



Dora Melucci, Dario Monti

Dipartimento di Chimica "G. Ciamician"

Università di Bologna

dora.melucci@unibo.it

Marcello D'Elia

Gabinetto Regionale di Polizia Scientifica

per l'Emilia-Romagna, Bologna

marcello.delia@poliziadistato.it

Giorgio Luciano

Dipartimento di Chimica e Tecnologie farmaceutiche ed alimentari

Università di Genova

luciano@dictfa.unige.it

ANALISI MULTIVARIATA DI DROGHE IN POLVERE

MEDIANTE SPETTROMETRIA NIR IN RIFLETTANZA

Lo scopo finale della ricerca metodologica di cui questo studio di fattibilità è parte iniziale è identificare e quantificare tutti i possibili componenti di campioni reali di droghe solide da strada utilizzando una tecnica analitica non alterativa, rapida, facile da utilizzare e portatile, facilmente fruibile, una volta validata, dalle forze dell'ordine.

Tra i crimini nel cui contrasto è maggiormente impegnata la Polizia di Stato vi sono quelli legati al traffico e allo spaccio di sostanze stupefacenti. Nel corso dell'anno 2007 le sostanze illegali sequestrate ed inviate per le analisi alla Polizia Scientifica di Bologna sono state per lo più i derivati della cannabis (marijuana+hashish, circa il 50% del totale), seguiti da cocaina (22%) ed eroina (21%). In questo contesto si colloca il progetto di ricerca sviluppato appunto in collaborazione con la Polizia Scientifica di Bologna e finalizzato allo sviluppo di una nuova metodologia analitica per l'analisi di sostanze d'abuso e da taglio presenti in campioni di droghe da strada. La tecnica analitica qui proposta è innovativa e promettente, se paragonata a quelle già consolidate che vengono largamente utilizzate in campo forense. Attualmente nelle indagini di polizia scientifica vengono utilizzate varie *tecniche cromatografiche* [1-3], come GC e HPLC, che sono estremamente affidabili, ma necessitano di un pretrattamento del campione, sono molto costose e richiedono tempi di analisi

molto lunghi; la *spettrometria di massa* è anch'essa molto affidabile ma distruttiva nei confronti del campione; gli *spettrometri FT* (a trasformata di Fourier) hanno un costo elevato e possono essere utilizzati solo in laboratorio in quanto trasportabili ma non propriamente portatili. Inoltre per tutte le tecniche di analisi appena citate è sempre necessaria una notevole competenza chimica da parte dell'operatore. Tutti questi aspetti negativi vengono ovviati dalla metodologia qui presentata, basata su uno *spettrometro NIR* a serie di diodi che lavora in riflettanza nell'intervallo spettrale compreso tra 900 nm e 1.700 nm. La limitatezza dell'intervallo spettrale è la ragione dell'economicità del metodo; ovviamente essa è anche fonte di svantaggi, in quanto questo spettrometro non lavora sulla zona spettrale tra 1.600 e 2.500 nm, che è proprio quella in corrispondenza della quale gli spettri hanno il massimo carattere di *fingerprint*: obiettivo del presente lavoro è dimostrare che anche un intervallo spettrale così limitato permette di ottenere utile informazione analitica.

Foto in alto - Un operatore della Polizia Scientifica intento a esaminare, mediante "luci forensi", le superfici della scena del crimine, con l'obiettivo di evidenziare le tracce più minute (per esempio frammenti di fibre) impiegabili come possibili fonti di prova

I campioni analizzati sono in fase solida (polveri), non è richiesto alcun pretrattamento chimico e i tempi di acquisizione di uno spettro sono estremamente brevi. Oltre ai vantaggi analitici, questa metodica presenta anche vantaggi puramente pratici: lo spettrofotometro NIR è, infatti, portatile grazie alle ridotte dimensioni e al peso inferiore ai 5 kg, poco costoso e accessibile anche a utenti con conoscenze chimico-analitiche scarse o nulle. Tali aspetti permettono di ipotizzare l'utilizzo di questa strumentazione direttamente "in situ" sul luogo del sequestro in modo del tutto indipendente da parte di un agente di polizia. Uno spettrofotometro NIR può essere interfacciato con un qualsiasi *computer portatile* sul quale viene registrato lo spettro. Tutti i vantaggi pratici appena elencati rendono la metodologia in questione particolarmente interessante e fruibile per coloro che eseguono un sopralluogo nell'ambito di indagini di Polizia: gli operatori, anche se privi di competenze scientifiche, sono in grado di esaminare possibili fonti di prova in modo tempestivo e del tutto non alternativo. La tempestività permette di dare estemporaneamente un'opportuna direzione al proseguimento delle indagini, senza necessità di attendere i referti di un laboratorio di analisi chimiche. La non alteratività permette, in eventuale sede processuale, di offrire al giudice una preziosissima opportunità: chiedere di ri-analizzare la fonte di prova tutte le volte che ciò può essere utile poiché tale fonte di prova non solo non è stata distrutta ma neppure minimamente alterata.

