



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
LABORATÓRIO DE IMUNOPATOLOGIA KEIZO ASAMI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA APLICADA À SAÚDE

LUCAS SAMPAIO LEITE

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA E-NOSE PARA DETECÇÃO DE
MACONHA EM TEMPO REAL**

Recife
2021

LUCAS SAMPAIO LEITE

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA E-NOSE PARA DETECÇÃO DE
MACONHA EM TEMPO REAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biologia Aplicada à Saúde.

Área de concentração: Biologia Aplicada à Saúde.

Orientador (a): Dr. José Luiz de Lima Filho

Coorientador (a): Dr. Jones Oliveira de Albuquerque

Recife

2021

Catálogo na Fonte:
Elaine C Barroso, CRB-4/1728

Leite, Lucas Sampaio
Desenvolvimento de um sistema e-nose para detecção de maconha em tempo real /
Lucas Sampaio Leite – 2021.

65 f. : il., fig., tab.

Orientador: José Luiz de Lima Filho
Coorientador: Jones Oliveira de Albuquerque

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro
Biotecnologia. Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde,
Recife, 2021.
Inclui referências e anexos.

1. Drogas 2. Inteligência artificial 3. Detectores I. Lima Filho, José Luiz de (orient.). II. Albuquerque, Jones Oliveira de (coorient.) III. Título

362.2973

CDD (22.ed)

UFPE/CB-2021-286

Lucas Sampaio Leite

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA E-NOSE PARA DETECÇÃO DE
MACONHA EM TEMPO REAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA/UFPE, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutorado.

Área de concentração: Biologia Aplicada à Saúde

Aprovada em 19/03/2021

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho (Orientador)
Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Danyelly Bruneska Martins Gondim (Membro Interno)
Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dr. Luiz Carlos Alves (Membro Interno)
Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dra. Priscila Gubert (Membro Externo)
Programa de pós-graduação em Química Pura e Aplicada, POSQUIPA
Universidade Federal do Oeste da Bahia, UFOB

Prof. Dr. Tiago Alessandro Espínola Ferreira (Membro externo)
Departamento de Estatística e Informática – DEINFO
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

*Aos meus pais,
Joaquim e Auzeni.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Federal de Pernambuco, pública e gratuita. Ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), ao Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde, seus funcionários, e todo o seu corpo docente, meus agradecimentos pela formação de qualidade.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Instituto Nacional de Engenharia de Software (INES) pelo apoio financeiro a este trabalho.

Aos meus pais, pela educação e por serem meus maiores exemplos ao longo da vida. Aos meus irmãos. A minha esposa, Maíra de Vasconcelos, pela cumplicidade e paciência incansável nessa trajetória.

Ao meu orientador prof. Dr. José Luiz de Lima Filho e ao meu co-orientador prof. Dr. Jones Albuquerque, pessoas as quais admiro muito. Agradeço pelas orientações, motivações, paciência e incentivo. Também agradeço por terem proporcionado experiências acadêmicas e profissionais que jamais havia pensado em ter.

A professora Dra. Rosalie Belian pela ótima parceria durante a minha experiência em estágio à docência.

Agradeço imensamente a Dra. Valéria Visani e Dra. Maria Aparecida Seabra (Cida), pela paciência e disponibilidade que tiveram durante toda essa trajetória. Vocês sem dúvidas são dois presentes que este doutorado proporcionou receber.

Ao departamento de Polícia Federal de Pernambuco, pelas amostras fornecidas e aos peritos Valéria Espíndola, Dr. Ricardo Saldanha e Ângela Alessandra, por terem me recebido em seus laboratórios e me acompanhado durante os experimentos.

Agradecimento especial a Dra. Natália Cybelle por ter me inserido neste belíssimo projeto e pelas pontes criadas.

Aos professores Dr. Abner Correa Barros, Dr. Victor Wanderley, Dra. Priscila Gubert, Dra. Danyelle Brunaska e Dr. Gustavo Seabra, pelas contribuições nesta tese. A Alexandra Elbakyan, fundadora do Sci-hub.

Ao companheiro de turma Dr. Hugo Moura Melo.

Aos grandes Paulo César Marques, Renato Pessoa, Allisson Dantas, Edneide Ramalho, Carol Córdula, Giselda Bezerra, João D'amorin, Willian Bocanegra, Erico

André, pelas participações neste trabalho. Ao laboratório de biotecnologia, aos grupos de Biossensores e Healthdrones. Enfim, a toda comunidade LIKA.

“Focus, test and believe.”

– Malcolm Gladwell, *The Tipping Point*.

RESUMO

Atualmente, o abuso de drogas ilegais tornou-se um problema de saúde pública mundial, com várias implicações médicas, sociais e legais. O tráfico de drogas é o maior negócio ilícito mundial, movimentando cerca de US \$ 322 bilhões por ano. O controle do tráfico de drogas nas fronteiras é realizado principalmente por meio de abordagens aleatórias e pelo uso de cães farejadores, o que permite que grande parte das ilegalidades não sejam percebidas. As drogas apreendidas são analisadas preliminarmente por métodos de triagem (*spot tests*), seguindo-se de métodos validativos, como cromatografia gasosa ou líquida acoplada a espectrometria de massa. Essas técnicas, além de demoradas e caras, são destrutivas, impossibilitando, em muitos casos, que as amostras sejam reanalisadas. O teste de drogas requer melhoria contínua e implementação de novas tecnologias que forneçam informações ou evidências corroborativas com precisão, rapidez e eficiência. Assim, um nariz eletrônico (*e-nose*) pode ser uma alternativa portátil de baixo custo, não invasiva e não destrutiva para teste de drogas. Esses dispositivos imitam o sistema olfativo humano e são compostos de uma matriz de sensores com especificidade parcial e um sistema de reconhecimento de padrões capaz de reconhecer odores simples ou complexos. Este estudo apresenta um dispositivo *e-nose* recém projetado com base em sensores de gás disponíveis comercialmente para detectar amostras de maconha. Os sinais elétricos correspondentes aos perfis de odor de maconha apreendida, cigarros de tabaco e amostras de maconha pseudo-narcótica foram registrados pelo sistema. Após o pré-processamento, foi realizada a análise exploratória por Análise de Componentes Principais (PCA) para verificar a distribuição das amostras e identificar agrupamentos naturais dos dados. Para a classificação das amostras, foram utilizadas a Modelagem Independente Suave de Analogia de Classe (SIMCA) e análise discriminante linear por algoritmo de projeções sucessivas (SPA-LDA). Uma arquitetura IoT (*Internet of Things*) baseada em nuvem foi implementada como solução online e em tempo real, permitindo resultados preliminares mais rápidos durante a medição usando uma parte inicial dos sinais. A comunicação entre o protótipo e o ambiente de nuvem ocorreu usando o protocolo Transporte de Telemetria do Serviço de Enfileiramento de Mensagens (MQTT). Os resultados da PCA mostraram que apenas dois PCs explicam 100% da variância dos dados e permitiu a discriminação entre as classes de amostras. O modelo SIMCA obteve 100,0, 99,0 e

98,6% de sensibilidade, precisão e especificidade, respectivamente. Usando o SPA-LDA, o número de variáveis foi reduzido de 355 para 10, obtendo 100,0% de sensibilidade, precisão e especificidade. Os resultados demonstraram que o sistema *e-nose* pode ser utilizado de forma eficiente para detecção in situ de maconha provendo resultados em tempo real e pode ser expandido para detectar outras classes de drogas ilícitas.

Palavras-chave: Teste de drogas; nariz eletrônico; *e-nose*; maconha; array de sensores.

ABSTRACT

Nowadays, the abuse of illegal drugs has become a worldwide public health problem, with various medical, social, and legal implications. Drug trafficking is the largest global illicit business, leading to \$322 billion per year. Drug trafficking control at borders is carried out mainly through random approaches and the use of sniffer dogs which sometimes allow the entrance of drugs without being noticed. Seized drugs are analyzed preliminarily by spot tests following by validated methods, such as gas or liquid chromatography coupled with mass spectrometry. These techniques are time-consuming and expensive besides destroy the sample, which in many cases can not be re-analyzed. Drug testing requires continuous improvement and implementation of new technologies that accurately, quickly, and efficiently provide new types of information or corroborative evidence. Thus, an e-nose could be a low-cost, non-invasive, non-destructive portable alternative to drug testing. These devices are analogous to the human olfactory system, comprising of a matrix of partially specific electronic chemical sensors and a pattern recognition system capable of recognizing simple or complex odors. This study proposes a newly developed electronic nose (e-nose) based on commercially available gas sensors to detect marijuana samples. Electrical signals corresponding to odorant profiles of marijuana, tobacco cigarettes, and pseudo-narcotic marijuana samples were recorded by system. After preprocessing, exploratory Principal Component Analysis (PCA) was performed to verify the distribution of samples and identify natural clusters of data. Soft Independent Modelling of Class Analogies (SIMCA) and Successive Projections Algorithm—Linear Discriminant Analysis (SPA-LDA) were used to classify the samples. An architecture based on internet-of-things (IoT) cloud is implemented as an online and real-time solution, allowing faster preliminary results during measurement using an early portion of the signals. Communication between the prototype and the cloud environment occurred using the Message Queuing Telemetry Transport (MQTT). PCA results showed that only two PCs explain 100% of the data variance and allowed for discrimination between sample classes. SIMCA model obtained 100.0, 99.0 and 98.6% sensitivity, precision and specificity, respectively. Using SPA-LDA, the number of variables was reduced from 355 to 10, obtaining 100.0% sensitivity, precision and specificity. The results demonstrated that the e-nose system can be used efficiently for

in situ detection of marijuana providing real-time results and can be expanded to detect other classes of illicit drugs.

Keywords: Drug testing; electronic nose; e-nose; marijuana; sensor array.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Representação funcional do sistema olfativo biológico. Os odores transportados pelo ar, representados em círculos coloridos e polígonos, entram no muco nasal se ligam aos ORs no epitélio nasal. Odorantes se ligam aos ORs, ativando os neurônios receptores e enviando sinais elétricos aos glomérulos, que por sua vez se conectam às células mitrales do bulbo olfatório e, em seguida, ao córtex piriforme (olfatório) no cérebro.	22
Figura 2 –	Etapas e similaridades entre o sistema olfativo biológico e o funcionamento de um sistema <i>e-nose</i> .	24
Figura 3 –	Resposta do nariz eletrônico para um odor.	25
Figura 4 –	Fórmula estrutural do Δ^9 -tetraidrocanabinol (THC).	33
Figura 5 –	Taxonomia das técnicas de reconhecimento de padrões supervisionadas e não-supervisionadas mais utilizadas na análise de dados multivariados.	40
Figura 6 –	Representação gráfica da distribuição espacial de um conjunto de amostras em um espaço multidimensional em termos da definição de componentes principais por uma PCA	41
Figura 7 –	Representação gráfica S_i/S_o vs. H_i do SIMCA para amostras de uma classe.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens de diferentes tipos de sensores utilizados para construção de sistemas <i>e-nose</i> .	28
Tabela 2 – Métodos de pré-processamento. $x_s(t)$: resposta do sensor, $x_s(0)$: resposta da linha de base e $y_s(t)$: resposta normalizada.	38
Tabela 3 – Representação de uma Matriz de Confusão.	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANN	Redes neurais artificiais (<i>artificial neural networks</i>)
AuNPs	Nanopartículas de ouro não modificadas (<i>gold nanoparticles</i>)
BAW	Sensor de onda acústica estrutural (<i>bulk acoustic wave</i>)
CA	Análise de cluster (<i>cluster analysis</i>)
CDA	Análise discriminante canônica (<i>canonical discriminant analysis</i>)
CP	Polímeros condutores (<i>conducting polymers</i>)
DA	Discriminante linear (<i>linear discriminant</i>)
DFA	Análise de funções discriminantes (<i>discriminant function analysis</i>)
<i>e-nose</i>	Nariz eletrônico (<i>electronic nose</i>)
FIR	Resposta de Impulso Finito (<i>finite impulse response</i>)
FN	Falso Negativo
FP	Falso Positivo
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (<i>fourier-transform infrared spectroscopy</i>)
GC	Cromatografia Gasosa (<i>gas chromatography</i>)
GPCR	Receptor acoplado à proteína G (<i>G protein-coupled receptor</i>)
HCA	Análise hierárquica de clusters (<i>hierarchical cluster analysis</i>)
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (<i>high performance liquid chromatography</i>)
k-NN	k-vizinhos mais próximos (<i>k-nearest neighbor</i>)
LDA	Análise discriminante linear (<i>linear discriminant analysis</i>)
MOS	Semicondutor de óxido metálico (<i>metal oxide semiconductor</i>)
MQTT	Transporte de telemetria do serviço de enfileiramento de mensagens (<i>message queuing telemetry transport</i>)
MS	Espectrometria de Massa (<i>mass spectrometer</i>)
NPLDA	Análise discriminante linear não paramétrica (<i>non-parametric linear discriminant analysis</i>)
OR	Receptores olfativos (<i>olfactory receptors</i>)
PC	Componente Principal (<i>principal componente</i>)

PCA	Análise de Componentes Principais (<i>principal component analysis</i>)
PLS	Mínimos quadrados parciais (<i>partial least squares</i>)
RBF	Função de base radial (<i>radial base function</i>)
RVM	Máquina de vetores de relevância (<i>relevance vector machine</i>)
SAW	Sensor de Onda Acústica de Superfície (<i>surface acoustic wave</i>)
SG	Savitzky-Golay
SIMCA	Modelagem Independente Suave de Analogia de Classe (<i>soft independent modeling of class analogy</i>)
SOM	Mapa auto-organizável (<i>self-organized map</i>)
SPA-LDA	Algoritmo de Projeções Sucessivas – Análise Discriminante Linear (<i>successive projection algorithm - linear discriminant analysis</i>)
SVM	Máquina de Vetores de Suporte (<i>support vector machine</i>)
THC	Δ^9 -tetraidrocanabinol (<i>Δ^9-tetrahydrocannabinol</i>)
VN	Verdadeiro Negativo
VP	Verdadeiro Positivo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1	SISTEMA OLFATIVO BIOLÓGICO	21
2.2	SISTEMAS OLFATIVOS ARTIFICIAIS	22
2.3	APLICAÇÕES DE SISTEMAS OLFATIVOS ARTIFICIAIS	30
2.4	CIÊNCIAS FORENSES	32
2.4.1	Sistemas e-nose nas ciências forenses	35
2.5	ANÁLISE MULTIVARIADA DE DADOS	37
2.5.1	Técnicas de pré-processamento	38
2.5.1.2	Filtro de Suavização Savitzky-Golay	39
2.5.2	Técnicas de reconhecimento de padrões	39
2.5.2.1	PCA	40
2.5.2.2	SIMCA	42
2.5.2.3	LDA	43
2.5.2.4	SPA-LDA	45
2.6	ANÁLISE DE DESEMPENHO DE CLASSIFICADORES	46
3	OBJETIVOS	48
3.1	OBJETIVO GERAL	48
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	48
4	ARTIGO 1 – <i>ELECTRONIC NOSE SYSTEM: ADVANCES AND APPLICATIONS</i>	49
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
	REFERÊNCIAS	51
	APÊNDICE A – <i>DESIGN AND IMPLEMENTATION OF AN ELECTRONIC NOSE SYSTEM FOR REAL-TIME DETECTION OF MARIJUANA</i>	62
	APÊNDICE B – <i>FACING GLOBAL HEALTH CRISES USING MOBILE COMMUNICATIONS: AN INTERNATIONAL VIRTUAL EXCHANGE EXPERIENCE</i>	63

APÊNDICE C – A HOLOGRAPHIC SENSOR BASED ON A BIOMIMETIC AFFINITY LIGAND FOR THE DETECTION OF COCAINE FACING GLOBAL	64
APÊNDICE D – ELECTROCHEMICAL APTASENSOR FOR THE DETECTION OF HER2 IN HUMAN SERUM TO ASSIST IN THE DIAGNOSIS OF EARLY STAGE BREAST CANCER	65

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o abuso de drogas ilegais tornou-se um problema de saúde pública mundial, sendo associado a diversos problemas médicos, sociais e legais (CHEN; HSU; WU, 2016; DE OLIVEIRA PENIDO et al., 2016; MOHSENI; BAHRAM; BAHERI, 2017). De acordo com UNODC (United Nations Office on Drugs and Crime), o tráfico de drogas é o maior mercado ilícito do mundo, envolvendo cerca de US\$ 322 bilhões por ano, com aproximadamente 585.000 mortes relacionadas a drogas em 2017 (UNODC, 2016, 2019).

