

**UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS LIMPOS
PARA DETERMINAÇÕES FORENSES: CHUMBO EM
RESÍDUOS DE DISPARO E FUROSEMIDA EM DOPING**

VITOR HUGO MARQUES LUIZ

**Dissertação de Mestrado
2012**

Vitor Hugo Marques Luiz

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS LIMPOS
PARA DETERMINAÇÕES FORENSES: CHUMBO EM
RESÍDUOS DE DISPARO E FUROSEMIDA EM DOPING**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Helena Redigolo Pezza
Co-Orientador: Prof. Dr. Leonardo Pezza

**Araraquara
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA

L953d Luiz, Vitor Hugo Marques
Desenvolvimento de métodos analíticos limpos para
determinações forenses : chumbo em resíduos de disparo e
furosemida em doping / Vitor Hugo Marques Luiz. –
Araraquara : [s.n.], 2012
133 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Helena Redigolo Pezza
Coorientador: Leonardo Pezza

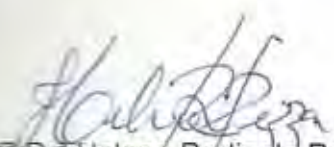
1. Química analítica. 2. Espectroscopia. 3. Reflectância.
4. Doping. I. Título.

VITOR HUGO MARQUES LUIZ

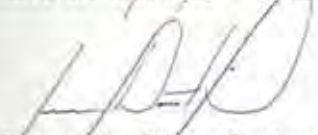
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 17 de fevereiro de 2012.

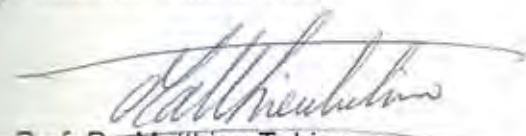
BANCA EXAMINADORA



Prof.ª Dr.ª Helena Redigolo Pezza (Orientadora)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Dr. Fernando César Crnkovic
Perito Criminal da Secretaria de Segurança Pública do Estado de São Paulo/SSP/São Carlos



Prof. Dr. Matthieu Tubino
Instituto de Química – UNICAMP / Campinas

DADOS CURRICULARES

1. DADOS PESSOAIS

NOME: Vitor Hugo Marques Luiz

DATA DE NASCIMENTO: 04/04/1988

NATURALIDADE: Araraquara – SP

NACIONALIDADE: Brasileiro

ESTADO CIVIL: Solteiro

FILIAÇÃO: Pai – Adalberto Marques Luiz

Mãe – Elisabete Rosa Marques

ENDEREÇO: Rua Bahia, 151 – Vila Xavier – CEP: 14.810-170 – Araraquara – SP – Brasil.

E-MAIL: vitorhmluiz@hotmail.com

2. FORMAÇÃO

Graduação Superior:

Bacharel em Química pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil, no período de 2006 a 2009.

Trabalho de Conclusão de Curso orientado pela Prof^a Dr^a Helena Redigolo Pezza com o título “Desenvolvimento de Métodos Analíticos por Espectroscopia de Reflectância Difusa”.

Bolsista (Iniciação Científica e Mestrado) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. CNPq.

3. ATIVIDADES CIENTÍFICAS

3.1. Apresentações de trabalhos em congressos científicos

1. LUIZ, V. H. M.; PEZZA, L.; PEZZA, H. R., Desenvolvimento de Método Analítico Limpo para Análise de Chumbo por Espectroscopia de Reflectância

- Difusa. 2011. Trabalho apresentado na 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ).
2. LUIZ, V.H.M.; PEZZA, L.; PEZZA, H.R., Desenvolvimento de Método Analítico para Determinação de Doping Esportivo por Furosemida por Espectroscopia de Reflectância Difusa. 2011. Trabalho apresentado no 16^o Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA).
 3. LUIZ, V. H. M.; PEZZA, L.; PEZZA, H. R., Desenvolvimento de Método Analítico Limpo para Análise de Nitrito por Reflectância Difusa. 2010. Trabalho apresentado na 33^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ).
 4. MARTINS, A.P.; LUIZ, V. H. M.; PEZZA, L.; PEZZA, H. R., Desenvolvimento de Método Espectrofotométrico para Análise de Nitrito em Alimentos. 2010. Trabalho apresentado na 33^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ).
 5. GODÓI, L.; LUIZ, V. H. M.; PEZZA, L.; PEZZA, H. R., Desenvolvimento de Método Analítico para determinação de Nitroprussiato de Sódio por Reflectância Difusa. 2008. Trabalho apresentado no Congresso de Iniciação Científica (CIC).
 6. SILVA, N. C.; SALOMÃO, F. M.; LUIZ, V. H. M.; PEZZA, L.; PEZZA, H. R., Determinação de Nimesulida em medicamentos por espectroscopia de reflectância difusa. 2011. Trabalho apresentado no Congresso de Iniciação Científica (CIC).

