indivíduo. Testes colorimétricos são considerados uma ferramenta bastante útil para identificar substâncias suspeitas *on site* e se baseiam em reações químicas rápidas que resultam em mudanças visuais de cor. Eles são populares devido à sua simplicidade inerente, baixo custo e portabilidade, entretanto, em muitos casos, os resultados de tais testes podem não ser conclusivos, em parte por causa da interferência de espécies químicas semelhantes. A proposta da presente dissertação é o desenvolvimento de uma língua optoeletrônica utilizando dispositivo microfluídico em papel – denominada de  $\mu$ OPTO - composta por um arranjo de seis reagentes colorimétricos capazes de discriminar a escopolamina de alcaloides semelhantes e em bebidas alcoólicas. O método de impressão a cera foi empregado para fabricar o dispositivo com seis pontos circulares para acomodação dos reagentes conectados a um ponto centralizado para permitir reações simultâneas com uma única injeção de amostra. As mudanças de coloração relacionadas a cada reação foram usadas para construir mapas diferenciais com uma impressão digital única para cada substância química. A partir da diferença na intensidade de cor antes e após a interação com os compostos em análise, as ferramentas quimiométricas PCA (do inglês Principal Component Analysis, Análise de Componentes Principais) e HCA (do inglês Hierarchical Cluster Analysis, Análise de Agrupamentos Hierárquicos) foram utilizadas para discriminar os diferentes alcaloides e diferentes bebidas contaminadas com escopolamina. Os resultados mostraram que pequenas quantidades de escopolamina (na faixa de  $\mu$ g) foram identificadas em diferentes bebidas, comprovando que nosso dispositivo tem potencial para ser usado *on site* para identificar e prevenir a ingestão de amostras contaminadas.

**Palavras – chaves:** Boa Noite, Cinderela; Língua optoeletrônica microfluídica à base de papel; imagens digitais; colorimetria; ferramentas quimiométricas.

## ABSTRACT

Scopolamine (SCP) is a natural alkaloid extracted from *Solanaceae* family and is widely used for several applications, from clinical purposes to criminal activities. For instance, SCP is added to drinks with criminal intent, in a practice popularly known as “Good Night, Cinderella”, causing effects on the individual's central nervous system. Colorimetric tests are considered a very useful tool to identify suspicious substances *on site* and are based on rapid chemical reactions that result in visual color changes. Colorimetric tests are popular because of their inherent simplicity, low cost, and portability, however, in many cases, the results of such tests may not be conclusive, in part because of interference from similar chemical species. The purpose of this dissertation is the development of an optoelectronic tongue using a paper-based microfluidic device – so-called  $\mu$ OPTO - composed of six reagents instead of a single specific test, capable of discriminating scopolamine from similar alkaloids and different alcoholic beverages. The wax printing method was used to fabricate the device with six circular spots for accommodation of reagents connected to a centralized spot to allow simultaneous reactions with a single sample injection. The color changes related to each reaction were used to build differential maps with a unique fingerprint for each analyte. Based on this information (RGB values), the chemometric tools PCA (Principal Component Analysis) and HCA (Hierarchical Cluster Analysis) were used to discriminate among the samples and beverages spiked with scopolamine. The results showed that small amounts of the drug (i.e.  $\mu$ g) were identified in different beverages, proving that our device has the potential to be used *on site* to prevent the ingestion of contaminated samples.

**Keywords:** Good Night, Cinderella; microfluidic paper-based optoelectronic tongue; digital images; chemometric tools.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da escopolamina. ....	18
Figura 2 - Estrutura química do brometo de N-butilescopolamina (BNBE). ....	19
Figura 3 - Representação de um arranjo de sensores colorimétricos antes e após a exposição com o analito e o mapa diferencial resultante. ....	28
Figura 4 - Principais classes de indicadores. ....	28
Figura 5 - Cubo de cores RGB. Os pontos ao longo da diagonal representa a escala de cinza desde a coloração preta (0, 0, 0) na origem até a coloração branca (1, 1, 1). ....	30
Figura 6 - Exemplo do modelo RGB para coloração vermelha utilizando um software gráfico para manipulação da imagem (Inkscape). ....	31
Figura 7 - Representação esquemática das etapas básicas para a fabricação de $\mu$ PADs por impressão a cera. ....	33
Figura 8 - Layouts dos dispositivos dos modelos A e B. ....	46
Figura 9 - Etapas envolvidas no ensaio colorimétrico dos analitos estudados. ....	47
Figura 10 - Interface do software de obtenção dos valores de RGB. No centro (a) área selecionada em quadruplicada de uma imagem na região de interesse; (b) respectivos valores das componentes RGB da área selecionada. ....	48
Figura 11 - Etapas da detecção colorimétrica, onde se têm (A) o $\mu$ PAD antes e após a exposição do analito, (B) o scanner para digitalização da imagem, (C) o software utilizado para selecionar a região desejada e correlacionar a intensidade de cor com a intensidade da reação do respectivo corante e do analito, (D) tabela com os valores de RGB para cada amostra. ....	50
Figura 12 - Estruturas químicas dos alcaloides estudados. ....	53

Figura 13 - Otimização do volume necessário para preencher as zonas de detecção e central dos $\mu$ PADs. Em (A) tem-se o dispositivo informando a zona de reação e em (B) tem-se o $\mu$ PAD informando as zonas de detecção e central. ....	56
Figura 14 - Avaliação da evaporação do solvente após a impregnação dos reagentes colorimétricos. ....	57
Figura 15 - Avaliação do tempo de reação da escopolamina. ....	57
Figura 16 - Mapa diferencial para escopolamina e os alcaloides avaliados. ....	58
Figura 17 - Mapas diferenciais para cada alcalóide em diferentes quantidades. ....	60
Figura 18 – (a) Gráfico de scores das duas componentes principais (PCA) e (b) das três componentes principais indicando a separação dos alcaloides avaliados e suas respectivas quantidades. ....	62
Figura 19 - Dendrograma resultante da análise HCA referente aos padrões de alcaloides e suas respectivas concentrações. ....	64
Figura 20 - Gráficos de scores das componentes principais (PC1 e PC2) mostrando a separação bidimensional de diferentes quantidades de escopolamina. As duas dimensões mostradas captam 91% da variância total. ....	65
Figura 21 - Dendrograma HCA da resposta do arranjo de sensores colorimétricos a quantidades diferentes de escopolamina. ....	66
Figura 22 - Mapa diferencial de amostras contaminadas e não contaminadas com escopolamina utilizando o arranjo dos padrões. ....	67
Figura 23 - Mapa diferencial de amostras contaminadas e não contaminadas com escopolamina. ....	69
Figura 24 - Gráficos de scores das duas primeiras componentes principais mostrando a separação bidimensional de amostras contaminadas e não contaminadas. As duas dimensões mostradas captam 85,33% da variância total. ..	70
Figura 25 - Dendrograma HCA da resposta da $\mu$ OPTO a amostras de bebidas contaminadas e não contaminadas. ....	71

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de aplicações utilizando narizes e/ou línguas optoeletrônicas.	25
Tabela 2 - Descrição das soluções padrão. ....	40
Tabela 3 - Composição das amostras de bebida analisadas no presente trabalho. .	41
Tabela 4 - Reagentes disponíveis no laboratório. ....	42
Tabela 5 - Reagentes utilizados no presente trabalho e suas respectivas procedências. ....	44
Tabela 6 - Resumo dos testes preliminares com padrões de drogas alcaloides.....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS

BNBE	Brometo de N-butiliscopolamina
CSA	Arranjo de Sensores Colorimétricos
ED	Distância Euclidiana
HCA	Análise de Agrupamentos Hierárquicos, do inglês <i>Hierarchical Cluster Analysis</i>
PCA	Análise de Componentes Principais, do inglês <i>Principal Component Analysis</i>
RGB	do inglês <i>red, green and blue</i>
SCP	Escopolamina
SNC	Sistema Nervoso Central
SVD	Decomposição de valor singular
μPADs	Dispositivos microfluídicos de papel (do inglês microfluidic paperbased analytical devices)
μOPTO	Língua optoeletrônica microfluídica a base de papel (do inglês paperbased optoelectronic microfluidic tongue)

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>1.1. Escopolamina e seus derivados.....</b>	<b>18</b>
1.1.1. <i>Informações químicas e toxicológicas .....</i>	<i>18</i>
1.1.2. <i>Uso como droga de abuso.....</i>	<i>20</i>
1.1.3. <i>Métodos de determinação de SCP em bebidas e outras matrizes .....</i>	<i>22</i>
<b>1.2. Narizes e línguas optoeletrônicas (Arranjo de sensores colorimétricos) .....</b>	<b>23</b>
1.2.1. <i>Definição / princípio de funcionamento .....</i>	<i>23</i>
1.2.2. <i>Principais classes de reagentes.....</i>	<i>26</i>
1.2.3. <i>Sistema de cores RGB .....</i>	<i>29</i>
1.2.4. <i>Uso do papel e dispositivos microfluídicos em papel .....</i>	<i>32</i>
<b>1.3. Ferramentas Quimiométricas .....</b>	<b>34</b>
1.3.1. <i>PCA (Principal Component Analysis – Análise de Componentes Principais) ..</i>	<i>36</i>
1.3.2. <i>HCA (Hierarchical Cluster Analysis – Análise de Agrupamentos hierárquicos)</i>	<i>38</i>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>39</b>
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	39
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
<b>3.1 Soluções, reagentes e preparação da amostra .....</b>	<b>40</b>
3.1.1 <i>Preparo dos padrões e amostras de bebidas.....</i>	<i>40</i>
3.1.2 <i>Preparo dos reagentes colorimétricos .....</i>	<i>41</i>
<b>3.2 Instrumentação e materiais .....</b>	<b>45</b>
3.2.1 <i>Design e fabricação dos <math>\mu</math>PADs .....</i>	<i>45</i>



3.2.2	<i>Obtenção das imagens digitais e tratamento dos dados</i> .....	47
3.2.3	<i>Análise estatística</i> .....	50
4.	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	52
4.1	<b>Avaliação dos reagentes colorimétricos com diferentes propriedades químicas para identificação de escopolamina e outros compostos</b> .....	52
4.2	<b>Avaliação e otimização das condições operacionais do arranjo de sensores</b>	54
4.3	<b>Avaliação das respostas do arranjo de sensores para escopolamina e diferentes alcaloides</b> .....	58
4.4	<b>Discriminação de escopolamina e alcalóides usando ferramentas quimiométricas</b> .....	60
4.5	<b>Identificação <i>on site</i> de escopolamina em bebidas alcoólicas adulteradas</b> ...	66
5.	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	72
6.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	73

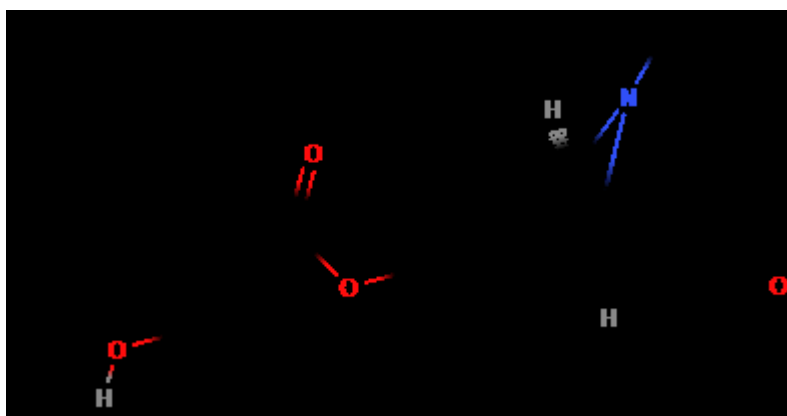
## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Escopolamina e seus derivados

#### 1.1.1. Informações químicas e toxicológicas

A escopolamina ( $C_{17}H_{21}NO_4$ , SCP), Figura 1, pertence à classe dos alcaloides tropânicos presente em diversas plantas da família *Solanaceae* (CHERKAOUI *et al.*, 1997; CHEN *et al.*, 2005; JAKABOVÁ *et al.*, 2012) e seu uso como princípio ativo de medicamentos possui uma ampla gama de aplicações clínicas resultantes de diferentes atividades farmacológicas devido às suas fortes ações parassimpáticas, anticolinérgicas e antieméticas (SÁIZ *et al.*, 2013).

**Figura 1** - Estrutura química da escopolamina.

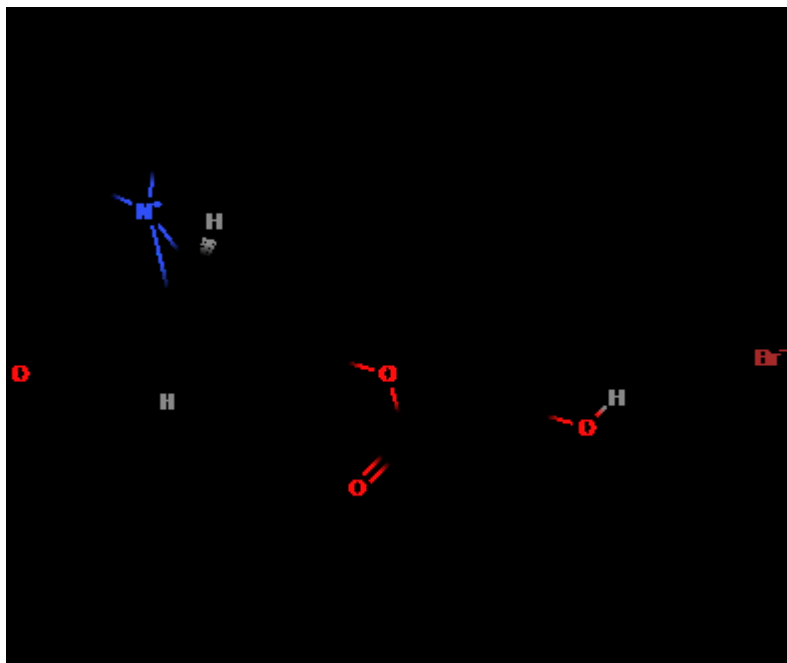


Devido à sua atividade anticolinérgica, este alcaloide tem um efeito inibidor sobre receptores muscarínicos e são estimulados pela acetilcolina no sistema nervoso central (SNC) em relação à memória. Além disso, sua utilização pode gerar uma dificuldade de discernimento e ao livre arbítrio e, por essa razão, é muito utilizada em roubos e agressões sexuais facilitadas por drogas (EBERT *et al.*, 1998; SÁIZ *et al.*, 2013).

Como agente anticolinérgico, a escopolamina é aprovada para uso na prevenção de náuseas e vômitos associados ao enjoo e possui propriedades farmacológicas semelhantes às da atropina, que é outro alcaloide tropânico extraído das plantas da família *Solanaceae*. A SCP é bem absorvida após administração oral, parenteral e/ou transdérmica. A droga é reversivelmente ligada às proteínas plasmáticas, é metabolizada pelo fígado e, posteriormente, excretada na urina (EBERT *et al.*, 1998).

O composto brometo de N-butilescopolamina (BNBE), também conhecido como brometo de n-butil-hioscina, Figura 2, (TYTGAT, 2007; SUENAGA *et al.*, 2017; GAMAL, 2020), é um derivado da escopolamina que possui um grupo quaternário de amônio substituindo o grupo funcional amina presente na escopolamina. Esse derivado exerce efeitos anticolinérgicos periféricos ao inibir os receptores muscarínicos de acetilcolina nas células musculares lisas, impedindo a sua contração, diminuindo a dor e desconforto gástrico (SARGIN, ULUER e AYDOĞAN, 2018). Por não cruzar a barreira hematoencefálica, essa ação anticolinérgica do BNBE se limita aos tecidos periféricos não produzindo efeitos colaterais sobre o sistema nervoso central (SNC) (SUEGANA *et al.*, 2017). O BNBE também se liga aos receptores nicotínicos, o que induz um efeito de bloqueio de gânglios (TYGAT, 2007; SUEGANA *et al.*, 2017). Além disso, o BNBE é comumente usado para fins analgésicos na cólica ureteral aguda, na dor do parto, interrupção da gravidez, dor abdominal e espasmos da vesícula biliar e outros órgãos que contêm fibras musculares lisas (SARGIN, ULUER e AYDOĞAN, 2018).

**Figura 2** - Estrutura química do brometo de N-butilescopolamina (BNBE).



O brometo de N-butilescopolamina é uma droga antiespasmódica mundial sob o nome comercial de Buscopan (TYTGAT, 2007). É um sal de cor esbranquiçada ou na forma de partículas finas quase cristalinas, altamente solúveis em água, diclorometano e álcool absoluto (GAMAL, 2020). Em 1951 na Alemanha foi seu

primeiro registro e em 1952 iniciou-se sua comercialização. Desde então, tornou-se disponível em todo o mundo tanto como um medicamento prescrito, como um medicamento sem prescrição em muitos países (TYTGAT, 2007). A substituição do grupo funcional amina pelo grupo quaternário de amônio altera a absorção desse composto e, conseqüentemente, a potencial toxicidade é diminuída. Apesar de possuir menor efeito tóxico do que a escopolamina, existem relatos da conversão entre essas duas moléculas por simples aquecimento. Casos reportados na literatura relatam overdose por escopolamina por presos após fumarem o medicamento que continha BNBE (JALALI, AFSHARI e BABAEI, 2014).

#### *1.1.2. Uso como droga de abuso*

Crime facilitado por drogas é o caso em que uma pessoa é vítima de um ato criminoso estando sob o efeito de álcool ou drogas. No Brasil, este ato é popularmente conhecido como golpe “Boa Noite, Cinderela”. As substâncias químicas mais utilizadas para este tipo de crime são: escopolamina, os subprodutos da dimetiltriptamina, cetamina, flunitrazepam, gama-hidroxibutírate (GHB) e alguns anti-histamínicos. Estas drogas podem incapacitar a vítima, prejudicando seu estado de consciência, impedindo-a de oferecer resistência e de reter memórias enquanto intoxicada. Esses efeitos começam a aparecer após 15 minutos do consumo, dando a vítima pouco tempo para pedir ajuda.

De acordo com Waleska Borges (2020), o “Boa noite, Cinderela” foi utilizado por ambulantes em blocos de Carnaval no Rio de Janeiro, Brasil. A vítima, que relatou o caso em uma rede social, teve os pertences roubados e os criminosos ainda fizeram uma dívida de mais de R\$2 mil com o seu cheque especial. A jovem relata que tenha sido drogada com uma substância conhecida como a “droga zumbi” e também como “burandanga”, e ambas se referem à escopolamina. Após o relato da jovem, muitas pessoas também testemunharam que caíram no mesmo golpe no mesmo local.

Waleska Borges (2020) menciona ainda a farmacêutica Carla Coura, diretora do Conselho Regional de Farmácia do Rio, a qual relata que a escopolamina quando associada ao álcool, anula a vontade e ao contrário dos benzodiazepínicos

(fármacos que produzem efeito ansiolítico), que são de uso controlado, a escopolamina pode ser encontrada em medicamentos para cólicas vendidos livremente em farmácias (por exemplo, o Buscopan). A diferença entre o medicamento e o veneno é a dose, isto é, os efeitos e consequências da ingestão dessa substância dependem da quantidade de escopolamina absorvida e do estado de saúde da pessoa. Também influi o fato dela ser consumida na forma pura ou combinada com outras drogas. Dessa forma, quando associada ao álcool, a escopolamina tem seu efeito potencializado, o que pode causar visão turva, boca seca e prisão de ventre.

A SCP também é usada como uma droga recreativa, geralmente devido aos seus efeitos alucinógenos, mas também por suas supostas propriedades afrodisíacas. Para produzir os efeitos alucinógenos, eles podem ser fumados e muitas informações podem ser encontradas em fóruns da Internet sobre como preparar uma infusão das plantas, seja das raízes, folhas, caules, flores ou frutas e sementes para esse fim. Em consequência disso, o uso de escopolamina é muito perigoso, pois a ingestão desse fármaco em doses altas pode levar a overdose (SÁIZ *et al.*, 2013). Em geral, faltam dados exatos sobre as doses letais de escopolamina em virtude da sua grande variedade de espécies o que torna difícil estabelecer uma dose tóxica precisa (LAUWERS *et al.*, 1983; HERNANDEZ *et al.*, 2017). Defrantes e colaboradores (2005) relataram casos com toxicidade resultante de *Datura Stramonium*, planta que apresenta as substâncias antimuscarínicas atropina e escopolamina. Além disso, apresentaram a dose letal de atropina, superior ou igual a 10 mg e de SCP, superior a 2-4 mg. Lauwers e colaboradores (1983) apresentaram a dose letal de SCP de 10 mg em crianças. Por outro lado, os adultos sobreviveram a mais de 100 mg por ingestão de SCP. Os resultados dos exames toxicológicos foram por espectrometria de massa no fluido gástrico e urina.