La natura *fingerprint* degli spettri registrati nel vicino infrarosso rende fondamentale il contributo della chemiometria all'elaborazione dei dati per analisi qualitative e quantitative [4]. Nel presente lavoro i dati sono stati elaborati per via chemiometrica mediante il diffuso software *The Unscrambler*® (CAMO).

La cocaina è tra le droghe in polvere sequestrate più di frequente dalle forze di polizia nella città di Bologna: per questa ragione lo studio della nuova metodologia si è sviluppato sull'analisi di questo principio attivo. Nel presente lavoro preliminare è stata considerata una sostanza che potesse fungere da simulatore del principio attivo reale. È stata scelta la *scopolamina* come simulatore della cocaina in quanto nel vicino infrarosso essa presenta una struttura e uno spettro simili a quelli della cocaina, ma a differenza di questa non è "tabellata" ovvero non è posta sotto il controllo del *Ministero della Salute*: ciò la rende più facilmente reperibile. Il simulatore presenta inoltre un costo molto inferiore al principio attivo reale e questo aspetto non deve essere ignorato quando si vuole verificare la fattibilità di un metodo: quando il lavoro di ricerca è stato iniziato, non era possibile prevedere neanche se si sarebbe osservato un qualche segnale analitico che presentasse un qualche *intervallo dinamico*.

È stata seguita un'opportuna progettazione sperimentale, di tipo *D-optimal experimental design*, che ha delineato un *Training Set*, utilizzato per la costruzione del modello attraverso la regressione ai minimi quadrati parziali (Partial Least Square Regression, PLSR), ed un *Evaluation* (o *Test*) Set, utilizzato per validare il modello stesso. Le composizioni degli standard sono state definite per via chemiometrica e riflettono la composizione dei campioni reali sequestrati in strada.

Materiali e Metodi

Preparazione dei campioni

Tutti i campioni sono stati ottenuti pesando le sostanze pure e mescolando queste tra loro nelle proporzioni indicate dalla progettazione sperimentale. Tutti i componenti delle miscele variavano la loro concentrazione in un intervallo compreso tra 0 e 100%_{P/P}. Per le pesate è stata utilizzata una bilancia analitica con lettura minima 10⁻⁵ g (Model SBC21, SCALTEC, Germania). I componenti di ciascuna miscela venivano miscelati in un mortaio per alcuni minuti allo scopo di rendere il campione il più omogeneo possibile sia dal punto di vista chimico che fisico. Lo standard ottenuto veniva poi trasferito in un flaconcino di vetro scuro all'interno del quale veniva introdotta la sonda NIR per la registrazione dello spettro in riflettanza.

Il progetto sperimentale relativo alla scopolamina prevedeva un totale di 40 campioni, rispettivamente suddivisi in un *Training Set* (21 oggetti) ed un *Test Set* (19 oggetti). I componenti di tali campioni erano: scopolamina (simulatore del principio attivo cocaina), lidocaina e fenacetina (sostanze da taglio *adulteranti* che comunemente accompagnano i campioni reali di cocaina e che a loro volta interagiscono con l'organismo) e manitolo (zucchero utilizzato sia come *taglio diluente* del principio attivo stupefacente che per aumentare la quantità di sostanza vendibile). Tutti i reagenti utilizzati sono stati acquistati da Sigma (S. Louis, MO, USA).

Strumentazione NIR [5]

Il funzionamento di questa strumentazione (Fig. 1) è estremamente semplice e sono sufficienti solo pochi secondi per la registrazione di uno spettro. La radiazione NIR attraverso una fibra ottica coassiale (d = 400 µm) giunge alla sonda terminale posta all'interno di un flacone, a contatto diretto con la miscela in polvere da analizzare. In seguito alla riflessione la radiazione rientra nella sonda portando con sé le informazioni relative al campione analizzato e, grazie alla presenza di uno snodo a Y, giunge al rivelatore. Il diametro terminale della sonda era il medesimo del flaconcino (6 mm), il che garantiva una buona riproducibilità dell'assetto geometrico durante le misure.