A maconha é a droga mais usada em todo o mundo. Apenas em 2018, estima-se que 188 milhões de pessoas fizeram uso desta substância. O continente americano é o responsável pela maior parte das apreensões de maconha. A América do Sul respondeu por 38 % das apreensões globais em 2017 (UNODC, 2019). No Brasil, o seu consumo é ilegal. Segundo a Polícia Federal, cerca de 354 toneladas de maconha foram apreendidas em 2018 e mais de 268 toneladas em 2019 (PF, 2019).

O controle do tráfico de drogas nas fronteiras é realizado principalmente por meio de abordagens aleatórias e pelo uso de cães farejadores em diversos países do mundo (LANCASTER; HUGHES; RITTER, 2017). Devido à aleatoriedade, grande parte das ilegalidades podem não ser percebidas e os cães, como todos os mamíferos, também são suscetíveis a uma variedade de condições e distúrbios que afetam seu olfato (JEZIERSKI; ENSMINGER; PAPET, 2016). Além desses fatores, o uso desses animais é limitado pelo treinamento caro (~ USD 50.000 por cão) e precisão relativamente baixa em situações reais (90% em condições controladas, < 50% em situações do mundo real) (POTYRAILO, 2017).

As apreensões de drogas ilícitas são analisadas preliminarmente *in loco* por meio de *spot tests*, para possibilitar a localização e/ou confirmar a natureza química do material apreendido e, então, encaminhá-lo a análises mais específicas. Entretanto, vários destes testes, como por exemplo, o Teste de Duquenois-Levine e o Teste de Scott, utilizados no exame preliminar de maconha e cocaína, respectivamente, apresentam reações cruzadas com outras substâncias. Estas reações podem produzir resultados falso-positivos, invalidar laudos de constatação da droga e, conseqüentemente uma investigação criminal (O'NEAL; CROUCH; FATAH, 2012). Recentemente, equipamentos baseados em espectrometria de mobilidade iônica (IMS, do inglês, *ion mobility spectrometry*) também vêm sendo utilizados em

aeroportos e fronteiras. Esta técnica é baseada na separação em fase gasosa de compostos ionizados sob um campo elétrico à pressão ambiente. Sua principal desvantagem também é a ocorrência de falsos positivos (FERNANDEZ-MAESTRE, 2018; YANINI et al., 2018)

Após os métodos preliminares, métodos analíticos são utilizados para confirmar se as amostras apreendidas são substâncias ilícitas. A cromatografia gasosa combinada com espectrometria de massa (GC/MS, do inglês, *gas chromatography/mass spectrometry*), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês, *high performance liquid chromatography*), espectrofotometria ultravioleta, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR, do inglês, *Fourier-transform infrared spectroscopy*) e difração de raios-X estão entre os métodos atualmente utilizados na toxicologia forense para a detecção de drogas ilícitas (DE OLIVEIRA PENIDO et al., 2016). No entanto, essas técnicas não são portáteis para serem utilizadas *in loco*, dependem de um laboratório, possuem um alto custo, frequentemente requerem limpeza e derivação das amostras, exigem operadores qualificados para manusear e interpretar os resultados, além de um longo tempo para análise e a utilização de reagentes tóxicos ao operador e ao meio ambiente (BACIU et al., 2015; DE OLIVEIRA PENIDO et al., 2016; HADLAND; LEVY, 2016).

Tendo em vista que o tráfico, consumo e a produção de drogas são um dos maiores geradores de marginalização e criminalidade no mundo, faz-se necessário o desenvolvimento de ferramentas analíticas que visem a identificação *in loco*, rápida e eficaz de drogas ilícitas, bem como identificar a sua procedência, para ajudar as investigações criminais de forma a determinar os principais focos de distribuição e comercialização dos narcóticos, com uma consequente redução dos níveis de acesso da população ao uso de drogas.

Um sistema analítico que vem sendo amplamente utilizado em diferentes aplicações para análises qualitativas e quantitativas, é o nariz eletrônico (*e-nose*, do inglês, *electronic nose*) (SANAEIFAR et al., 2014). O *e-nose* pode ser definido como um dispositivo que compreende uma matriz de sensores eletroquímicos seletivamente responsivos a uma variedade de compostos voláteis, e um sistema apropriado para reconhecer formas de odores simples e complexos (GARDNER; BARTLETT, 1994; JHA et al., 2019). Esses sistemas são capazes de identificar compostos voláteis de diversas fontes, possuindo inúmeras aplicações como diagnósticos médicos e biomédicos (GUPTA; SINGH; YADAVA, 2018; SAIDI et al., 2018; SÁNCHEZ;

SANTOS; LOZANO, 2019; WILSON, 2018), controle de qualidade de produtos alimentícios (GHASEMI-VARNAMKHASTI; AGHBASHLO, 2014; LOUTFI et al., 2015; MAJCHRZAK et al., 2018; SHI; ZHANG; ADHIKARI, 2018), qualidade ambiental (JASINSKI et al., 2018; WU et al., 2019) e ciências forenses (ESTEVES et al., 2018; GIANNOUKOS; AGAPIOU; TAYLOR, 2018; HADDI et al., 2011b). Logo, um sistema *e-nose* pode ser uma alternativa viável para detecção de drogas devido à sua miniaturização e conseqüente portabilidade, por ser não destrutivo e de baixo custo comparado com métodos cromatográficos e espectrométricos, além de possuir alta sensibilidade e resposta rápida.

2 REVISÃO DE LITERATURA

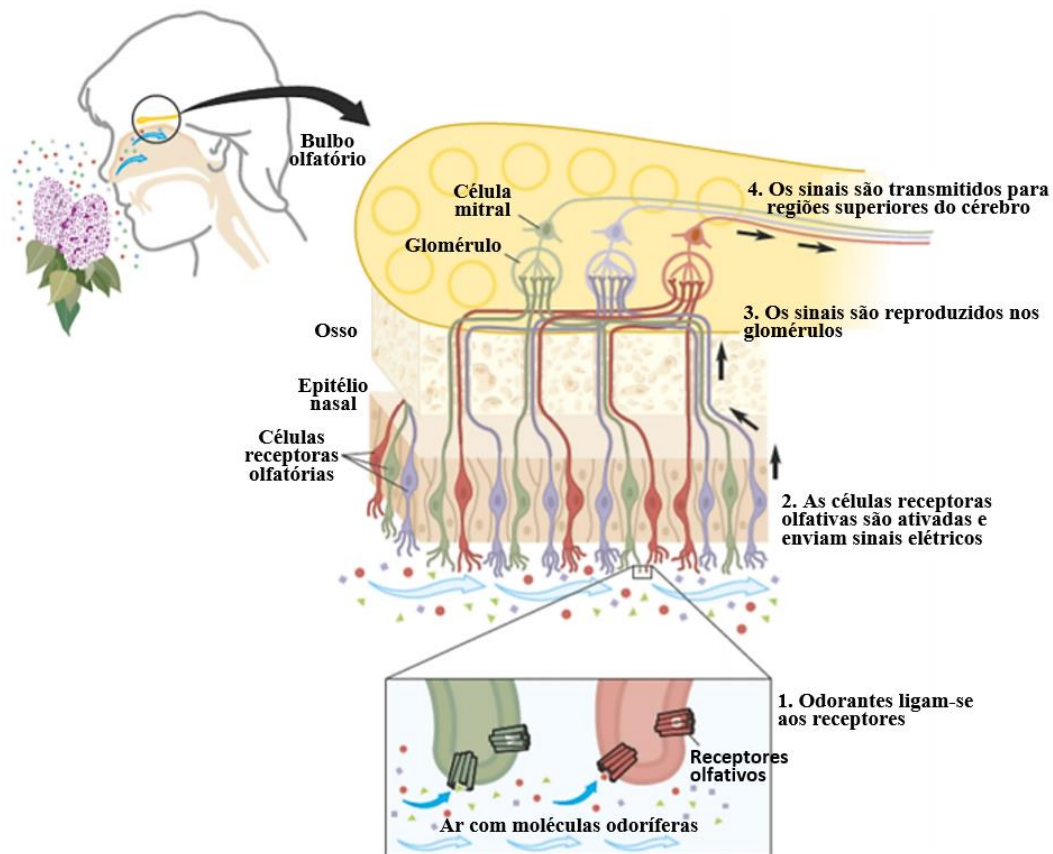
2.1 SISTEMA OLFATIVO BIOLÓGICO

O sistema olfativo é essencial para muitas espécies animais na obtenção de informações sobre seu ambiente (MARIN; SCHAEFER; ACKELS, 2021). Este sistema é capaz de detectar e discriminar milhares de compostos de baixo peso molecular (odorantes) com diversas estruturas e propriedades químicas em concentrações muito baixas (DUNG et al., 2018; SELA; SOBEL, 2010).

Em 1991, Buck e Axel, ganhadores do Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 2004, realizaram uma série de estudos pioneiros, esclarecendo o funcionamento do sistema olfativo (BUCK; AXEL, 1991). Receptores olfativos (ORs, do inglês, *olfactory receptors*) pertencem a classe de receptores acoplados a proteína Guanina (GPCRs, do inglês, *G protein-coupled receptor*), reconhecem uma série de compostos odoríferos com alta seletividade e realizam transdução de sinal nos neurônios olfativos (DUNG et al., 2018). Humanos possuem cerca de 851 GPCRs codificadas e cerca de 50% são pseudogenes não funcionais, ou seja, incapazes de expressar proteínas (BLOCK, 2018). Os cães farejadores, por sua vez, possuem um sistema olfativo mais evoluído, com aproximadamente 1100 GPCRs codificados e apenas 20,3% pseudogenes inativos (SACHARCZUK et al., 2019).

A representação funcional do sistema olfativo biológico é mostrada na Figura 1. As moléculas odoríferas alcançam os ORs por meio do transporte ortonasal através das narinas durante o cheiro. Estas moléculas são capturadas por ORs específicos localizados no epitélio olfatório na parte superior da cavidade nasal. As proteínas ORs são ligadas à proteína de ligação do nucleotídeo guanina (proteína G). Quando os odorantes se ligam aos receptores olfatórios, uma mudança na forma do OR é induzida. Esta modificação estrutural do receptor induz sua ligação à proteína G (ZHANG et al., 2018). A informação olfatória é transportada até o bulbo olfatório. No bulbo, os nervos olfatórios fazem suas primeiras sinapses com neurônios de segunda ordem (célula mitral). O trato olfatório é responsável por transmitir as informações do bulbo olfatório para o núcleo olfatório anterior, o tubérculo olfatório, o córtex piriforme e a amígdala e, eventualmente, para centros cerebrais superiores que processam os sinais olfatórios (BLOCK, 2018; PEARCE et al., 2006).

Figura 1 – Representação funcional do sistema olfativo biológico. Os odores transportados pelo ar, representados em círculos coloridos e polígonos, entram no muco nasal se ligam aos ORs no epitélio nasal. Odores se ligam aos ORs, ativando os neurônios receptores e enviando sinais elétricos aos glomérulos, que por sua vez se conectam às células mitrais do bulbo olfatório e, em seguida, ao córtex piriforme (olfatório) no cérebro.



Fonte: Fundação Nobel [<https://www.nobelprize.org/prizes/medicin/2004/press-release/>].

Atualmente, a pesquisa olfativa vem focando em potenciais aplicações comerciais (DUNG et al., 2018). O nariz eletrônico com o seu design biomimético vêm obtendo avanços significativos em diversos campos de aplicações (KARAKAYA; ULUCAN; TURKAN, 2020).

2.2 SISTEMAS OLFATIVOS ARTIFICIAIS

Devido aos avanços na tecnologia de aroma-sensor, sensores, eletrônica, bioquímica e inteligência artificial, tornou-se possível desenvolver aplicações de sistemas *e-nose*. Com isso, têm havido um interesse crescente em seus estudos e implementações (ESTAKHROYEH; RASHEDI; MEHRAN, 2018; WILSON; BAIETTO, 2009).

A ideia de nariz eletrônico como um sistema inteligente e capaz de detectar e especificar odores complexos usando matriz de sensores foi inicialmente levantada no início da década de 80 (PERSAUD; DODD, 1982). Os primeiros dispositivos comerciais passaram a ser produzidos em 1993 (HEIDARBEIGI et al., 2015; MAJCHRZAK et al., 2018).

Um dispositivo *e-nose* é definido por Gardner e Bartlett como um instrumento que compreende uma matriz de sensores químicos eletrônicos com especificidade parcial e sistema de reconhecimento de padrões, capazes de reconhecer odores simples ou complexos (GARDNER; BARTLETT, 1994). No entanto, esta definição vem sendo atualizada devido ao surgimento de alguns *e-noses* que também empregam técnicas analíticas bem estabelecidas tais como espectrometria de massa e cromatografia gasosa. Os sistemas *e-nose* podem então ser definidos como dispositivos usados para identificação rápida e classificação de misturas de compostos voláteis, para os quais é utilizada análise multivariada (DYMERSKI; CHMIEL; WARDENCKI, 2011; MAJCHRZAK et al., 2018).

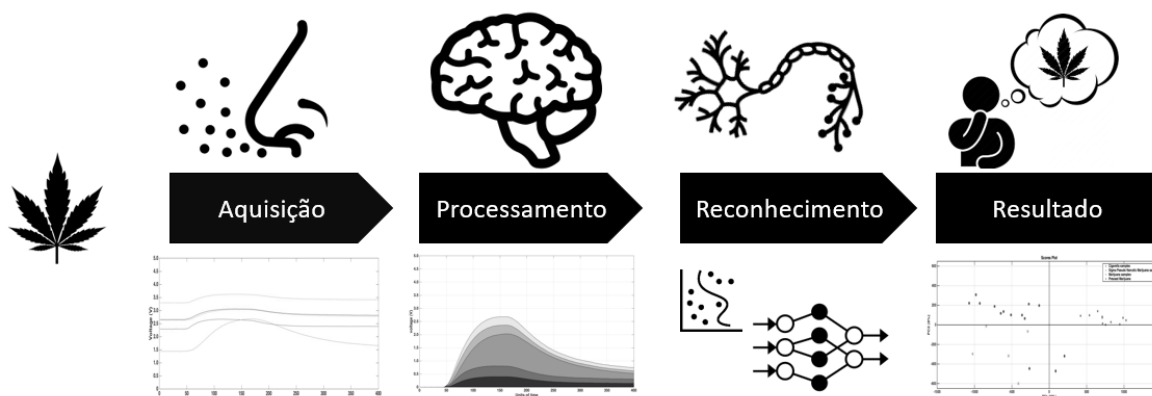
Os sistemas *e-nose* simulam a resposta olfativa de mamíferos aos odores, onde a especificidade do odor se origina do fato de que um padrão de resposta único é gerado a partir de várias centenas de receptores olfativos (ESTEVES et al., 2018; HAI; WANG, 2006; ZHAO et al., 2018). A partir dos dispositivos eletrônicos, compostos voláteis são introduzidos através do mecanismo de amostragem e transferidos para uma câmara contendo uma matriz de sensores (MAJCHRZAK et al., 2018). Sob a influência de um estímulo de odor, o conjunto de sensores gera uma impressão digital característica correspondente ao cheiro de cada amostra. A soma dessas impressões digitais fornecem um padrão de reconhecimento, de modo que a análise qualitativa pode ser realizada com a ajuda de ferramentas apropriadas de análise multivariada. (ALCAÑIZ et al., 2012; ARSHAK et al., 2004; GHASEMI-VARNAMKHAHASTI et al., 2011; GUPTA; SINGH; YADAVA, 2018; SANAEIFAR et al., 2014).

Os sistemas *e-nose* são baseados em matrizes de sensores e surgiram para a identificação de amplas faixas de analitos. Sensores com sensibilidade cruzada na matriz do sistema produzem um padrão de resposta exclusivo para cada analito por completo, sem a necessidade de um sensor específico para um único odorante (ZHAO et al., 2018). Estes sistemas não fornecem informações sobre compostos específicos que influenciam o aroma nem sobre sua identidade. No entanto, com a ajuda de técnicas de reconhecimento de padrões apropriadas e métodos estatísticos,

sistemas *e-nose* são capazes de reconhecer o padrão de aroma de uma amostra particular e distingui-lo de outras amostras (HADDI et al., 2015).

A Figura 2 apresenta uma analogia entre o funcionamento de um sistema olfativo biológico e o artificial (GHASEMI-VARNAMKHASTI; AGHBASHLO, 2014; KIANI; MINAEI; GHASEMI-VARNAMKHASTI, 2016). Na etapa de aquisição, ocorrem as interações entre compostos voláteis contendo misturas complexas de gases e os seus respectivos receptores. No sistema biológico, o nariz é o receptor e consiste em tecido sensorial composto por células receptoras odoríferas em uma área do epitélio fino. Em humanos, este tecido contém aproximadamente cinquenta milhões de neurônios receptores olfativos. Ele funciona como um transdutor, gerando sinais elétricos a partir de estímulos químicos. Esses sinais são pré-processados no bulbo olfatório que é uma área primária do cérebro, são armazenados e utilizados para identificar odores no estágio de reconhecimento. Analogamente, em um sistema *e-nose*, os componentes voláteis interagem com a matriz de sensores, produzindo variações elétricas de sinal. Uma conversão analógico-digital é realizada para pré-processar os sinais através de um dispositivo microcontrolador. Os dados pré-processados então são armazenados no banco de dados de uma máquina de reconhecimento de padrões que é utilizada para identificar os aromas que são aprendidos. (ARSHAK et al., 2004; ESTAKHROYEH; RASHEDI; MEHRAN, 2018; GUPTA; SINGH; YADAVA, 2018; SÁNCHEZ; SANTOS; LOZANO, 2019).