O seu uso como uma droga incapacitante em crimes sexuais e roubos é conhecido há muitas décadas. Todavia, a administração da escopolamina, extraída de plantas pertencentes aos gêneros *Brugmansia* e *Datura*, tornou-se amplamente utilizada por nativos e raizeiros nas Américas Central e do Sul. Essas plantas estão distribuídas em todo o mundo, mas ocorrem principalmente em regiões temperadas e várias delas são usadas em paisagismo e jardinagem. Amnésia anterógrada, alucinações (visuais), agitação e comportamento submisso são sintomas

proeminentes em vítimas de crimes facilitados por envenenamento com escopolamina (SÁIZ *et al.*, 2013 e LUSTHOF *et al.*, 2017). Aliado a isso, há muitos casos de intoxicações graves causadas exclusivamente por escopolamina devido à mistura intencional em bebidas (EBERT *et al.*, 1998).

SÁIZ *et al.* descreveram um relato onde uma pessoa foi presa em Madri (Espanha) após uma denúncia de uma mulher que havia sido drogada com escopolamina. O suspeito, que fingia ser um xamã, levou a mulher para sua casa e depois de drogá-la com uma bebida à qual a escopolamina havia sido adicionada, ele a agrediu sexualmente várias vezes. Após este caso ser reportado, mais 38 mulheres relataram terem sido estupradas pela mesma pessoa. Além disso, reportou que a escopolamina foi adicionada a bebidas em boates para cometer roubos e/ou agressões sexuais.

Por se tratar de uma droga ilícita, se faz necessário o desenvolvimento de métodos analíticos com uma grande simplicidade operacional para que seja realizado o monitoramento de amostras suspeitas de conter essa substância. A portabilidade juntamente com a miniaturização possibilitando executar análise de campo, baixo custo e seletividade são vantagens que procuramos para identificar escopolamina em bebidas.

### *1.1.3. Métodos de determinação de SCP em bebidas e outras matrizes*

Diversos métodos analíticos foram desenvolvidos para a determinação de SCP em amostras de bebidas e em outras matrizes utilizando técnicas como a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM) (OERTEL *et al.*, 2001; STEENKAMP *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2005; JAKABOVÁ *et al.*, 2012; OISHI, NAGATOMI e SUZUKI, 2019), cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (GC-MS) (OERTEL *et al.*, 1996; NAMERA *et al.*, 2002) e eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato (EC-C4D) (SÁIZ *et al.*, 2013; MARRA *et al.*, 2014; CUNHA *et al.*, 2017; DA COSTA OLIVEIRA *et al.*, 2019). Essas técnicas instrumentais são de alto custo e exigem procedimentos trabalhosos e demorados da amostra, aliado a isso, quando se trata de análises no local, busca-se utilizar um método de detecção de baixo

custo e de simplicidade instrumental. Com base nesses quesitos, técnicas colorimétricas e espectrofotométricas podem ser uma excelente alternativa devido a sua simplicidade, facilidade de miniaturização, baixo custo e uso de pequenas quantidades de reagentes e amostras. Alguns reagentes colorimétricos foram previamente utilizados para determinação de escopolamina, tais como o amônio reinecato ( $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NCS})_4(\text{NH}_3)_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), indicadores de pH (verde de bromocresol e azul de bromotimol) e hidroxamato de ferro (BANDELIN, 1950; FELDMAN e ROBB, 1970; ERK e ONUR, 1996; GOUDA *et al.*, 2008). Apesar desses métodos fornecerem uma resposta relativamente adequada em termos de sensibilidade, a maioria deles envolve reações que não são seletivas a escopolamina ou que são influenciadas pela matriz da amostra.

## **1.2. Narizes e línguas optoeletrônicas (Arranjo de sensores colorimétricos)**

### *1.2.1. Definição / princípio de funcionamento*

O controle de qualidade de alimentos e bebidas é altamente importante tanto para questões industriais de qualidade quanto do ponto de vista do consumidor. Na última década, uma variedade de tipos de sensores foi desenvolvida e várias aplicações foram realizadas para análises de alimentos e bebidas nas fases líquida e gasosa (DI NATALE *et al.*, 2004; BERNA, 2010; NIKAH D e KHALILZADEH, 2016; MANIKANDAN, ADHIKARI e CHEN, 2018). Em decorrência da cada vez mais crescente demanda de novos produtos e processos, há uma necessidade urgente para desenvolver metodologias eficazes que permitam a detecção rápida, sensível, portátil e barata de analitos e contaminantes tóxicos em fase líquida ou gasosa. É importante ressaltar que amostras de alimentos possuem diversas substâncias químicas com diferentes propriedades, o que torna a análise direta um desafio bastante grande. Um desenvolvimento interessante nessa área é o uso de sistemas multissensorial (ou arranjo de sensores), os chamados "línguas e narizes eletrônicos". Estes são dispositivos eletrônicos que consistem em uma série de elementos sensores de reatividade diferencial, de forma que mediante um tratamento estatístico subsequente seja possível diferenciar os sabores e odores, nos quais as respostas compostas da matriz diferenciam os analitos uns dos outros (ZHANG, BAILEY e SUSLICK, 2006; LI, ASKIM e SUSLICK, 2018). Cada elemento

sensor que compõe um nariz eletrônico não é seletivo a uma espécie química, porém, quando uma série de elementos sensores é utilizada, o padrão geral da resposta é seletivo aquela espécie ou amostra em análise.

O primeiro exemplo de nariz artificial foi relatado por Persaud e Dodd em 1982, fundadores do Instituto de Pesquisa Olfativas de Warwick, que compreende um conjunto de sensores químicos eletrônicos que cria um perfil único – ou impressão digital – frente a uma amostra, utilizando elementos transdutores semicondutores. O funcionamento do nariz artificial é semelhante ao sistema olfativo de mamíferos, onde os nervos existentes no nariz reconhecem alguns compostos e enviam a informação para o cérebro, onde a informação é organizada, discriminando com sucesso uma ampla variedade de odores (VLASOV, LEGIN e RUDNITSKAYA, 2002; ZHANG, BAILEY e SUSLICK, 2006; XU *et al.*, 2016; LI, ASKIM e SUSLICK, 2018; MAJCHRZAK *et al.*, 2018). Estima-se que os humanos possam diferenciar mais que 1 trilhão de odores diferentes (BUSHDID *et al.*, 2014).

O desenvolvimento vigoroso de novas técnicas de detecção química resultou na disponibilidade de outros elementos sensores úteis como alternativas para uso em sistemas de narizes eletrônicos. Entre estes, a utilização de sensores colorimétricos como elementos sensores em sistemas de narizes eletrônicos (ou arranjo de sensores) são especialmente notáveis (LI, ASKIM e SUSLICK, 2018). A imobilização de reagentes colorimétricos em matrizes sólidas fornece uma abordagem fácil, eficiente e sensível para a rápida detecção e identificação de uma ampla gama de analitos por meio da alta reatividade química com base no uso de diferentes indicadores impregnados em matrizes hidrofóbicas ou hidrofílicas, tais como polímeros e celulose (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK, 2013; LI e SUSLICK, 2016).

Cada reagente colorimétrico utilizado como elemento sensor deve conter um centro ativo que pode interagir quimicamente com os analitos ou grupos de analitos desejados e um cromóforo intenso que está fortemente acoplado a esse centro ativo. A mudança de cor ocorre por meio das interações intermoleculares dos analitos com o centro ativo. Assim, através da mudança de cor provocada pela interação dos analitos com os diversos corantes quimio-responsivos que compõem o arranjo colorimétrico, gera-se um padrão que é uma impressão digital de cores para



qualquer odorante ou mistura de odorantes, o que é diferente da abordagem convencional de sensoriamento, onde receptores específicos respondem a analitos específicos. Os corantes, assim sendo, têm reatividade cruzada, mas o padrão da matriz a resposta é única, desta forma, tais arranjos de sensores ópticos são frequentemente referidos como narizes ou línguas optoeletrônicas (LI e SUSLICK, 2016; LI, ASKIM e SUSLICK, 2018).

Desde então, diversos estudos surgiram nesta área, sendo cada vez mais usados como alternativa aos métodos tradicionais, que vão desde cenários médicos até a indústria alimentícia. A Tabela 1 apresenta algumas das várias aplicações possíveis para narizes ou línguas optoeletrônicas.

**Tabela 1** - Exemplos de aplicações utilizando narizes e/ou línguas optoeletrônicas.

Tipos de analitos	Número de reagentes	Amostras	Técnica quimiométrica utilizada	Referências
10 cepas de bactérias	36	Biológica; sangue de ovelha e carneiro	Mapa diferencial; PCA; HCA	CAREY <i>et al.</i> , 2011.
12 cepas fúngicas	36	Biológica; meio ágar YPD	Mapa diferencial; HCA; PCA; LDA	ZHANG <i>et al.</i> , 2014.
15 espécies bacterianas	80	Biológica; sangue de ovelha	Mapa diferencial; PCA; SVM	LIM <i>et al.</i> , 2016.
Descarbonatação	25	Qualidade de bebidas; 14 refrigerantes	Mapa diferencial; PCA; HCA	ZHANG e SUSLICK, 2007.
Compostos orgânicos voláteis – oxidação	36	Qualidade de bebidas; 14 licores	Mapa diferencial; PCA; HCA; SVM	LI e SUSLICK, 2018.

Envelhecimento - microbiológico e sensorial	16	Qualidade de alimentos; carne de frango	Mapa diferencial; PCA; PLS	SALINAS <i>et al.</i> , 2012.
Envelhecimento – microbiológico e sensorial	7	Qualidade de alimentos; salsichas de porco	Mapa diferencial; PCA; PLS	SALINAS <i>et al.</i> , 2014.
Compostos orgânicos voláteis – oxidação	12	Qualidade de alimentos; 13 azeites de soja e 4 óleo de canola	Distância Euclidiana; Mapa diferencial; PCA; HCA	CONRADO <i>et al.</i> , 2021
5 explosivos	3	Explosivos	Mapa diferencial; PCA; HCA	SALLES <i>et al.</i> , 2014.
6 íons metálicos	3	Agregação de AuNP	Mapa diferencial; LDA	LI <i>et al.</i> , 2019.

### 1.2.2. Principais classes de reagentes

Os métodos colorimétricos permitem a detecção visual da presença ou ausência do analito em suspeita com base na mudança de cor sem a utilização de instrumentos sofisticados. Com a introdução de dispositivos que adquirem e métodos que utilizam o processamento de imagens digitais da reação colorimétrica, é possível uma abordagem relativamente fácil, eficiente e sensível para quantificação de compostos químicos, além da simples detecção da presença do analito. Devido ao desenvolvimento da tecnologia de dispositivos de aquisição de imagens, tais como smartphones e scanners portáteis, estes ainda podem ser facilmente miniaturizados e permitem múltiplas análises com um único instrumento de controle no local. Essa abordagem já foi empregada para detectar compostos inflamáveis, explosivos e tóxicos *in situ*. Além disso, os métodos colorimétricos também possuem diversas vantagens, tais como boa seletividade, alta sensibilidade,

não destrutiva, não dispendiosa, baixo limite de detecção e resposta rápida (XIAO-WEI *et al.*, 2018).

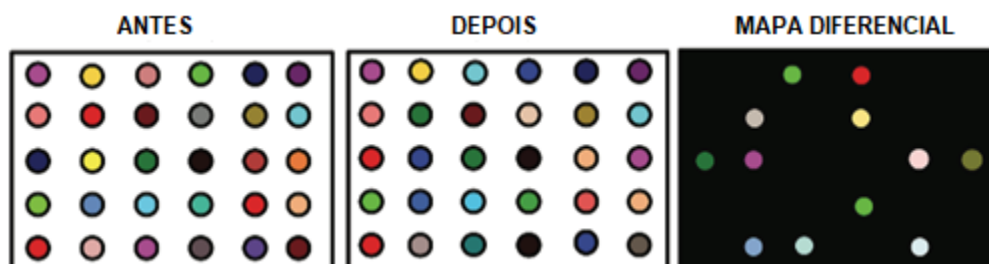
Os elementos sensores utilizados nas reações colorimétricas são baseadas em corantes quimiorresponsivos e são selecionados para determinada aplicação baseado em sua reatividade química dos analitos, ao invés de suas propriedades físicas, como o caso dos arranjos de elementos sensores eletrônicos. Isso fornece uma alta dimensionalidade para a detecção química, já que diferentes tipos de interação química podem ser explorados, e também permite alta sensibilidade, muitas vezes até partes por bilhão (ppb) ou mesmo partes por trilhão (ppt). Como já mencionado, a utilização de arranjo de elementos sensores aumenta o poder de seletividade do método colorimétrico, sendo possível a discriminação de analitos muito semelhantes por meio do perfil de mudança de cor, ou impressão digital de cor, de misturas em uma ampla faixa de categorias de analitos, nas fases gasosa e líquida (LI, ASKIM e SUSLICK, 2018).

Existem dois requisitos fundamentais para o design de um arranjo de sensores colorimétricos (CSA): (1) o corante deve conter um centro para interagir com os analitos em estudo e (2) este centro de interação deve ser fortemente acoplado a um cromóforo intenso. O primeiro requisito implica que seria altamente vantajoso para a interação ser mais do que simples adsorção física e envolver outras interações químicas (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK, 2013).

As respostas dos sensores colorimétricos se baseiam em interações moleculares entre analito e diversas classes de corantes com centros ativos baseados em diferentes tipos de interações moleculares, resultando em mudanças de coloração após a exposição com o analito. Essas mudanças de cor relacionadas a cada corante são usadas para construir mapas diferenciais com uma impressão digital única, obtendo-se uma imagem antes e após a exposição com a amostra, construindo um perfil de cor (ou impressão digital) de cada composto, em função da interação que ocorreu entre o analito e os diferentes tipos de corantes (ASKIM *et al.*, 2016). A Figura 3 apresenta um esquema de funcionamento de um arranjo de sensores colorimétrico. A primeira imagem é obtida antes da exposição com o analito, a segunda imagem é obtida após a exposição ao analito e ao subtrair as

imagens, é possível obter a terceira imagem do mapa diferencial do analito (ou em inglês, fingerprint) em análise.

**Figura 3** - Representação de um arranjo de sensores colorimétricos antes e após a exposição com o analito e o mapa diferencial resultante.



Fonte: Adaptado de XIAO-WEI *et al.*, 2018.

Desse modo, o grande poder dos sensores colorimétricos é sua capacidade de sondar as diferentes reatividades químicas dos analitos através de interações intermoleculares que não sejam adsorção física (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK, 2013). Pode-se classificar os reagentes colorimétricos em cinco classes, em função do seu tipo de interação e resposta: (i) Corantes ácidos ou básicos de Brønsted (por exemplo, indicadores de pH), (ii) corantes de ácido / base de Lewis (por exemplo, complexos de metal com locais de coordenação abertos ou cromógenos contendo íons de metal - metaloporfirinas), (iii) corantes redox, (iv) corantes com grandes dipolos permanentes (ou seja, corantes solvatocrômicos ou vapocrômicos) para detecção de polaridade local, e (v) materiais agregativos cromogênicos (por exemplo, nanopartículas plasmônicas) (LI, ASKIM e SUSLICK, 2018). A Figura 4 apresenta um arranjo organizado de um sensor colorimétrico com as diferentes classes de corantes.

**Figura 4** - Principais classes de indicadores.



Fonte: Adaptado de XIAO-WEI *et al.*, 2018.

É importante ressaltar que a escolha dos corantes é regida empiricamente pelo uso pretendido. Deve-se considerar se este arranjo destina-se a discriminação de uma ampla gama de classes analitos ou se terá uma aplicação mais focalizada a uma classe.

Com a utilização de matrizes sólidas para ancorar os reagentes colorimétricos, a detecção visual de mudança de cor e/ou a obtenção da imagem digital pode ser realizada pelo modo de refletância da luz incidente. Nesse método, um scanner de bancada ou câmera digital pode ser usado para capturar a luz refletida na superfície das regiões coloridas dos sensores colorimétricos no substrato sólido. Ao obter-se a imagem digital desse sistema, o próximo passo é a transformação dos pontos coloridos referentes a reação colorimétrica em sinal analítico, ou seja, em intensidade de cor. Um dos sistemas de cores utilizado para expressar numericamente as cores em dispositivos digitais é o sistema RGB (do inglês red, green and blue), visto que esses valores são utilizados pelos dispositivos digitais mais comuns e a sua extração de imagens digitais podem ser realizadas por um software de análise de imagem digital padrão disponível gratuitamente. Este método é uma excelente alternativa, visto que câmeras e scanners estão amplamente disponíveis e são tecnologias familiares fora do contexto da instrumentação científica (DIEHL e ANSLYN, 2013).

Notavelmente, inúmeros sistemas de cores têm tornado úteis para analisar as imagens digitais obtidas pelos arranjos de sensores colorimétricos, contudo, o sistema de cores RGB é o mais aplicado para este fim pela sua facilidade de entendimento.

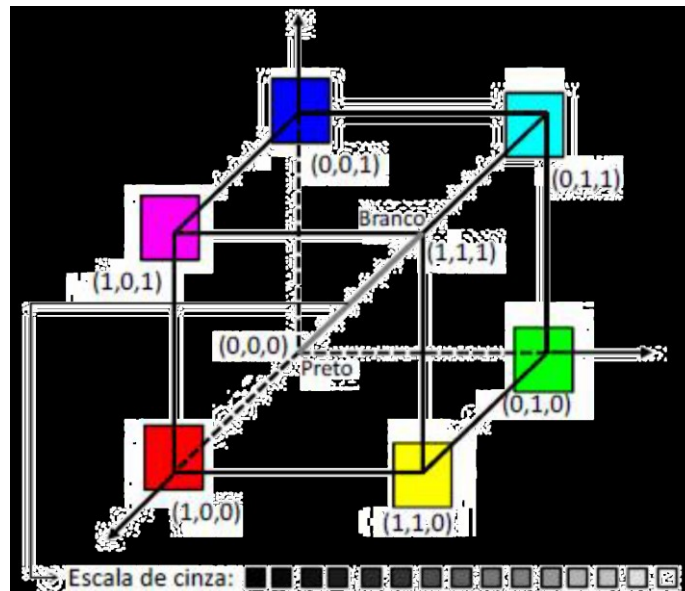
### *1.2.3. Sistema de cores RGB*

A criação dos modelos de cores fornece uma quantificação das cores em um formato padronizado, ou seja, pode ser realizada utilizando dispositivos distintos. Dessa maneira, um modelo de cores é uma representação em um sistema de coordenadas 3D na qual cada cor é representada por um único ponto deste sistema (GONZALEZ e WOODS, 2000; CARDOSO, 2014). Este sistema de formação de cores é semelhante ao percebido pelo ser humano em um processo de combinação

de diferentes valores como um conjunto de cores primárias. Normalmente, os modelos de cores possuem três ou quatro componentes de cores e diferentes espaços de cores estão disponíveis para diferentes dispositivos eletrônicos, tais como impressoras, monitores, câmeras e etc (IBRAHEEM *et al.*, 2012). Existem vários sistemas de cores, tais como RGB (red, green and blue), CMY (cyan, magenta and yellow) e CMYK (variante do modelo CMY, onde k denota black), HLS (hue, saturation, lightness) e HSV (hue, saturation, value).

O modelo RGB se baseia em um sistema de coordenadas cartesianas e de uma combinação aditiva das três cores primárias: vermelho, verde e azul (GONZALEZ e WOODS, 2000; WEN e CHOU, 2004; CARDOSO, 2014). O espaço de cores RGB pode ser representado como um cubo por valores de cores RGB, Figura 5, normalizados na faixa  $[0, 1]$  com valores de cinza na diagonal principal dos valores de preto  $(0, 0, 0)$  e no canto oposto os valores de branco  $(1, 1, 1)$  (IBRAHEEM *et al.*, 2012).

**Figura 5** - Cubo de cores RGB. Os pontos ao longo da diagonal representa a escala de cinza desde a coloração preta  $(0, 0, 0)$  na origem até a coloração branca  $(1, 1, 1)$ .

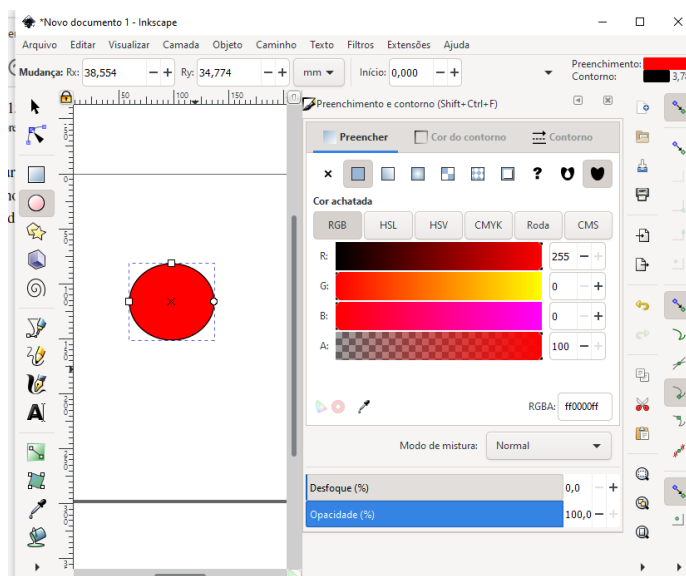


Fonte: CARDOSO, 2014.