La massa totale di ciascun campione era di 0,05 g; questa scelta è fondata su uno studio preliminare finalizzato ad individuare la quantità mini-

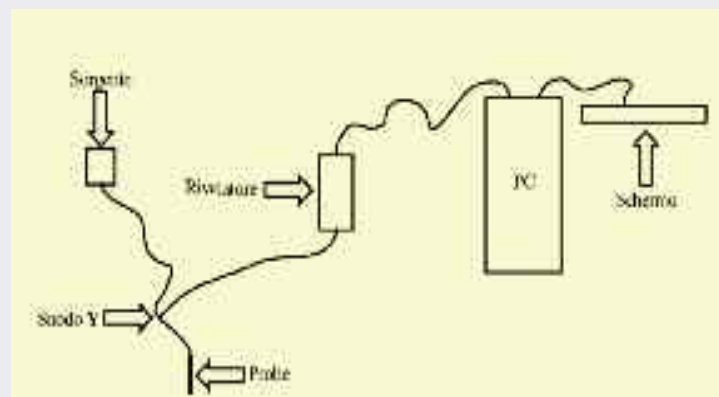


Fig. 1 - Rappresentazione schematica della strumentazione NIR utilizzata

ma di sostanza che fornisca uno spettro ripetibile mantenendo costante la composizione dello standard analizzato. Si possono ottenere spettri non significativamente diversi tra loro (valutando la ripetibilità mediante un *t*-test sul massimo dei picchi principali) anche con campioni di 0,02 g; tuttavia, considerando standard aventi massa più che doppia rispetto a questo limite si riducono notevolmente le possibilità di errore.

Seguono dettagli strumentali:

- *sorgente NIR*. Modello SL1 con lampada a tungsteno e kripton ed emissione spettrale UV-Vis-NIR (StellarNet, Tampa, Florida), sufficientemente intensa da permettere misure di assorbanza apparente $A = \log(P_0/P_R)$, dove P_0 corrisponde all'intensità di luce riflessa da uno standard di riferimento e P_R all'intensità di luce riflessa dal campione analizzato;
- *rivelatore a serie di diodi*. Modello EPP2000-NIR-InGaAs (StellarNet) a 512 diodi con intervallo di acquisizione da 900 nm a 1700 nm. Risoluzione ottica pari a 3,1 nm con una slit di 25 μ m. Tempo di integrazione = 90 ms;
- *fibra ottica*. Modello SMA 905 con un diametro di 400 μ m collegata ad una sonda (probe) terminale del diametro esterno di 6 mm;
- *computer*. Sistema operativo Windows XP compatibile con il software proprietario SpectraWiz (StellarNet) specifico per la strumentazione descritta;
- *cavo USB*. Modello USB2EPP necessario per interfacciare il rivelatore a fotodiodi al computer attraverso una porta USB-2.

Prima dell'acquisizione dello spettro è necessario eseguire a sorgente spenta il *dark zero*, ovvero registrare il segnale che il rivelatore considera come buio. In secondo luogo viene registrato il segnale di uno standard riflettente (P_0), che nel lavoro sperimentale qui descritto è una piastrina di BaSO_4 (StellarNet, model OPRSF5.5C).

Metodi chemiometrici: pretrattamento dei dati, progettazione sperimentale e PLSR

Gli spettri ottenuti sono stati tutti pretrattati attraverso il metodo SNV (Standard Normal Variate) grazie al quale ogni spettro viene normalizzato, ovvero scalato utilizzando coefficienti propri dello spettro stesso. Per ogni spettro vengono calcolate la media $\bar{A}$ e la deviazione standard $s_{\bar{A}}$ delle *n* misure di assorbanza corrispondenti alle *n* lunghezze d'onda esplorate dal rivelatore. I valori di assorbanza *A* vengono trasformati in $(A - \bar{A})/s_{\bar{A}}$. Questa operazione di normalizzazione ha lo scopo di ovviare alla scarsa ripetibilità del cammino ottico all'interno del campione, che dipende dalla dimensione e dall'impaccamento delle particelle costituenti il campione, e dipende non di meno dalla geometria della strumentazione in fase di analisi (ad esempio la distanza e l'angolazione della sonda rispetto alla superficie della polvere).

La scelta degli oggetti costituenti *Training Set* e *Test Set*, ovvero il progetto sperimentale, è stata effettuata attraverso un *D-Optimal Design* [6].