DEDICATÓRIA

Dedico todo o esforço deste trabalho a meus pais, Elisabete e Adalberto, que com sua dedicação e preocupação, demonstraram e ensinaram, mesmo nas horas de ira, decepção, desistência e desentendimento, a importância do amor e do carinho que tanto me tornou forte e me fez seguir em frente.

Às minhas avós, Aparecida e Reneide e aos meus avôs Oswaldo (*in memoriam*) e Mário, que com suas palavras, sorrisos, brincadeiras e gestos, construíram em mim o castelo das crianças à procura da sabedoria dos mais velhos, mostrando, sob os olhos da infância, que mesmo olhando-os por baixo, jamais deixariam de permitir que visse seus olhos.

Aos meus amigos, pessoas especiais que me ensinaram o valor do abraço, do sorriso, dos anos passados e das longas noites em claro estudando as estrelas e tendo uma longa conversa mesmo que sem palavra alguma e que, ainda assim, tinha toda a essência e a sabedoria de vidas inteiras.

A todos os meus professores e orientadores, que me mostraram um pouco do que sabem e me ensinaram a multiplicar meus conhecimentos a partir das coisas básicas aprendidas, permitindo com que eu traçasse meu próprio caminho sem que ninguém o desenhasse por completo na minha frente.

A todos os tipos de forças que regem este mundo, grande e misterioso demais para ser apenas nosso. Forças que navegam em nossas vidas e a essência de tudo aquilo que existe e que nos ensinam, mesmo que sem as palavras que costumamos querer ouvir, que a vida é um espetáculo cujas cortinas jamais devem se fechar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais por todos os momentos bons e maus, alegres e tristes, de sorrisos e de lágrimas... agradeço pela mão que me segurou quando eu tropeçava para o abismo e pela dedicação de correrem atrás de coisas que eu precisava quando, exausto, eu não mais conseguia sair do lugar, mas sem se esquecerem jamais de me lembrar que estar de pé era um privilégio de poucos. Pelos momentos difíceis e pelos momentos de alegria exponencial, amo vocês! Pois, como já dito certa vez, o amor não tem fronteiras... tem apenas a honra de existir!... não importa a distância... não importa o acontecido;

À Prof^a. Dr^a. Helena Redigolo Pezza e ao Prof. Dr. Leonardo Pezza pela orientação, ajuda e dedicação, pessoas que me abriram as portas de um mundo novo e permitiram que eu trabalhasse em cima do meu sonho ainda que esta não fosse a área deles, sempre incentivando e dando novas idéias, tanto para o futuro profissional quanto para o próprio futuro pessoal;

A todos do Grupo de Pesquisa Fritz Feigl (GPFF) e do Laboratório de Análise Térmica Ivo Giolito (LATIG) pelos sorrisos e conversas que se transformaram em abraços e apoio, evoluindo para uma amizade forte e invencível. Agradeço a todos vocês que participaram do meu dia-a-dia no laboratório e fora dele, mesmo aqueles que não mais dividem este espaço com a gente: Prof. Dr. Massao Ionashiro, Aline Santana, Andréa Gigante, Carla Baricala, Lilian Guevara, Nayane Borges, Natália Vieira, Nathalia Castro, Tiago Catelani, Ângela Pinheiro, Marcela Dias, Laíze Pereira, Mayara, Flávio Bedatty e Sandrinha e a todos os outros. Obrigado pela amizade e pelos momentos eternos;

Aos professores e funcionários do IQ (bibliotecárias, xerox, seção de graduação, seção técnica, cantina, etc...) pela dedicação, ajuda e paciência durante toda a minha graduação e mestrado;

A todos aqueles que me ajudaram a fazer as coletas dos resíduos de disparo e me forneceram materiais para análise, sócios do Clube do Tiro MAAT, principalmente ao