A composição dos vetores R (Red), G (Green) e B (Blue) são utilizadas na maioria dos dispositivos digitais para representar as cores. Uma das representações mais usuais para as cores é a utilização da escala de 0 a 255, uma vez que cada

valor de cor corresponde a 1 byte (8 bits). Isso significa que cada canal pode armazenar 8 bits de informação e que cada cor pode variar de 0 a 255 ( $2^8=256$ ) tonalidades, o que dá um total de mais de 16 milhões de combinações. Dessa forma, as cores representadas em imagens são uma mistura aditiva destes 3 componentes (R, G e B). A Figura 6 apresenta um exemplo da coloração vermelha, na qual se tem 255 para o vermelho, 0 para o verde e 0 para o azul. Conforme ocorre variação das cores, estes valores são alterados. Assim, a cor verde intensa é representada por (0, 255, 0); azul por (0, 0, 255); branco por (255, 255, 255); e preto por (0, 0, 0).

**Figura 6** - Exemplo do modelo RGB para coloração vermelha utilizando um software gráfico para manipulação da imagem (Inkscape).



Fonte: o autor.

Em química analítica, a combinação entre métodos de processamento de imagens digitais com sistemas analíticos miniaturizados resulta em excelentes vantagens, tais como simplicidade, portabilidade, baixo custo e fácil acessibilidade. Além de permitir a detecção instantânea do analito em teste, é possível realizar a quantificação usando essa abordagem. Um dos sistemas analíticos miniaturizados que tem sido utilizado acoplado com dispositivos de imagens digitais é o dispositivo microfluídico em papel.

#### 1.2.4. *Uso do papel e dispositivos microfluídicos em papel*

A microfluídica é a ciência / tecnologia dos sistemas que processam ou manipulam pequenas quantidades de fluidos ( $10^{-9}$  a  $10^{-18}$  litros), por meio de canais com dimensões de dezenas a centenas de micrômetros. A técnica proporciona diversas vantagens, tais como: a capacidade de usar quantidades muito pequenas de amostras e reagentes; realizar separações e detecções com alta resolução e sensibilidade; baixo custo e tempos curtos de análise e portabilidade (WHITESIDES, 2006).

Na literatura, os primeiros trabalhos usaram dispositivos microfluídicos de silício e vidro, porém, estes materiais possuem custo elevado e requerem equipamentos especializados para sua produção. O silício, em particular, apresenta desvantagem de ser opaco à luz visível e ultravioleta e, por isso não pode ser utilizado em aplicações baseadas em detecção óptica (WHITESIDES, 2006). A fabricação desses dispositivos depende de várias características, que são: custo, superfície química, propriedades ópticas e elétricas, biocompatibilidade, facilidade de fabricação e integração e a viabilidade de produção em grande escala. Conforme a aplicação, os dispositivos podem ser produzidos a partir de vidro, silício, polímeros, papel e inclusive por uma combinação destes materiais (KOVARIK *et al.*, 2012).

Recentemente, o desenvolvimento de plataformas de baixo custo, portáteis, aplicabilidade em campo e fácil manuseio tem sido os mais procurados e selecionados. O substrato à base de papel, por conseguinte, é uma alternativa versátil para produção em alta velocidade de dispositivos microfluídicos por ser um material abundante, barato, acessível, sustentável, de fácil transporte, manuseio e descarte, além de apresentar uma estrutura porosa que permite o transporte do fluido de amostra por capilaridade (MARTINEZ *et al.*, 2007; KOVARIK *et al.*, 2012; HU *et al.*, 2014). Em 2007, o grupo de pesquisa do Professor George M. Whitesides, da Universidade de Harvard, demonstrou o uso desse substrato para a fabricação de dispositivos microfluídicos à base de papel (do inglês microfluidic paper-based analytical devices,  $\mu$ PADs) (MARTINEZ *et al.*, 2007; HU *et al.*, 2014).

A aplicação de  $\mu$ PADs é particularmente favorecida em aplicações que requerem análise rápida com baixo custo e operação simples. Embora a aplicação



inicial proposta tenha sido dispositivos do tipo “point-of-care” e que são relevantes para diagnósticos de doenças em países em desenvolvimento, onde os recursos e especialistas são limitados, várias aplicações também existem no mundo desenvolvido. Essas vantagens impulsionaram o crescimento do campo em direção às aplicações de dispositivos analíticos portáteis para diagnósticos clínicos, monitoramento ambiental e garantia de segurança alimentar (YANG *et al.*, 2017).

Na última década, uma variedade de métodos de fabricação para  $\mu$ PAD foram relatados, como impressão a cera, serigrafia, impressão flexográfica, recorte a laser, plotagem mecânica, fotolitografia, tratamento por plasma, corte de papel, deposição de polidimetilsiloxano (PDMS), dentre outros (CARRILHO, MARTINEZ e WHITESIDES, 2009; DUNGCHAI, CHAILAPAKUL e HENRY, 2011).

Dentre as enumeradas acima, a impressora a cera é uma metodologia bastante simples e propícia para várias áreas. Segundo Carrilho *et al.* (2009), padrões de cera sólida foram empregadas sobre a superfície do papel e, em seguida, utilizaram uma placa/chapa de aquecimento permitindo a penetração e o espalhamento da cera nos poros do papel, Figura 7, de modo a formar barreiras hidrofóbicas que definem a zona hidrofílica, ou seja, o layout dos  $\mu$ PAD é desenhado com o auxílio de um software gráfico por meio de impressoras a cera. A alternativa é simples, além de diminuir problemas de dispersão o que contribui para a detecção de reações colorimétricas, de acordo com a geometria e a área (MARTINEZ *et al.*, 2007; CARRILHO, MARTINEZ e WHITESIDES, 2009).

**Figura 7** - Representação esquemática das etapas básicas para a fabricação de  $\mu$ PADs por impressão a cera.



Fonte: Adaptado de CARRILHO, MARTINEZ e WHITESIDES, 2009.

De acordo com Yang (2017), a maioria dos  $\mu$ PADs emprega detecção colorimétrica porque fornece uma leitura fácil dos sinais químicos gerados,

possibilitando medições sem instrumentos (por exemplo, via distância). Os resultados dos ensaios colorimétricos podem ser qualitativos, semiquantitativos ou quantitativos, dependendo dos objetivos do ensaio. Ensaio qualitativos em  $\mu$ PADs são comumente obtidos sem qualquer instrumentação externa, pois fornecem resultados sim / não que podem ser facilmente determinados a olho nu. A análise semiquantitativa pode envolver o uso de um gráfico de cores para estimar a quantidade relativa de analito com base em uma curva de calibração pré-estabelecida. Medições mais rigorosas e cuidadosamente controladas são necessárias para análises quantitativas em  $\mu$ PADs a fim de obter níveis de analito exatos e precisos. Essas medições são normalmente realizadas através do emprego de instrumentos para adquirir imagens e software de processamento de imagens para quantificar as intensidades e / ou matrizes do sinal de cor.

Os dispositivos microfluídicos à base de papel oferecem a vantagem de que as informações de vários analitos presentes na amostra podem ser obtidas simultaneamente. Todavia, os sinais obtidos geralmente não são conclusivos, tornando necessária a utilização de métodos quimiométricos para aumentar o poder de discriminação dos resultados obtidos.

### **1.3. Ferramentas Quimiométricas**

Em 1971, o termo quimiometria surgiu pela primeira vez para descrever o uso crescente de modelos matemáticos, princípios estatísticos e outros métodos baseados em lógica no campo da química e, em particular, no campo da química analítica. A quimiometria é um campo interdisciplinar que envolve estatísticas multivariadas, modelagem matemática, ciência da computação e química analítica (GEMPERLINE, 2006). Estes métodos quimiométricos são usados rotineiramente para reduzir a dimensionalidade dos dados e apresentá-los na forma gráfica para interpretação visual (XIAO-WEI *et al.*, 2018).

Fundamentalmente, o modelo estatístico dos métodos analíticos multivariados tem a vantagem de ser capaz de diferenciar analitos com maior poder discriminatório. Além disso, ter uma alta dimensionalidade envolve uma abordagem mais sofisticada das estatísticas, avalia conjuntos de dados e prevê a identidade de

amostras não identificadas com base em uma biblioteca conhecida (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK, 2013).

Os métodos quimiométricos utilizados para identificar as semelhanças e as diferenças em variados tipos de amostras, para agrupá-las e classificá-las, estão divididos em dois grupos: os métodos supervisionados e os métodos não supervisionados de reconhecimento de padrões. Ambos se baseiam nas seguintes suposições: as amostras do mesmo tipo são semelhantes; existem diferenças significativas entre diferentes tipos de amostras e o conjunto de medidas disponíveis é capaz de detectar essas semelhanças e diferenças (FERREIRA, 2015).

Nos métodos supervisionados, cada amostra analisada provém de uma classe preestabelecida e essa informação é utilizada durante a análise dos dados e na construção dos modelos de classificação (FERREIRA, 2015). Esses modelos supervisionados incorporam informações externas conhecidas (normalmente rótulos de amostra e concentrações) e podem ser usados para prever informações extremamente úteis relacionadas a esses parâmetros extras (por exemplo, classificação e regressão). Estes conjuntos de dados requerem um número maior de amostras para incorporar adequadamente os parâmetros externos conhecidos, o que são quase sempre aumentados com métodos não supervisionados, a fim de melhorar ou avaliar a precisão e generalização dos resultados preditivos (por exemplo, como na validação cruzada) (LI, ASKIM e SUSLICK, 2018).

Já, os métodos não supervisionados não fazem uso dessa informação e, portanto, não querem conhecimento prévio a respeito da classificação das amostras. Elas serão agrupadas naturalmente com base na informação contida nos dados experimentais em questão (FERREIRA, 2015). Geralmente seguem algoritmos simples e diretos e são usados, principalmente para análise descritiva, ou seja, usados para fornecer informações quantitativas sobre o conjunto de dados que podem não ser prontamente aparentes (por exemplo, similaridade entre amostras, agrupamento de amostra) (LI, ASKIM e SUSLICK, 2018).

Tendo isso em mente, dois métodos serão abordados: análise de componentes principais (PCA) e análise por agrupamentos hierárquicos (HCA), que são métodos não supervisionados e foram utilizados neste trabalho.

### *1.3.1. PCA (Principal Component Analysis – Análise de Componentes Principais)*

A análise de componentes principais, PCA (do inglês, principal component analysis) é uma técnica de redução dimensional que condensa a variância entre várias dimensões possivelmente correlacionadas, criando um novo conjunto ortogonal de dimensões usando combinações lineares das dimensões iniciais (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK, 2013), sem que as relações entre as amostras sejam afetadas. Utilizando essa metodologia é possível descobrir, visualizar e interpretar as diferenças existentes entre as variáveis e examinar as relações que podem existir entre as amostras (FERREIRA, 2015).

Essas novas dimensões (também conhecida como direção, componente, coordenada, etc.) são classificadas de forma que a primeira dimensão explique a maior quantidade de variação de dados, a segunda dimensão explique a segunda maior e assim por diante. Este procedimento é direto e prontamente disponível em pacotes de software comerciais, o que contribui muito para sua popularidade. Normalmente, busca-se um número de novas dimensões ortogonais suficientes para abranger pelo menos 95% da variância (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK, 2013; LI, ASKIM e SUSLICK, 2018).

Plotagens usando o conjunto resultante de componentes principais são frequentemente mais fáceis de visualizar do que o conjunto de dados original, mas apenas se o conjunto for realmente de baixa dimensão em um sentido estatístico. A PCA é amplamente usada na visualização de dados de sistemas de narizes eletrônicos, o que muitas vezes requerem apenas dois ou talvez três componentes principais para expressar a variabilidade entre os dados, independentemente do número de sensores diferentes no arranjo. Para dados de baixa dimensão, a PCA fornece um método simples de descrever a variabilidade em um conjunto de amostra, ou seja, como as amostras são semelhantes entre si (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK, 2013).

Ao lidar com uma ampla gama de classes de analito, um arranjo de sensores projetada para sondar um grande espaço de reatividade (ou seja, uma matriz com

alta dimensionalidade em um sentido estatístico) é altamente desejável a fim de aproveitar a especificidade da matriz e diminuir a probabilidade de sobreposição, devido, por exemplo, a mudanças na concentração ou adição de novos analitos. Na ausência de ruído, a dimensionalidade máxima teórica do espaço PCA gerado é o menor entre o número de classes de amostra ou o tamanho do espaço de reatividade química. Ao usar uma classe estreita de analitos ou usar uma matriz de sensores com um pequeno espaço total de reatividade química, então a aparente alta dimensionalidade da saída de um sensor é indicativa de uma grande contribuição de ruído - essencialmente, uma baixa relação sinal-ruído ( $S / N$ ) (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK, 2013; LI, ASKIM e SUSLICK, 2018).

Como consequência da correlação entre os sensores e a influência do ruído, a dimensionalidade dos dados de saída - o tamanho do espaço dimensional da PCA - não é determinada diretamente pelo número de sensores em uma matriz. Levando em conta que os componentes principais são combinações de respostas de componentes de matriz, a magnitude da variação descrita por cada componente principal fornece algumas informações sobre a contribuição de cada propriedade química para a resposta geral do sensor (LI, ASKIM e SUSLICK, 2018).

A PCA, desse modo, gera seu próprio espaço dimensional que pode ser usado para fazer previsões rudimentares, especialmente se o conjunto de dados for de baixa dimensão e tiver uma grande separação entre as classes de amostra. Basta projetar a resposta do sensor desconhecido no espaço dimensional da PCA e determinar se o novo ponto de dados está ou não próximo aos dados de o conjunto de treinamento (LI, ASKIM e SUSLICK, 2018).

Neste trabalho, a técnica PCA foi utilizada para correlacionar estatisticamente os dados obtidos pelos sensores indicando se determinada amostra analisada é semelhante ou não da outra. Para efetuar a análise, a PCA utiliza um gráfico ("score plot"), que serão estabelecidos através da proximidade ou distanciamento entre os pontos dos padrões de semelhança ou de diferença entre os dados originais da amostra. O gráfico da PCA é expresso em termos de sua variância, indicando quanta informação está contida por cada componente principal dos dados originais.

### 1.3.2. HCA (*Hierarchical Cluster Analysis – Análise de Agrupamentos hierárquicos*)

A análise de agrupamentos hierárquicos, HCA (do inglês, hierarchical cluster analysis) é uma técnica de agrupamento em que grupos de pontos (clusters) em um espaço multidimensional são criados em um número discreto de etapas e conectados usando algum tipo de métrica de distância como, por exemplo, a distância euclidiana. Em sua forma mais simples, as amostras mais semelhantes são emparelhadas em um único cluster que é então emparelhado com outras amostras ou clusters do grupo mais próximo até que todos os grupos e clusters estejam conectados uns aos outros (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK).

A HCA pode ser tratada usando um processo de divisão "de cima para baixo" (isto é, dividindo sucessivamente clusters maiores) ou um processo de aglomeração "de baixo para cima" (fundindo sucessivamente clusters menores). Em cada etapa do processo de aglomeração, normalmente dois clusters existentes (para a primeira etapa, pontos de dados) são mesclados para formar um novo cluster usando um critério de ligação (por exemplo, média, centroide, variância mínima); isso é repetido até que apenas um único cluster permaneça. O critério de ligação mais comum é o método de variância mínima de Ward, em que a variância total dentro do cluster é minimizada em cada etapa (LI, ASKIM e SUSLICK, 2018).

Por conseguinte, o dendrograma resultante mostra a conectividade e alguma medida da distância entre cada um dos pares. No contexto da análise química, a conectividade exhibe similaridade relativa (ou seja, quais amostras são semelhantes entre si) e a distância exhibe a magnitude dessa semelhança. Nesse cenário, os dendrogramas fornecem um método simples de exibir a similaridade do cluster semiquantitativamente e as classes químicas semelhantes se agrupam fortemente, o que é uma consequência da reatividade da matriz de sensores em particular (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK, 2013; LI, ASKIM e SUSLICK, 2018).

Neste trabalho, a técnica HCA foi utilizada para analisar a semelhança entre as amostras e a similaridade de suas propriedades de forma que as mais semelhantes são agrupadas entre si. Os resultados são apresentados na forma de um dendrograma utilizando a distância euclidiana.

## **2. OBJETIVOS**

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento de uma língua optoeletrônica – arranjo de sensores colorimétricos – utilizando dispositivo microfluídico em papel e sua aplicação na identificação de SCP em amostras de bebidas.

### **2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar e selecionar diferentes reagentes que sejam semi-seletivos a escopolamina;
- Otimizar as condições de preparo do dispositivo microfluídico e das reações;
- Discriminar os analitos e os interferentes por meio do mapa diferencial de cores e da criação de impressão digital para cada composto;
- Avaliar a influência dos principais corantes na separação por meio da análise de componentes principais e análise de agrupamento hierárquico;
- Identificar a presença da SCP em bebidas contaminadas com drogas de abuso “Boa noite, Cinderela” utilizando mapa diferencial e ferramentas quimiométricas.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Soluções, reagentes e preparação da amostra

##### 3.1.1 Preparo dos padrões e amostras de bebidas

As soluções de escopolamina, efedrina, cafeína, atropina, cocaína, dipirona, morfina e alprazolam foram obtidas separadamente pela dissolução destes materiais em álcool etílico ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ , Êxodo científica, 98% P.A.) em concentração específica para cada material, conforme listado na Tabela 2.

**Tabela 2** - Descrição das soluções padrão.

Analito	Fórmula Química	Concentração (g/L)	Origem
Brometo de n-butilescopolamina	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{BrNO}_4$	5,02	Farmacêutica
Efedrina	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}$	5,06	Sigma Aldrich (St Louis, EUA)
Cafeína anidra	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$	5,13	Sigma Aldrich (St Louis, EUA)
Sulfato de atropina	$\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{S}$	5,10	Sigma Aldrich (St Louis, EUA)
Cocaína	$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_4$	20,0	Posto de Perícias Integradas (PPI) da Polícia Civil de Uberaba/Minas Gerais
Dipirona sódica	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{NaO}_4\text{S}$	20,0	Farmacêutica
Morfina	$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_3$	2,0	Farmacêutica
Alprazolam	$\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{ClN}_4$	0,1	Farmacêutica

Utilizou-se dois comprimidos de 500 mg de dipirona, um comprimido de 20 mg de morfina e dois comprimidos de 0,5 mg de alprazolam. Todos esses medicamentos foram obtidos em farmácias locais, estando todos dentro do prazo



de validade. Os comprimidos foram macerados de cada medicamento a fim de se obter uma solução de cada amostra.

Soluções de concentrações de trabalho de escopolamina, efedrina, cafeína, atropina, cocaína, dipirona, morfina e alprazolam, utilizadas nas etapas de otimização, foram preparadas por diluições em etanol apropriadas a partir das soluções estoque.

Todas as amostras de bebidas analisadas no presente trabalho foram utilizadas sem etapas prévias de filtração e foram adquiridas no comércio local. Para a preparação das soluções de bebidas, quantidades adequadas de SCP foram adicionadas em cada tipo de bebida. A composição de cada uma das amostras de bebida analisadas no presente trabalho é apresentada na Tabela 3.

**Tabela 3** - Composição das amostras de bebida analisadas no presente trabalho.

Analito	Composição declarada no rótulo
Cachaça	Destilado do mosto fermentado obtido do caldo da cana de açúcar e água. Teor alcoólico: 39% v/v.
Gin	Álcool etílico potável de cereais retificado, água desmineralizada, extrato natural de bagas de zimbro, aroma natural de zimbro. Teor alcoólico: 47,5% v/v.
Paratini	Água potável, álcool etílico potável de origem agrícola, fermentado de maçã, açúcar líquido, glucose de milho, acidulante ácido cítrico, aroma natural de laranja, ácido cítrico, conservador metabissulfito de potássio e corante caramelo simples. Teor alcoólico: 14% v/v.
Vodca	Água potável, álcool etílico potável de cana-de-açúcar, fermentado de maçã, aroma natural e aroma idêntico ao natural. Teor alcoólico: 32% v/v.

### 3.1.2 *Preparo dos reagentes colorimétricos*

Inicialmente, realizou-se o levantamento dos corantes disponíveis e foi em seguida gerada a planilha no Excel para mapear os reagentes disponíveis, uma vez

que toda essa informação ficasse à disposição dos usuários do laboratório. Os dados que foram organizados a partir desse processo foram: nome do reagente, tipo de reagente, código escolhido pelo grupo do laboratório e solvente utilizado. Todas as soluções foram preparadas a partir de reagentes com grau de pureza analítica. A solução dos reagentes foi inicialmente preparada com 10mg por 10mL de solvente. Em alguns casos, essa concentração resultava em soluções de corantes ainda insolúveis. Nesse tipo de situação, a diluição era feita empiricamente até se obter uma solução transparente. Na Tabela 4 são listados os reagentes disponíveis no laboratório, bem como seus respectivos códigos e outras informações.