La regressione PLS è una generalizzazione della regressione multipla (MLR) [7] ed è di particolare interesse in quanto permette di analizzare dati caratterizzati da forte rumore e numerose variabili *X* fortemente correlate tra loro, e considerare contemporaneamente diverse variabili di risposta *Y*. La PLSR è un metodo di regressione utilizzato per la costruzione di un modello bilineare dove dall'informazione originale (matrice *X* dei predittori), vengono estratte alcune *variabili latenti*, dette componenti principali (PC). Per il calcolo delle variabili latenti vengono utilizzati i dati contenuti in *Y*, sottomatrice delle risposte, garantendo che le prime componenti calcolate siano le più significative per la predizione delle risposte stesse. La regressione ai minimi quadrati parziali consente di ottenere un'elevata stabilità del modello, che risulta quindi utilizzabile sia quando il rapporto tra oggetti e variabili è inferiore a uno, sia in presenza di variabili molto correlate tra loro, sia in presenza di più risposte. Tutte queste caratteristiche sono, in effetti, presenti nel problema analitico qui studiato: uno spettro corrisponde alla lettura di assorbanza per qualche centinaio di valori di lunghezza d'onda (numerosi variabili) laddove gli *standard* sottoposti a misura sono qualche decina; una banda di assorbimento corrisponde a letture di assorbanza fortemente correlate; infine le miscele solide analizzate contengono sempre diversi componenti. Il metodo di regressione PLS permette la costruzione di un unico modello per tutte le lunghezze d'onda e non tanti modelli quante sono le lunghezze d'onda stesse. I risultati dei metodi di proiezione come la regressione PLS dipendono dalla scalatura dei dati: se questa viene eseguita nella maniera appropriata, si può focalizzare il modello sulle variabili *Y* più importanti e usare l'esperienza per dare maggiore peso alle variabili *X*, che sono portatrici del più alto numero di informazioni. In letteratura sono riportate le basi scientifiche dell'utilizzo della normalizzazione come pretrattamento di dati spettroscopici e la sua larga applicazione in questo campo [8 e riferimenti interni]. Generalmente, non vengono applicate a dati spettroscopici metodologie di autoscalatura inter-oggetti in quanto possono aumentare il rumore relativo a lunghezze d'onda di scarsa rilevanza [9]; al contrario, autoscalature intra-oggetto, come la SNV, risultano spesso necessarie [8].



Due tipici reperti di droghe da sequestro: a) pasticche di MDMA (ecstasy) e b) eroina in panetto all'atto dell'apertura dell'involucro

Tab. 1 - Composizione delle miscele costituenti il *Training Set*

Miscela	Scopolamina (%P/P)	Lidocaina (%P/P)	Fenacetina (%P/P)	Mannitolo (%P/P)
21	100	0,00	0,00	0,00
10	14,7	34,5	19,9	30,9
16	44,9	0,00	55,1	0,00
8	0,00	49,8	50,2	0,00
6	0,00	45,0	55,0	0,00
4	0,00	0,0	100	0,00
14	35,1	0,00	35,0	29,9
13	30,0	35,0	35,0	0,00
1	0,00	0,00	0,00	100
3	0,00	0,00	50,0	50,0
7	0,00	50,0	0,00	50,0
2	0,00	0,00	45,0	55,0
19	50,1	0,00	49,9	0,00
11	30,0	14,9	30,2	24,9
12	30,1	35,0	0,00	34,9
17	45,0	55,0	0,00	0,00
15	35,0	30,0	0,00	34,97
18	49,9	0,00	0,00	50,1
20	50,9	49,1	0,00	0,00
9	0,00	100	0,00	0,00
5	0,00	30,0	35,0	35,0

Tab. 2 - Composizione delle miscele costituenti il *Test Set*

Miscela	Scopolamina (%P/P)	Lidocaina (%P/P)	Fenacetina (%P/P)	Mannitolo (%P/P)
36	0,00	40,1	39,9	20,0
26	0,00	79,8	20,2	0,00
25	0,00	0,00	80,1	19,9
38	80,0	0,00	5,03	14,9
33	50,0	30,0	20,0	0,00
35	40,0	35,0	20,0	4,97
22	79,8	0,00	10,1	10,1
29	80,1	0,00	0,00	19,9
40	0,00	0,00	40,0	60,0
39	0,00	80,1	0,00	19,9
32	75,0	20,0	4,98	0,00
23	0,00	80,0	15,1	4,97
31	0,00	80,0	10,1	10,0
27	0,00	5,03	74,9	20,1
34	75,1	24,9	0,00	0,00
30	0,00	55,0	4,94	40,1
37	10,0	70,0	20,0	0,00
28	4,95	0,00	50,0	45,0
24	0,00	0,00	85,0	15,0

Risultati e Discussione

Progettazione sperimentale

Le miscele previste dal progetto sperimentale sono state preparate seguendo il procedimento citato in precedenza. In Tab. 1 e 2 si riporta la composizione delle miscele standard facenti rispettivamente parte di *Training Set* (21 oggetti) e *Test Set* (19 oggetti).