Figura 2 – Etapas e similaridades entre o sistema olfativo biológico e o funcionamento de um sistema *e-nose*.



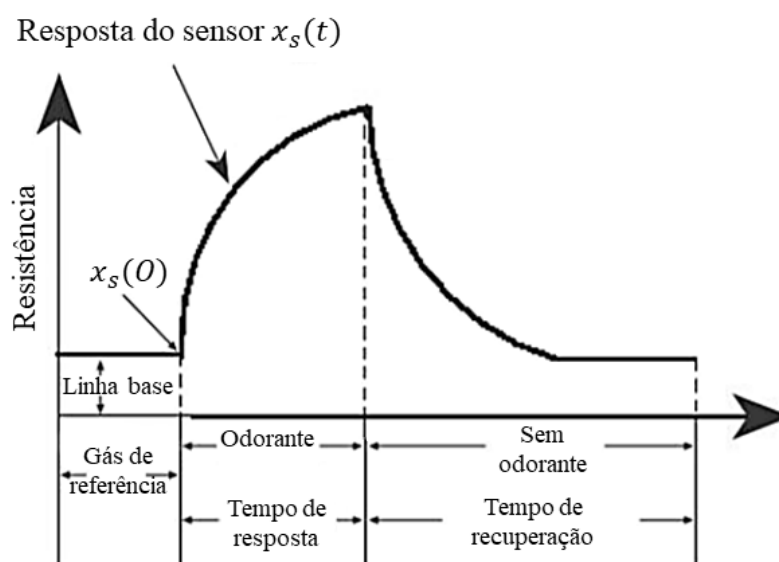
Fonte: Adaptado de (KIANI; MINAEI; GHASEMI-VARNAMKHASTI, 2016).

O método de amostragem de coleta adequada e sua transferência para a matriz de sensores representam um desafio durante o projeto e uso de um sistema *e-nose*. O sistema mais simples possível utiliza amostragem manual. A amostra é armazenada

em um volume fechado e os voláteis são extraídos com uma seringa e injetados na câmara contendo a matriz de sensores. Uma outra forma é a amostragem dinâmica, onde geralmente são utilizados sistemas pneumáticos, minimizando o tempo de resposta e a recuperação do sistema a medida em que os analitos são liberados. A escolha da técnica de amostragem a ser usada depende principalmente da sensibilidade dos sensores no sistema de detecção, das diferenças na composição das amostras e do estado da matéria em que elas se encontram (MAJCHRZAK et al., 2018).

Durante a amostragem, a resposta da matriz de sensores é dada em função do tempo. A primeira etapa na análise de odor é a liberação de um gás de referência para obtenção de uma linha de base. Em seguida, os sensores são expostos ao odorante, causando alterações em seu sinal de saída até que o sensor atinja o estado estacionário. O odorante é então liberado da câmara onde estão os sensores usando o gás de referência e o sensor retorna à sua linha de base, como mostrado na Figura 3. O tempo durante o qual o sensor é exposto ao odorante é chamado de tempo de resposta, enquanto o tempo que leva o sensor para retornar à sua resistência de linha de base é chamado de tempo de recuperação (ARSHAK et al., 2004; PEARCE et al., 2006).

Figura 3 – Resposta do nariz eletrônico para um odor.



Fonte: Resposta do nariz eletrônico para um odor. Adaptado de: (ARSHAK et al., 2004).

A principal desvantagem dos sistemas *e-nose*, assim como no olfato humano, é que eles também são afetados pelos elementos do ambiente, tais como temperatura

e umidade do ar. Para suprir esta lacuna, sistemas de calibração e algoritmos para controle de variáveis são utilizados (BALDWIN et al., 2011; KIANI; MINAEI; GHASEMI-VARNAMKHASTI, 2016).

O nariz eletrônico é composto por unidades específicas de hardware e software e sua construção é portátil e relativamente simples em comparação com técnicas analíticas avançadas, como a cromatografia gasosa, espectrometria de massa, entre outras. A matriz de sensores é um dos componentes de hardware e sua escolha varia com base na aplicação (ESTAKHROYEH; RASHEDI; MEHRAN, 2018). Devido a diversidade de aplicações, sensores baseados em diferentes princípios de detecção foram desenvolvidos (SÁNCHEZ; SANTOS; LOZANO, 2019). Estes sensores sofrem alterações físicas e/ou químicas quando expostos a presença de gases. Este processo é reversível e permite que os sensores sejam usados novamente em outros testes (WILSON, 2013).

Os tipos de sensores mais comumente utilizados em narizes eletrônicos são os semicondutores de óxido metálico (MOS, do inglês, *metal oxide semiconductor*), transistores de efeito de campo de semicondutor de óxido metálico (MOSFET, do inglês, *membrane oxide semiconductor field effect transistors*), sensores baseados em polímeros condutores (CP, do inglês, *conducting polymers*), eletroquímicos, ópticos e piezoelétricos. Entre os sensores piezoelétricos, destacam-se os sensores de ondas acústicas de superfície (SAW, do inglês, *surface acoustic wave*) e de volume (BAW, do inglês, *bulk acoustic wave*). Recentemente, narizes eletrônicos baseados em espectrometria de massa (MS, do inglês, *mass spectrometry*) e cromatografia gasosa (GC, do inglês, *gas chromatography*) também foram introduzidos (MAJCHRZAK et al., 2018; SÁNCHEZ; SANTOS; LOZANO, 2019).

Os sensores MOS são os mais utilizados na literatura (SHI; ZHANG; ADHIKARI, 2018), especialmente os sensores baseados em óxido de estanho, por ser um dos óxidos metálicos mais comuns e que apresenta alta sensibilidade a uma ampla gama de vapores orgânicos (CASALINUOVO et al., 2006; ESTAKHROYEH; RASHEDI; MEHRAN, 2018). Além da sensibilidade, o tempo de resposta rápido, baixo custo financeiro comparado a outros tipos de sensores e a simplicidade de projeto e de construção do circuito também são algumas de suas principais vantagens (BRUDZEWSKI; OSOWSKI; GOLEMBIECKA, 2012). O princípio de detecção dos sensores MOS é baseado em mudanças na condutividade decorrentes da presença de gases alvo. Estes sensores possuem um módulo de aquecimento integrado.

Devido ao aquecimento, o oxigênio do ambiente é absorvido pelo material semicondutor da superfície do sensor, estabelecendo sua resistência elétrica para um estado estável. Durante a medição, os componentes voláteis próximos a camada de detecção reagem (oxidação ou redução) com as moléculas de oxigênio absorvidas e causam uma mudança nas propriedades elétricas. Como a diminuição da concentração de oxigênio na superfície é proporcional à concentração de gases alvo presentes no ar, a resistência do sensor diminui proporcionalmente, realizando a detecção de voláteis presentes no ar (HUANG; WU, 2020; NAZEMI et al., 2019).

As vantagens e desvantagens dos principais tipos de sensores utilizados em sistemas *e-nose* são resumidas na Tabela 1 (BRUDZEWSKI; OSOWSKI; GOLEMBIECKA, 2012; MAJCHRZAK et al., 2018).

A saída de um sistema multissensorial apresenta um conjunto complexo de dados. Nesses sistemas, cada sensor é capaz de mudar seu comportamento quando é exposto a substâncias voláteis liberadas pelos analitos. Essas respostas são sinais analíticos diferentes para cada sensor e dependendo das diferenças entre amostras específicas, a mudança na sua amplitude pode ser minúscula (ESTEVES et al., 2018; MAJCHRZAK et al., 2018). Por essa razão, é necessário usar métodos de análise de dados para interpretar adequadamente o sinal de saída (DYMERSKI; CHMIEL; WARDENCKI, 2011). O objetivo principal dos métodos de análise de dados é enfatizar as semelhanças e diferenças entre os componentes do conjunto de dados por meio da redução da dimensionalidade.

Os algoritmos de pré-processamento e de reconhecimento de padrões compõem as partes de software do sistema *e-nose* (ESTAKHROYEH; RASHEDI; MEHRAN, 2018). O pré-processamento de sinais multivariados em matrizes de sensores representa uma parte essencial do sistema de medição (KIANI; MINAEI; GHASEMI-VARNAMKHAJASTI, 2016). Esta fase é utilizada para melhorar a qualidade da informação obtida pela matriz de sensores e otimizar os sinais de resposta antes que sejam submetidos aos métodos de reconhecimento de padrões (HEIDARBEIGI et al., 2015). O pré-processamento é necessário para reduzir a variabilidade associada a possíveis flutuações nos sinais eletrônicos do sistema *e-nose* e para minimizar outras fontes de variação que também afetam o sinal dos sensores. Filtros de redução de ruídos, correções de linha de base e normalização, em vez de sinais absolutos, são comumente utilizados.

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens dos principais tipos de sensores utilizados para construção de sistemas *e-nose*.

Tipo de detecção	Vantagens	Desvantagens
Sensores semicondutores de óxido metálico (MOS)	Variedade de modelos comerciais disponíveis; baixo custo; resposta rápida; alta sensibilidade; resposta em amplo espectro; facilidade de implementação.	Sensor suscetível a envenenamento por algumas substâncias; influência de temperatura e umidade.
Transistores de efeito de campo de semicondutor de óxido metálico (MOSFET)	Tamanho reduzido; alta seletividade e sensibilidade; impacto mínimo da temperatura.	Baixa sensibilidade ao dióxido de carbono e amônia; linha de base instável.
Polímeros condutores (CP)	Alta sensibilidade; impacto mínimo da temperatura; baixo custo.	Alta susceptibilidade a umidade; complexidade de transdução; variação das respostas com o tempo; vida útil curta.
Sensores eletroquímicos	Baixo consumo de energia; alta durabilidade; alta sensibilidade; impacto mínimo da temperatura e umidade no sinal.	Número limitado de sensores comercialmente disponíveis; tamanho grande; sensibilidade limitada.
Sensores piezoelétricos (SAW, BAW)	Tamanho reduzido; curto tempo de resposta; comportamento reversível; alta sensibilidade e seletividade.	Baixo número de sensores disponíveis no mercado; baixa relação sinal-ruído; alto custo de elaboração; baixa reprodutibilidade de medição; complexidade do circuito.
Ópticos	Alta sensibilidade, seletividade e estabilidade. Tempo de resposta curto.	Requer calibração periódica; complexidade do sensor; problemas de miniaturização.
Baseado em MS	Alta sensibilidade; aplicação universal; grande quantidade de variáveis obtidas; informações quantitativas e qualitativas.	Construção complexa e de grande porte; alto consumo de energia; alto custo.
Baseado em GC	Aplicação universal; grande quantidade de dados coletados; grande quantidade de variáveis obtidas; possibilidade de análises quantitativa e qualitativa simples.	Construção complexa e de grande porte; alto custo; necessidade de gás transportador; tempo de análise relativamente longo.

Fonte: O autor (2021).

Os métodos de reconhecimento de padrões, por sua vez, podem ser divididos pelos termos paramétricos ou não paramétricos, supervisionados ou não supervisionados. Um método será paramétrico se os dados do sensor podem ser descritos por uma função de densidade de probabilidade, caso contrário, é uma técnica não paramétrica. Nos métodos supervisionados, o treinamento dos classificadores ocorre utilizando dados de uma série de amostras em que as classes correspondentes são conhecidas (conjunto de treinamento). Já os métodos não supervisionados avaliam a existência de agrupamentos naturais sem utilizar conhecimento prévio dos membros das classes. (ESTAKHROYEH; RASHEDI; MEHRAN, 2018; MAJCHRZAK et al., 2018; SHI; ZHANG; ADHIKARI, 2018).

Segundo Yan e colaboradores, alguns métodos de reconhecimento de padrões podem ser usados para refinar ou reduzir a dimensionalidade de dados como a análise de componentes principais (PCA, do inglês, *principal component analysis*), análise discriminante linear (LDA, do inglês, *linear discriminant analysis*) e análise discriminante linear não paramétrica (NPLDA, do inglês, *non-parametric linear discriminant analysis*) (YAN et al., 2015). Usando esses métodos, a dimensionalidade do problema pode ser reduzida selecionando a melhor projeção ou combinação de recursos. Outros métodos lineares também são utilizados no reconhecimento de padrões em sistemas *e-nose*, são eles a análise de cluster hierárquica (HCA, do inglês, *hierarchical cluster analysis*), a modelagem independente suave de analogia de classe (SIMCA, do inglês, *soft independent modeling of class analogy*), o método dos mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês, *partial least squares*), análise de funções discriminantes (DFA, do inglês, *discriminant function analysis*), análise de cluster (CA, do inglês, *cluster analysis*) e análise discriminante canônica (CDA, do inglês, *canonical discriminant analysis*). Para respostas não lineares, muitas técnicas de reconhecimento de padrões baseadas em inteligência artificial têm sido exploradas, por exemplo os k-vizinhos mais próximos (k-NN, do inglês, *k-nearest neighbors*), redes neurais artificiais (ANN, do inglês, *artificial neural network*), máquina de vetores de suporte (SVM, do inglês, *support vector machine*), função de base radial (RBF, do inglês, *radial basis function*), mapa auto-organizável (SOM, do inglês, *self-organizing map*) e máquina de vetor de relevância (RVM, do inglês, *relevance vector machine*) (GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO; CHMIELEWSKI, 2017; HADDI et al., 2015; KIANI; MINAEI; GHASEMI-VARNAMKHASTI, 2016).

2.3 APLICAÇÕES DE SISTEMAS OLFATIVOS ARTIFICIAIS

Nos últimos anos, o desenvolvimento e o desempenho dos narizes artificiais tiveram um enorme progresso (MARTINELLI et al., 2015). Estes dispositivos vêm sendo utilizados para identificar uma grande variedade de analitos desde o seu desenvolvimento em 1982, auxiliando diversos campos do conhecimento. A análise de alimentos é a área com mais estudos relatados na literatura. Devido a maioria dos produtos da indústria alimentícia ser de origem animal ou vegetal, contêm, portanto, uma grande variedade de elementos químicos em sua composição, passíveis de análise por narizes eletrônicos (LUO et al., 2018).

Antes da década de 90, o nariz humano já era comumente utilizado para avaliação da aceitabilidade de mercado e no controle de qualidade de produtos da indústria alimentícia. Este tipo de análise é conveniente, mas não é precisa, reproduzível ou objetiva. Além disso, os narizes humanos são mais facilmente influenciados por muitos fatores ambientais ou condições internas, como saúde física e mental (PEARCE et al., 2006; SHI; ZHANG; ADHIKARI, 2018). Recentemente, os sistemas *e-nose* vêm sendo utilizados na área de alimentos frescos, devido à sua detecção rápida e objetiva para distinguir tipos de carne e identificar níveis de qualidade e deterioração (GRASSI et al., 2019; HADDI et al., 2015; PAPADOPOULOU et al., 2013; RAMÍREZ et al., 2018). Outras aplicações no campo de alimentos frescos são facilmente encontradas na literatura (LOUTFI et al., 2015; SHI; ZHANG; ADHIKARI, 2018).

Na indústria de alimentos secos, são encontrados estudos da aplicação de sistemas *e-nose* na tecnologia de secagem de alimentos, visando monitorar o teor de umidade do produto, valor nutricional e características sensoriais a fim de melhorar a qualidade final dos alimentos (GHASEMI-VARNAMKHAZI; AGHBASHLO, 2014). A abordagem da tecnologia como dispositivo para verificação de autenticidade de alimentos também é bastante relatada na literatura. A determinação de aditivos alimentares, utilizados para melhorar o sabor e preservar a aparência de alimentos, também é explorada a partir de aplicações *e-nose* (GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO; CHMIELEWSKI, 2017; GONZALVEZ; ARMENTA; DE LA GUARDIA, 2009; HEIDARBEIGI et al., 2015; PERIS; ESCUDER-GILABERT, 2016; QIU; WANG, 2017).