**Tabela 4** - Reagentes disponíveis no laboratório.

Reagente colorimétrico	Tipo de reagente colorimétrico	Código do laboratório	Solvente
Mn-TPY	Ácido / Base de Lewis	A1	Diclorometano
VO-TPY	Ácido / Base de Lewis	A2	Diclorometano
Zn-TPP	Ácido / Base de Lewis	A3	Diclorometano
Violeta Cristal	Ácido / Base de Brønsted	B1	Água deionizada
Vermelho Cresol	Ácido / Base de Brønsted	B2	0,01 M HCl
Vermelho Congo	Ácido / Base de Brønsted	B3	Água deionizada
Alaranjado de Metila	Ácido / Base de Brønsted	B4	0,01 M HCl
Alaranjado de Metila	Ácido / base de Brønsted	B5	Água deionizada
Verde Bromocresol	Ácido / base de Brønsted	B6	10% 0,01 M NaOH
Vermelho Metila	Ácido / base de Brønsted	B7	60% Etanol/H <sub>2</sub> O
Purpura Bromocresol	Ácido / base de Brønsted	B8	50% 0,01 M HCl
Purpura Bromocresol	Ácido / base de Brønsted	B9	10% 0,01 M NaOH
Alizarina	Ácido / base de Brønsted	B10	60% Etanol/H <sub>2</sub> O
Vermelho Fenol	Ácido / base de Brønsted	B11	10% 0,01 M NaOH

Timolftaleína	Ácido / base de Brønsted	B12	10% 0,01 M NaOH
Amarelo Alizarina	Ácido / base de Brønsted	B13	Água deionizada
Índigo	Ácido / base de Brønsted	B14	0,01 M NaOH
Vermelho Nilo	Solvatocrômico	C1	Etanol
Vermelho Nilo	Solvatocrômico	C2	Acetona
Vermelho Nilo	Solvatocrômico	C3	n-Hexano
Corante Reichardt	Solvatocrômico	C4	Metanol
Corante Reichardt	Solvatocrômico	C5	Acetona
Eriocromiocyanin	Solvatocrômico	C6	Água deionizada
Eriocromiocyanin	Solvatocrômico	C7	0,01 M HCl
Azul da Prússia	Óxido-redução	D1	
Azul de metileno	Óxido-redução	D2	
Iodo Platinado	Específico	D3	Cl
Ellmans	Específico	D4	H <sub>2</sub> O
Índigo	Específico	D5	
CHEN	Específico	D6	CoCl <sub>2</sub> + NaSCN (H <sub>2</sub> O)
2,4-Dinitrofenilhidrazina	Específico	E1	Etanol/H <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
2,4-Dinitrofenilhidrazina	Específico	E2	Etanol/H <sub>2</sub> O
Dragendorff	Específico	E3	Bi <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (CO <sub>3</sub> ) + KI + HCl (H <sub>2</sub> O)

Todas as soluções foram guardadas em frasco de vidro de 10 mL, etiquetadas com seus respectivos códigos e armazenados na geladeira até o momento de uso.

A identificação das moléculas dos analitos é função da diferença nas interações destes com os diferentes tipos de reagentes impregnados no arranjo de sensores. Para que esta diferenciação seja de fato efetiva, é ideal que os reagentes colorimétricos sejam devidamente escolhidos em função da sua aplicação a ser utilizada, explorando diferentes propriedades de interação entre o corante e o analito.

Visando isso, diferentes classes de compostos foram avaliadas e utilizadas pelo seu potencial de interação, como por exemplo, as metaloporfirinas – como representante de ácidos de Lewis – os indicadores de pH, como por exemplo, alaranjado de metila, azul de bromocresol, indicadores solvatocrômicos (vermelho nilo ou corante de Reichardt), indicadores redox e alguns indicadores específicos. A escolha dos indicadores é empírica e dependerá dos tipos de substâncias a serem analisadas. Na Tabela 5 são listados os reagentes selecionados e usados neste estudo com sua respectiva procedência.

**Tabela 5** - Reagentes utilizados no presente trabalho e suas respectivas procedências.

Reagente Colorimétrico	Código do laboratório	Fórmula Química	Solvente	Origem
Tetrafenilporfirina de zinco (Zn- TPP)	A3	$C_{44}H_{28}N_4Zn$	Diclorometano	Sigma Aldrich (St Louis, EUA)
Alaranjado de Metila (Básico)	B5	$C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$	Água deionizada	Synth (São Paulo, Brasil)
Verde Bromocresol (Básico)	B6	$C_{21}H_{14}Br_4O_5S$	10% 0,01 M NaOH	Synth (São Paulo, Brasil)
Vermelho Nilo (Apolar)	C3	$C_{20}H_{19}N_2O_2$	n-Hexano	Sigma Aldrich (St Louis, EUA)
Corante Reichardt (intermolecular)	C5	$C_{41}H_{29}NO$	Acetona	Sigma Aldrich (St Louis, EUA)

Eriocromiocyanin	C7	$C_{23}H_{15}Na_3O_9S$	0,01 M HCl	Sigma Aldrich (St Louis, EUA)
Iodo Platinado	D3	IPt	Ácido clorídrico	
CHEN	D6	$CoCl_2 + NaSCN$	Água deionizada	
Dragendorff	E3	$Bi_2O_2(CO_3) + KI$ + HCl	Água deionizada	

O preparo do reagente de dragendorff se deu da seguinte forma: preparou-se uma solução A dissolvendo 0,85 g de nitrato de bismuto em 10,0 mL de ácido acético glacial e adicionou-se 40,0 mL de água destilada em aquecimento; e uma solução B dissolvendo cerca de 8,0 g de iodeto de potássio em 30,0 mL de água. A solução estoque consistia na mistura da solução A e B na mesma proporção e a solução reveladora foi preparada com 1,0 mL da solução estoque; 2,0 mL de ácido acético glacial e 10,0 mL de água.

### 3.2 Instrumentação e materiais

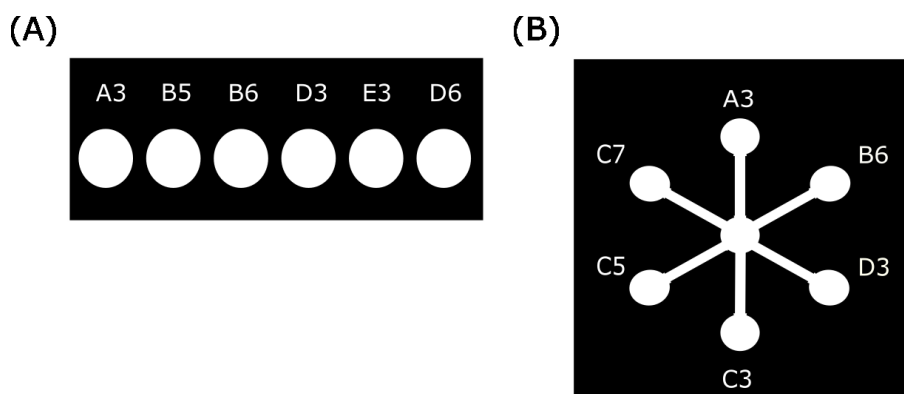
Para o preparo das soluções de trabalho utilizou-se uma balança analítica Shimadzu, modelo AUY220 com precisão de  $\pm 0,1$  mg.

#### 3.2.1 Design e fabricação dos $\mu$ PADs

Os  $\mu$ PADs foram preparados pelo método de impressão com cera (Xerox ColorQube 8580, New York, Estados Unidos) utilizando papel de filtro (Whatman 1, Whatman, Millipore, EUA). Os formatos dos  $\mu$ PADs foram projetados no computador usando o software Inkscape (versão 4.0) e consiste em dois modelos: (A) formato de spot composto por zonas reacionais circulares de 5 mm de diâmetro, desenhadas com linhas de 1 mm de espessura e (B) dispositivo contendo seis zonas de detecção no formato circular conectadas por canais microfluídicos e uma zona central para aplicação da amostra. Os canais foram fabricados com 3 mm de comprimento e 2 mm de largura. O diâmetro das zonas de detecção e zona

central foram de 3 e 6 mm, respectivamente. Após a impressão, os dispositivos eram levados à chapa de aquecimento (GT-CAD5L) a 200°C por 180s para permeação da cera e impermeabilização das zonas reacionais. A Figura 8 ilustra o layout dos  $\mu$ PADs dos modelos A e B. É importante ressaltar que a configuração dos reagentes colorimétricos dos modelos A e B são diferentes, pois foram utilizados com finalidades diferentes. O modelo A foi utilizado para avaliar o poder discriminatório do arranjo frente a diferentes tipos de alcaloides, além da escopolamina. O modelo B foi utilizado para aplicar o conceito de língua optoeletrônica para detectar e discriminar diferentes tipos de bebidas alcoólicas contaminadas apenas com escopolamina.

**Figura 8** - Layouts dos dispositivos dos modelos A e B.

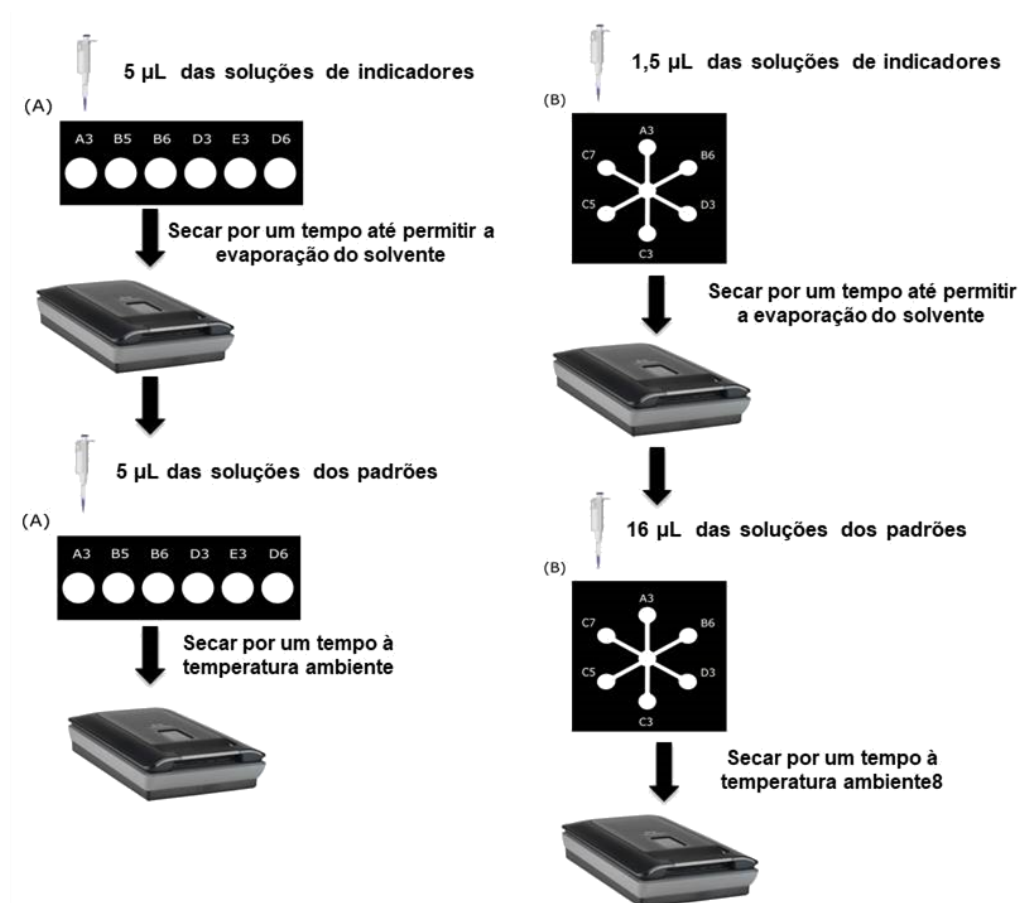


Fonte: o autor.

Para a aplicação, o dispositivo microfluídico em papel foi fixado na bancada com auxílio de fita crepe nas laterais, de modo a permitir uma superfície rígida e estável para adição dos reagentes. Uma micropipeta era posicionada perpendicularmente aos dispositivos. A impregnação dos reagentes no modelo A se deu pela adição de 5  $\mu$ L das soluções de indicadores no centro de cada zona reacional deixando-as secar por 20 minutos à temperatura ambiente para permitir a evaporação do solvente. Em seguida, eram adicionados 5  $\mu$ L das soluções de escopolamina de concentrações conhecidas, com uma secagem de 10 minutos à temperatura ambiente. Com a configuração B, o volume de amostra adicionado na zona central e que é necessário para preencher todo o  $\mu$ PAD é de 16  $\mu$ L enquanto que o volume necessário para preencher cada zona de detecção é de 1,5  $\mu$ L de reagente. Em ambos os casos, os dispositivos foram deixados no escuro por 20

minutos para a evaporação completa dos solventes antes do uso. A Figura 9 apresenta um desenho esquemático das etapas envolvidas nos estudos de detecção colorimétrica dos analitos estudados utilizando os  $\mu$ PADs.

**Figura 9** - Etapas envolvidas no ensaio colorimétrico dos analitos estudados.



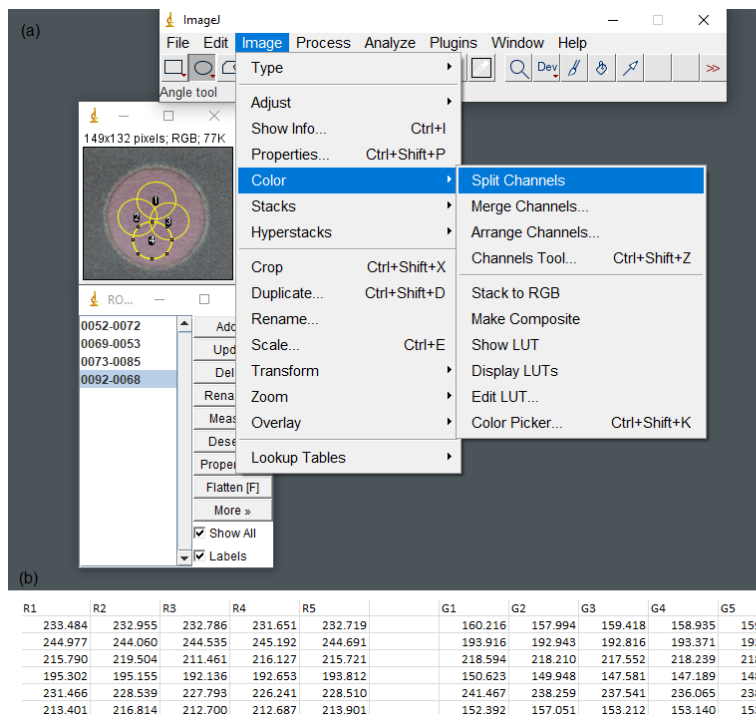
Fonte: o autor.

### 3.2.2 Obtenção das imagens digitais e tratamento dos dados

A realização da detecção colorimétrica por meio de imagens digitais ocorreu pela utilização do modo scanner de uma impressora HP Deskjet G4050, usando uma resolução de 300 dpi (pontos por polegada). A primeira etapa da detecção colorimétrica consistiu em realizar a digitalização das imagens antes e após a exposição com o analito utilizando um scanner, adquiridas pela posição dos  $\mu$ PADs no centro da placa de digitalização. As imagens foram processadas para extração da escala de cor RGB (Red, Green, Blue) pelo software ImageJ®. A obtenção dos valores da escala RGB foi feita inicialmente selecionando as regiões de interesse

(ROI) seguido pelo comando Image > Color > Split Channels > Measure, obtendo separadamente, os sinais de intensidade R (vermelho), G (verde) e B (azul) que compõem a coloração detectada, na faixa de 0 a 255. A delimitação da região de interesse de cada spot se deu por quadruplicata e por meio de geometria circular. Esta ferramenta fornece um valor médio da intensidade de pixels da região selecionada. As coordenadas que delimitam a área de seleção da imagem foram visualmente feitas, salvas e usadas em todas as demais imagens. Assim, o programa é capaz de calcular a área compreendida na área selecionada, que posteriormente são armazenadas e convertidas em seus respectivos valores de RGB. Todos os dados RGB foram exportados e matematicamente processados pelo programa Microsoft Excel (versão 2016). A interface do programa de tratamento ImageJ, assim como um exemplo de área selecionada na figura, pode ser vista na Figura 10.

**Figura 10** - Interface do software de obtenção dos valores de RGB. No centro (a) área selecionada em quadruplicata de uma imagem na região de interesse; (b) respectivos valores das componentes RGB da área selecionada.



Fonte: o autor.



O tratamento dos dados de RGB obtidos se deu da seguinte maneira: as imagens digitais do dispositivo antes e depois da exposição com o analito foram obtidas e os parâmetros RGB foram extraídos de cada spot contendo um reagente. O sinal inicial ( $\Delta RGB$ ) foi calculado pela subtração do  $RGB_{ANTES}$  e  $RGB_{DEPOIS}$  para cada reagente colorimétrico, conforme as equações a seguir.

$$\Delta R_n = R_{DEPOIS} - R_{ANTES} \quad (1)$$

$$\Delta G_n = G_{DEPOIS} - G_{ANTES} \quad (2)$$

$$\Delta B_n = B_{DEPOIS} - B_{ANTES} \quad (3)$$

A resposta final para cada reagente colorimétrico foi obtida como à subtração entre o sinal inicial e a média dos valores controles do branco ( $R_{CONTROL}$ ,  $G_{CONTROL}$  e  $B_{CONTROL}$ ) ( $n = 4$ ), conforme indicado nas equações a seguir.

$$\Delta R_{FINAL} = \Delta R_n - R_{CONTROL} \quad (1)$$

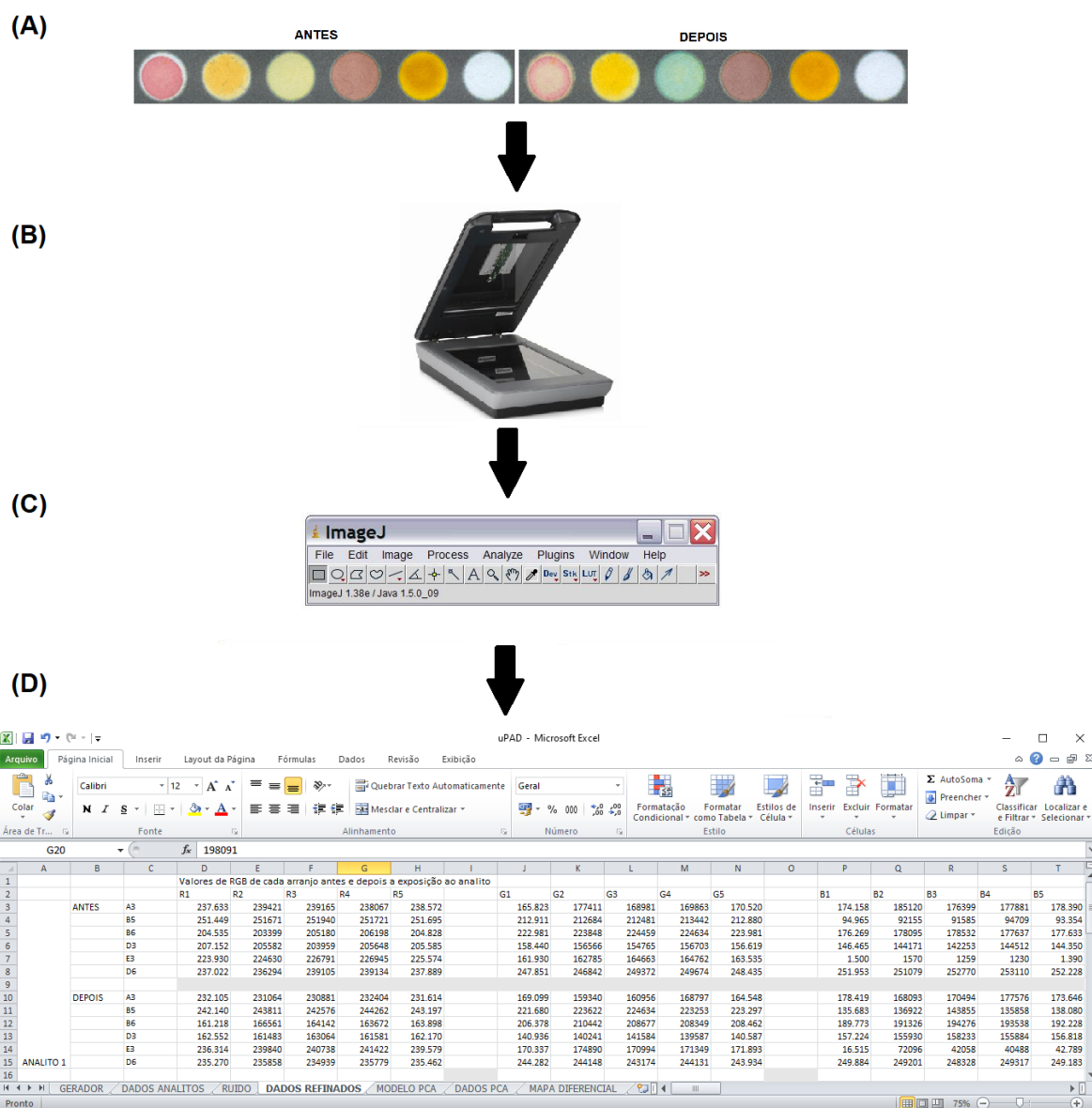
$$\Delta G_{FINAL} = \Delta G_n - G_{CONTROL} \quad (2)$$

$$\Delta B_{FINAL} = \Delta B_n - B_{CONTROL} \quad (3)$$

Em decorrência disso, se o valor absoluto do controle em branco fosse maior do que o sinal bruto, a resposta do sensor seria considerada zero.