Tutti i campioni sono stati preparati ed analizzati nell'ordine in cui compaiono nelle Tab. 1 e 2, ottenuto attraverso la funzione RANDOM di Microsoft ExcelTM.

Spettri NIR per la costruzione di un modello PLSR

In Fig. 2 sono riportati sia gli spettri NIR originali (non pre-trattati) che gli spettri NIR pre-trattati mediante SNV nel caso del *Training Set*. Gli analoghi spettri del *Test Set* non sono riportati; essi presentano andamenti confrontabili rispetto al *Training Set*.

Modello PLSR tetracomponente

Per la costruzione del modello di regressione PLS è stato utilizzato "The Unscrambler" (CAMO), *software* commerciale che offre all'utente numerosi strumenti per l'elaborazione chemiometrica e statistica dei dati. Gli spettri relativi a ciascun oggetto del progetto sperimentale sono stati normalizzati mediante SNV e immessi nella matrice dei dati X costruita in *The Unscrambler*. Tra i diversi metodi di validazione offerti dal programma è stato scelto *Test Set*, considerato il più affidabile. Secondo questo metodo, un modello di regressione PLS viene costruito attraverso i dati ottenuti dal *Training Set* e immediatamente validato con quelli relativi al *Test Set*, come previsto dal progetto sperimentale. Sono stati costruiti due tipi di modelli PLSR: il primo basato sugli spettri nell'intero intervallo spettrale disponibile (900-1700 nm), il secondo basato su spettri sull'intervallo spettrale ridotto 1100-1700 nm. Come spiegato in seguito, la limitazione dell'intervallo spettrale è in diretta conseguenza di osservazioni ricavabili dall'andamento dei coefficienti di regressione in funzione delle lunghezze d'onda osservato per l'intervallo intero.

PLSR su intervallo spettrale intero (Modello *Test_Set_900_1700nm*)

Il primo aspetto su cui focalizzare l'attenzione è la scelta delle componenti principali (PC) da considerare per ciascuna sostanza; questa operazione viene solitamente effettuata in base alle conoscenze dell'operatore sul problema che si sta affrontando. È buona norma effettuare la scelta basandosi su alcune regole empiriche che garantiscono una certa uniformità nel trattamento dei dati:

- 1) fermarsi a quella PC che per prima spiega almeno l'80-90% della varianza;
- 2) in presenza di un andamento caratterizzato da minimi e massimi, scegliere la PC corrispondente al *primo massimo di varianza spiegata*, a patto che questa sia apprezzabile;
- 3) se possibile evitare di considerare un numero di PC *troppo elevato*, che potrebbe portare con sé anche informazione spuria.