Ainda no campo de tecnologia de alimentos, os sistemas olfativos artificiais vêm sendo utilizados com sucesso na análise de óleos comestíveis, em particular na

determinação da origem geográfica do produto e na detecção de adulteração, bem como a deterioração causada por fatores externos (HADDI et al., 2011a, 2013; MAJCHRZAK et al., 2018; MELUCCI et al., 2016; XU et al., 2016). Estudos também relatam aplicações de sistemas *e-nose* em frutas frescas como um instrumento não destrutivo para monitoramento de mudanças no perfil volátil durante o processo de maturação (SANAEIFAR et al., 2014). A previsão de índices de qualidade tais como sólidos solúveis totais, acidez, pH e firmeza de frutas é abordado em diferentes estágios de vida útil do fruto (SANAEIFAR et al., 2016). Sistemas *e-nose* também vem sendo utilizados na previsão do tempo de decomposição de frutos de pêssego (HUANG et al., 2017), assim como a deterioração em maçãs, avaliação da maturação e podridão na manga, perfil aromático da espécie timo e determinação de compostos voláteis em bagas de uva (VALLONE et al., 2012). A determinação e classificação de perfis aromáticos de frutos também já foi abordado (BAIETTO; WILSON, 2015; CIPTOHADIJOYO et al., 2016).

No campo da saúde, a tecnologia de sistemas olfativos artificiais surgiu como uma abordagem promissora para a análise da respiração. Esta tecnologia revelou-se rápida e simples para redução do tempo e custos de um diagnóstico precoce de doenças (SAIDI et al., 2018). Em contraste com as técnicas químicas analíticas, o nariz eletrônico não fornece informações sobre a composição da respiração, mas é treinado para detectar a impressão digital de cheiro na respiração usando métodos de reconhecimento de padrões. Recentemente, estudos utilizando sistemas *e-nose* foram aplicados na análise de componentes voláteis expirados e relacioná-los com algumas patologias como doenças gastrointestinais, doença renal crônica e diabetes mellitus, além das doenças respiratórias como a asma, câncer de pulmão, obstrução pulmonar crônica, síndrome do desconforto respiratório agudo, sarcoidose pulmonar, discinesia ciliar primária e fibrose cística (BRINKMAN et al., 2017; CAVALEIRO RUFO et al., 2019; GUPTA; SINGH; YADAVA, 2018; SAIDI et al., 2018; SÁNCHEZ; SANTOS; LOZANO, 2019; TIRZITE et al., 2017; WILSON, 2018).

Além das áreas de saúde e alimentícia, os sistemas olfativos artificiais ainda são amplamente utilizados no monitoramento ambiental (CIPRIANO; CAPELLI, 2019; HERRERO et al., 2016), agricultura e aplicações florestais (DYMERSKI et al., 2013; WILSON, 2013), fermentação e outras aplicações microbianas (JIANG et al., 2015; NÚÑEZ CARMONA et al., 2017; TAN et al., 2018), indústria têxtil (KINKELDEI et al., 2012) e ciências forenses que será objeto de estudo na próxima subseção.

2.4 CIÊNCIAS FORENSES

As ciências forenses são áreas interdisciplinares do conhecimento, aplicadas e que utilizam métodos científicos analíticos para gerar evidências em relação a processos judiciais. Químicos, engenheiros, psicólogos e cientistas da computação estão entre os profissionais requisitados a aplicar seus conhecimentos no contexto forense. O termo "forense" refere-se ao propósito da aplicação do método analítico e à maneira pela qual esse método é realizado (JAMES; NORDBY; BELL, 2014; OGDEN; MAILLEY, 2016; TILSTONE et al., 2006).

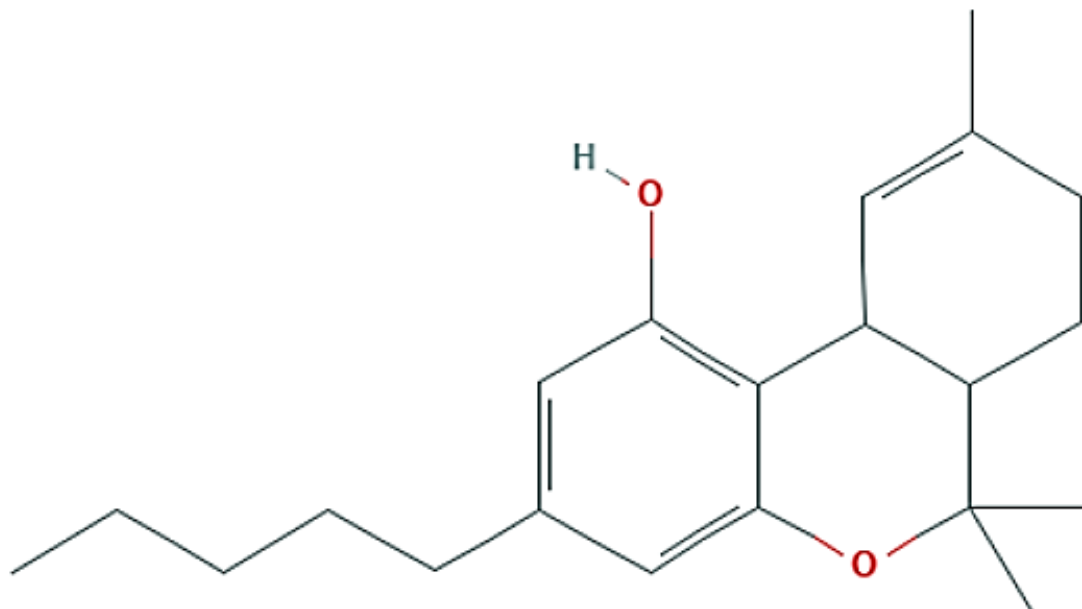
A ciência forense recebeu considerável atenção pública nos últimos anos, através da exposição na imprensa popular e na indústria do entretenimento com séries televisivas tais como *CSI*, *Dexter*, *Criminal Minds*, entre outras. Embora esse interesse generalizado tenha beneficiado a disseminação forense, também resultou em muitos mal-entendidos sobre o que é ciência forense e o que o termo forense significa (OGDEN; MAILLEY, 2016). Através de sua contribuição de confiabilidade científica, as ciências forenses devem ajudar o tribunal a garantir que os culpados recebam punição e que os inocentes permaneçam livres (JAMES; NORDBY; BELL, 2014).

Nas ciências forenses, todas as amostras de um crime são recebidas como evidências. A cadeia de custódia é responsável por manter e documentar a história cronológica da evidência, preservando-a para que possa ser utilizada pelo julgador no fundamento de decisões (MENEZES; BORRI; SOARES, 2018). A ciência forense é dividida em diversos ramos que estudam desde a genética até a antropologia, anatomia, entomologia e balística forense, entre outros. A toxicologia forense também é um dos ramos e tem como principal objetivo a detecção e quantificação de substâncias tóxicas. Análises químicas forenses são realizadas através exames laboratoriais em várias amostras orgânicas e inorgânicas encaminhadas para fins periciais, a pedido de autoridades policiais, judiciárias e/ou militares (GOMES, 2013).

A detecção de traços de drogas ilícitas representa um importante desafio nas rotinas periciais. A convenção única sobre entorpecentes de 1961 descreveu a planta de cannabis (popularmente conhecida como maconha ou marijuana) e seus produtos como drogas narcóticas (LANDE, 1962). O Δ^9 -tetraidrocannabinol (THC) é o principal fito-cannabinóide psicoativo encontrado na maconha (Figura 4) (VILCHES; TAYLOR; FILBEY, 2021). Este composto é altamente lipofílico, facilitando a penetração no

sangue e possibilitando a ações de mudança na membrana celular (ATALAY et al., 2020).

Figura 4 – Fórmula estrutural do Δ^9 -tetraidrocanabinol (THC).



Fonte: PubChem.

Cães de detecção de drogas, ou cães farejadores, são usados em muitos países como uma estratégia de policiamento de alta visibilidade na interceptação de substâncias ilegais, como narcóticos, explosivos e outros contrabandos (HAYES et al., 2018; LANCASTER; HUGHES; RITTER, 2017). Esses animais são utilizados pelos serviços alfandegários para encontrar drogas ilegais rotineiramente, incluindo cocaína, heroína, metanfetamina e maconha. Sua utilização consiste no rastreando milhões de pessoas e itens que cruzam fronteiras internacionais através de aeroportos, portos marítimos e por serviços de entrega de correspondências. Além disso, também são utilizados pela polícia em escolas e locais de trabalho para detectar e impedir o uso e/o comércio de substâncias ilícitas (BROWNE; STAFFORD; FORDHAM, 2006; LORENZO et al., 2003). No entanto, as habilidades olfatórias de cães são difíceis de determinar e existem poucos estudos que investigaram os limites de detecção canina (HAYES et al., 2018). Os cães, como todos os mamíferos, também são suscetíveis a uma variedade de condições e distúrbios que afetam seu olfato. Exemplos incluem idade, trauma, medicação e fatores ambientais (JEZIERSKI; ENSMINGER; PAPET, 2016). Segundo Furton e Myers as principais desvantagens dos cães como detectores incluem a influência de seus manipuladores, fatores

relacionados à fisiologia (como a exaustão), bem como a escassez de pesquisas (FURTON; MYERS, 2001). A avaliação da eficácia em relação aos cães de detecção continua a ser enraizada em um entendimento tradicional e não científico (HAYES et al., 2018).

Além da detecção por cães, *spot tests* também são utilizados em uma abordagem preliminar. Para detecção de maconha, o teste colorimétrico Duquenois-Levine é comumente utilizado (JACOBS; STEINER, 2014). O reagente é composto por etanol, acetaldeído e vanilina e é adicionado a mostra em um ambiente ácido, normalmente obtido através do uso de ácido clorídrico concentrado. A reação ocorre com a posição livre do grupo fenol do THC. Uma das limitações deste teste é a distinção da mudança de cor e falso positivo para reações a compostos não canabinoides tais como hortelã, patchouli e eucalipto (LOBEGEIER et al., 2020). Além das análises preliminares, métodos analíticos como GC/MS, cromatografia líquida de alta eficiência, espectrofotometria ultravioleta, espectroscopia no FTIR e difração de raios-X estão entre os métodos atualmente utilizados na toxicologia forense para a detecção de drogas ilícitas (DE OLIVEIRA PENIDO et al., 2016). No entanto, essas técnicas não são portáteis, requerem longo tempo de análise e possuem um alto custo (BACIU et al., 2015; DE OLIVEIRA PENIDO et al., 2016; HADLAND; LEVY, 2016). Um outro aspecto importante, é que os métodos forenses atuais para detecção e identificação de drogas de abuso, tais como a maconha e a cocaína, são destrutivos, de modo que as evidências não podem ser reanalisadas (DE OLIVEIRA PENIDO et al., 2016).

Portanto, a melhoria contínua dos métodos e ferramentas usadas para facilitar a aquisição de provas reunidas em investigações criminais e forenses requer o reconhecimento e a implementação de novas tecnologias que forneçam novos tipos de informação, evidências corroborativas ou informações mais detalhadas por meios mais precisos, rápidos ou eficientes. O desenvolvimento e uso de novas tecnologias analíticas forenses, em última análise, aceleram o progresso das investigações criminais, levando a resoluções mais rápidas e conclusivas de processos judiciais por meio de litígios (AD, 2014). Neste sentido, os sistemas *e-nose* representam novos tipos de tecnologias a partir de aromas e podem ter um vasto poder de aplicação também na área forense.

2.4.1 Sistemas *e-nose* nas ciências forenses

No campo das ciências forenses, o sensoriamento químico e biológico local de compostos associados à segurança e a ataques terroristas é de interesse mundial. Alguns tópicos de biomonitoramento incluem a identificação de indivíduos que representam uma ameaça através do tráfico de drogas ilícitas, fabricação explosiva, bem como a busca de vítimas de tráfico de pessoas (GIANNOUKOS; AGAPIOU; TAYLOR, 2018).

A identificação rápida e sensível de drogas ilícitas por um método livre de contato permanece um desafio por anos (LIU et al., 2018). Haddi e colaboradores relatam a capacidade de um sistema *e-nose* para classificar diferentes tipos de drogas (HADDI et al., 2011b). Este trabalho foi o pioneiro a demonstrar que a tecnologia de nariz artificial pode ser aplicada com sucesso na identificação de drogas ilícitas. Recentemente, foi desenvolvido um sistema *e-nose* para detecção de ketamina, cigarros de ketamina e tabaco com uma acurácia de classificação de 95.92% (WU; CHIU; TANG, 2019). Ketamina é uma droga comumente utilizada no Taiwan e é consumida de diferentes formas, tais como injetáveis, pílulas, diluídas em bebidas, cheiradas ou adicionadas a cigarros.

Uma outra abordagem para detecção de drogas através das alterações metabólicas da superfície da pele humana causadas pelo consumo de maconha já foi proposta (VOSS et al., 2014). Através do odor corporal, foram analisados dois grupos de 20 pessoas com pessoas que fumam tabaco e o outro, maconha, respectivamente. Para a análise, foi necessária uma preparação da superfície da pele antes da leitura dos sensores e foram utilizados os algoritmos: PCA, discriminante linear (DA, do inglês, *discriminant analysis*) e SVM. Através do dispositivo, foi possível realizar uma classificação dos grupos com taxas de 92.5, 95 e 90% de acurácia, sensibilidade e especificidade, respectivamente.

Considerando a necessidade de detecção de opioides, Mohseni e colaboradores desenvolveram pela primeira vez um arranjo de sensores colorimétricos baseado em nanopartículas de ouro não modificadas (AuNPs) para detectar e identificar sensivelmente múltiplos opioides estruturalmente similares, incluindo morfina, codeína, oxycodona, noroxicodona, tebaína, tramadol e metadona em meio aquoso (MOHSENI; BAHRAM; BAHERI, 2017). As respostas do arranjo de sensores foram diferenciadas por PCA e HCA em uma análise exploratória.

A imitação fraudulenta de produtos comerciais é um problema em todo o mundo. No Brasil, a indústria de tabaco e o governo perdem milhões de reais anualmente em vendas ilegais e impostos não arrecadados devido a esta atividade. Geralmente, uma inspeção visual realizada por um agente não é suficiente para identificar a falsificação, exigindo um método analítico auxiliar para dar suporte. No Brasil, a grande maioria dos cigarros falsificados entra no país através de fronteiras terrestres e, como normalmente estão localizados em áreas florestas densas, de difícil acesso, é necessário um sistema portátil, de baixo custo e com uma rápida resposta de análise (ESTEVES et al., 2018). Neste campo de estudo Brudzewski e colaboradores utilizaram um sistema *e-nose* para o reconhecimento de marcas de cigarro com base no cheiro de suas folhas (BRUDZEWSKI; OSOWSKI; GOLEMBIECKA, 2012). Utilizando SVM como técnica de reconhecimento de padrões, 11 marcas de cigarro foram classificadas e diferenciadas com um erro médio de classificação inferior a 1,06%. Esteves e colaboradores também propuseram um sistema *e-nose* para utilização por agentes de fronteira que combatem o contrabando de cigarros. O sistema é composto por três sensores baseados em polímero condutor dopado com diferentes porfirinas e demonstrou-se capaz de diferenciar em análise exploratória três tipos de tabaco (*Burley*, *Flue Cured* e *Oriental*) e oito marcas de cigarros (ESTEVES et al., 2018). Lin e Chang mostram que um nariz eletrônico também pode ser utilizado como uma ferramenta de teste para detecção rápida e quantitativa do conteúdo de alcaloides de nicotina no tabaco (LIN; ZHANG, 2016).

No campo de detecção de explosivos, há um maior número de estudos quando comparados a identificação de drogas ilícitas e adulteração de cigarros. Uma revisão é apresentada por Yinon sobre como os sistemas portáteis *e-nose* de detecção de substâncias químicas oferecem vantagens em relação ao tradicional cão farejador de explosivos (YINON, 2003). Um protótipo de nariz eletrônico para detecção de explosivos é apresentado para testes em ambientes controlados (LÓPEZ et al., 2017). Brudzewski e colaboradores propuseram um *e-nose* para o reconhecimento do Trinitrotolueno (TNT), Tetranitrato de Pentaeritrina (PETN) e Ciclotrimetilenotritramina (RDX) nos ambientes complexos sob seu armazenamento (BRUDZEWSKI; OSOWSKI; PAWLOWSKI, 2012). Um outro estudo é apresentado como prova de conceito para discriminar substâncias explosivas tais como TNT e pólvora combinando PCA e DA (GUAMAN; LOPEZ; TORRES-TELLO, 2019). Já Askim e colaboradores propuseram um nariz optoeletrônico portátil para a

identificação de fase gasosa de materiais explosivos utilizando uma matriz de sensores colorimétricos (ASKIM et al., 2016). Outras aplicações de sistemas *e-nose* para detecção de explosivos também são apresentados por Gardner e colaboradores (GARDNER; YINON, 2004).