Com o uso destes dados, foi possível construir mapas diferenciais para cada analito ou amostra analisada. Para isso, os valores de RGB resultantes foram convertidas de 5 para 8 bits (ou seja, 0-32 a 0-255) para melhor representação no software gráfico Inkscape. A construção do mapa diferencial de cores representativo foi utilizada para cada experimento usando a média de replicatas absoluta de cada reagente, fornecendo uma impressão digital visual inequívoca para cada amostra. As etapas envolvidas na detecção colorimétrica estão mostradas esquematicamente na Figura 11.

**Figura 11** - Etapas da detecção colorimétrica, onde se têm (A) o  $\mu$ PAD antes e após a exposição do analito, (B) o scanner para digitalização da imagem, (C) o software utilizado para selecionar a região desejada e correlacionar a intensidade de cor com a intensidade da reação do respectivo corante e do analito, (D) tabela com os valores de RGB para cada amostra.



Fonte: o autor.

### 3.2.3 Análise estatística

Para os experimentos quimiométricos, a análise de agrupamento hierárquico (HCA) foi realizada usando a distância euclidiana como distâncias aos pares e a

análise de componentes principais (PCA) foi calculada usando dados centrados na média e o algoritmo de decomposição de valor singular (SVD) aplicado em um intervalo de confiança de 95%. As duas ferramentas foram utilizadas para avaliar o potencial de discriminação da língua optoeletrônica entre os analitos aplicados e ainda distinguir a presença de SCP em diferentes bebidas alcoólicas. As análises quimiométricas foram realizadas empregando a caixa de ferramentas PLS no software MATLAB e a ferramenta online metaboanalyst.

A distância euclidiana (ED) foi usada para obter a resposta total do arranjo de sensores após a análise, aplicando a soma vetorial entre os 3 canais, calculada conforme a equação (1).

$$ED = \sqrt{(\Delta R_1)^2 + (\Delta G_1)^2 + (\Delta B_1)^2 + (\Delta R_2)^2 + \dots}$$

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

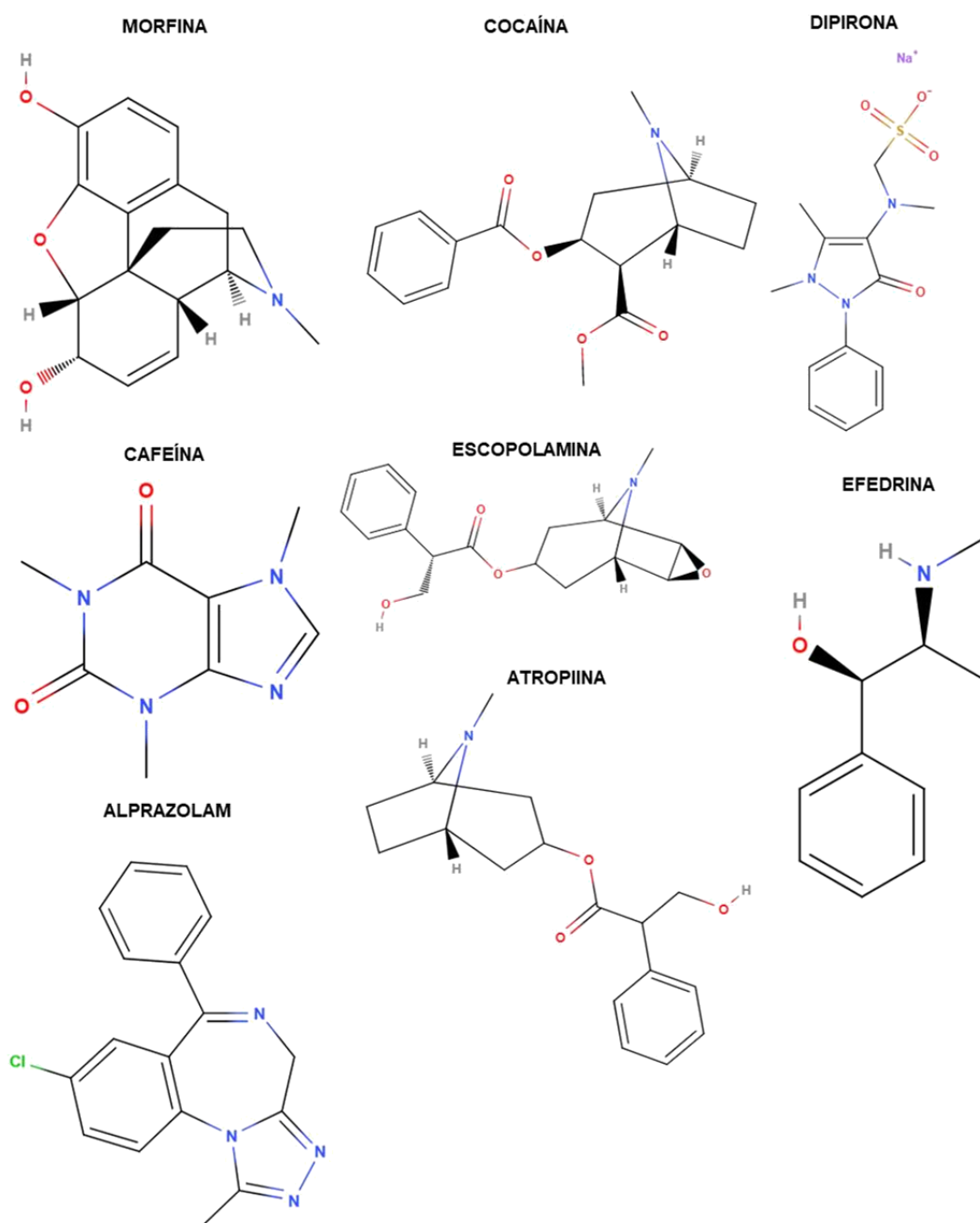
### 4.1 Avaliação dos reagentes colorimétricos com diferentes propriedades químicas para identificação de escopolamina e outros compostos

A escolha dos reagentes colorimétricos empregados no arranjo de sensores é o elemento chave para uma discriminação bem-sucedida entre analitos com propriedades químicas semelhantes. O desafio é selecionar o maior número possível de cromóforos quimiorresponsivos que possuem diferentes interações intermoleculares com o analito. Entre as opções de compostos químicos que podem ser usados como reagentes, os mais adequados para alcalóides são: (i) corantes contendo um centro reacional ácido / base de Lewis (por exemplo, metaloporfirina); (ii) corantes indicadores de pH / ácido / base de Brønsted (por exemplo, indicadores de pH); e (iii) reagentes específicos com base no mecanismo de reconhecimento de grupo funcional.

A presença das metaloporfirinas como sensor colorimétrico é bastante utilizada devido à sua capacidade de responder à basicidade de Lewis por meio de sítios de coordenação do metal localizado no centro da molécula e de fornecer um grande deslocamento espectral após a interação, resultando em uma descoloração ou mudança de cor (ASKIM, MAHMOUDI e SUSLICK, 2013). O mecanismo de interação entre uma metaloporfirina e um alcalóide pode ocorrer através do par de elétrons livres nos átomos de nitrogênio, caracterizando uma reação ácido-base de Lewis. Em relação à acidez, os valores de pKa das classes de alcalóides nitrogenados são geralmente diferentes, apesar da semelhança estrutural, Figura 12, variando de ~ 5 (alprazolam) a ~ 10 (cafeína) (LU, CHEN e ZHAN, 2007). Em decorrência disso, indicadores de pH que respondem às mudanças nesta faixa de pH também são reagentes promissores para compor o arranjo. Neste trabalho, os corantes selecionados foram (i) verde de bromocresol (pKa = 4,7) e (ii) alaranjando de metila (pKa = 4,4). O verde de bromocresol, além da propriedade de alterar a cor em função do pH, interage com nitrogênios protonados para formar complexos de pares de íons coloridos, o qual ocorre à mudança de cor em contato com o analito de interesse (GOUDA *et al.*, 2008). Em relação a reagentes específicos para a classe de alcalóides, o reagente de Dragendorff forma um produto laranja-avermelhado com aminas dependendo do número de substituintes (ou seja, aminas

primárias, secundárias ou terciárias) (DARSIGNY, LEBLANC-COUTURE e DESGAGNE-PENIX, 2018), enquanto um produto marrom ou azul aparece após a reação de alcalóides com o reagente iodoplatinado. Por fim, o teste Chen-Kao (ou seja, o reagente de Chen), um identificador narcótico não específico para fenilalquilaminas com grupos amino e hidroxil vicinais, também foi selecionado.

**Figura 12** - Estruturas químicas dos alcaloides estudados.



A Tabela 6 resume as respostas dos reagentes colorimétricos selecionados para identificação de escopolamina e de outros alcaloides com estruturas químicas

semelhantes. Como verificado, a resposta a um único reagente não é suficiente para a identificação seletiva de escopolamina, justificando assim a necessidade de se utilizar uma abordagem em que a resposta do analito a um arranjo de reagentes (sensores) é empregada.

**Tabela 6** - Resumo dos testes preliminares com padrões de drogas alcaloides.

	A <sub>3</sub>	B <sub>5</sub>	B <sub>6</sub>	D <sub>3</sub>	E <sub>3</sub>	D <sub>6</sub>
Escopolamina	+	+	+	+	+	+
Efedrina	+	+	+	-	-	+
Cafeína	+	+	-	-	+	+
Atropina	+	+	+	+	-	-
Cocaína	-	+	+	+	+	+
Dipirona	-	+	+	+	+	-
Morfina	-	+	-	+	+	-
Alprazolam	+	-	-	+	-	+

A<sub>3</sub> = ZnTPP; B<sub>5</sub> = Alaranjado de metila; B<sub>6</sub> = Verde de bromocresol; D<sub>3</sub> = Iodo platinado; E<sub>3</sub> = Dragendorff's; D<sub>6</sub> = Chen's. Reação positiva = +; Reação negativa = -.

Observa-se, portanto, que todos os reagentes selecionados testam positivamente somente para a escopolamina, o que indica que as outras substâncias não são interferentes a ela, uma vez que se diferem em alguma reação testando negativamente, alcançando nosso objetivo de ser seletivo a escopolamina. Além disso, denominamos cada reagente colorimétrico por códigos para facilitar a identificação na análise quanto no papel quanto nos softwares.

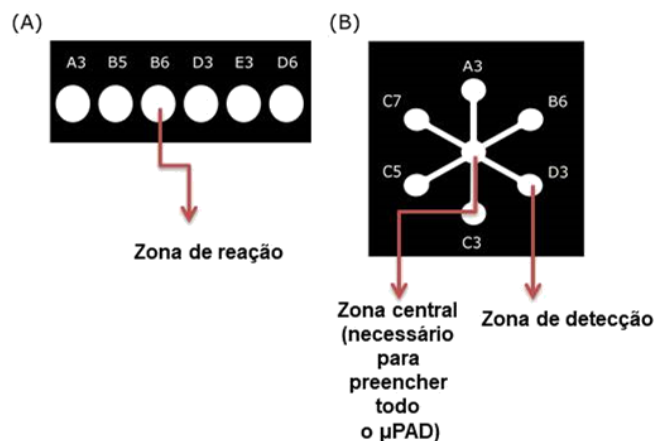
#### **4.2 Avaliação e otimização das condições operacionais do arranjo de sensores**

Uma vez que a resposta do sensor é baseada nas mudanças de cor dos reagentes impregnados na zona de reação do dispositivo analítico, é essencial avaliar e otimizar as condições operacionais para garantir que as diferenças das intensidades RGB de antes e depois da exposição sejam reproduzíveis e devido apenas à interação com os analitos. Geralmente, a falta de uniformidade de cor nas

zonas de detecção de dispositivos microfluídicos baseados em papel é um problema que pode comprometer a reprodutibilidade dos resultados. Estudos anteriores demonstraram que o melhor desempenho é obtido com o uso de materiais mais finos, como o papel de filtro grau 1 da Whatman, resultando em melhor uniformidade da cor gerada no substrato de celulose (DE FREITAS et al., 2018).

Inicialmente, otimizamos o volume necessário para preencher as zonas de detecção dos  $\mu$ PADs nos modelos A e B. Nesta otimização, utilizou-se o corante B<sub>6</sub> (Verde de bromocresol) em ambos os modelos. No modelo A, variou-se o volume adicionado em cada zona de reação de 2 a 8  $\mu$ L, em incrementos de 1  $\mu$ L. Com a otimização do volume, foi possível observar que a zona de reação do  $\mu$ PAD não é totalmente preenchida com a adição de volumes da ordem de 2 a 4  $\mu$ L e que o volume ideal para preenchimento da zona de reação do dispositivo foi de 5  $\mu$ L. Por outro lado, com a utilização de volumes maiores do que 5  $\mu$ L, observou-se que o corante começa a vazar da barreira hidrofóbica. O mesmo procedimento ocorreu com o modelo B, variou-se o volume adicionado em cada zona de detecção de 0,5 a 3  $\mu$ L, em incrementos de 0,5  $\mu$ L. Com a otimização do volume, foi possível observar que a zona de detecção do  $\mu$ PAD não é totalmente preenchida com a adição de volumes de 0,5 e 1  $\mu$ L e que o volume ideal para preenchimento da zona de detecção do dispositivo foi de 1,5  $\mu$ L. Por outro lado, com a utilização de volumes maiores do que 1,5  $\mu$ L observou-se que o corante começou a entrar no microcanal do dispositivo, gerando assim uma imprecisão na análise colorimétrica. Avaliamos também o volume adicionado na zona central, variando de 12 a 18  $\mu$ L, em incrementos de 1  $\mu$ L. Com a otimização do volume, foi possível observar que a zona central do  $\mu$ PAD não é totalmente preenchida com a adição de volumes da ordem de 12 a 15  $\mu$ L e que o volume ideal para preenchimento da zona de detecção do dispositivo foi de 16  $\mu$ L. Com valores acima de 16  $\mu$ L, observou-se que o corante começa a vazar da barreira hidrofóbica. Esta otimização foi de suma importância, uma vez que é necessário conhecer o volume ideal para confinar os reagentes nas zonas de detecção e com isso garantir maior confiabilidade na medida colorimétrica que será realizada pelo usuário através do software gráfico. A Figura 13 mostra os resultados obtidos nesta etapa de otimização de volume.

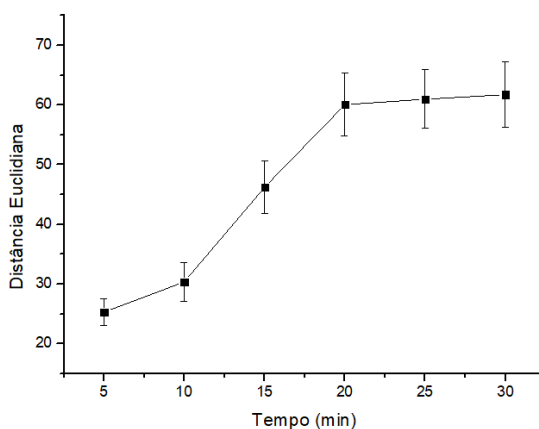
**Figura 13** - Otimização do volume necessário para preencher as zonas de detecção e central dos  $\mu$ PADs. Em (A) tem-se o dispositivo informando a zona de reação e em (B) tem-se o  $\mu$ PAD informando as zonas de detecção e central.



Um parâmetro importante a ser avaliado também é a evaporação do solvente após a impregnação do reagente, uma vez que diferentes condições de umidade do papel podem causar variações nos valores de RGB extraídos das imagens digitais devido ao brilho causado pela interação entre a luz e a superfície úmida do papel. Para avaliar o efeito da evaporação do solvente, 5  $\mu$ L de cada reagente foram impregnados nos spots circulares do  $\mu$ PAD modelo A e as imagens digitais foram obtidas imediatamente ( $t = 0$ ) e a cada 5 minutos até 30 minutos. Os parâmetros RGB para cada ponto foram extraídos e subtraídos do tempo zero. As distâncias euclidianas em função do tempo de evaporação foram plotadas. De acordo com a Figura 14, a resposta total do sensor alcançou uma estabilidade após 20 minutos, o que indica que umidade causada pelo solvente afeta a cor obtida do corante quando impregnado na superfície do papel. Por esta razão, as imagens digitais anteriores à exposição ao analito devem ser obtidas após 20 minutos de preparação do dispositivo baseado em papel, para que todo o solvente tenha sido evaporado.

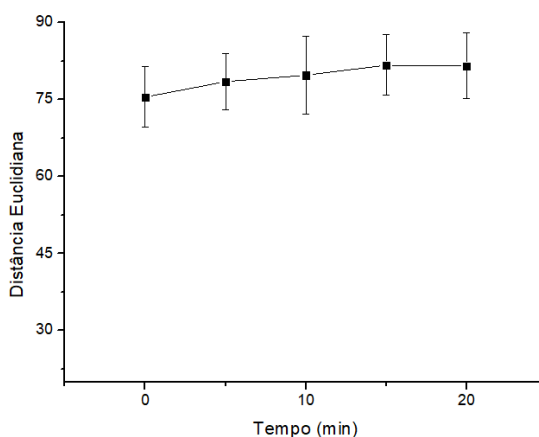


**Figura 14** - Avaliação da evaporação do solvente após a impregnação dos reagentes colorimétricos.



Outro ponto importantíssimo é avaliar o tempo de reação da escopolamina com os reagentes. Primeiramente, os reagentes foram impregnados nos pontos de detecção e uma imagem digital foi obtida após 20 minutos. Depois disso, 5  $\mu$ L de solução de escopolamina foram adicionados à cada spot e deixados para reagir com os reagentes. Este experimento foi realizado em quintuplicata. Após a adição, as imagens digitais foram obtidas a cada 5 minutos até 20 minutos. Os parâmetros RGB para cada reagente foram extraídos e subtraídos antes da exposição do analito, e a distância euclidiana foi calculada e plotada em função do tempo, conforme ilustrado na Figura 15.

**Figura 15** - Avaliação do tempo de reação da escopolamina.



Observando o comportamento da resposta, pode-se perceber que durante o tempo avaliado não houve mudança de cor significativa, demonstrando que todas as reações ocorreram completamente antes da aquisição da primeira imagem digital.

Como a distância euclidiana mudou em menor extensão, consideramos 10 minutos, um tempo ótimo para a secagem do papel em temperatura ambiente para assim a imagem ser escaneada, já que a variação da resposta não afetou de forma significativa os resultados experimentais.

#### **4.3 Avaliação das respostas do arranjo de sensores para escopolamina e diferentes alcaloides**

Para avaliar a resposta do arranjo de sensores colorimétricos, a média de variação de cor (ou seja, as respostas finais do sensor calculadas de acordo com o procedimento descrito na seção 3.2.2) resultante da reação a escopolamina e diferentes alcalóides foi usada para criar um mapa diferencial de cores representativo para cada analito. Essas alterações foram exibidas visualmente usando o software gráfico Inkscape. A mudança de cor expressa pelo modelo RGB raramente ocorre em toda a faixa de tonalidade de 8 bits (0–255), resultando em uma paleta de cores reduzida representada no mapa diferencial. Assim, para melhorar a visualização da cor no mapa diferencial, o intervalo da variação de cores exibido foi expandido de 0-32 (ou seja, 5 bits) para 0-255 (ou seja, 8 bits). Como pode ser visto na Figura 16, uma impressão digital única para escopolamina e cada alcalóide foi obtida, indicando que a abordagem baseada em arranjo de sensores colorimétricos permitiu a identificação visual pela produção de um padrão único de cada molécula.