Paulo Roberto Magri e Nilton Roberto Bigotte. Ao meu pai, Adalberto, pela ajuda durante a coleta e por ser meu fotógrafo e câmera “quase-oficial”. Ao Dr. Hernane Barud do Grupo de Materiais Fotônicos do IQ-UNESP pelo fornecimento das membranas celulósicas;

À CNPq pela bolsa concedida;

Aos meus amigos, que fizeram, fazem e ainda irão fazer parte da minha vida. Àqueles que mesmo depois de uma discussão se foram e não mais voltaram... a aqueles que continuam a escrever no meu livro da vida... e a aqueles que ainda esperam decifrar o que nele está escrito.

Dentre todos, um agradecimento especial...

Ao Albert, meu grande companheiro de aventuras, com quem uma simples conversa nossa se transforma em um mundo mágico de magia, filosofia e risadas... alguém que me ensinou o significado do abraço e que me mostrou que podemos tirar um aprendizado de tudo que acontece conosco...

Ao Juliano, pelo apoio e conselhos dados nas horas difíceis, principalmente naquelas em que ele, melhor do que ninguém, tinha a experiência o jeito único de ver e contornar as situações...

À Carol Falvo, minha eterna amiga e professora que por tanto tempo ficou do meu lado, conversando, brincando, ajudando e nunca se esquecendo do “aluninho bobo” cheio de teorias e idéias malucas que só ela ouvia e compreendia, por vezes até participando...

Ao Caio Martinelli, o segundo do trio de mosqueteiros de dois homens só, com quem o “apenas dez minutos de conversa” se transforma em duas horas e meia de uma infundável discussão filosófica parecendo-se não terem passado nem cinco minutos...

À Catarina (*in memoriam*), minha fada, minha bruxinha, minha eterna Catazinha que, mesmo tão jovem, parecia carregar uma sabedoria secular... à você, que irradiou alegria em todos os 15 poucos anos que ficou neste mundo injusto e que agora nos olha da mais brilhante das estrelas do céu...

A todos do grupinho de RPG de sábado e domingo e os amigos de faculdade, além dos já acima citados: Doug, Flávio, Ana, Julião, Vinícius, Verena, Vivi, Lucas, Fly, Eidy, Fábio e à Elizabete, mãe do Júlio, Noelle, Aline e Raquel, por todos os nossos momentos bons e apuros, ainda que alguns jamais voltarão a se repetir...

EPIÍGRAFE

*"A inteligência sem amor, te faz perverso.
A justiça sem amor, te faz implacável.
A diplomacia sem amor, te faz hipócrita.
O êxito sem amor, te faz arrogante.
A riqueza sem amor, te faz avarento.
A docilidade sem amor, te faz servil.
A pobreza sem amor, te faz orgulhoso.
A beleza sem amor, te faz ridículo.
A autoridade sem amor, te faz tirano.
O trabalho sem amor, te faz escravo.
A simplicidade sem amor, te deprecia.
A oração sem amor, te deixa introvertido.
A lei sem amor, te escraviza.
A política sem amor, te deixa egoísta.
A fé sem amor, te deixa fanático.
A cruz sem amor, se converte em tortura.
A vida sem amor, não tem sentido..."*

*"Viver é sempre dizer aos outros que eles são importantes,
que nós os amamos porque um dia eles se vão e ficamos com a nítida impressão de que
não os amamos o suficiente".*

(Chico Xavier)

*"Todos nós temos um anjo, um guardião que zela por nós.
Não sabemos qual forma eles vão tomar.
Num dia, a de um velho. No dia seguinte, a de uma menininha.
Mas não se deixe enganar pelas aparências.
Podem ser ferozes como qualquer dragão. Mas não estão aqui para travar nossas
batalhas... e sim para ser a voz suave do nosso coração... lembrando-nos de quem
somos nós.
Cada um de nós mantém o controle sobre os mundos que cria.
Podemos negar que nossos anjos existem, convencer-nos de que não podem ser reais.
Seja como for, eles aparecem.
Em lugares estranhos. E em horas estranhas.
Podem falar através de qualquer personagem imaginável.
Gritam através de demônios se for preciso.
Confortando-nos. Nos desafiando a lutar."*

(Texto do filme "Sucker Punch")

RESUMO

Este projeto descreve o desenvolvimento de um método analítico para a determinação quantitativa de furosemida em amostras de urina, o desenvolvimento de um novo método de coleta e de análise de resíduos de armas de fogo para a posterior determinação quantitativa de chumbo coletado nas mãos dos atiradores, nos lugares de impacto e nos cartuchos de munição. O método para determinação de chumbo também foi aplicado para amostras de cachaças.