2.5 ANÁLISE MULTIVARIADA DE DADOS

Uma das vantagens do desenvolvimento sistemas *e-nose* é que o processo analítico não requer a separação de amostras em produtos químicos individuais, pois este tipo de dispositivo é capaz de detectar e analisar a volatilidade da fração da amostra como um todo. Assim, os sensores não são projetados para detectar um componente volátil único, mas são capazes de aprender novos padrões e os associam a odores através de funções de treinamento de dados (AMPUERO; BOSSET, 2003; HUANG et al., 2015).

Os dados obtidos a partir da matriz de sistemas *e-nose* necessitam de análise multivariada para extrair adequadamente informações significativas de maneira eficiente. O pré-processamento de sinais multivariados em matrizes de sensores representa uma parte essencial do sistema *e-nose*. (LOUTFI et al., 2015). Um pré-processamento comumente utilizado nesses sistemas é o filtro de suavização Savitzky-Golay (SAVITZKY; GOLAY, 1964), aplicado quando se deseja melhorar a relação sinal/ruído. Os métodos tradicionais de pré-processamento de sinal têm por finalidade a redução de ruído, filtragem e normalização dos dados (JING et al., 2014; SCOTT; JAMES; ALI, 2006).

Após a etapa de pré-processamento, a interpretação dos conjuntos de dados obtidos através de sistemas de nariz artificial é realizada por meio da análise multivariada de dados (KIANI; MINAEI; GHASEMI-VARNAMKHASTI, 2016). Este tipo de análise possibilita distinguir diferenças entre os dados gerados a partir de cada amostra com base nos componentes voláteis liberados (KIANI; MINAEI; GHASEMI-VARNAMKHASTI, 2016).

Para respostas lineares, diversas técnicas de reconhecimento de padrões são utilizadas na análise multivariada de dados obtidos a partir de sistemas *e-nose*. Podem-se destacar as análises de PCA, LDA, HCA, SIMCA, DFA, CA e CDA. Para respostas não lineares, são utilizados k-NN, ANN, SVM, RBF, SOM, RVM, entre

outras (MAJCHRZAK et al., 2018; SÁNCHEZ; SANTOS; LOZANO, 2019; SHI; ZHANG; ADHIKARI, 2018).

Uma abordagem comum para classificar dados de sistemas de nariz eletrônico é a conversão dos dados em componentes principais, utilizando PCA para então, servir como entrada para um algoritmo classificador, como SIMCA, ANN ou SVM (GU et al., 2019; HADDI et al., 2011b; SANAEIFAR et al., 2014; WANG; YE; DUANMU, 2009; ZOU et al., 2014). Esta abordagem permite reduzir a complexidade do conjunto de dados, através da redução de sua dimensionalidade baseado na variância do conjunto, mesmo sem informações prévias sobre classificação das amostras (HEIDARBEIGI et al., 2015).

2.5.1 Técnicas de pré-processamento

As técnicas de pré-processamento de sinais são utilizadas para melhorar a qualidade da informação disponível e otimizar a saída da matriz de sensores antes dos sinais serem utilizados pelos métodos de reconhecimento de padrões (HEIDARBEIGI et al., 2015). Os três métodos mais comumente utilizados são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Métodos de pré-processamento. $x_s(t)$: resposta do sensor, $x_s(0)$: resposta da linha de base e $y_s(t)$: resposta normalizada.

Método	Fórmula
Diferencial	$y_s(t) = x_s(t) - x_s(0)$
Relativa	$y_s(t) = \frac{x_s(t)}{x_s(0)}$
Fracionário	$y_s(t) = \frac{x_s(t) - x_s(0)}{x_s(0)}$

Fonte: (ARSHAK et al., 2004; HEIDARBEIGI et al., 2015).

No método diferencial, valor da linha de base $x_s(0)$ é subtraído da resposta dinâmica do sensor $x_s(t)$ para remover qualquer ruído presente. Já no método relativo, o valor da resposta dinâmica do sensor $x_s(t)$ é dividido pelo valor da linha de base $x_s(0)$ e no fracionário, o valor da linha de base $x_s(0)$ é subtraído da resposta dinâmica $x_s(t)$ e depois dividido pela linha de base para obter manipulação fracionária.

A resposta pré-processada $y_s(t)$ neste método fornece uma resposta normalizada adimensional que compensa diferenças de escala.

2.5.1.2 Filtro de Suavização Savitzky-Golay

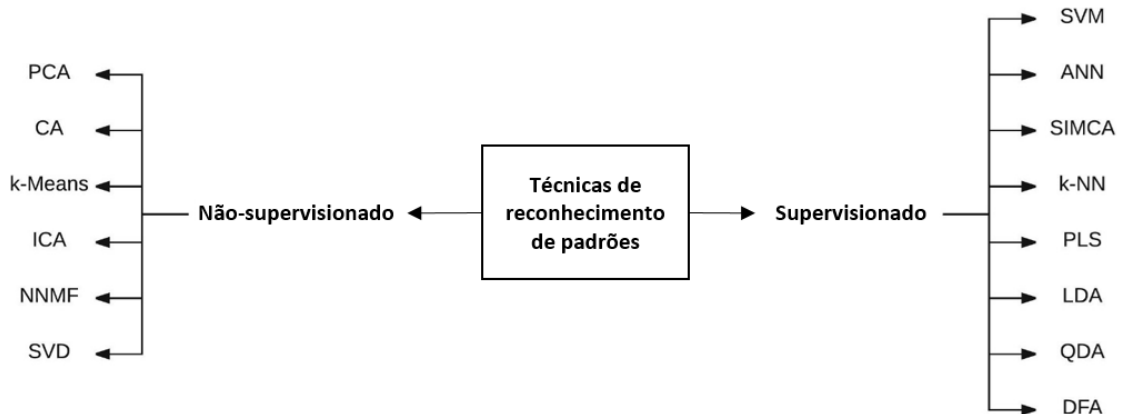
O filtro de suavização Savitzky-Golay (SG) (SAVITZKY; GOLAY, 1964) é considerado um tipo de filtro digital de resposta de impulso finito (FIR, do inglês, *finite impulse response*), que é representado por equações polinomiais. SG ajusta de forma ideal um conjunto de pontos de dados a um polinômio no sentido de mínimos quadrados (DE OLIVEIRA et al., 2018; SAVITZKY; GOLAY, 1964). Este filtro é aplicado quando se deseja melhorar a relação sinal x ruído. Em sua versão original, o subconjunto de dados está sujeito a um número ímpar $2m + 1$. Uma nova versão do filtro de suavização é estendida para dados com números pares (LUO; YING; BAI, 2005).

2.5.2 Técnicas de reconhecimento de padrões

Para análise qualitativa dos dados, existem os métodos de reconhecimento de padrões que têm por finalidade encontrar diferenças e similaridades entre grupos de amostras submetidas a algum tipo de análise. Existem dois tipos distintos de reconhecimento de padrões, aqueles usados como técnicas exploratórias e confirmatórias. A maioria das técnicas exploratórias não é supervisionada, enquanto os classificadores são supervisionados (SCOTT; JAMES; ALI, 2006). A escolha de um método de análise estatística apropriado depende do número de objetos e suas variáveis, da complexidade do problema, dos recursos físicos e das capacidades computacionais do software (MAJCHRZAK et al., 2018). Métodos não supervisionados podem ser usados para obter informações iniciais, reconhecimento inicial de dependências ou para definir os *outliers*. Eles avaliam a existência de agrupamentos naturais sem utilizar o conhecimento prévio dos membros das classes. Por outro lado, as técnicas supervisionadas são comumente usadas para classificação e discriminação entre amostras quando há uma amostra de referência com características desejáveis, que é então comparada com outras amostras. Em métodos supervisionados, para treinar o modelo, os resultados de entrada e de saída são fornecidos. A Figura 5 apresenta a taxonomia das técnicas de reconhecimento de

padrões supervisionada e não supervisionadas mais utilizadas na análise de dados multivariados.

Figura 5 – Taxonomia das técnicas de reconhecimento de padrões supervisionadas e não-supervisionadas mais utilizadas na análise de dados multivariados.



Fonte: Adaptado de (MAJCHRZAK et al., 2018).

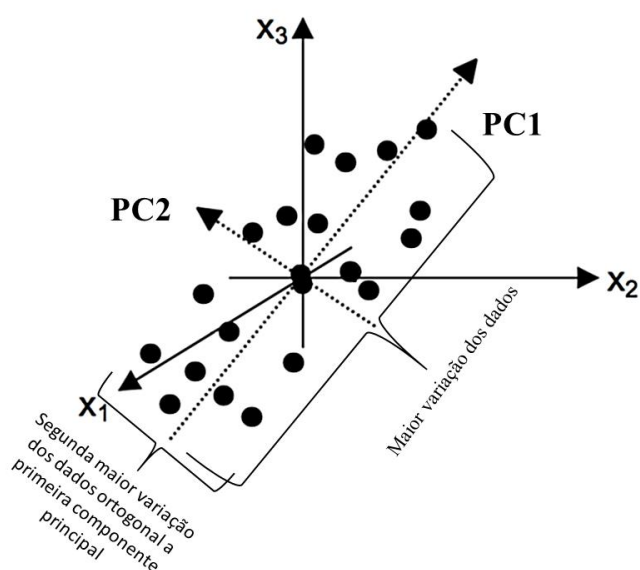
2.5.2.1 PCA

PCA é uma técnica de reconhecimento de padrões linear e não supervisionada (WU et al., 2017). É utilizada na análise exploratória de dados, seu objetivo é representar a variação do conjunto de dados em um espaço de dimensionalidade reduzida, permitindo a interpretação de conjuntos de dados com múltiplas variáveis (BRO; SMILDE, 2014; PEREIRA et al., 2014).

O funcionamento da PCA acontece da seguinte forma (JOLLIFFE, 1986): considerando um conjunto de n medições em um vetor x de p variáveis aleatórias, deseja-se reduzir a dimensão de p para q , onde q é tipicamente muito menor que p . Através da PCA, são encontradas combinações lineares $a'_1x, a'_2x, \dots, a'_qx$, chamados de componentes principais, que têm sucessivamente a variância máxima para os dados, sujeitos a não serem correlacionados com a'_kx s. Resolvendo este problema de maximização, descobrimos que os vetores a_1, a_2, \dots, a_q são os autovetores da matriz de covariância, S , dos dados correspondentes aos q maiores autovalores. Os autovalores fornecem as variâncias de seus respectivos componentes principais, e a razão entre a soma dos primeiros autovalores q e a soma das variâncias de todas as variáveis originais representa a proporção da variância total no conjunto de dados original contabilizada pelas primeiras componentes principais q .

PCA utiliza transformação ortogonal para converter um conjunto de observações de variáveis possivelmente correlacionadas em um conjunto de valores de variáveis lineares não correlacionadas, chamadas componentes principais. Conforme ilustra a Figura 6, a primeira componente principal ($PC1$) carrega a maior parte da informação (maior variância entre os dados). $PC2$ é posicionado ortogonalmente a $PC1$ e descreve a segunda maior variância, e assim por diante para as demais componentes principais. (QIU; GAO; WANG, 2014; SETSER; WADDELL SMITH, 2018). Nesse novo sistema de eixos, as coordenadas das amostras relativas aos componentes principais são chamadas de escores que descrevem propriedades, diferenças ou semelhanças entre as amostras (SILVA et al., 2013). As contribuições dos eixos originais para cada componente principal são denominadas de *loadings* (cossenos dos ângulos entre os eixos das variáveis e os eixos das componentes principais).

Figura 6 – Representação gráfica da distribuição espacial de um conjunto de amostras em um espaço multidimensional em termos da definição de componentes principais por uma PCA.



Fonte: O autor (2021).

Os *loadings* podem variar de -1 a $+1$, onde -1 é a contribuição negativa máxima de uma variável para uma componente principal, zero indica ausência de contribuição e $+1$ é a contribuição máxima positiva. A partir desses dados, os gráficos de *loadings* podem ser gerados para visualizar as variáveis que mais contribuem para a variância e, portanto, o posicionamento das amostras no gráfico de escores (SETSER; WADDELL SMITH, 2018).

2.5.2.2 SIMCA

Proposto por Svante Wold, o SIMCA é um método supervisionado bem estabelecido na literatura e é amplamente utilizado na classificação de amostras em conjuntos de dados com alta dimensionalidade. O SIMCA baseia-se na avaliação dos componentes principais de cada categoria, configurando uma distância crítica com significado probabilístico e o cálculo da distância de cada objeto a partir do modelo de cada grupo. Assim, o SIMCA possibilita a construção de um limite de confiança para cada classe com a ajuda da análise de componentes principais para então projetar as novas amostras em cada espaço de componentes principais e atribuí-las à classe na qual elas se encaixam melhor (MAJCHER et al., 2015; SILVA et al., 2013; WOLD; SJOSTROM, 1977).

O foco do SIMCA é a similaridade dentro de uma classe e o número de componentes deve ser determinado para cada modelo (WU et al., 2017). Esse método de classificação fornece três possíveis resultados de previsão:

- i) a amostra pode se enquadrar somente em uma classe pré-definida,
- ii) a amostra pode se encaixar em mais de uma classe pré-definida, e
- iii) a amostra pode não se ajustar a nenhuma classe.

As semelhanças entre as amostras de uma categoria são descritas utilizando um método de componentes principais baseado em k componentes, de acordo com a Equação 1, tal que:

$$x_{ij}^C = \sum_{a=1}^{k_C} t_{ia}^C p_{ja}^C + e_{ij}^C \quad (1)$$

onde t_{ia}^C e p_{ja}^C são os scores e *loadings* para o a -ésimo componente do modelo da classe C e e_{ij}^C são os resíduos. Assim, uma amostra é aceita pela categoria específica se sua distância ao modelo não for significativamente diferente (em um nível de confiança especificado) do desvio padrão residual da classe (MARINI et al., 2006).

Na análise SIMCA, há resultados variáveis chamados de poder de modelagem, o que significa a contribuição dessa variável para o modelo de classe ou grupo. Em um sistema de duas classes, o poder de modelagem PM de uma variável j em uma classe q é definido pela Equação 2:

$$PM_j = 1 - \frac{S_j(q)}{S_j} \quad (2)$$

onde $S_j(q)$ é o desvio padrão residual da variável j na classe q e S_j é o desvio padrão da variável j . Já o poder de discriminação PD , que significa o papel de uma variável j de discriminar entre diferentes modelos de classes, pode ser definido pela Equação 3 como:

$$PD_{pqj} = \frac{\sqrt{(S_{pqj})^2 + (S_{qpj})^2}}{\sqrt{(S_{ppj})^2 + (S_{qqj})^2}} - 1 \quad (3)$$

onde $(S_{pqj})^2$ é a variância residual de pontos na classe p ajustados ao modelo da classe q para a variável j e o oposto para $(S_{qpj})^2$. O denominador da equação contém a variância residual de pontos em p ajustados ao modelo de p para a variável j e semelhante para a classe q .

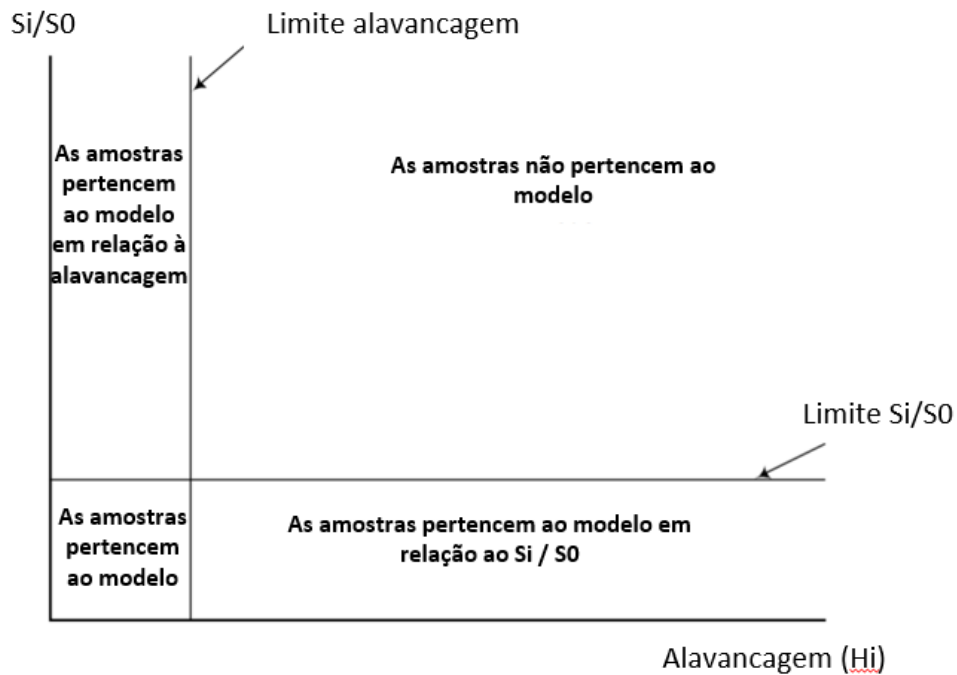
A forma gráfica Si/So vs. Hi (Figura 7) é amplamente utilizada para interpretação das previsões geradas pelo SIMCA. Si (raiz quadrada da variância residual da amostra) é a medida da distância de uma amostra ao grupo modelado, So é a base dos critérios estatísticos para decidir a nova amostra pertencente e Hi (alavancagem) expressa como uma diferença na amostra pode ser considerada a partir dos outros membros da classe (KUMAR et al., 2015). As amostras da classe representada devem pertencer ao quadrante inferior esquerdo, se outras amostras estiverem presentes nesta área, significa que também pertencerá à classe. O nível dos limites é controlado pela significância usada na classificação.