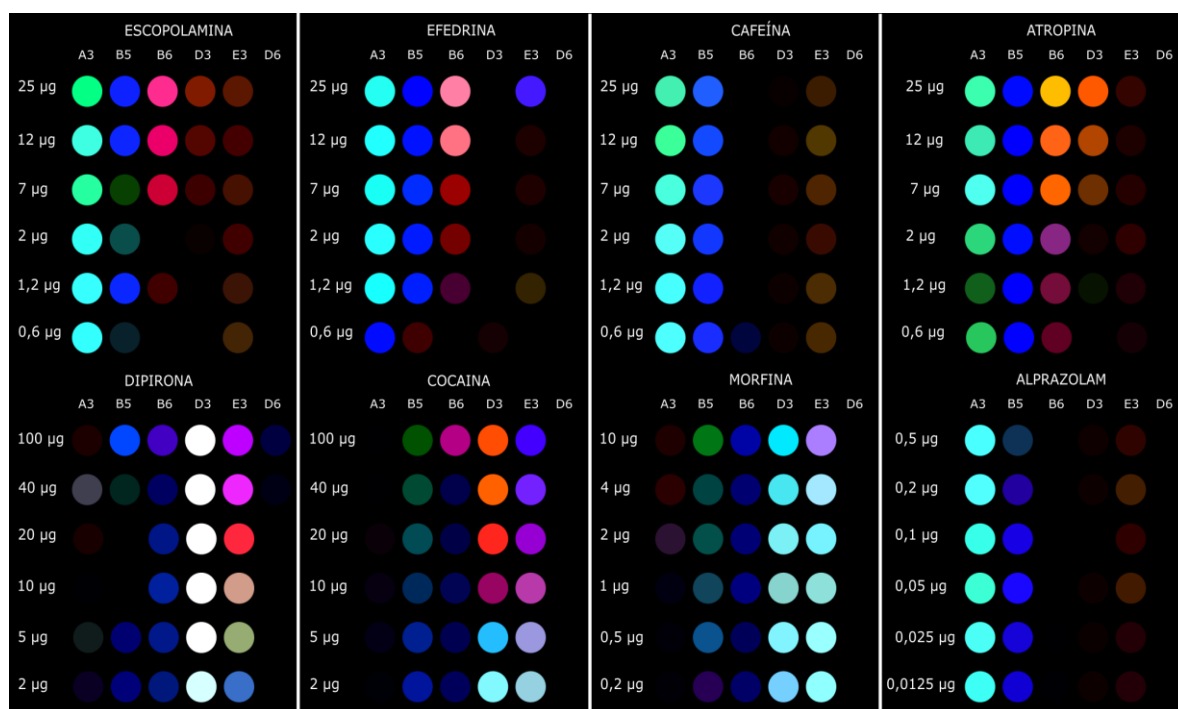
**Figura 16** - Mapa diferencial para escopolamina e os alcaloides avaliados.

	A3	B5	B6	D3	E3	D6
Escopolamina 25 µg						
Efedrina 25 µg						
Cafeína 25 µg						
Atropina 25 µg						
Cocaína 20 µg						
Dipirona 10 µg						
Morfina 10 µg						
Alprazolm 0,5 µg						

A<sub>3</sub> = ZnTPP; B<sub>5</sub> = Alaranjado de metila; B<sub>6</sub> = Verde de bromocresol; D<sub>3</sub> = Iodo platinado; E<sub>3</sub> = Dragendorff's; D<sub>6</sub> = Chen's.

A seguir, os mapas diferenciais de cores foram construídos para representar a resposta frente a diferentes quantidades dos alcalóides em estudo com base na intensidade da mudança de cor. Escopolamina, atropina, efedrina e cafeína foram avaliadas na faixa de 0,6–25 µg, enquanto a cocaína e dipirona foram apresentadas na faixa de 2–100 µg. As quantidades de morfina variaram de 0,2 a 10 µg e de alprazolam de 0,0125 a 0,5 µg. Vale a pena mencionar que mantivemos o volume constante e alteramos as concentrações dos alcalóides na aplicação no dispositivo. Conforme demonstrado na Figura 17, as mudanças de cor exibidas por cada alcalóide produziram mudanças perceptíveis na intensidade de acordo com a quantidade. Desse modo, a construção dos mapas diferenciais possibilitou a identificação da estrutura e quantidade do alcalóide investigado, fornecendo valiosas informações qualitativas e semiquantitativas sobre as moléculas estudadas.

**Figura 17** - Mapas diferenciais para cada alcalóide em diferentes quantidades.



A<sub>3</sub> = ZnTPP; B<sub>5</sub> = Alaranjado de metila; B<sub>6</sub> = Verde de bromocresol; D<sub>3</sub> = Iodo platinado; E<sub>3</sub> = Dragendorff's; D<sub>6</sub> = Chen's.

Após as análises dos mapas diferenciais, observa-se que o D<sub>6</sub> possui pouca influência.

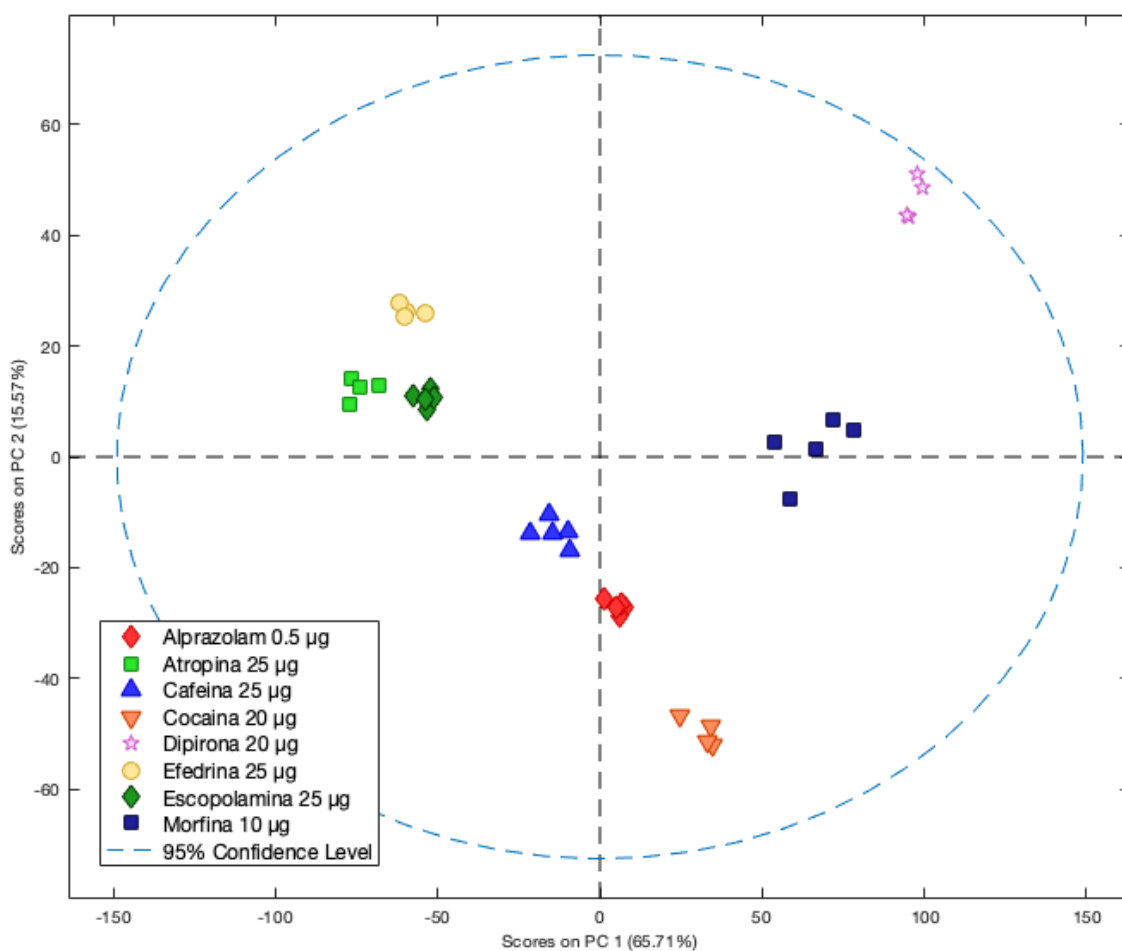
#### 4.4 Discriminação de escopolamina e alcalóides usando ferramentas quimiométricas

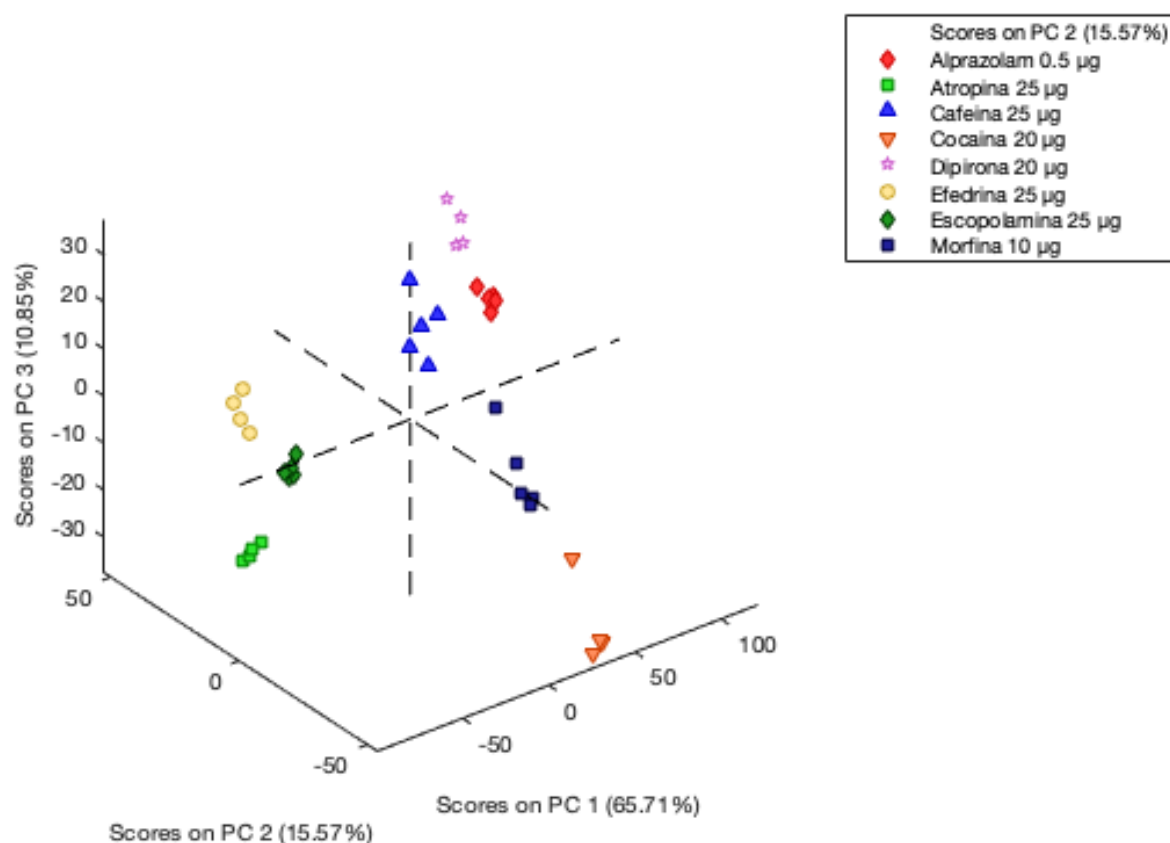
A capacidade do arranjo de sensores para discriminar escopolamina e outros alcalóides foi avaliada utilizando-se duas técnicas independentes não supervisionadas: análise de componente principal (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA), que foram aplicadas ao conjunto de dados gerado obtido por cada resposta final do sensor após 20 minutos de reação. As matrizes de dados construídas eram constituídas do analito (linhas) e a resposta para cada reagente (colunas) com os valores do delta RGB.

PCA é um método estatístico que tem sido normalmente aplicado para avaliar dados obtidos de arranjo de sensores, fornecendo informações úteis sobre a

resposta do sensor condensando um conjunto de dados multidimensionais e criando um novo com dimensionalidade reduzida usando combinações lineares das dimensões iniciais. Os intervalos analisados foram de 10 – 25 µg, devido à disponibilidade dos padrões de cada alcaloide. Os dois primeiros componentes principais gerados foram responsáveis por 81,28% da variância explicada total. Considerando a análise do gráfico de scores referente à PC1vsPC2, a maioria dos alcalóides foram agrupados em grupos distintos e bem definidos, indicando que apesar de não possuir variância maior que 90%, a separação pode ser considerada adequada. Além disso, a magnitude da variância total descrita por cada componente principal ao usar os reagentes colorimétricos selecionados pode estar relacionada ao tipo de contribuição de cada propriedade química explorada no arranjo. O mecanismo de reatividade dos alcalóides avaliados pode ser classificado por duas vias: (1) ataque nucleofílico pelo átomo de nitrogênio e (2) alteração do pH do meio. Por esse motivo, uma contribuição de variância significativa é alcançada apenas usando os dois primeiros componentes principais do gráfico de scores. Adicionalmente, podemos utilizar as três primeiras dimensões para expressar a separação das componentes principais. Dessa forma, a variância explicada total alcançada foi de 92,13%. As Figuras 18a e 18b mostram os gráficos de scores de PC1vsPC2 e PC1vsPC2vs PC3 para os alcalóides avaliados e suas respectivas quantidades.

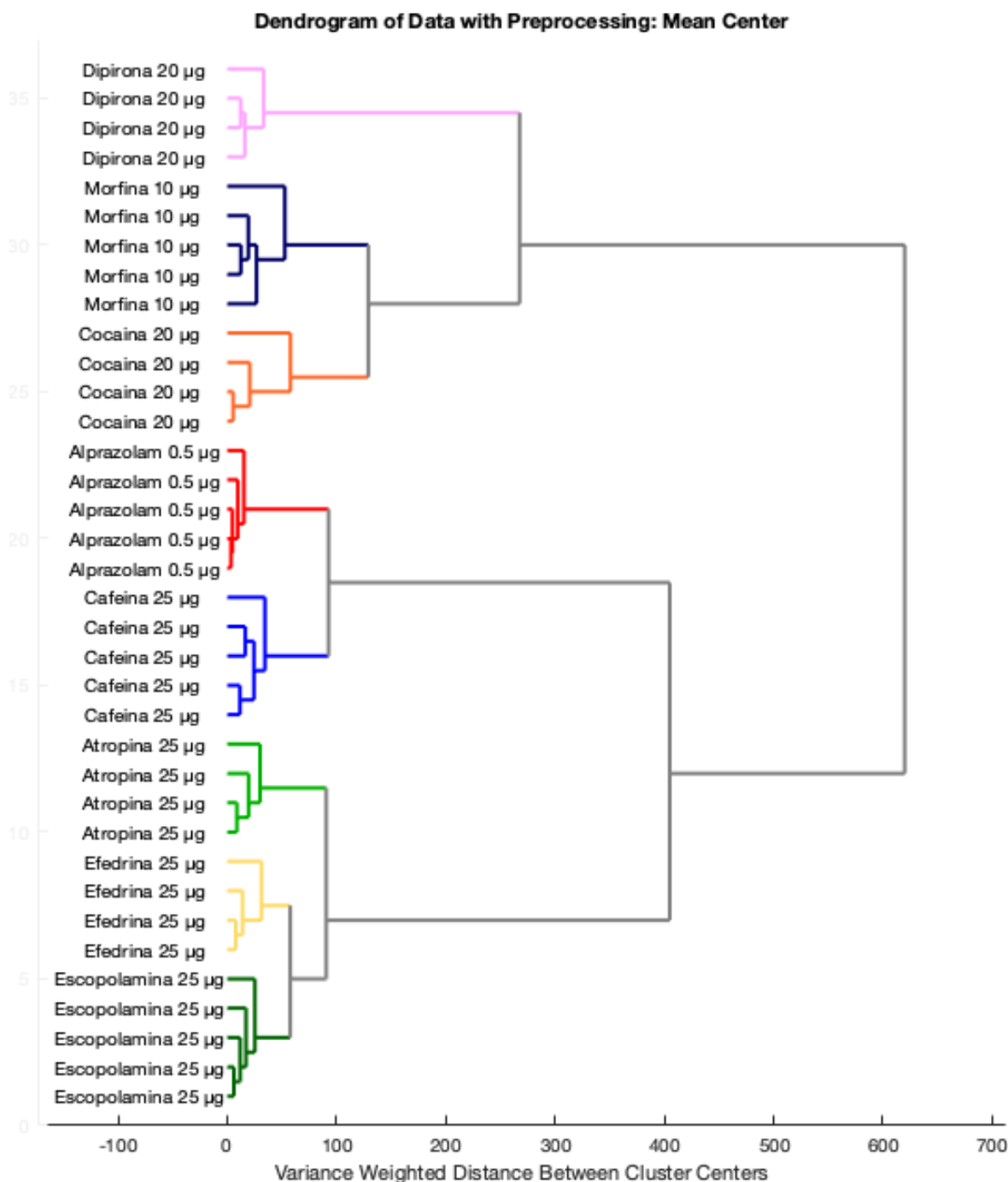
**Figura 18 – (a)** Gráfico de scores das duas componentes principais (PCA) e (b) das três componentes principais indicando a separação dos alcaloides avaliados e suas respectivas quantidades.





Os dendrogramas resultantes do experimento de HCA foram construídos a partir do mesmo conjunto de dados originado das respostas da matriz de sensores colorimétricos utilizados na PCA. O HCA fornece um método direto para exibir visualmente a similaridade entre as diferentes espécies químicas na forma de agrupamento em clusters. Além disso, a ligação entre os grupos expressa o grau de relacionamento entre os analitos. A HCA foi realizada usando a distância euclidiana simples com dados centrados na média, e os resultados revelaram o agrupamento de cada tipo de alcalóide em ramos distintos. Os dendrogramas são exibidos na Figura 19 e mostram oito grupos bem definidos pertencentes a cada alcalóide. Os resultados obtidos revelaram uma capacidade adequada para discriminar a escopolamina de outros tipos de alcaloides.

**Figura 19** - Dendrograma resultante da análise HCA referente aos padrões de alcaloides e suas respectivas concentrações.

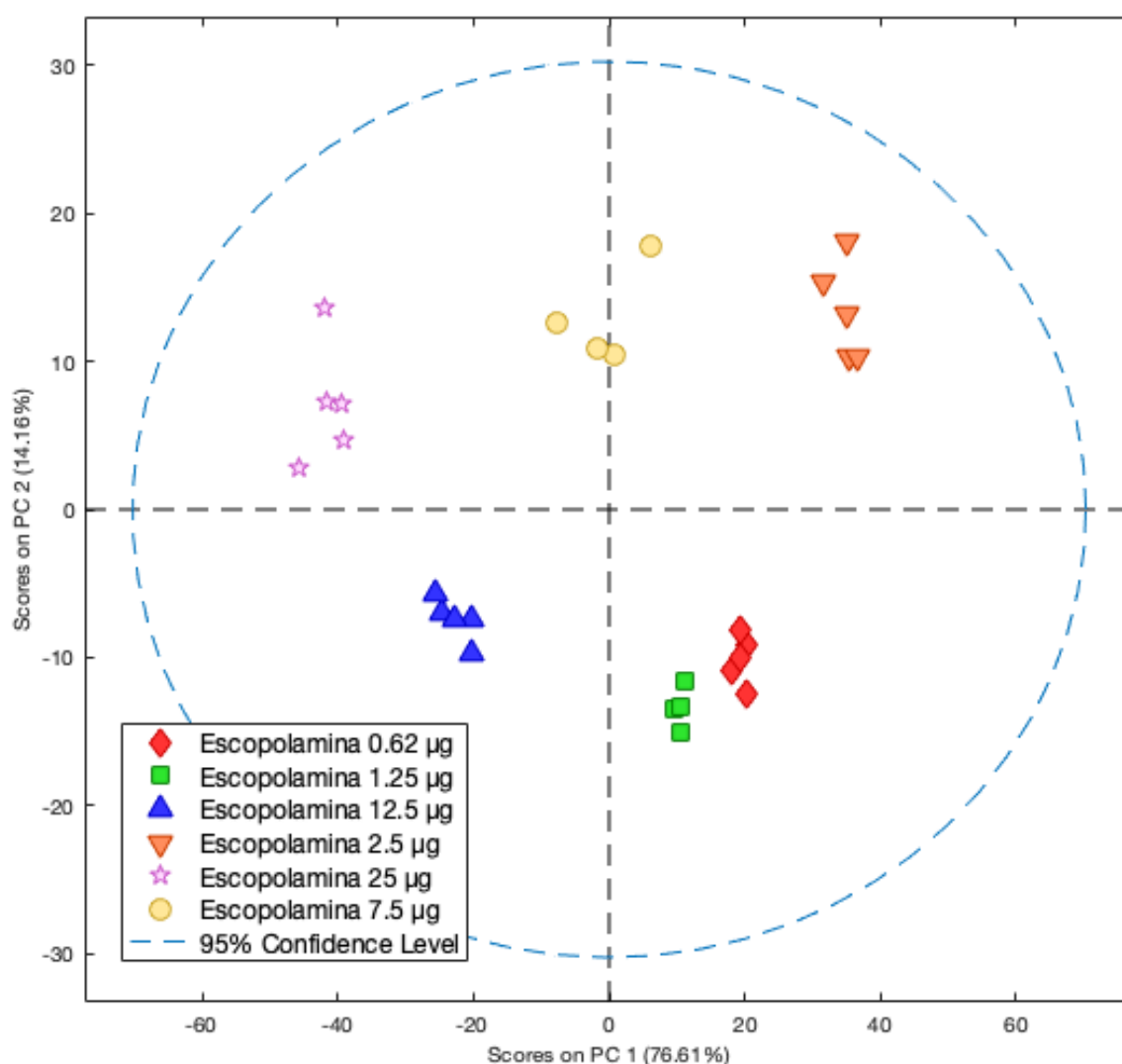


A seguir, foi avaliada a capacidade do arranjo de sensores em discriminar diferentes quantidades de escopolamina. A Figura 20 mostra o gráfico de scores de PCA a partir dos primeiros dois componentes principais com base nos dados de resposta do arranjo para análise de escopolamina em quantidades variando de 0,62