Atualmente sabe-se que a realidade dos laboratórios forenses é muito diferente daquelas mostradas nas séries e filmes. São muito poucos aqueles que disponibilizam de equipamentos mais sensíveis que são, conseqüentemente, mais caros. Visto este problema, o presente trabalho visa desenvolver métodos simples, rápidos, de baixo custo, repetíveis e mais limpos utilizando a técnica da espectroscopia de reflectância difusa.

Os métodos desenvolvidos consistem na reação da furosemida com o reagente cromogênico cloreto de ferro(III) (FeCl_3) em meio micelar de brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB) e na reação do íon chumbo(II) (Pb^{2+}) com rodizonato de sódio (ROD) em meio micelar de dodecil sulfato de sódio (SDS), cujas concentrações foram otimizadas por planejamentos quimiométricos. As reações foram realizadas na forma de *spot test*, utilizando papel de filtro qualitativo da marca *Whatman* como suporte sólido, envolvendo a formação de um produto colorido em 477 nm para a furosemida e 545 nm para o chumbo. As curvas analíticas foram construídas a partir de soluções padrão de furosemida (FUR) e de Pb^{2+} . O Limite de Detecção (LD) e o Limite de Quantificação (LQ) foram, respectivamente, 0,49 e 1,62 mmol L^{-1} para a furosemida e 1,12 e 3,75 ppm para o chumbo, de acordo com o recomendado pela IUPAC.

Os métodos propostos foram aplicados para determinação de furosemida em urina sintética e humana e para determinação de chumbo em resíduos de disparo de armas de fogo (*GSR*) e em cachaça comercial, tendo os produtos coloridos formados uma estabilidade óptica de pelo menos 1 hora nas condições estudadas.

O método de coleta se baseia na utilização de membranas finas de celulose desenvolvidas pelo Grupo de Materiais Fotônicos do IQ-UNESP, apresentando eficiência e simplicidade de coleta.

A validação dos métodos foi realizada por adição de padrão e recuperação. Para a furosemida, também foi realizada a comparação do método com outro descrito na literatura envolvendo a utilização de *p*-DAC. Os resultados foram comparados estatisticamente e os valores obtidos a partir do *teste t* mostraram que ambos os métodos podem ser usados para análises de rotina em laboratórios forenses.

Palavras-chave: Espectroscopia de reflectância difusa. Forense. Furosemida. Doping. Chumbo. Resíduos de armas de fogo.

ABSTRACT

This project describes the development of an analytical method for the quantitative determination of furosemide in urine samples, the development of a new collection and analysis method of gunshot residues and the subsequent quantitative determination of the lead collected from the shooter's hand, in the impact sites and in the rounds of ammunition. The method for lead detection was also applied for cachaça.

Nowadays it is known that the reality in forensic laboratories is very different of that seen in series and movies. There are few laboratories which have more sensible equipments, being more expensive. Having in mind this problem, the present work aims the development of methods that are simple, fast, cheap, repeatable and cleaner using diffuse reflectance spectroscopy.

The developed methods consists in the reaction of furosemide with the chromogenic reagent iron(III) chloride (FeCl_3) in a micellar medium of dodecyltrimethylammonium bromide (DTAB) and in the reaction of lead ion (Pb^{2+}) with sodium rhodizonate (ROD) in a micellar medium of sodium dodecyl sulfate (SDS), which concentrations were optimized by chemometrics. The reactions were realized as spot test using Whatman qualitative filter paper as a solid support, involving the formation of a colored product in 477 nm for furosemide and 545 nm for lead ion. The analytical curves were constructed from standard solutions of furosemide and lead. The Limit of Detection (LoD) and the Limit of Quantification (LoQ) were, respectively, 0,49 and 1,62 mmol L^{-1} for furosemide and 1,12 and 3,75 ppm for lead, accordingly to the recommendations of IUPAC.