2.5.2.3 LDA

A LDA é uma técnica de reconhecimento de padrões supervisionada proposta por Fisher e é utilizada por muitos autores em diversas aplicações que utilizam sistemas olfativos artificiais (BURATTI et al., 2015; LOUTFI et al., 2015; PERIS; ESCUDER-GILABERT, 2016; QIU; WANG, 2017; XU et al., 2016).

Assim como a PCA, a LDA também é considerada uma técnica de redução de dimensionalidade. Ao contrário da PCA que seleciona uma direção que retém a máxima variância dos dados em uma menor dimensão, a LDA baseia-se na

Figura 7 – Representação gráfica S_i/S_0 vs. H_i do SIMCA para amostras de uma classe.



Fonte: O autor (2021).

determinação de funções discriminantes lineares, que maximizam a taxa de variação entre classes e minimizam a razão de variação dentro da classe, que foi aplicada para os dados coletados (MAJCHER et al., 2015; WU et al., 2017; XU et al., 2016). Este classificador fornece um modelo, caracterizado por uma dependência linear dos escores de classificação em relação aos descritores. A primeira função discriminante linear (LDF1) explica a maioria das informações do conjunto de dados e a segunda (LDF2), explica a segunda maior informação e assim sucessivamente (QIU; GAO; WANG, 2014). Em LDA, cada nova amostra é classificada como pertencente a apenas uma classe (SETSER; WADDELL SMITH, 2018).

Apesar de ser um método redutor de dimensionalidade, uma das limitações do LDA em relação a outros métodos de reconhecimento de padrões supervisionados, é que a técnica só é apropriada para conjuntos de dados com pequenas dimensões. O LDA exige que o número de variáveis seja menor ou igual ao número de amostras, o que dificulta o seu uso em análises multivariadas. Uma outra limitação está relacionada a capacidade de generalização de modelos LDA serem comprometidas por problemas relacionados à inversão de matrizes, como colinearidade e quase colinearidade de colunas da matriz de covariância, utilizada na técnica (DE ALMEIDA RIBEIRO et al., 2015; NÆS; MEVIK, 2001).

Uma maneira usual de reduzir o número de variáveis colineares do modelo é através de técnicas de seleção de variáveis. O algoritmo de projeções sucessivas (SPA, do inglês, *successive projections algorithm*) tem sido empregado com sucesso, acoplado à análise discriminante linear, em problemas de classificação envolvendo técnicas instrumentais, principalmente para minimizar problemas de colinearidade do modelo LDA (MILANEZ et al., 2017).

2.5.2.4 SPA-LDA

O SPA-LDA é utilizado para seleção de variáveis em problemas de classificação. O objetivo do algoritmo consiste em encontrar um pequeno conjunto representativo de variáveis com ênfase na minimização da colinearidade. A seleção é guiada a partir de uma função que mede o custo associado ao risco médio de erro de classificação a partir da LDA (PONTES et al., 2005).

A função custo representa o risco médio de erro de classificação por um modelo LDA quando o subconjunto de variáveis sob avaliação é empregado. Esse custo é calculado no conjunto de validação de acordo com a Equação 4:

$$G = \frac{1}{Kv} \sum_{k=1}^{Kv} g_k \quad (4)$$

onde K_v é o número de misturas da validação e g_k (risco de uma classificação incorreta do objeto x_k da n -ésima amostra de validação) é definido de acordo com a Equação 5 abaixo:

$$g_k = \frac{r^2(x_k, \mu_{Ik})}{\min_{Ij \neq Ik} r^2(x_k, \mu_{Ij})} \quad (5)$$

Na equação acima, o numerador $r^2(x_k, \mu_{Ik})$ é o quadrado de Mahalanobis entre o objeto x_k (com índice de classe Ik) e a média de sua classe μ_{Ik} . O denominador da equação corresponde ao quadrado da distância de Mahalanobis entre o objeto x_k e o centro da classe errada mais próxima. Assim, g_k deve ser o maior possível de forma que o objeto g_k deve estar próximo do centro de sua verdadeira classe e distante dos centros de todas as outras classes (no sentido estatístico definido pela distância de Mahalanobis).

2.6 ANÁLISE DE DESEMPENHO DE CLASSIFICADORES

Uma matriz de confusão resume o desempenho de um classificador em relação ao conjunto de testes (TING, 2017). Esta é composta por duas dimensões, onde uma dimensão é indexada pelos valores reais e a outra é indexada pela classe prevista pelo classificador. A Tabela 3 apresenta a forma geral de uma matriz de confusão para uma classificação multiclasse, com classes A_1, A_2, \dots, A_n . Na matriz de confusão, N_{ij} representa o número de amostras pertencentes a classe A_i mas classificadas como classe A_j e a diagonal principal contém as amostras classificadas corretamente.

Tabela 3 – Representação de uma Matriz de Confusão.

		Classe prevista				
		<i>Classe_i</i>	...	<i>Classe_j</i>	...	<i>Classe_n</i>
Classe Verdadeira	<i>Classe_i</i>	N_{ii}		N_{ij}		N_{in}
	⋮			⋮		⋮
	<i>Classe_j</i>	N_{ji}	...	N_{jj}	...	N_{jn}
	⋮			⋮		
	<i>Classe_n</i>	N_{ni}		N_{nj}		N_{nn}

Fonte: Adaptado de (DENG et al., 2016).

A partir da matriz de confusão, as medidas de desempenho da classificação podem ser mensuradas. A acurácia, ou exatidão, é a proporção do número total de previsões que foram classificadas corretamente. Logo, esta medida não distingue entre o número de rótulos corretos de diferentes classes. Esta medida é obtida através da Equação 6 abaixo:

$$Acurácia = \frac{VP + VN}{VP + FP + FN + VN} \quad (6)$$

onde, VP é verdadeiro positivo, VN é verdadeiro negativo, FN é falso negativo, e FP é falso positivo. Por outro lado, duas medidas que estimam separadamente o desempenho de um classificador em diferentes classes são sensibilidade e especificidade (SOKOLOVA; JAPKOWICZ; SZPAKOWICZ, 2006). A sensibilidade mede a habilidade do classificador para prever amostras pertencentes às suas classes

e a especificidade mede a habilidade do classificador para rejeitar amostras de outras classes. Estas duas medidas podem ser obtidas a partir das Equações 7 e 8.

$$\textit{Sensibilidade} = \frac{VP}{VP + FN} \quad (7)$$

$$\textit{Especificidade} = \frac{VN}{FP + VN} \quad (8)$$

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um dispositivo *e-nose* para as ciências forenses, de resposta rápida, portátil, de baixo custo e com resultados em tempo real, capaz de detectar amostras de maconha apreendidas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver um modelo de dispositivo *e-nose* capaz de detectar componentes voláteis e gerar assinaturas de perfis de substâncias em condições otimizadas;
- Construir, ajustar e calibrar um protótipo definindo os melhores componentes para o funcionamento a estabilidade do sistema;
- Identificar e implementar os métodos adequados para redução da dimensionalidade dos dados, análise exploratória e classificatória dos dados adquiridos;
- Avaliar o desempenho do sistema *e-nose* na identificação de maconha e outras amostras com compostos voláteis similares;
- Desenvolver uma arquitetura baseada em IoT e computação em nuvem, capaz de fornecer resultados do sistema em tempo real independente de localização;
- Realizar um levantamento das aplicações de sistemas *e-nose* nos últimos cinco anos considerando os principais campos de aplicação e as ciências forenses.

4 ARTIGO 1 – ELECTRONIC NOSE SYSTEM: ADVANCES AND APPLICATIONS

Autores: Lucas Sampaio Leite, Valeria Visani, Priscila Gubert, Jones Oliveira de Albuquerque, and José Luiz de Lima-Filho.

Artigo submetido na revista *IEEE Sensors Journal*, (ISSN:1558-1748), *JCR Impact Factor* 3.073 (2019).

Abstract: In recent years, with advances in sensors, materials, and discoveries in the field of machine learning and artificial intelligence, several applications of artificial olfactory systems have appeared in the most varied fields of knowledge. An electronic nose system (e-nose) consists of an array of sensors to detect profiles of volatile organic compounds and an algorithm for pattern recognition. In general, e-nose systems are designed to detect and discriminate complex odors without the need for special sample preparation to determine the product's aroma. This review looks at electronic nose devices and the latest scientific and technological applications in the food and beverage industry, health, and forensic science. Future trends and opportunities are also presented.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tese apresentou um sistema *e-nose* de resposta rápida, portátil, de baixo custo financeiro e com resultados em tempo real, capaz de detectar amostras de maconha apreendidas. Um protótipo foi construído, ajustado, calibrado, e demonstrou ser capaz de detectar componentes voláteis e gerar assinaturas de perfis para amostras de maconha apreendida, maconha pseudo-narcótica e cigarros de tabaco. PCA foi utilizado para análise exploratória, SIMCA para classificação e SPA-LDA para redução de variáveis e classificação. Para fornecer a visualização de dados em tempo real, um sistema de telemetria em nuvem foi implementado usando o protocolo MQTT e a plataforma *ThingsBoard*. O desempenho do sistema foi avaliado em termos de sua precisão, sensibilidade e especificidade. O modelo SPA-LDA reduziu o número de variáveis (tempos de leitura) de 355 para 10, obtendo 100,0% de precisão, sensibilidade e especificidade. Além disso, foi realizado um levantamento das principais aplicações recentes de sistemas *e-nose* nas áreas da indústria de alimentos e bebidas, saúde e ciências forenses.

REFERÊNCIAS

- AD, W. Electronic-nose Applications in Forensic Science and for Analysis of Volatile Biomarkers in the Human Breath. **Journal of Forensic Science & Criminology**, v. 1, n. 1, p. 1–21, 2014.
- ALCAÑIZ, M. et al. Design of an electronic system and its application to electronic tongues using variable amplitude pulse voltammetry and impedance spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 1, p. 122–128, 2012.
- AMPUERO, S.; BOSSET, J. O. The electronic nose applied to dairy products: A review. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 94, n. 1, p. 1–12, 2003.
- ARSHAK, K. et al. A review of gas sensors employed in electronic nose applications. **Sensor Review**, 2004.
- ASKIM, J. R. et al. An optoelectronic nose for identification of explosives. **Chemical Science**, v. 7, n. 1, p. 199–206, 2016.
- ATALAY, S. et al. Cannabidiol protects keratinocyte cell membranes following exposure to UVB and hydrogen peroxide. **Redox Biology**, v. 36, p. 101613, 2020.
- BACIU, T. et al. Capillary electrophoresis and related techniques in the determination of drugs of abuse and their metabolites. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 74, p. 89–108, 2015.
- BAIETTO, M.; WILSON, A. D. Electronic-nose applications for fruit identification, ripeness and quality grading. **Sensors (Switzerland)**, v. 15, n. 1, p. 899–931, 2015.
- BALDWIN, E. A. et al. Electronic noses and tongues: Applications for the food and pharmaceutical industries. **Sensors**, v. 11, n. 5, p. 4744–4766, 2011.
- BLOCK, E. Molecular Basis of Mammalian Odor Discrimination: A Status Report. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 51, p. 13346–13366, 2018.
- BRINKMAN, P. et al. Exhaled breath profiles in the monitoring of loss of control and clinical recovery in asthma. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 47, n. 9, p. 1159–1169, 2017.
- BRO, R.; SMILDE, A. K. Principal component analysis. **Analytical Methods**, v. 6, n. 9, p. 2812–2831, 2014.
- BROWNE, C.; STAFFORD, K.; FORDHAM, R. The use of scent-detection dogs. **Irish Veterinary Journal**, v. 59, n. 2, p. 97, 2006.
- BRUDZEWSKI, K.; OSOWSKI, S.; GOLEMBIECKA, A. Differential electronic nose and support vector machine for fast recognition of tobacco. **Expert Systems with Applications**, 2012.

BRUDZEWSKI, K.; OSOWSKI, S.; PAWLOWSKI, W. Metal oxide sensor arrays for detection of explosives at sub-parts-per million concentration levels by the differential electronic nose. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 39, n. 10, p. 9886–9891, 2012.

BUCK, L.; AXEL, R. A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. **Cell**, v. 65, n. 1, p. 175–187, 1991.

BURATTI, S. et al. Discrimination between washed Arabica, natural Arabica and Robusta coffees by using near infrared spectroscopy, electronic nose and electronic tongue analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 11, p. 2192–2200, 2015.

CASALINUOVO, I. A. et al. Application of electronic noses for disease diagnosis and food spoilage detection. **Sensors**, v. 6, n. 11, p. 1428–1439, 2006.

CAVALEIRO RUFO, J. et al. Exhaled breath condensate volatilome allows sensitive diagnosis of persistent asthma. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 74, n. 3, p. 527–534, 2019.

CHEN, T. H.; HSU, H. Y.; WU, S. P. The detection of multiple illicit street drugs in liquid samples by direct analysis in real time (DART) coupled to Q-orbitrap tandem mass spectrometry. **Forensic Science International**, v. 267, p. 1–6, 2016.

CIPRIANO, D.; CAPELLI, L. Evolution of Electronic Noses from Research Objects to Engineered Environmental Odour Monitoring Systems: A Review of Standardization Approaches. **Biosensors**, v. 9, n. 2, p. 75, 2019.

CIPTOHADIJOYO, S. et al. Electronic nose based on partition column integrated with gas sensor for fruit identification and classification. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 121, p. 429-435, 2016.

DE ALMEIDA RIBEIRO, L. et al. Multi-objective genetic algorithm for variable selection in multivariate classification problems: A case study in verification of biodiesel adulteration. **Procedia Computer Science**, v. 51, p. 346–355, 2015.

DE OLIVEIRA, M. A. et al. Use of Savitzky-Golay filter for performances improvement of SHM systems based on neural networks and distributed PZT sensors. **Sensors (Switzerland)**, v. 18, n. 1, p. 152, 2018.

DE OLIVEIRA PENIDO, C. A. F. et al. Raman spectroscopy in forensic analysis: Identification of cocaine and other illegal drugs of abuse. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 47, n. 1, p. 28–38, 2016.

DENG, X. et al. An improved method to construct basic probability assignment based on the confusion matrix for classification problem. **Information Sciences**, v. 340, p. 250–261, 2016.

DUNG, T. T. et al. Applications and advances in bioelectronic noses for odour sensing. **Sensors (Switzerland)**, v. 18, n. 1, p. 103, 2018.

DYMERSKI, T. et al. Quality evaluation of agricultural distillates using an electronic nose. **Sensors (Switzerland)**, v. 13, n. 12, p. 15954–15967, 2013.

DYMERSKI, T. M.; CHMIEL, T. M.; WARDENCKI, W. Invited Review Article: An odor-sensing system-powerful technique for foodstuff studies. **Review of Scientific Instruments**, v. 82, n. 11, p. 111101, 2011.

ESTAKHROYEH, H. R.; RASHEDI, E.; MEHRAN, M. Design and Construction of Electronic Nose for Multi-purpose Applications by Sensor Array Arrangement Using IBGSA. **Journal of Intelligent and Robotic Systems: Theory and Applications**, v. 92, n. 2, p. 205–221, 2018.

ESTEVEZ, C. H. A. et al. Identification of Tobacco Types and Cigarette Brands Using an Electronic Nose Based on Conductive Polymer/Porphyrin Composite Sensors. **ACS omega**, v. 3, n. 6, p. 6476–6482, 2018.

FERNANDEZ-MAESTRE, R. Buffer gas additives (modifiers/shift reagents) in ion mobility spectrometry: Applications, predictions of mobility shifts, and influence of interaction energy and structure. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 53, n. 7, p. 598–613, 1 jul. 2018.

FURTON, K. G.; MYERS, L. J. The scientific foundation and efficacy of the use of canines as chemical detectors for explosives. **Talanta**, v. 54, n. 3, p. 487–500, 2001.