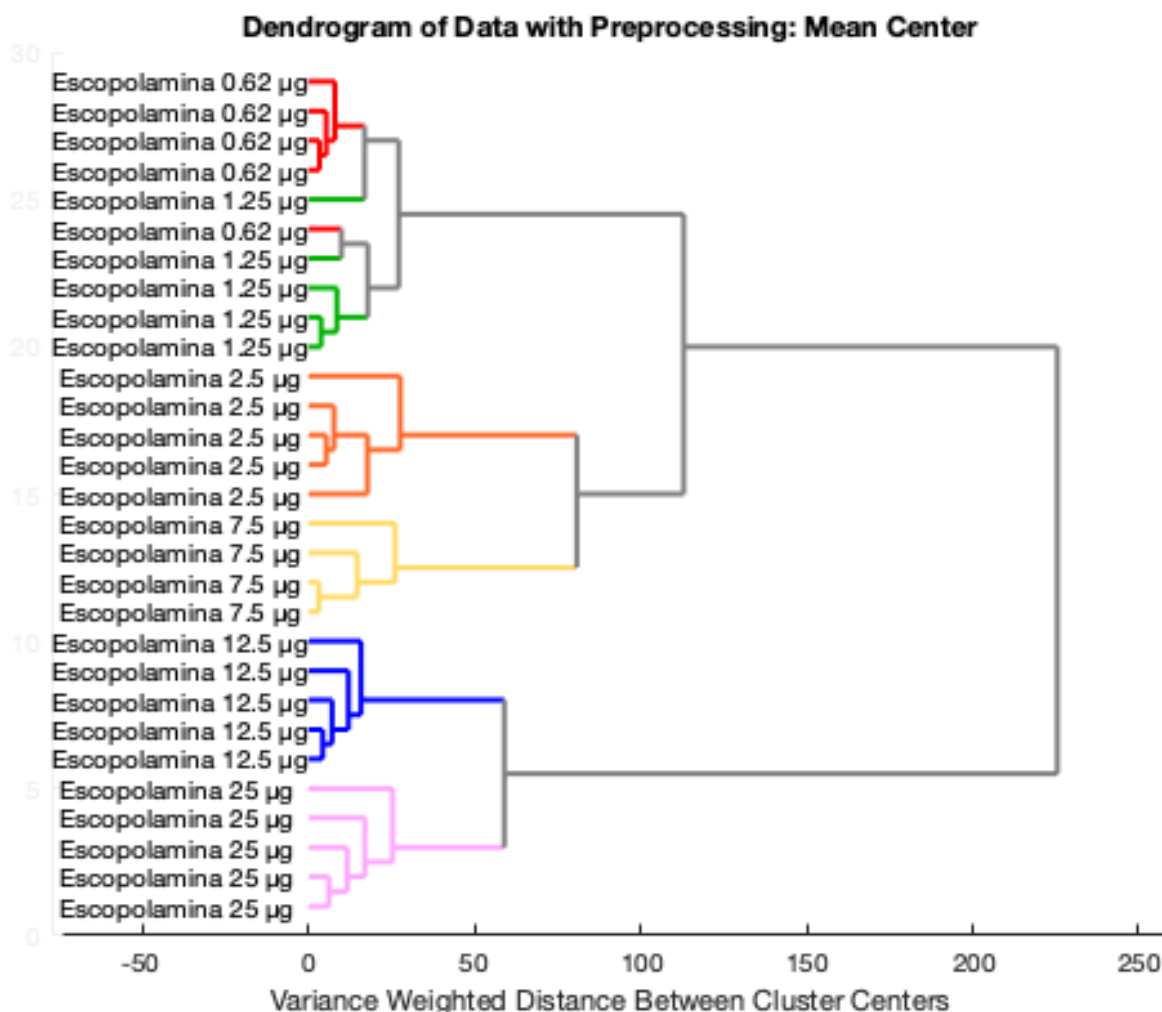
a 25,1  $\mu\text{g}$ . Conforme observado no gráfico, as amostras de diferentes concentrações de escopolamina foram discriminadas pelos dois componentes principais responsáveis por 91% da variância explicada total.

**Figura 20** - Gráficos de scores das componentes principais (PC1 e PC2) mostrando a separação bidimensional de diferentes quantidades de escopolamina. As duas dimensões mostradas captam 91% da variância total.



A HCA também foi realizada e os resultados revelaram o agrupamento de cada quantidade de escopolamina em ramos distintos. Os dendrogramas são exibidos na Figura 21 e mostram seis grupos bem definidos pertencentes a cada quantidade de escopolamina.

**Figura 21** - Dendrograma HCA da resposta do arranjo de sensores colorimétricos a quantidades diferentes de escopolamina.



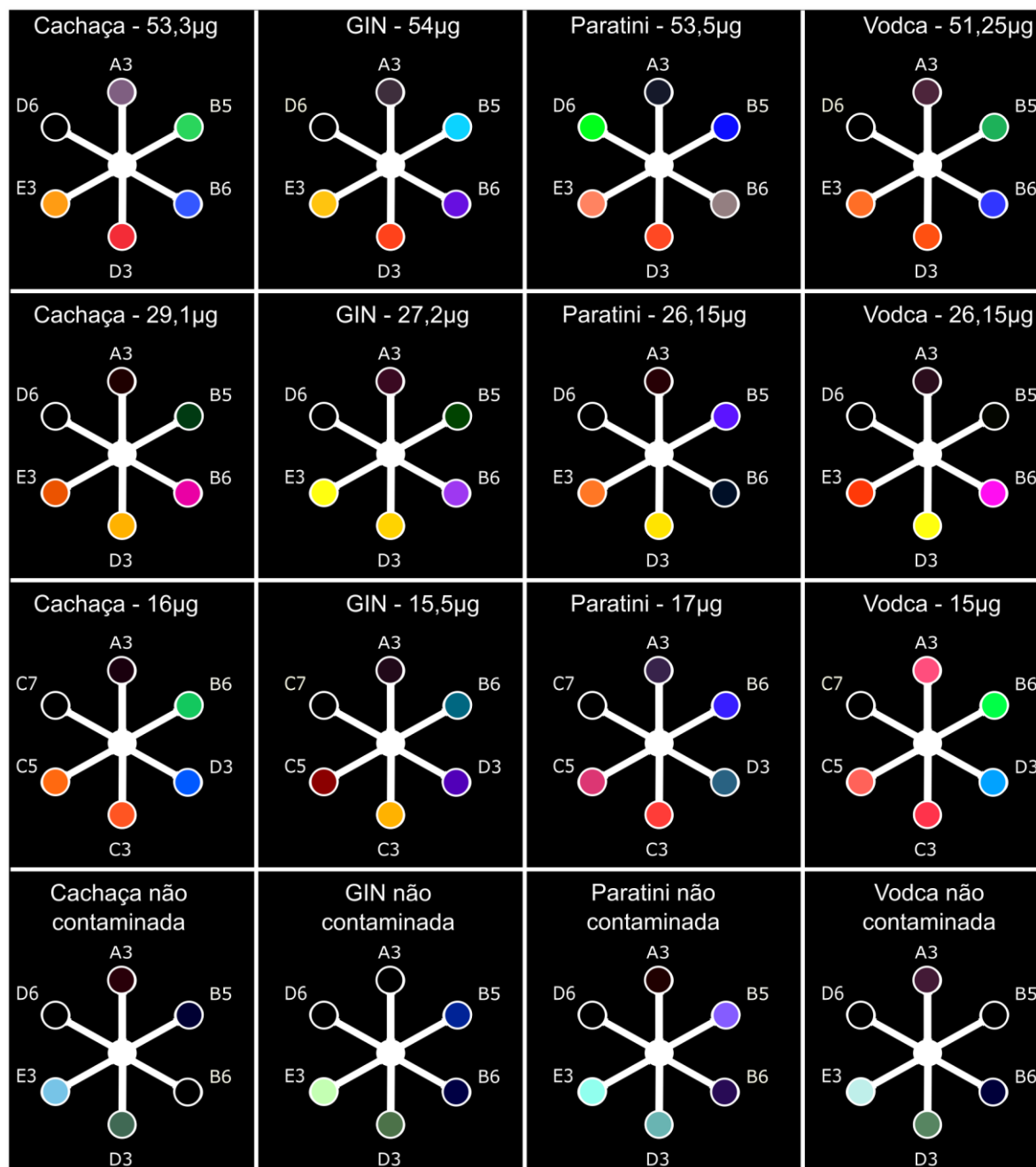
#### 4.5 Identificação *on site* de escopolamina em bebidas alcoólicas adulteradas

Como mencionado anteriormente, a escopolamina pode ser adicionada intencionalmente a bebidas para fins criminais, golpe conhecido como “Boa Noite Cinderela”. Após a ingestão, a vítima fica inconsciente e vulnerável, permitindo que o agressor se aproveite da situação. A SCP está normalmente disponível como um pó branco inodoro que, quando adicionado à bebida, pode causar um sabor levemente salgado, sendo dificilmente detectado pela vítima através do paladar. Por esse motivo, um dispositivo portátil que seja prático e responda rapidamente à presença de escopolamina nas bebidas alcoólicas é uma solução interessante para evitar que

ocorra a intoxicação por drogas de abuso. Dessa maneira, avaliamos a aplicabilidade do arranjo de sensores microfluídicos em papel utilizando outro design (descrito na seção experimental como Modelo B) – que foi batizado como língua optoeletrônica ( $\mu$ OPTO) - para identificação de escopolamina em quatro tipos de bebidas alcoólicas: gin, vodca, cachaça e paratini.

Nesse dispositivo ( $\mu$ OPTO), os reagentes eram adicionados às zonas de reação que eram conectadas com uma zona central onde a amostra era adicionada. Inicialmente, os mapas diferenciais de cores após a adição de diferentes bebidas contaminadas e não contaminadas com escopolamina foram construídos. Inicialmente, foram testados os arranjos feitos em padrão para as bebidas. Como pode ser visto na Figura 22, os mapas para as amostras contaminadas com escopolamina fornecem uma impressão digital diferente em comparação com as amostras não contaminadas. Esse resultado indica que o arranjo de sensores colorimétricos é efetivo em criar um perfil diferente para amostras que estão contaminadas com escopolamina daquelas que não possuem a droga. Ainda, o tempo de adição de amostra e análise é bastante rápido, podendo ser criado um perfil visual de cores para cada bebida em função de estar ou não contaminada.

**Figura 22** - Mapa diferencial de amostras contaminadas e não contaminadas com escopolamina utilizando o arranjo dos padrões.

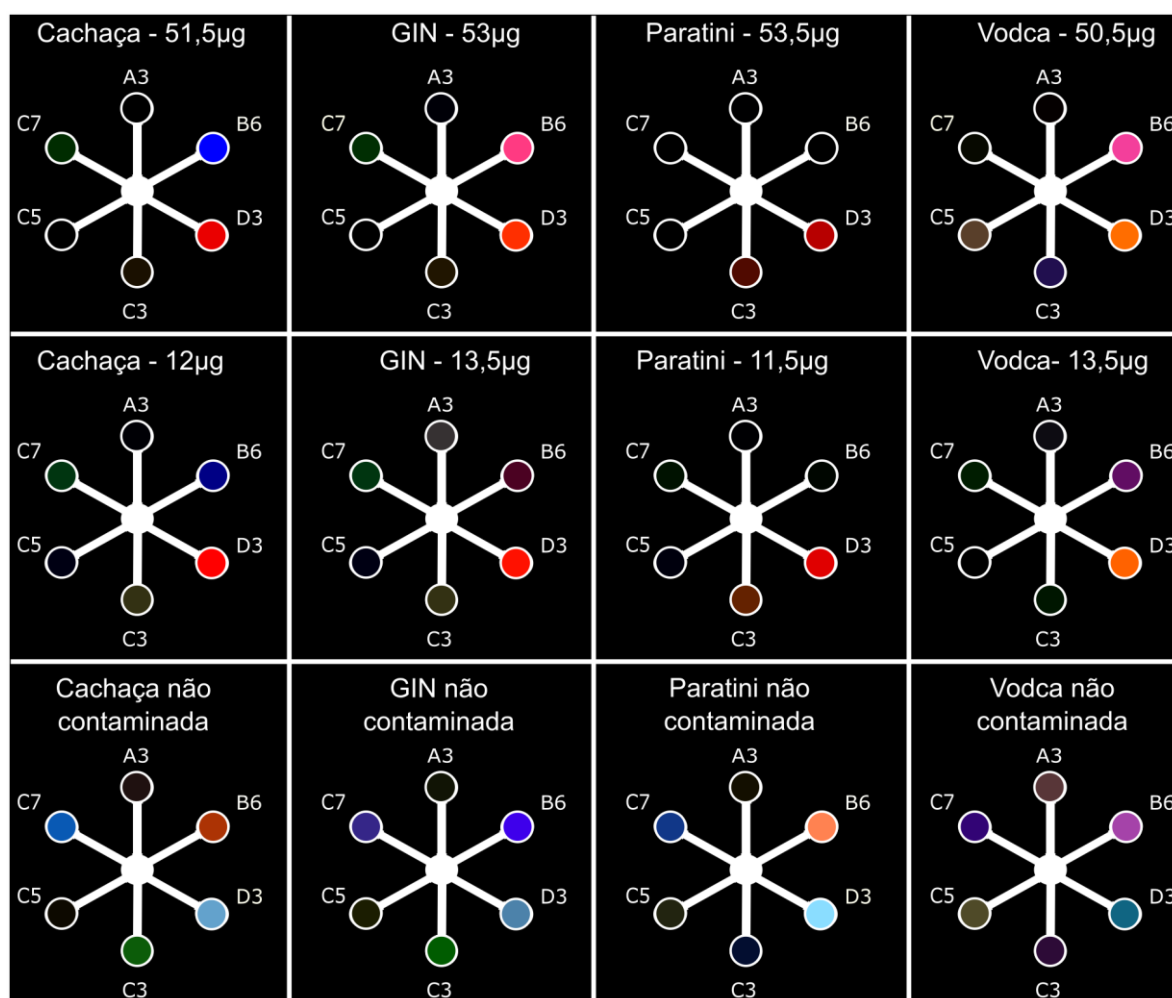


A<sub>3</sub> = ZnTPP; B<sub>5</sub> = Alaranjado de metila; B<sub>6</sub> = Verde de bromocresol; D<sub>3</sub> = Iodo platinado; E<sub>3</sub> = Dragendorff's; D<sub>6</sub> = Chen's.

A seguir, também foi testado outro arranjo para as bebidas, uma vez que o mapa diferencial da escopolamina em amostras reais de bebidas e os padrões dissolvidos em solução etanólica não são equivalentes, pois a reatividade dos corantes sofreu interferência dos constituintes de cada amostra. A ideia, portanto, foi substituir os reagentes (B<sub>5</sub> = Alaranjado de metila; E<sub>3</sub> = Dragendorff's e D<sub>6</sub> = Chen's) para os reagentes solvatocrômicos (C<sub>3</sub> = Vermelho Nilo; C<sub>5</sub> = Reichardt e C<sub>7</sub> = Eriocromiocyanin) para o novo arranjo diferenciar polaridades das amostras de

bebidas. Por exemplo, os constituintes das bebidas alcoólicas também podem produzir mudanças no pH do meio. Além disso, a reatividade da escopolamina pode ser diferente devido à existência de espécies protonadas e não protonadas em função da ionização diferencial do grupo amina em cada bebida. A figura 23 mostra os mapas para as amostras contaminadas com escopolamina e as amostras não contaminadas. Observa-se que este arranjo também fornece uma impressão digital diferente entre as amostras o que indica que o CSA é capaz de identificar pelo mapa diferencial as bebidas contaminadas e não contaminadas.

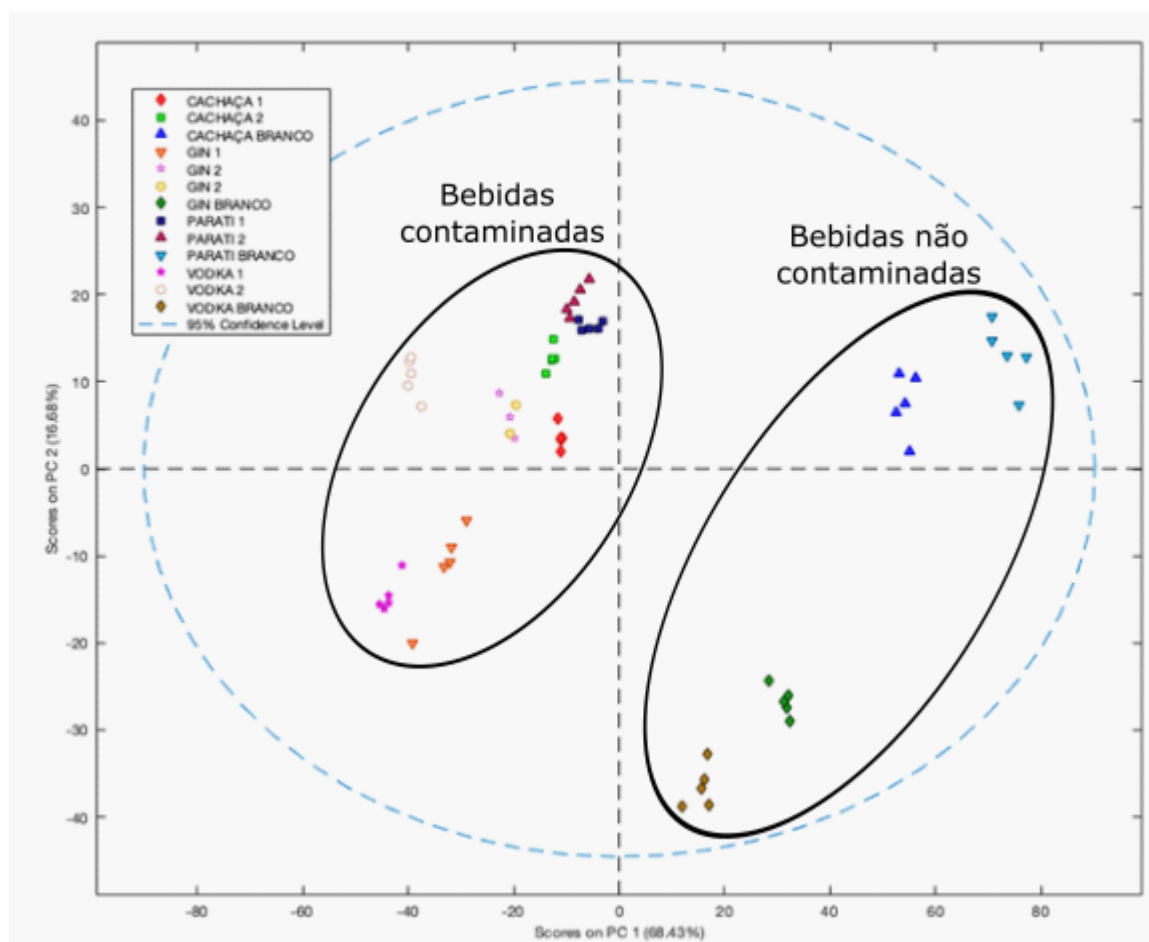
**Figura 23** - Mapa diferencial de amostras contaminadas e não contaminadas com escopolamina.