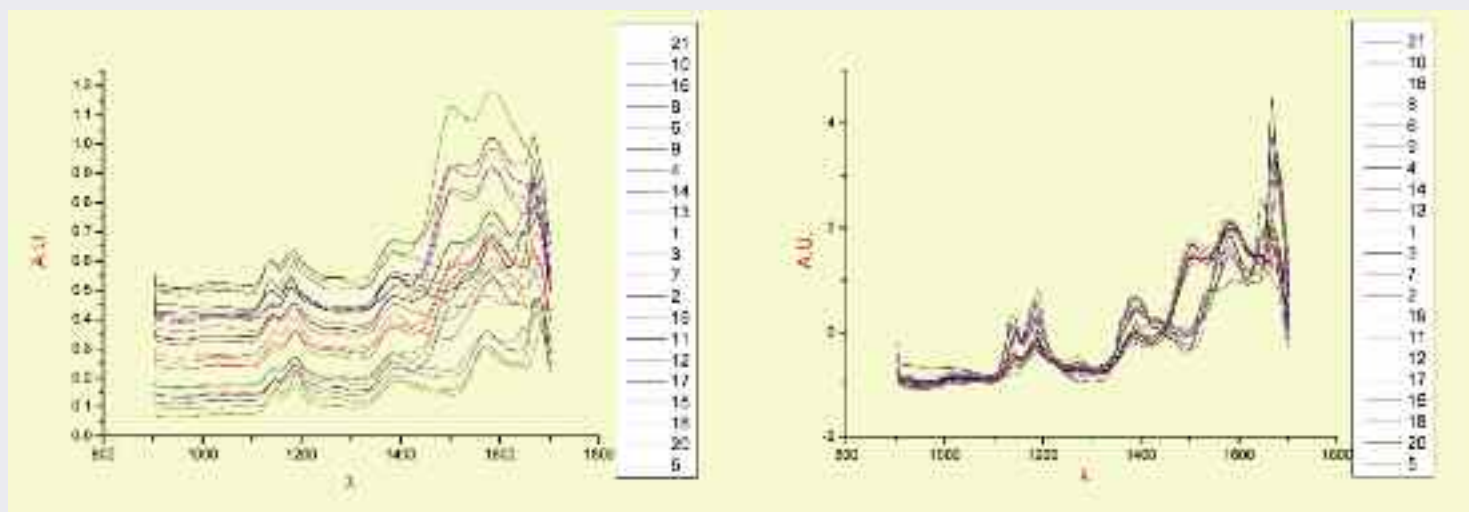


Fig. 2 - a) Spettri NIR originali relativi ai campioni costituenti il *Training Set*; b) spettri NIR normalizzati mediante SNV, relativi ai campioni costituenti il *Training Set*

In Tab. 3 sono riportati i valori di varianza percentuale spiegata ottenuti per tutti i componenti delle miscele analizzate; grazie allo studio di questi elementi è possibile operare una corretta selezione delle componenti principali. Tali valori sono rappresentati con 4 cifre significative al fine di apprezzare al centesimo eventuali miglioramenti nella varianza di percentuale spiegata.

Osservando l'andamento della varianza spiegata alla luce delle osservazioni empiriche sopra elencate, risulta semplice la scelta delle PC per ciascuna sostanza. Il primo massimo di scopolamina, lidocaina e fenacetina cade esattamente in prossimità della quarta componente principale, la quale in tutte e tre i casi porta con sé un'ottima percentuale di varianza spiegata. Per il mannitolo sono sufficienti due componenti principali, in quanto la differenza tra 2 PC e 3 PC è minima e i due valori di varianza spiegata possono essere considerati non significativamente diversi. Come evidenziato in Tab. 3, quindi, il numero di componenti principali che verrà considerato per ciascuna sostanza presente nelle miscele sarà: scopolamina, 4 PC; lidocaina, 4 PC; fenacetina, 4 PC; mannitolo, 2 PC.

Una volta compiuta la scelta si può verificare quali siano le regioni dell'intervallo spettrale più importanti per ciascun componente della miscela attraverso il grafico dei Regression Coefficients, (Fig. 3). Visualizzando questo grafico con un numero di componenti principali appropriato possono essere individuate le lunghezze d'onda sospette portatrici di informazione spuria (ad esempio rumore strumentale).

Questa osservazione ha portato alla scelta di limitare l'intervallo di lunghezze d'onda considerato nella costruzione di un secondo modello, come verrà descritto in seguito.

In Tab. 3 sono riportati i risultati ottenuti col modello *Test_Set_900_1700nm* per tutte e quattro le sostanze presenti nei campioni analizzati. In particolare, si riportano nelle ultime cinque righe della tabella i parametri numerici relativi ai grafici noti in letteratura come *response plots* o *grafici delle risposte*. Nei grafici delle risposte in ordinata sono riportati i valori di concentrazione calco-

lati in funzione dei valori noti; il modello corrispondente funziona adeguatamente se sono soddisfatte le seguenti condizioni:

- per ciascun analita considerato, si osservano valori di *RMSEP* (Root Mean Square Error of Prediction) e *BIAS* che sono bassi rispetto all'ordine di grandezza della concentrazione di quell'analita negli incogniti;
- i punti sono vicini alla retta ideale di pendenza (*SLOPE*) unitaria e intercetta (*OFFSET*) nulla;
- i punti hanno una buona correlazione rispetto alla retta ideale: il parametro *CORRELATION* ha valore assoluto prossimo all'unità. I valori numerici riportati in Tab. 3 sono rappresentati con un elevato numero di cifre significative (4) per consentire un fine confronto tra i vari casi.

Scopolamina

Il modello in questione mostra un buon comportamento nella predizione della scopolamina, con un errore limitato (*RMSEP*), dovuto a una leggera sovrastima per valori di concentrazione prossimi allo 0%_{P/P} e a una sottostima dei valori che si trovano in prossimità dell'80%_{P/P}.

Lidocaina

Le osservazioni fatte per la scopolamina valgono anche per la lidocaina la quale è caratterizzata da un *RMSEP* molto simile.

Fenacetina

La fenacetina è sicuramente la componente della miscela che viene interpolata con maggiore difficoltà dal modello; tuttavia, trattandosi di una sostanza da taglio, l'errore che la accompagna risulta tollerabile.