GARDNER, J. W.; BARTLETT, P. N. A brief history of electronic noses. **Sensors and Actuators: B. Chemical**, v. 18, n. 1-3, p. 210–211, 1994.

GARDNER, J. W.; YINON, J. (Ed.). **Electronic noses & sensors for the detection of explosives**. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2004.

GHASEMI-VARNAMKHASTI, M. et al. Aging fingerprint characterization of beer using electronic nose. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 159, n. 1, p. 51–59, 2011.

GHASEMI-VARNAMKHASTI, M. G.; AGHBASHLO, M. Electronic nose and electronic mucosa as innovative instruments for real-time monitoring of food dryers. **Trends in Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 158–166, 2014.

GIANNOUKOS, S.; AGAPIOU, A.; TAYLOR, S. Advances in chemical sensing technologies for VOCs in breath for security/threat assessment, illicit drug detection, and human trafficking activity. **Journal of Breath Research**, v. 12, n. 2, p. 027106, 2018.

GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, A.; CHMIELEWSKI, J. Electronic Nose as a Tool for Monitoring the Authenticity of Food. A Review. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 6, p. 1800–1816, 2017.

GOMES, M. S. **Contributo da Química Forense na Detecção de Drogas de Abuso**. 2013. Tese de Doutorado.

GONZALVEZ, A.; ARMENTA, S.; DE LA GUARDIA, M. Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with Protected Designation of Origin. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 11, p. 1295–1311, 2009.

GRASSI, S. et al. Meat and Fish Freshness Assessment by a Portable and Simplified Electronic Nose System (Mastersense). **Sensors**, v. 19, n. 14, p. 3225, 2019.

GU, D. C. et al. A novel method for rapid quantitative evaluating formaldehyde in squid based on electronic nose. **LWT**, v. 101, p. 382–388, 2019.

GUAMAN, A. V.; LOPEZ, P.; TORRES-TELLO, J. Multivariate discrimination model for TNT and gunpowder using an electronic nose prototype: A proof of concept. In: **International Conference on Information Technology & Systems**. Springer, Cham, 2019. p. 284–293.

GUPTA, A.; SINGH, T. S.; YADAVA, R. D. S. MEMS sensor array-based electronic nose for breath analysis - A simulation study. **Journal of Breath Research**, v. 13, n. 1, p. 016003, 2018.

HADDI, Z. et al. Discrimination and identification of geographical origin virgin olive oil by an e-nose based on MOS sensors and pattern recognition techniques. **Procedia Engineering**, v. 25, p. 1137–1140, 2011a.

HADDI, Z. et al. A portable electronic nose system for the identification of cannabis-based drugs. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 155, n. 2, p. 456–463, 2011b.

HADDI, Z. et al. Electronic nose and tongue combination for improved classification of Moroccan virgin olive oil profiles. **Food Research International**, v. 54, n. 2, p. 1488–1498, 2013.

HADDI, Z. et al. Instrumental assessment of red meat origins and their storage time using electronic sensing systems. **Analytical Methods**, v. 7, n. 12, p. 5193–5203, 2015.

HADLAND, S. E.; LEVY, S. Objective Testing: Urine and Other Drug Tests. **Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America**, v. 25, n. 3, p. 549–565, 2016.

HAI, Z.; WANG, J. Detection of adulteration in camellia seed oil and sesame oil using an electronic nose. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 108, n. 2, p. 116–124, 2006.

HAYES, J. E. et al. Critical review of dog detection and the influences of physiology, training, and analytical methodologies. **Talanta**, v. 185, p. 499–512, 2018.

HEIDARBEIGI, K. et al. Detection of adulteration in saffron samples using electronic nose. **International Journal of Food Properties**, v. 18, n. 7, p. 1391–1401, 2015.

HERRERO, J. L. et al. A Web-Based Approach for Classifying Environmental Pollutants Using Portable E-nose Devices. **IEEE Intelligent Systems**, v. 31, n. 3, p. 108–112, 2016.

HUANG, J.; WU, J. Robust and rapid detection of mixed volatile organic compounds in flow through air by a low cost electronic nose. **Chemosensors**, v. 8, n. 3, p. 73, 2020.

HUANG, L. et al. Application of Electronic Nose with Multivariate Analysis and Sensor Selection for Botanical Origin Identification and Quality Determination of Honey. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 2, p. 359–370, 2015.

HUANG, L. et al. A primary study on forecasting the days before decay of peach fruit using near-infrared spectroscopy and electronic nose techniques. **Postharvest Biology and Technology**, v. 133, p. 104–112, 2017.

JACOBS, A. D.; STEINER, R. R. Detection of the Duquenois-Levine chromophore in a marijuana sample. **Forensic Science International**, v. 239, p. 1–5, 2014.

JAMES, S. H.; NORDBY, J. J.; BELL, S. (Ed.) **Forensic science: An introduction to scientific and investigative techniques: Fourth edition**. CRC press, 2014.

JASINSKI, G. et al. Evaluation of the electronic nose used for monitoring environmental pollution. In: **2018 XV International Scientific Conference on Optoelectronic and Electronic Sensors (COE)**. IEEE, 2018. p. 1–4.

JEZERSKI, T.; ENSMINGER, J.; PAPET, L. E. (Ed.) **Canine olfaction science and law: advances in forensic science, medicine, conservation, and environmental remediation**. CRC press, 2016.

JHA, S. K. et al. Recognition and sensing of organic compounds using analytical methods, chemical sensors, and pattern recognition approaches. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 185, p. 18–31, 2019.

JIANG, H. et al. Recent advances in electronic nose techniques for monitoring of fermentation process. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 31, n. 12, p. 1845–1852, 2015.

JING, Y. et al. Electronic nose with a new feature reduction method and a multi-linear classifier for Chinese liquor classification. **Review of Scientific Instruments**, v. 85, n. 5, p. 055004, 2014.

JOLLIFFE, I. Principal components in regression analysis. In: **Principal component analysis**. Springer, New York, NY, 1986. p. 129–155.

KARAKAYA, D.; ULUCAN, O.; TURKAN, M. Electronic Nose and Its Applications: A Survey. **International Journal of Automation and Computing**, v. 17, n. 2, p. 179–209, 2020.

KIANI, S.; MINAEI, S.; GHASEMI-VARNAMKHASTI, M. Application of electronic nose systems for assessing quality of medicinal and aromatic plant products: A review. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2016.

KINKELDEI, T. et al. An electronic nose on flexible substrates integrated into a smart textile. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 174, p. 81–86, 2012.

KUMAR, S. et al. Non-destructive classification of assam black tea using ultra-fast gas chromatography (UFGC) coupled with soft independent modeling of class analogy (SIMCA). **Sensors & Transducers**, v. 186, n. 3, p. 104–111, 2015.

LANCASTER, K.; HUGHES, C.; RITTER, A. 'Drug dogs unleashed': An historical and political account of drug detection dogs for street-level policing of illicit drugs in New South Wales, Australia. **Australian and New Zealand Journal of Criminology**, v. 50, n. 3, p. 360–378, 2017.

LANDE, A. The Single Convention on Narcotic Drugs, 1961. **International Organization**, v. 16, n. 4, p. 776-797, 1962.

LIN, S.; ZHANG, X. A rapid and novel method for predicting nicotine alkaloids in tobacco through electronic nose and partial least-squares regression analysis. **Analytical Methods**, v. 8, n. 7, p. 1609–1617, 2016.

LIU, K. et al. Non-contact identification and differentiation of illicit drugs using fluorescent films. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2018.

LOBEGEIER, V. et al. Comparison of in-scene presumptive tests for the detection of Cannabis traces on the inner surfaces of clip seal plastic bags. **Australian Journal of Forensic Sciences**, p. 1–12, 2020.

LÓPEZ, P. et al. Electronic nose prototype for explosive detection. In: **2017 CHILEAN Conference on Electrical, Electronics Engineering, Information and Communication Technologies (CHILECON)**. IEEE, 2017. p. 1–4.

LORENZO, N. et al. Laboratory and field experiments used to identify *Canis lupus var. familiaris* active odor signature chemicals from drugs, explosives, and humans. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 376, n. 8, p. 1212–1224, 2003.

LOUTFI, A. et al. Electronic noses for food quality: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 144, p. 103–111, 2015.

LUO, H. et al. Enhancing electronic nose performance based on a novel QPSO-RBM technique. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 259, p. 241–249, 2018.

LUO, J.; YING, K.; BAI, J. Savitzky-Golay smoothing and differentiation filter for even number data. **Signal Processing**, v. 85, n. 7, p. 1429–1434, 2005.

MAJCHER, M. A. et al. SPME-MS-Based Electronic Nose as a Tool for Determination of Authenticity of PDO Cheese, Oscypek. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 9, p. 2211–2217, 2015.

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

MARIN, A. C.; SCHAEFER, A. T.; ACKELS, T. Spatial information from the odour environment in mammalian olfaction. **Cell and Tissue Research**, p. 1–11, 2021.

MARINI, F. et al. Authentication of Italian CDO wines by class-modeling techniques. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 84, n. 1-2, p. 164–171, 2006.

MARTINELLI, E. et al. Stable odor recognition by a neuro-adaptive electronic nose. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2015.

MELUCCI, D. et al. Rapid direct analysis to discriminate geographic origin of extra virgin olive oils by flash gas chromatography electronic nose and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 204, p. 263–273, 2016.

MENEZES, I. A. DE; BORRI, L. A.; SOARES, R. J. A quebra da cadeia de custódia da prova e seus desdobramentos no processo penal brasileiro. **Revista Brasileira de Direito Processual Penal**, v. 4, n. 1, p. 277–300, 2018.

MILANEZ, K. D. T. M. et al. Selection of robust variables for transfer of classification models employing the successive projections algorithm. **Analytica Chimica Acta**, v. 984, p. 76–85, 2017.

MOHSENI, N.; BAHRAM, M.; BAHERI, T. Chemical nose for discrimination of opioids based on unmodified gold nanoparticles. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 250, p. 509–517, 2017.

NÆS, T.; MEVIK, B. H. Understanding the collinearity problem in regression and discriminant analysis. **Journal of Chemometrics**, v. 15, n. 4, p. 413–426, 2001.

NAZEMI, H. et al. Advanced micro-and nano-gas sensor technology: A review. **Sensors (Switzerland)**, v. 19, n. 6, p. 1285, 2019.

NÚÑEZ CARMONA, E. et al. Detection of food and skin pathogen microbiota by means of an electronic nose based on metal oxide chemiresistors. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 238, p. 1224–1230, 2017.

O'NEAL, C. L.; CROUCH, D. J.; FATAH, A. A. A. Validation of twelve chemical spot tests for the detection of drugs of abuse. **Forensic Science International**, v. 109, n. 3, p. 189–201, 2000.

OGDEN, R.; MAILLEY, J. A review of wildlife forensic science and laboratory capacity to support the implementation and enforcement of CITES. In: **Review commissioned by the Secretariat of the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora and review undertaken by the United Nations Office on Drugs and Crime**. 2016.

PAPADOPOULOU, O. S. et al. Sensory and microbiological quality assessment of beef fillets using a portable electronic nose in tandem with support vector machine analysis. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 241–249, 2013.

PEARCE, T. C. et al. **Handbook of machine olfaction: electronic nose technology**. John Wiley & Sons, 2006.

PEREIRA, P. C. DE S. et al. Chemometry in undergraduate chemistry courses: a proposal for the use of multivariate analysis in the determination of pKa. **Química Nova**, v. 37, n. 8, p. 1417–1425, 2014.

PERIS, M.; ESCUDER-GILABERT, L. Electronic noses and tongues to assess food authenticity and adulteration. **Trends in Food Science and Technology**, v. 58, p. 40–54, 2016.

PERSAUD, K.; DODD, G. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose. **Nature**, v. 299, n. 5881, p. 352–355, 1982.

PF, P. F. **Estatística de Drogas Apreendidas**. <http://www.pf.gov.br/imprensa/estatistica/drogas> (Acessado em 25 janeiro de 2021).

PONTES, M. J. C. et al. The successive projections algorithm for spectral variable selection in classification problems. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 78, n. 1–2, p. 11–18, 2005.

POTYRAILO, R. A. Toward high value sensing: Monolayer-protected metal nanoparticles in multivariable gas and vapor sensors. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 17, p. 5311–5346, 2017.

QIU, S.; GAO, L.; WANG, J. Classification and regression of ELM, LVQ and SVM for E-nose data of strawberry juice. **Journal of Food Engineering**, v. 144, p. 77–85, 2015.

QIU, S.; WANG, J. The prediction of food additives in the fruit juice based on electronic nose with chemometrics. **Food Chemistry**, v. 230, p. 208–214, 2017.

RAMÍREZ, H. L. et al. Evaluation of the Food Sniffer electronic nose for assessing the shelf life of fresh pork meat compared to physicochemical measurements of meat quality. **European Food Research and Technology**, v. 244, n. 6, p. 1047–1055, 2018.

SACHARCZUK, M. et al. Polymorphism of olfactory and neurotransmitters receptor genes in drug and explosives detection dogs can be associated with differences in detection performance. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 215, p. 52–60, 2019.

SAIDI, T. et al. Exhaled breath analysis using electronic nose and gas chromatography–mass spectrometry for non-invasive diagnosis of chronic kidney disease, diabetes mellitus and healthy subjects. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 257, p. 178–188, 2018.

SANAEIFAR, A. et al. Development and application of a new low cost electronic nose for the ripeness monitoring of banana using computational techniques (PCA, LDA, SIMCA, and SVM). **Czech Journal of Food Sciences**, v. 32, n. 6, p. 538–548, 2014.

SANAEIFAR, A. et al. Application of MOS based electronic nose for the prediction of banana quality properties. **Measurement: Journal of the International Measurement Confederation**, v. 82, p. 105–114, 2016.

SÁNCHEZ, C.; SANTOS, J. P.; LOZANO, J. Use of electronic noses for diagnosis of digestive and respiratory diseases through the breath. **Biosensors**, v. 9, n. 1, p. 35, 2019.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M. J. E. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. **Analytical Chemistry**, v. 36, n. 8, p. 1627–1639, 1964.

SCOTT, S. M.; JAMES, D.; ALI, Z. Data analysis for electronic nose systems. **Microchimica Acta**, v. 156, n. 3-4, p. 183–207, 2006.

SELA, L.; SOBEL, N. Human olfaction: A constant state of change-blindness. **Experimental Brain Research**, v. 205, n. 1, p. 13–29, 2010.

SETSER, A. L.; WADDELL SMITH, R. Comparison of variable selection methods prior to linear discriminant analysis classification of synthetic phenethylamines and tryptamines. **Forensic Chemistry**, v. 11, p. 77–86, 2018.

SHI, H.; ZHANG, M.; ADHIKARI, B. Advances of electronic nose and its application in fresh foods: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 16, p. 2700–2710, 2018.

SILVA, A. et al. Chemical-instrumental-sensory parameters and chemometrics as tools to discriminate among the quality categories of dry-cured Iberian shoulder. **Grasas y Aceites**, v. 64, n. 2, p. 201–209, 2013.

SOKOLOVA, M.; JAPKOWICZ, N.; SZPAKOWICZ, S. Beyond accuracy, F-score and ROC: a family of discriminant measures for performance evaluation. In: **Australasian joint conference on artificial intelligence**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2006. p. 1015–1021.

TAN, C. et al. Identification of Different Bile Species and Fermentation Times of Bile Arisaema Based on an Intelligent Electronic Nose and Least Squares Support Vector Machine. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 5, p. 3460–3466, 2018.

TILSTONE, W. J. et al. **Forensic science: An encyclopedia of history, methods, and techniques**. ABC-CLIO, 2006.

TING, K. M. Confusion Matrix. In: SAMMUT, C.; WEBB, G. I. (Eds.). **Encyclopedia of Machine Learning and Data Mining**. Boston, MA: Springer US, 2017. p. 260.

TIRZITE, M. et al. Detection of lung cancer in exhaled breath with an electronic nose using support vector machine analysis. **Journal of Breath Research**, v. 11, n. 3, p. 036009, 2017.

UNODC. World Drug Report 2016. **World Drug Report**. United Nations publication: Vienna, Austria, 2016.

UNODC. World Drug Report 2019. **World Drug Report**. United Nations publication: Vienna, Austria, 2019.

VALLONE, S. et al. Fruit Volatile Analysis Using an Electronic Nose. **Journal of Visualized Experiments**, n. 61, p. 3821, 2012.

VILCHES, J. R.; TAYLOR, M. B.; FILBEY, F. M. A Multiple Correspondence Analysis of Patterns of CBD Use in Hemp and Marijuana Users. **Frontiers in Psychiatry**, v. 11, p. 1583, 2021.

VOSS, A. et al. Detecting cannabis use on the human skin surface via an electronic nose system. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 14, n. 7, p. 13256–13272, 2014.