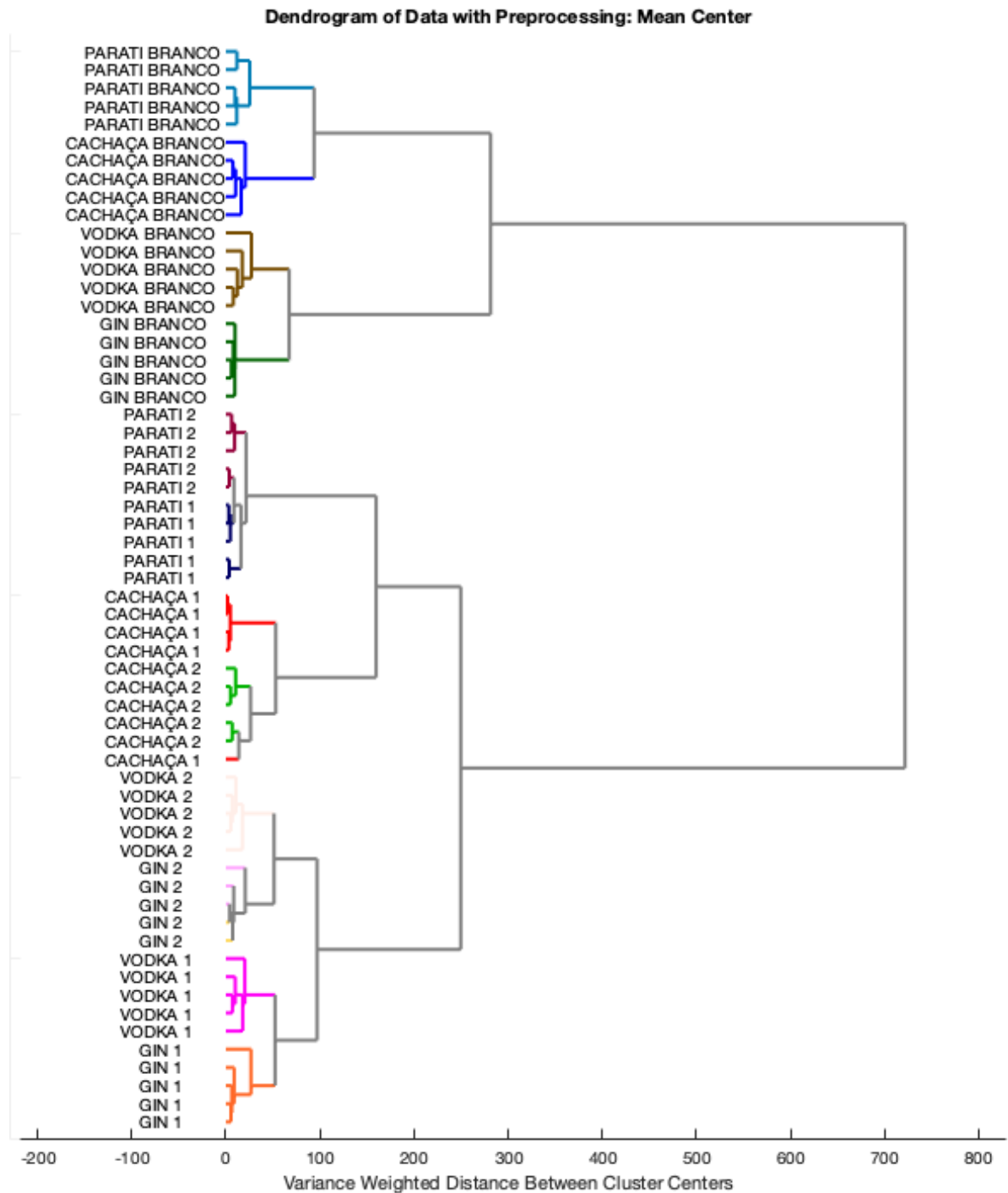
A<sub>3</sub> = ZnTPP; B<sub>6</sub> = Verde de bromocresol; D<sub>3</sub> = Iodo platinado; C<sub>3</sub> = Vermelho Nilo; C<sub>5</sub> = Reichardt; C<sub>7</sub> = Eriocromiocyannin.

Posteriormente, a análise de componentes principais foi realizada usando o conjunto de dados gerado de amostras contaminadas e não contaminadas. O gráfico de scores, Figura 24, dos dois primeiros componentes principais foi responsável por 85,33% da variância total. Além disso, os dendogramas da HCA, Figura 25, revelaram clusters bem definidos para cada tipo amostra. O mais importante e interessante é que se pode perceber claramente que se formam dois grandes e bem definidos clusters relacionados às bebidas contaminadas e não contaminadas, podendo ser utilizada como indicador se a bebida deve ser evitada ou não.

**Figura 24** - Gráficos de scores das duas primeiras componentes principais mostrando a separação bidimensional de amostras contaminadas e não contaminadas. As duas dimensões mostradas captam 85,33% da variância total.



**Figura 25** - Dendrograma HCA da resposta da  $\mu$ OPTO a amostras de bebidas contaminadas e não contaminadas.



## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente dissertação apresenta o desenvolvimento e aplicação de um arranjo de sensores colorimétricos baseado em dispositivo microfluídico em papel composto por 6 reagentes diferentes para identificar qualitativa e semiquantitativamente a substância escopolamina - uma droga abusiva - que pode ser encontrada em uma variedade de cenários, incluindo atividades criminosas em golpes conhecidos como “Boa Noite, Cinderela”. A capacidade de discriminação do arranjo de sensores colorimétricos foi avaliada na identificação de escopolamina e uma variedade de alcaloides, tais como cafeína, cocaína, dipirona, alprazolam, morfina, efedrina e atropina. O dispositivo foi aplicado a amostras de bebidas alcoólicas fortificadas com escopolamina e os resultados mostraram uma discriminação bem-sucedida entre bebidas contaminadas e não contaminadas.

Normalmente, testes colorimétricos semi-seletivos são empregados no local (*on site*) para detectar a presença de drogas, entretanto, há falta de seletividade nesses testes, levando a respostas errôneas ou inconclusivas. Aqui, combinamos a reatividade de seis diferentes reagentes colorimétricos impregnados em um dispositivo microfluídico baseado em papel para criar uma língua optoeletrônica - denominada de  $\mu$ OPTO – permitindo a reação simultânea com cada reagente após a injeção da amostra. As mudanças de cor medidas como parâmetros RGB foram usadas para criar impressões digitais exclusivas para cada analito e todas as amostras foram discriminadas usando ferramentas quimiométricas.

A  $\mu$ OPTO é descartável, fácil de preparar, de baixo custo e requer apenas um pequeno volume de reagente (1,5  $\mu$ L) e amostra (16  $\mu$ L). Além disso, pode ser facilmente adaptado para novos cenários de aplicação, aumentando ou diminuindo o número de reagentes. Demonstramos que o arranjo é altamente indicado em cenários onde a seletividade da abordagem reagente-e-analito não é adequada. O desenvolvimento de aplicativos móveis para smartphones capazes de realizar leituras simultâneas da intensidade da cor de múltiplos spots utilizando o modelo de cores RGB e até mesmo os resultados dos testes podem possibilitar a portabilidade total do nosso dispositivo.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASKIM, Jon R.; MAHMOUDI, Morteza; SUSLICK, Kenneth S. Optical sensor arrays for chemical sensing: the optoelectronic nose. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 22, p. 8649-8682, 2013.

<https://doi.org/10.1039/c3cs60179j>

ASKIM, Jon R. et al. An optoelectronic nose for identification of explosives. **Chemical Science**, v. 7, n. 1, p. 199-206, 2016.

<https://doi.org/10.1039/C5SC02632F>

BANDELIN, F. J. The colorimetric determination of various alkaloids. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 39, n. 9, p. 493-495, 1950.

<https://doi.org/10.1002/jps.3030390905>

BERNA, Amalia. Metal oxide sensors for electronic noses and their application to food analysis. **Sensors**, v. 10, n. 4, p. 3882-3910, 2010.

<https://doi.org/10.3390/s100403882>

BORGES, Walesca. “Droga zumbi” é a nova versão do golpe “Boa Noite, Cinderela”. **O Dia**, Rio de Janeiro, 14/02/2020. Disponível em: <<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjazJOCoPbuAhUUH7kGHcckB98QFjAPegQIDBAD&url=https%3A%2F%2Fodia.ig.com.br%2Frio-de-janeiro%2F2020%2F02%2F5868477--droga-zumbi--e-a-nova-versao-do-golpe--boa-noite--cinderela.html&usg=AOvVaw1ZLCqXlvsR3DqgLfFPpc8z>>. Acesso em: 19/02/2021.

BUSHDID, Caroline et al. Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli. **Science**, v. 343, n. 6177, p. 1370-1372, 2014.

<https://doi.org/10.1126/science.1249168>

CARDOSO, Djeifry Edmilson Barbosa Fernandes. **Aplicação de imagem digital ao Controle da Qualidade**. 2014. Tese de Doutorado.

CAREY, James R. et al. Rapid identification of bacteria with a disposable colorimetric sensing array. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 19, p. 7571-7576, 2011.

<https://doi.org/10.1021/ja201634d>

CARRILHO, Emanuel; MARTINEZ, Andres W.; WHITESIDES, George M. Understanding wax printing: a simple micropatterning process for paper-based microfluidics. **Analytical chemistry**, v. 81, n. 16, p. 7091-7095, 2009.

<https://doi.org/10.1021/ac901071p>

CHEN, Huaixia et al. Analysis of scopolamine and its eighteen metabolites in rat urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 67, n. 5, p. 984-991, 2005.

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.04.026>

CHERKAoui, Samir et al. Development and validation of a capillary zone electrophoresis method for the determination of atropine, homatropine and scopolamine in ophthalmic solutions. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 696, n. 2, p. 283-290, 1997.

[https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(97\)00255-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(97)00255-7)

CONRADO, Josiele Aparecida M. et al. Chemical QR Code: A simple and disposable paper-based optoelectronic nose for the identification of olive oil odor. **Food Chemistry**, v. 350, p. 129243, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129243>

CUNHA, Rafael R. et al. Fast determination of codeine, orphenadrine, promethazine, scopolamine, tramadol, and paracetamol in pharmaceutical formulations by capillary electrophoresis. **Journal of separation science**, v. 40, n. 8, p. 1815-1823, 2017.

<https://doi.org/10.1002/jssc.201601275>

DA COSTA OLIVEIRA, Thiago et al. Electrochemical portable method for on site screening of scopolamine in beverage and urine samples. **Electroanalysis**, v. 31, n. 3, p. 567-574, 2019.

<https://doi.org/10.1002/elan.201800707>

DARSIGNY, C.; LEBLANC-COUTURE, M.; DESGAGNE-PENIX, I. Forensic chemistry of alkaloids: presumptive color test. **Austin Journal of Forensic Science and Criminology**, v. 5, n. 1, p. 1074, 2018.

DEFRATES, Lynn J. et al. Antimuscarinic intoxication resulting from the ingestion of moonflower seeds. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 39, n. 1, p. 173-176, 2005.

<https://doi.org/10.1345/aph.1D536>

DE FREITAS, Soraia V. et al. Uncovering the formation of color gradients for glucose colorimetric assays on microfluidic paper-based analytical devices by mass spectrometry imaging. **Analytical chemistry**, v. 90, n. 20, p. 11949-11954, 2018.

<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b02384>

DIEHL, Katharine L.; ANSLYN, Eric V. Array sensing using optical methods for detection of chemical and biological hazards. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 22, p. 8596-8611, 2013.

<https://doi.org/10.1039/c3cs60136f>

DI NATALE, Corrado et al. Application of metalloporphyrins-based gas and liquid sensor arrays to the analysis of red wine. **Analytica Chimica Acta**, v. 513, n. 1, p. 49-56, 2004.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.11.017>

DUNGCHAI, Wijitar; CHAILAPAKUL, Orawon; HENRY, Charles S. A low-cost, simple, and rapid fabrication method for paper-based microfluidics using wax screen-printing. **Analyst**, v. 136, n. 1, p. 77-82, 2011.

<https://doi.org/10.1039/C0AN00406E>

EBERT, Ulrike et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of scopolamine after subcutaneous administration. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 38, n. 8, p. 720-726, 1998.

<https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1998.tb04812.x>

ERK, Nevin; ONUR, Feyyaz. Spectrophotometric simultaneous determination of analgin and hyoscine N-butyl bromide in sugar-coated tablets. **Analytical letters**, v. 29, n. 3, p. 369-380, 1996.

<https://doi.org/10.1080/00032719608000404>

FELDMAN, Joseph A.; ROBB, Bruce J. Colorimetric determination of atropine, homatropine, scopolamine, and their derivatives by the ferric hydroxamate method. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 59, n. 11, p. 1646-1647, 1970.

<https://doi.org/10.1002/jps.2600591121>

FERREIRA, Marcia Miguel Castro. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. Editora da UNICAMP, 2015.

<https://doi.org/10.7476/9788526814714>

GAMAL, Mohammed. Analytical review: analytical techniques for hyoscine N butyl bromide. **Analyst**, v. 145, n. 6, p. 2025-2037, 2020.

<https://doi.org/10.1039/D0AN00076K>

GEMPERLINE, Paul (Ed.). **Practical guide to chemometrics**. CRC press, 2006.

<https://doi.org/10.1201/9781420018301>

GONZALEZ, Rafael C.; WOODS, Richard E. **Processamento de imagens digitais**. Editora Blucher, 2000.

GOUDA, Ayman A. et al. Spectrophotometric determination of hyoscine butylbromide and famciclovir in pure form and in pharmaceutical formulations. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 70, n. 4, p. 785-792, 2008.

<https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.09.010>

HERNANDEZ, Edna Maria Miello et al. Manual de toxicologia clínica: orientações para assistência e vigilância das intoxicações agudas. In: **Manual de toxicologia clínica: orientações para assistência e vigilância das intoxicações agudas**. 2017. p. 475-475.

HU, Jie et al. Advances in paper-based point-of-care diagnostics. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 54, p. 585-597, 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.10.075>

IBRAHEEM, Noor A. et al. Understanding color models: a review. **ARPN Journal of science and technology**, v. 2, n. 3, p. 265-275, 2012.

JAKABOVÁ, Silvia et al. Determination of tropane alkaloids atropine and scopolamine by liquid chromatography–mass spectrometry in plant organs of *Datura* species. **Journal of Chromatography A**, v. 1232, p. 295-301, 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.02.036>

JALALI, Farzad; AFSHARI, Reza; BABAEI, Ali. Smoking crushed hyoscine/scopolamine tablets as drug abuse. **Substance use & misuse**, v. 49, n. 7, p. 793-797, 2014.

<https://doi.org/10.3109/10826084.2014.880178>

KOVARIK, Michelle L. et al. Micro total analysis systems for cell biology and biochemical assays. **Analytical chemistry**, v. 84, n. 2, p. 516-540, 2012.

<https://doi.org/10.1021/ac202611x>

LAUWERS, L. F. et al. Scopolamine intoxications. **Intensive care medicine**, v. 9, n. 5, p. 283-285, 1983.

<https://doi.org/10.1007/BF01691256>

LIM, Sung H. et al. Bacterial culture detection and identification in blood agar plates with an optoelectronic nose. **Analyst**, v. 141, n. 3, p. 918-925, 2016.

<https://doi.org/10.1039/C5AN01990G>

LI, Xin et al. Electronic-tongue colorimetric-sensor array for discrimination and quantitation of metal ions based on gold-nanoparticle aggregation. **Analytical chemistry**, v. 91, n. 9, p. 6315-6320, 2019.

<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01139>

LI, Zheng; ASKIM, Jon R.; SUSLICK, Kenneth S. The optoelectronic nose: colorimetric and fluorometric sensor arrays. **Chemical reviews**, v. 119, n. 1, p. 231-292, 2018.

<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00226>

LI, Zheng; SUSLICK, Kenneth S. Portable optoelectronic nose for monitoring meat freshness. **Acs Sensors**, v. 1, n. 11, p. 1330-1335, 2016.

<https://doi.org/10.1021/acssensors.6b00492>

LI, Zheng; SUSLICK, Kenneth S. A hand-held optoelectronic nose for the identification of liquors. **ACS sensors**, v. 3, n. 1, p. 121-127, 2018.

<https://doi.org/10.1021/acssensors.7b00709>

LU, Haiting; CHEN, Xi; ZHAN, Chang-Guo. First-principles calculation of p K a for cocaine, nicotine, neurotransmitters, and anilines in aqueous solution. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 111, n. 35, p. 10599-10605, 2007.

<https://doi.org/10.1021/jp072917r>

LUSTHOF, K. J. et al. Toxicological results in a fatal and two non-fatal cases of scopolamine-facilitated robberies. **Forensic science international**, v. 274, p. 79-82, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.01.024>

MAJCHRZAK, Tomasz et al. Electronic noses in classification and quality control of edible oils: A review. **Food Chemistry**, v. 246, p. 192-201, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.013>

MANIKANDAN, Venkatesh S.; ADHIKARI, BalRam; CHEN, Aicheng. Nanomaterial based electrochemical sensors for the safety and quality control of food and beverages. **Analyst**, v. 143, n. 19, p. 4537-4554, 2018.

<https://doi.org/10.1039/C8AN00497H>

MARRA, Mariana C. et al. Ultra-fast determination of scopolamine, orphenadrine, mepyramine, caffeine, dipyrone, and ascorbic acid by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 5, p. 913-919, 2014.

<https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140061>

MARTINEZ, Andres W. et al. Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. **Angewandte Chemie**, v. 119, n. 8, p. 1340-1342, 2007.

<https://doi.org/10.1002/ange.200603817>

NAMERA, Akira et al. Quantitative analysis of tropane alkaloids in biological materials by gas chromatography–mass spectrometry. **Forensic science international**, v. 130, n. 1, p. 34-43, 2002.

[https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(02\)00302-X](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(02)00302-X)

NIKAHD, Bahareh; KHALILZADEH, Mohammad A. Liquid phase determination of bisphenol A in food samples using novel nanostructure ionic liquid modified sensor. **Journal of Molecular Liquids**, v. 215, p. 253-257, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.12.003>

OERTEL, R. et al. Determination of scopolamine in human serum by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 682, n. 2, p. 259-264, 1996.

[https://doi.org/10.1016/0378-4347\(96\)00095-3](https://doi.org/10.1016/0378-4347(96)00095-3)

OERTEL, R. et al. Determination of scopolamine in human serum and microdialysis samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry.

**Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 750, n. 1, p. 121-128, 2001.

[https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)00433-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)00433-3)

OISHI, Akifumi; NAGATOMI, Yasushi; SUZUKI, Koji. Simultaneous LC-MS/MS Determination of 18 Plant Toxins in Beverages. **Shokuhin eiseigaku zasshi. Journal of the Food Hygienic Society of Japan**, v. 60, n. 4, p. 108-112, 2019.

<https://doi.org/10.3358/shokueishi.60.108>

SÁIZ, Jorge et al. Rapid determination of scopolamine in evidence of recreational and predatory use. **Science & Justice**, v. 53, n. 4, p. 409-414, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.scijus.2013.08.001>

SALINAS, Yolanda et al. Monitoring of chicken meat freshness by means of a colorimetric sensor array. **Analyst**, v. 137, n. 16, p. 3635-3643, 2012.

<https://doi.org/10.1039/c2an35211g>

SALINAS, Yolanda et al. A novel colorimetric sensor array for monitoring fresh pork sausages spoilage. **Food Control**, v. 35, n. 1, p. 166-176, 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.043>

SALLES, M. O. et al. Explosive colorimetric discrimination using a smartphone, paper device and chemometrical approach. **Analytical Methods**, v. 6, n. 7, p. 2047-2052, 2014.

<https://doi.org/10.1039/C3AY41727A>

SARGIN, Mehmet; ULUER, Mehmet Selçuk; AYDOĞAN, Eyüp. Hyoscine N-butylbromide for preventing propofol injection pain: a randomized, placebo-controlled and double-blind study. **Medical Principles and Practice**, v. 27, n. 1, p. 39-43, 2018.

<https://doi.org/10.1159/000486747>



STEENKAMP, P. A. et al. Fatal Datura poisoning: identification of atropine and scopolamine by high performance liquid chromatography/photodiode array/mass spectrometry. **Forensic Science International**, v. 145, n. 1, p. 31-39, 2004.

<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.03.011>

SUENAGA, Eunice Mayumi et al. A fast and sensitive UHPLC–MS/MS method for the determination of N-butylscopolamine in human plasma: application in a bioequivalence study. **Biomedical Chromatography**, v. 31, n. 3, p. e3823, 2017.

<https://doi.org/10.1002/bmc.3823>

TYTGAT, Guido N. Hyoscine butylbromide. **Drugs**, v. 67, n. 9, p. 1343-1357, 2007.

<https://doi.org/10.2165/00003495-200767090-00007>

VLASOV, Yuri; LEGIN, Andrey; RUDNITSKAYA, Alisa. Electronic tongues and their analytical application. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 373, n. 3, p. 136-146, 2002.

<https://doi.org/10.1007/s00216-002-1310-2>

WEN, Che-Yen; CHOU, Chun-Ming. Color image models and its applications to document examination. **Forensic Science Journal**, v. 3, n. 1, p. 23-32, 2004.

WHITESIDES, George M. The origins and the future of microfluidics. **Nature**, v. 442, n. 7101, p. 368-373, 2006.

<https://doi.org/10.1038/nature05058>

XIAO-WEI, Huang et al. Colorimetric sensor arrays based on chemo-responsive dyes for food odor visualization. **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p. 90-107, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.001>

XU, Lirong et al. A novel method for qualitative analysis of edible oil oxidation using an electronic nose. **Food chemistry**, v. 202, p. 229-235, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.144>

YANG, Yuanyuan et al. based microfluidic devices: Emerging themes and applications. **Analytical chemistry**, v. 89, n. 1, p. 71-91, 2017.

<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04581>

ZHANG, Chen; BAILEY, Daniel P.; SUSLICK, Kenneth S. Colorimetric sensor arrays for the analysis of beers: A feasibility study. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 14, p. 4925-4931, 2006.

<https://doi.org/10.1021/jf060110a>

ZHANG, Chen; SUSLICK, Kenneth S. Colorimetric sensor array for soft drink analysis. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 2, p. 237-242, 2007.

<https://doi.org/10.1021/jf0624695>

ZHANG, Yinan et al. Identification of pathogenic fungi with an optoelectronic nose. **Analyst**, v. 139, n. 8, p. 1922-1928, 2014.

<https://doi.org/10.1039/C3AN02112B>