The proposed methods were applied for the determination of furosemide in synthetic and human urine and for the determination of lead in gunshot residues (GSRs) and in commercial sugar cane brandy, with the formed products having an optical stability of at least 1 hour under the studied conditions.

The collection method is based on the utilization of thin cellulose membranes developed by Grupo de Materiais Fotônicos IQ-UNESP, which show a good efficiency and simplicity of collection.

The method validation was performed by standard addition and recovery. For furosemide, it was also effected a comparison of the method with another described in literature based in a reaction with *p*-DAC. The results were statistically compared and

the obtained values from *test t* showed that both methods can be used for routine analysis in forensic laboratories.

Keywords: Diffuse reflectance spectroscopy. Forensics. Furosemide. Doping. Lead. Gunshot Residues.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Reação do luminol com peróxido de hidrogênio utilizando o ferro da hemoglobina como catalisador	31
Figura 2 -	Processo de ejeção do projétil por uma arma de fogo	35
Figura 3 -	Munições da CBC para pistolas (a) e revólveres (b). Em (c) estão representadas as munições de ponta oca (características expansivas).	37
Figura 4 -	Comparação entre um tiro com (a) projétil expansivo e o de um tiro com (b) projétil não expansivo	39
Figura 5 -	Cavidade formada por um tiro de projétil expansivo numa gelatina balística	39
Figura 6 -	Estruturas químicas da Nicotina, da Cafeína e da Cocaína	42
Figura 7 -	Estruturas químicas da Metadona, da Codeína e da Morfina	43
Figura 8 -	Estruturas químicas do Triantereno e da Furosemida	44
Figura 9 -	Estruturas químicas da Testosterona e do Anadrol	44
Figura 10 -	Representação Esquemática da Ação da Furosemida no rim	48
Figura 11 -	Procedimento e suporte para a realização da reação de spot test	56
Figura 12 -	Exemplo de spot test realizado em papel de filtro, havendo a mudança de cor, mensurável através de um acessório de reflectância acoplado ao espectrofotômetro	57
Figura 13 -	Espectrômetro portátil e fibra óptica utilizados	60
Figura 14 -	Esquematização da reação de Chumbo(II) com o reagente cromogênico Rodizonato	61
Figura 15 -	Espectro de A_R da reação de spot test no papel de filtro entre Pb^{2+} e ROD em meio tamponado	62
Figura 16 -	Superfície de resposta otimizada com sua respectiva curva de nível para a medida de A_R em 545 nm em função das variáveis: [SDS] e [ROD]	66

Figura 17 -	Estabilidade óptica do produto da reação do chumbo em spot test entre 0 e 60 minutos	67
Figura 18 -	Curva Analítica para determinação de Pb^{2+}	68
Figura 19 -	Principais regiões de coleta de GSRs	74
Figura 20 -	Fluxograma esquemático dos tipos de coletas feitos	76
Figura 21 -	Coleta com as membranas a) seca e b) úmida	77
Figura 22 -	Espectro de A_r da reação de spot test no papel de filtro entre Furosemida e $FeCl_3$ em meio etanólico	83
Figura 23 -	Superfície de resposta otimizada com sua respectiva curva de nível para a medida de A_R em 477 nm em função das variáveis: $[FeCl_3]$ e $[DTAB]$	86
Figura 24 -	Estabilidade óptica do produto da reação da furosemida em spot-test entre 0 e 60 minutos	87
Figura 25 -	Curva Analítica para determinação de furosemida	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Métodos analíticos para determinação e quantificação de furosemida por (a) potenciometria, (b) espectrofotometria e (c) cromatografia	48
Tabela 2 - Métodos analíticos para determinação e quantificação de chumbo em amostras diversas	51
Tabela 3 - Leitura das reflectâncias para o teste de mancha no papel de filtro utilizando CTAB e SDS e variando-se a ordem de adição e secagem do reagente cromogênico	63
Tabela 4 - Matriz do planejamento composto central com as variáveis [ROD] e [SDS]	65
Tabela 5 - Medidas de reflectância para a curva analítica do chumbo	68
Tabela 6 - Reflectância média e desvio para os brancos de ROD e SDS	69
Tabela 7 - Limites de Detecção e Quantificação para o chumbo	70
Tabela 8 - Primeira recuperação pelo método proposto em cachaças comerciais	71
Tabela 9 - Segunda quantificação em cachaças comerciais	71
Tabela 10 - Validação do método proposto por adição de padrão e recuperação	72
Tabela 11 - Comparação entre os diferentes tipos de coleta de resíduos de disparo de armas de fogo utilizando cotonetes e algodão em bolas	75
Tabela 12 - Comparação entre os diferentes tipos de coleta de resíduos de disparo de armas de fogo utilizando as membranas secas e úmidas	78
Tabela 13 - Preparo das adições de padrão para a quantificação de chumbo nos resíduos de disparo de armas de fogo	79
Tabela 14 - Adição de padrão e recuperação para a quantificação de chumbo	79
Tabela 15 - Testes de ordem de adição e utilização do surfactante DTAB	82