WANG, X.; YE, M.; DUANMU, C. J. Classification of data from electronic nose using relevance vector machines. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 140, n. 1, p. 143–148, 2009.

WILSON, A. D. Diverse applications of electronic-nose technologies in agriculture and forestry. **Sensors (Switzerland)**, v. 13, n. 2, p. 2295–2348, 2013.

WILSON, A. D. Application of electronic-nose technologies and VOC-biomarkers for the noninvasive early diagnosis of gastrointestinal diseases. **Sensors (Switzerland)**, v. 18, n. 8, p. 2613, 2018.

WILSON, A. D.; BAIETTO, M. Applications and advances in electronic-nose technologies. **Sensors**, v. 9, n. 7, p. 5099–5148, 2009.

WOLD, S.; SJOSTROM, M. SIMCA: A method for analysing chemical data in terms of similarity and analogy. In **B. R. Kowalski (Ed.), Chemometrics, theory and application**. ACS symposium series, 1977.

WU, C. C.; CHIU, S. W.; TANG, K. T. An Electronic Nose System for Rapid Detection of Ketamine Smoke. **IEEE Sensors Letters**, v. 3, n. 8, p. 1–4, 2019.

WU, H. et al. Variety-based discrimination of apple juices by an electronic nose and gas chromatography--mass spectrometry. **International journal of food science & technology**, v. 52, n. 11, p. 2324–2333, 2017.

WU, Y. et al. Air quality monitoring for vulnerable groups in residential environments using a multiple hazard gas detector. **Sensors (Switzerland)**, v. 19, n. 2, p. 362, 2019.

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

YAN, J. et al. Electronic nose feature extraction methods: A review. **Sensors (Switzerland)**, v. 15, n. 11, p. 27804-27831, 2015.

YANINI, A. et al. Ion mobility spectrometry and high resolution mass-spectrometry as methodologies for rapid identification of the last generation of new psychoactive substances. **Journal of Chromatography A**, v. 1574, p. 91–100, 2018.

YINON, J. Peer Reviewed: Detection of Explosives by Electronic Noses. **Analytical Chemistry**, 2003.

ZHANG, X. et al. An overview of an artificial nose system. **Talanta**, v. 184, p. 93–102, 2018.

ZHAO, P. et al. Conjugated Polymer Nanoparticles Based Fluorescent Electronic Nose for the Identification of Volatile Compounds. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 7, p. 4815–4822, 2018.

ZOU, H. Q. et al. Rapid identification of Asteraceae plants with improved RBF-ANN classification models based on MOS sensor E-nose. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.


APÊNDICE A – DESIGN AND IMPLEMENTATION OF AN ELECTRONIC NOSE SYSTEM FOR REAL-TIME DETECTION OF MARIJUANA

Artigo publicado na revista Instrumentation Science & Technology, (ISSN:1424-8220), JCR Impact Factor 1.418 (2019).

INSTRUMENTATION SCIENCE & TECHNOLOGY
<https://doi.org/10.1080/10739149.2021.1887213>



Design and implementation of an electronic nose system for real-time detection of marijuana

Lucas Sampaio Leite^a , Valeria Visani^a, Paulo César Florentino Marques^a, Maria Aparecida Barreto Lopes Seabra^a, Natália Cybelle Lima Oliveira^b, Priscila Gubert^a, Victor Wanderley Costa de Medeiros^c, Jones Oliveira de Albuquerque^{a,c}, and José Luiz de Lima Filho^a

^aKeizo Asami Immunopathology Laboratory (LIKA), Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil; ^bEduardo Campos Institute of Forensic Genetics (IGFEC), Scientific Police of Pernambuco, Jaboatão dos Guararapes, PE, Brazil; ^cStatistics and Informatics Department, Rural Federal University of Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brazil

ABSTRACT

Rapid and sensitive identification of illicit drugs has been a challenge and requires new methods. This study proposes a newly developed electronic nose (e-nose) based on commercially available gas sensors to provide a nondestructive, rapid, low cost, and portable solution for in situ detection for marijuana samples. Samples of seized marijuana, pseudo-narcotic marijuana, and cigarettes were analyzed. Principal component analysis (PCA), soft independent modeling of class analogies (SIMCA), and successive projection algorithm-linear discriminant analysis (SPA-LDA) were used for exploratory analysis, classification, and the reduction of variables and classification, respectively. The proposed e-nose system achieved 100% sensitivity, specificity, and accuracy for classifying the samples by SPA-LDA. This approach reduced the number of variables for classification from 355 to 10. The system further provided real-time detection from an internet-of-things (IoT) architecture. The proposed device showed decentralized, rapid, and accurate measurements and therefore may be an alternative for sniffer dogs or the current in situ screening methods. This device can further be expanded to detect other classes of illicit drugs.


KEYWORDS

Drug testing; electronic nose; marijuana; sensor array

Introduction

Recently, the abuse of illegal drugs has become a worldwide public health problem, with various medical, social, and legal implications.^[1,2] According to the United Nations Office on Drugs and Crime World Drug Report, drug trafficking is the largest global illicit business, leading to \$322 billion

CONTACT Lucas Sampaio Leite  lucas.sampaio@ufpe.br  Keizo Asami Immunopathology Laboratory (LIKA), Federal University of Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

 Supplemental data for this article can be accessed at publisher's website.

© 2021 Taylor & Francis Group, LLC

APÊNDICE B – FACING GLOBAL HEALTH CRISES USING MOBILE COMMUNICATIONS: AN INTERNATIONAL VIRTUAL EXCHANGE EXPERIENCE

Artigo publicado em coautoria durante estágio à docência na revista *ACM eLearn Magazine*, (ISSN 1535-394X).



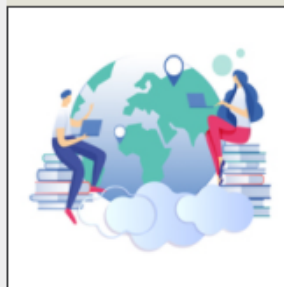
Facing Global Health Crises Using Mobile Communications: An international virtual exchange experience

BY ROSALIE BARRETO BELIAN, LUCAS SAMPAIO LEITE, JOSÉ LUIZ LIMA-FILHO, LAURA GEER / JULY 2020

TYPE: DESIGN FOR LEARNING, HIGHER EDUCATION, INTERNATIONAL ONLINE EDUCATION

[Print](#) [Email](#) [Facebook](#) [Twitter](#) [Plus](#) [Comments](#) [Instapaper](#)

Developing human resources capable of contributing positively to solving global problems is a current challenge. In this sense, higher education courses need to be deeply transformed to comprehend and deal with worldwide problems, regarding local, regional, and global contexts. Moreover, societal influences and its increasing complexity add to the challenges of interactivity promoted by globalization, which we are currently experiencing.



In these terms, many Brazilian universities have still outdated curricula and proposals to prioritize technical knowledge is sometimes completely dissociated from societal needs. On the other hand, American higher-education institutions oftentimes fail to consider in their coursework many of the serious problems faced by developing countries, such as the effects of poverty, lack of sanitation and health policies, low levels of education, and the power of incorporating cultural values in proposed solutions. The recent coronavirus pandemic is a prime example with vast geographic and cultural differences in risks for SARS-CoV-2 transmission and COVID-19.

Considering this scenario, cross-cultural teaching and learning experiences are becoming more and more significant in a way that may promote the sharing of information, knowledge, and values, and, thus, contribute to preparing professionals for collaborating in teams capable of solving global health problems.

Cross-cultural experiences have been stimulated by the internationalization of teaching and learning in universities. Especially in Brazil, universities are facing many barriers in the ability to send their students to study abroad and prepare them to address global problem-solving. In this sense, programs based on internationalization at home constitute a feasible way to accomplish cross-cultural experiences.

MOST VIEWED

1. Interview with Dr. Janet Zadina: Applying educational neuroscience research to instruction and elearning
2. How a Vocational Center Changed its Way to Train Adults: A Case Study on Computer-Based Learning and Vocational Training
3. Overnight Transformation To Online Education Due to the COVID-19 Pandemic: Lessons learned
4. What about online doctoral students? A review of e-Learning literature
5. Helping Students with Learning Disabilities Through Video-Based, Universally Designed Assessment
6. Internationalizing Teacher Education through Virtual Connections and Blended Learning
7. Creating an Active Learning Environment using Reproducible Data Science Tools
8. Helping learners as they construct knowledge: How can instructors leverage research findings
9. Facing Global Health Crises Using Mobile Communications: An international virtual exchange experience
10. A Challenging Reality: Transitioning from the classroom to e-learning among English language learners
11. COVID-19 and Higher Education in Latin America: Challenges and possibilities in the transition to online

APÊNDICE C – A HOLOGRAPHIC SENSOR BASED ON A BIOMIMETIC AFFINITY LIGAND FOR THE DETECTION OF COCAINE

Artigo publicado em coautoria durante o doutorado revista *Sensors and Actuators B: Chemical*, (ISSN 0925-4005), JCR Impact Factor 7.1 (2019).

Sensors and Actuators B 270 (2018) 216–222



Contents lists available at ScienceDirect

Sensors and Actuators B: Chemical

journal homepage: www.elsevier.com/locate/snb



A holographic sensor based on a biomimetic affinity ligand for the detection of cocaine

Natália C.L. Oliveira^a, Graziella El Khoury^c, Jennifer M. Versnel^c, Gita Khalili Moghaddam^c, Lucas S. Leite^b, José L. Lima-Filho^{a,b}, Christopher R. Lowe^{c,*}

^a Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Campus Universitário, 50670-901 Recife, PE, Brazil

^b Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Professor Moraes Rego, Campus Universitário, 50670-901, Recife, PE, Brazil

^c Department of Chemical Engineering and Biotechnology, University of Cambridge, Tennis Court Road, Cambridge, CB2 1QT, UK



ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 February 2018

Accepted 2 May 2018

Available online 3 May 2018

Keywords:

Cocaine

Holographic sensor

Ligand design

Ugi reaction

Smartphone-based instrumentation

ABSTRACT

The increasing consumption of illicit drugs has become a worldwide social and medical problem. Eradicating the supply and use of these drugs requires the development of devices that provide a fast, selective and simple response in seized powder samples. This paper describes a novel strategy for the design and development of a holographic sensor modified with a rationally designed receptor for the detection of cocaine. The receptor was designed by reviewing protein–cocaine interactions, particularly those of human carboxylesterase-1 and catalytic monoclonal antibody GNL7A1, and constructing a four-component Ugi library of putative cocaine-binding ligands. A hybrid hydrogel of poly (2-hydroxyethyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate-co-methacrolein) was used as the carbonyl source for the Ugi reaction. A Bragg diffraction grating comprising gold nanoparticles was fabricated in the polymer gel and the replay wavelength of the combinatorial library of Ugi-modified holographic sensors measured via a spectrophotometer in response to cocaine as a function of pH and ionic strength. A smartphone-based instrument and cloud-based algorithm was developed, optimised with training and test samples of cocaine and used to assess the presence of cocaine in seized field samples. These findings confirm the potential application of this analytical method in field testing for illicit drugs.

© 2018 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

The abuse of illegal drugs has become a worldwide public health issue [1]. Currently, drug trafficking is the largest global illicit business, raising around \$322 billion per year, and being a potential threat to a number of economies in terms of the financial power generated, which can seriously jeopardise a country's future [2,3]. According to the United Nations Office on Drugs and Crime, it was estimated that, in 2014, around 250 million people between the ages of 15 and 64 years used at least one drug, of which nearly 208,000 cases caused deaths.

Cocaine is one of the most consumed and commercialised drugs around the world [4]. Several colorimetric field tests, such as the cobalt thiocyanate test (Scott test) have been developed for its presumptive identification at the point of seizure. However, these tests lack selectivity and can produce false-negative results, which lead

to incorrect on-site decisions. Consequently, the results generated from this system require further confirmation with other more sophisticated analytical methods, such as GC–MS or HPLC, which are expensive and time-consuming [5–7].

As an alternative to these conventional methods, portable technologies, such as holographic sensors can be developed to promote a rapid and reliable detection of cocaine. A holographic sensor is a device that comprises a holographic sensor incorporated into "smart" hydrogel films that diffract narrow band light at different wavelengths for the detection and quantification of analytes and/or physical parameters [8,9]. The sensor response usually results from chemical or physical interactions that alter the charge or disposition of the polymer matrix, which consequently varies the refractive index or spacing between the holographic fringes of the film, causing a visible wavelength shift and/or intensity (brightness) change [10–12]. The diffraction grating of the holographic sensor thus acts like an optical transducer, offering several major advantages when compared to other optical sensors, i.e. the ability to display three-dimensional (3D) images, act as a real time label-free sensing platform and amenability to laser manufactur-

* Corresponding author.

E-mail address: cr11@cam.ac.uk (C.R. Lowe).

APÊNDICE D – ELECTROCHEMICAL APTASENSOR FOR THE DETECTION OF HER2 IN HUMAN SERUM TO ASSIST IN THE DIAGNOSIS OF EARLY STAGE BREAST CANCER

Artigo publicado em coautoria durante o doutorado revista *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, (ISSN 1618-2642 (print) 1618-2650 (web)), JCR Impact Factor 3.637 (2019).

Analytical and Bioanalytical Chemistry (2019) 411:6667–6676
<https://doi.org/10.1007/s00216-019-02040-5>

RESEARCH PAPER



Electrochemical aptasensor for the detection of HER2 in human serum to assist in the diagnosis of early stage breast cancer

Giselda Bezerra¹ · Carolina Córdula¹ · Danielly Campos¹ · Gustavo Nascimento¹ · Natália Oliveira¹ · Maria Aparecida Seabra¹ · Valeria Visani¹ · Sampaio Lucas¹ · Iasmim Lopes¹ · Joana Santos¹ · Francisco Xavier Jr¹ · Maria Amélia Borba¹ · Danyelly Martins¹ · José Lima-Filho¹

Received: 4 May 2019 / Revised: 7 July 2019 / Accepted: 17 July 2019 / Published online: 5 August 2019
 © Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

Abstract

Human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) is an important biomarker in the diagnosis and prognosis of breast cancer. This work aimed to develop an aptasensor to detect HER2 in human serum. HER2 aptamer was immobilized by electrostatic adsorption on the surface of a homemade screen-printed electrode modified with poly-L-lysine. Measurements were made by differential pulse voltammetry using methylene blue as a redox indicator. A calibration curve was constructed ($R^2 = 0.997$) using different concentrations of HER2 protein (10–60 ng/mL) in PBS buffer (pH 7.4), with a detection limit of 3.0 ng/mL. The aptasensor showed good reproducibility with relative standard deviations (RSDs) of 3% and remained stable for 3 days with an RSD around 2%. When the tests were performed with serum from a healthy woman, a peak of 6.72 μA was found without the addition of the protein. When we tested the serum of a woman with HER2+ breast cancer, we obtained a signal of 2.65 μA ; the same pattern was found when adding to protein in serum control, i.e., the higher the concentration of protein, the lower the signal. The aptasensor was characterized by scanning electron microscopy and isothermal titration calorimetry (ITC), showing excellent interaction between aptamer and target protein. The results revealed a promising and sensitive tool capable of detecting HER2 protein in human serum with albumin depletion, aiding in the molecular diagnosis of breast cancer.

Keywords Aptasensor · Aptamer · Diagnosis · Breast cancer · HER2 · Screen-printed electrode

Introduction

Nearly 2.1 million new cases of breast cancer and about 630,000 deaths were estimated in 2018 worldwide. In Brazil, 60,000 new cases of breast cancer were expected [1]. The ideal interval between diagnosis and treatment should be up to 60 days for a better prognosis [2]; however, in Brazil, Mexico, and India, this period reaches up to 240 days [2]. This highlights the need for new strategies, such as public policies and new techniques, to decrease the time required for diagnostic testing.

Breast cancer is a disease with high mortality rate among women around the world and has a heterogeneous clinical

nature [3]. There are four main subtypes of breast cancer: luminal A, luminal B, HER2 positive, and triple negative/basal-like; the SKBR3 breast tumor line is equivalent to the subtype molecular model HER2 positive, and the MDA-MB-231 cell line is equivalent to the triple-negative molecular subtype [4].

The human epidermal growth receptor-2 (*HER2*) gene expresses a HER2 transmembrane protein and has three domains: an extracellular domain (ECD), a transmembrane region, and an intracellular tyrosine kinase domain; the ECD can be released into the bloodstream when the cell is lysed and can be detected. Overexpression of the *HER2* oncogene characterizes the HER2 positive subtype of breast cancer, an aggressive tumor with a poor clinical outcome [5, 6]. In serum, HER2 concentration ranges from 0 to 15 ng mL⁻¹ in healthy women, and values above this point are considered overexpressed [4].

✉ Giselda Bezerra
 giseldamilamari@hotmail.com