Mannitolo

Per il mannitolo si osserva una generale sovrastima del valore predetto rispetto a quello di riferimento in un particolare intervallo di composizioni. Il risultato è da considerarsi comunque buono in quanto è stato selezionato un ridotto numero di PC.

Tab. 3 - Varianza percentuale spiegata relativa a ogni PC per tutti i componenti della miscela

MODELLO	Test_Set_900_1700nm				Test_Set_1100_1700nm			
PC	SCO	LID	FEN	MAN	SCO	LID	FEN	MAN
1	37,22	47,48	49,17	36,34	38,56	45,69	49,11	36,70
2	42,84	52,76	37,53	83,36	44,86	51,01	37,14	83,48
3	79,65	90,94	37,01	83,39	76,97	92,39	36,50	83,47
4	95,89	96,10	89,65	82,60	96,00	95,93	89,84	82,56
5	95,16	95,58	89,06	86,19	95,52	95,89	91,14	95,32
6	94,87	95,19	91,04	86,67	95,00	95,84	91,00	89,70
7	94,72	95,17	89,42	90,03	94,78	95,62	89,34	91,48
8	95,09	96,60	88,01	88,86	95,01	96,92	88,48	89,11
9	96,60	98,97	94,21	82,42	96,54	99,02	94,41	82,48
10	97,35	98,95	94,47	82,48	97,38	99,01	94,17	82,51
11	97,89	99,04	95,33	86,71	97,54	99,04	94,85	86,90
12	97,20	99,04	94,92	86,74	97,09	99,04	94,59	86,98
13	97,71	99,24	95,51	87,05	97,56	99,25	95,07	87,40
14	97,66	99,22	95,67	86,85	97,69	99,25	95,62	87,76
15	98,02	99,08	95,36	86,87	98,16	99,16	95,18	87,41
PC Scelte	4	4	4	2	4	4	5	2
RMSEP	0,08665	0,08859	0,1214	0,09321	0,08541	0,09057	0,1124	0,09288
BIAS	-0,002504	0,01269	-0,04949	0,06733	0,002904	0,007600	-0,03722	0,06686
SLOPE	0,8187	0,8296	0,6210	0,9427	0,8234	0,8179	0,6472	0,9420
OFFSET	0,04474	0,06649	0,05033	0,07653	0,04891	0,06509	0,05568	0,07617
CORRELATION	0,9766	0,9678	0,9654	0,9234	0,9769	0,9667	0,9667	0,9234

PLSR su intervallo spettrale ridotto (Modello Test_Set_1100_1700nm)

Ridurre l'intervallo di lunghezze d'onda ha come obbiettivo principale quello di semplificare il problema e rendere il modello il più affidabile possibile, in quanto vengono eliminate possibili fonti di errore. I risultati ottenuti verranno messi a confronto con quelli in parte già descritti per il modello di regressione costruito con l'intervallo di lunghezze d'onda completo, in modo da evidenziare eventuali cambiamenti significativi sia in fase di validazione che in fase di predizione. Come si può osservare in Tab. 3, una prima differenza rispetto al modello precedente si verifica nella scelta delle componenti principali. I valori di varianza percentuale differiscono di alcuni decimi da quelli ottenuti nel modello precedente e questo già a una prima osservazione indica un leggero miglioramento. La scelta delle componenti principali, come evidenziato, è: scopolamina, 4 PC; lidocaina, 4 PC; fenacetina, 5 PC; mannitolo, 2 PC.

Rispetto alle scelte compiute per il primo modello, cambia esclusivamente il numero di PC per la fenacetina, che richiede un'ulteriore componente principale. È ora necessario verificare se vi sia un effet-

tivo miglioramento rispetto al modello precedente osservando i risultati della validazione.

In Tab. 3 si riportano le specifiche numeriche dei grafici delle risposte ottenuti col modello Test_Set_1100_1700nm per tutte e quattro le sostanze presenti nei campioni analizzati.

Scopolamina

Per il principio attivo si riscontra un effettivo miglioramento nella predizione del Test Set, dimostrato dalla diminuzione dell'RMSEP.

Lidocaina

L'RMSEP risulta essere leggermente maggiore rispetto al modello precedente, tuttavia tale variazione non è significativa per ciò che riguarda la predizione.

Fenacetina

La scelta di una componente principale in più rispetto al primo modello è ben giustificata dal miglioramento che si riscontra nei parametri di errore nella predizione di questa sostanza da taglio.

Mannitolo

Per il mannitolo non si hanno cambiamenti significativi, i parametri di errore non sono infatti significativamente differenti da quelli ottenuti con il modello TEST_SET_900_1700nm.