Tabela 16 -	Testes de escolha do solvente	84
Tabela 17 -	do planejamento composto central para o FeCl ₃ e DTAB	85
Tabela 18 -	Medidas de reflectância para a Curva Analítica da furosemida	88
Tabela 19 -	Reflectância média e desvio para os brancos de FeCl ₃ e DTAB	89
Tabela 20 -	Limites de detecção e quantificação para a furosemida	89
Tabela 21 -	Preparo da urina sintética	90
Tabela 22 -	Adição de padrão e recuperação para as amostras de urina sintética	91
Tabela 23 -	Validação do método proposto para amostras de urina sintética	92
Tabela 24 -	Adição de padrão e recuperação para a amostra de urina natural	92
Tabela 25 -	Validação do método proposto para amostras de urina natural	93
Tabela 26 -	Resumos das figuras de mérito para cada um dos analitos estudados	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Anabolic Androgenic Steroids
ADN	Ácido desoxirribonucléico (ou DNA)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
A _R	Sinal de reflectância
CBC	Companhia Brasileira de Cartuchos
CG	Cromatografia Gasosa
COB	Comitê Olímpico Brasileiro
COI	Comitê Olímpico Internacional
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
DNA LCN	DNA Low Copy Number
DTAB	Brometo de dodeciltrimetilamônio
FeCl ₃	Cloreto de ferro(III)
FUR	Furosemida
GSRs	Resíduos de disparo de armas de fogo (Gunshot Residues)
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
ICP-MS	Inductively coupled plasma mass spectrometry
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LC	Liquid Chromatography
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MAAT	Magri Associação Araraquarense de Tiro
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MS	Mass Spectrometry (espectrometria de massas)
NAA	Nêutron activation analysis
nm	Nanômetros
NMR	Nuclear magnetic resonance
OTCs	Over-the-counter drugs (“drogas de balcão”)
Pb ²⁺	Íon chumbo(II)
ppm	Partes por milhão
ROD	Rodizonato de sódio
RSD	Desvio Padrão Relativo
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SEM	Scanning electron microscopy (mesmo que MEV)
UV	Região do Ultravioleta
VIS	Região do Visível
WADA	World Anti-Doping Agency
μL	Microlitros

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Ciências Forenses – Considerações gerais sobre a criminalística e sua interdisciplinaridade	1
1.1.1	<i>Uma abordagem sucinta sobre pesquisas, projetos, técnicas e análises forenses</i>	3
1.1.2	<i>Profissionais e suas áreas de atuação</i>	5
1.1.2.1	Antropologia	7
1.1.2.2	Odontologia	8
1.1.2.3	Química	10
1.1.2.4	Medicina	10
1.1.2.5	Entomologia	11
1.1.2.6	Outros Especialistas	11
1.1.3	<i>Crimes. Tipos de Crime. Locais de Crime. Provas.</i>	11
1.1.4	<i>Materiais de uma perícia de campo</i>	16
1.2	A Química aplicada à investigação criminal	17
1.2.1	<i>Toxicologia forense</i>	22
1.2.2	<i>Resíduos de disparo e explosivos</i>	26
1.2.3	<i>Exames papiloscópicos</i>	28
1.2.4	<i>Doping esportivo</i>	30
1.2.5	<i>Análise de sangue por Luminol</i>	30
1.2.6	<i>Avanços na genética forense</i>	31
1.3	A Balística Forense – Uma outra visão	32
1.3.1	<i>Balística Interna, Externa e Terminal</i>	34
1.3.2	<i>Cartuchos e munições</i>	36
1.4	Doping – Um problema não só esportivo	40
1.4.1	<i>Principais classes de substâncias proibidas</i>	41
1.4.1.1	Estimulantes	41
1.4.1.2	Analgésicos narcóticos	42
1.4.1.3	Diuréticos	43
1.4.1.4	Anabolizantes	44
1.4.2	<i>Métodos proibidos de doping</i>	45
1.4.2.1	Aumento da transferência de oxigênio	45
1.4.2.2	Manipulação química e física	46
1.4.2.3	Doping Genético	46
1.5	A furosemida	47
1.6	O íon chumbo	50
1.7	Aspectos da espectrometria no UV/VIS: Lei de Beer e espectroscopia de reflectância difusa	52
1.8	Química Verde: conceitos básicos	53
2	OBJETIVOS	55
3	METODOLOGIA, EQUIPAMENTOS E MATERIAIS	56