Apparentemente la riduzione dell'intervallo di lunghezze d'onda considerate per la costruzione del modello di regressione PLS comporta solo lievi miglioramenti per alcune sostanze presenti nella miscela. In generale questo secondo modello ha mostrato risultati positivi per tutte le sostanze coinvolte dal progetto sperimentale ad eccezione della lidocaina, la quale presenta tuttavia valori non significativamente differenti da quelli ottenuti con il primo modello.

Si ritiene che TEST_SET_1100_1700nm sia da considerare il modello eletto per affrontare il problema analitico relativo alla scopolamina con questa innovativa metodologia.

Conclusioni

È stata presentata e validata una nuova metodologia analitica per l'analisi di droghe in polvere mediante spettrometria NIR in riflettanza che risulta essere: poco costosa, portatile, facile da utilizzare, rapida ed estremamente utile in quella che può essere una futura analisi preliminare sul campo. L'apporto della chemiometria risulta fondamentale per l'analisi degli spettri ottenuti dalle miscele quaternarie previste dal progetto sperimentale.

Gli sviluppi del lavoro preliminare qui presentato riguarderanno campioni reali di droghe come cocaina ed eroina; di quest'ultima è già in stato avanzato una linea di ricerca parallela al presente lavoro. Il definitivo consolidamento della metodologia prevede l'analisi di tutte le droghe diffuse nel commercio clandestino per elaborare un'unica metodologia di analisi che permetta di distinguere ogni tipo di polvere o pasticca sequestrata dalle forze dell'ordine.

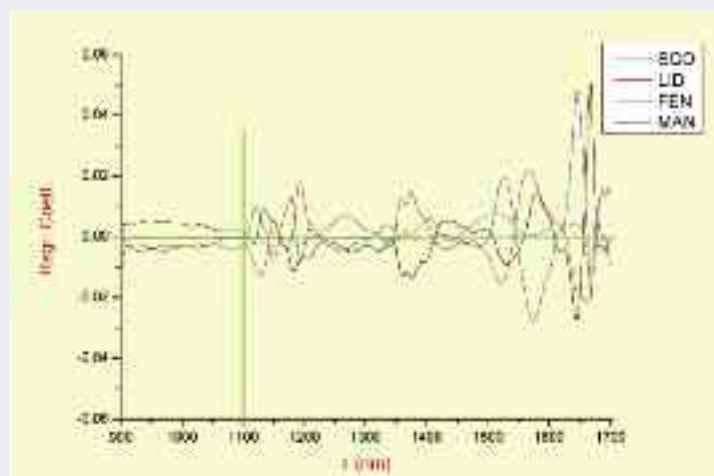


Fig. 3 - Grafico dei Coefficienti di Regressione ottenuti con 4 PC per il modello Test_Set_900_1700nm



Strumentazione per spettrometria NIR-DAD in riflettanza. Le dimensioni del PC portatile danno idea delle dimensioni dell'intero assetto strumentale. La fotografia di destra mostra in dettaglio l'assetto geometrico durante l'acquisizione degli spettri nel presente lavoro

Bibliografia

- [1] M.R. Boleda *et al.*, *Journal of Chromatography A*, 2007, **1175**, 38.
- [2] J. Feng *et al.*, *Journal of Analytical Toxicology*, 2007, **31**, 359.
- [3] J.L. Costa *et al.*, *Forensic Science International*, 2007, **173**, 130.
- [4] R. Kramer, *Chemometric techniques for quantitative analysis*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1998.
- [5] R.D. Jee, *Near-infrared spectroscopy*, in *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*, Vol. 1, 3rd Ed., A.C. Moffat *et al.* (Eds.), Pharmaceutical Press UK, 2003, Chapter 23, Pag. 346.
- [6] G.E.P. Box *et al.*, *Statistics for Experimenters: An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building*, 1978, John Wiley & Sons
- [7] S. Wold *et al.*, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2001, **28**, 109.
- [8] A.M.C. Davies, T. Fearn, *Spectroscopy Europe*, 2007, **19**, 15.
- [9] K.H. Esbensen, *Multivariate Data Analysis*, CAMO, V Edizione, 2006.

ABSTRACT

Multivariate Analysis of Powder Drugs Using Reflectance NIR Spectrometry

The feasibility to non-destructively analyze powder drugs using a multivariate method of analysis based on diffuse reflectance NIR spectra in the range 900-1,700 nm was examined. D-optimal experimental-design and partial least squares regression were applied. Samples were cocaine-like powders. The final aim of this work is to set up a method for in-situ analysis of all the possible components of confiscated street drugs.