3.1	Metodologia	56
3.2	Equipamentos	57
3.3	Reagentes e soluções	58
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4.1	Chumbo	61
4.1.1	<i>Testes qualitativos</i>	61
4.1.2	<i>Triagem das variáveis e Planejamento Composto Central</i>	64
4.1.3	<i>Estabilidade óptica do produto da reação</i>	67
4.1.4	<i>Testes de linearidade, repetibilidade e curva analítica</i>	67
4.1.5	<i>Limites de Detecção e Quantificação</i>	69
4.1.6	<i>Aplicação do método proposto para análise de adulteração de amostras de cachaça comerciais</i>	70
4.1.7	<i>Testes de coleta de resíduos de disparo</i>	73
4.1.7.1	Testes laboratoriais	73
4.1.7.2	Testes <i>in situ</i>	74
4.1.8	<i>Aplicação do método proposto para a quantificação dos resíduos de disparo coletados</i>	78
4.2	Furosemida	80
4.2.1	<i>Testes qualitativos e testes preliminares com o reagente cromogênico escolhido</i>	80
4.2.2	<i>Triagem das variáveis e Planejamento Composto Central</i>	84
4.2.3	<i>Estabilidade óptica do produto da reação</i>	87
4.2.4	<i>Testes de linearidade, repetibilidade e curva analítica</i>	87
4.2.5	<i>Limites de Detecção e Quantificação</i>	89
4.2.6	<i>Adição de padrão e recuperação em urina sintética</i>	89
4.2.7	<i>Aplicação do método proposto para amostras de urina sintética</i>	91
4.2.8	<i>Aplicação do método proposto por adição de padrão e comparação com um método de referência para amostra de urina natural</i>	92
4.3	Resumo das otimizações	94
5	CONCLUSÃO	95
	PERSPECTIVAS DE TRABALHO FUTURO	96
	REFERÊNCIAS	97
	ANEXOS – Fotos da Coleta de Resíduos de Disparo	110

1 INTRODUÇÃO

Conforme descrito por Kenneth E. Melson, da American Academy of Forensic Sciences, traduzido de uma edição da Journal of Forensic Science¹:

"Em qualquer sistema de justiça legítima, ... a verdade deve desempenhar um papel fundamental e proeminente... A própria sobrevivência da lei depende não só de um sistema de justiça que a administre de forma correta, mas de um sistema que seja fundamentado na verdade... É necessário mais pesquisa em ciência e nas técnicas já em uso. Com a importância da ciência forense para a verdade e para a justiça, o apresentado e confiado aos juízes e júris deve ser válido. Não importa quão bem os cientistas forenses obedecem os protocolos ou quão confiáveis sejam as técnicas se a ciência, na verdade, não revela o que o especialista diz que revela. Estudos de métodos de validação e novas pesquisas devem ser realizados, mesmo na área das tradicionais disciplinas forenses."

1.1 Ciências Forenses – Considerações gerais sobre a criminalística e sua interdisciplinaridade

No mundo inteiro, crimes são cometidos a toda hora. Sejam eles de caráter moral, físico ou psicológico, sempre há as mãos e a inteligência de um investigador forense ou um perito a perseguir os acontecimentos e as evidências com um único objetivo: descobrir a verdade através de meios legais.

Porém, a descoberta de uma verdade requer, muitas vezes, um conhecimento multidisciplinar² devido ao grande número de fatores que compõem o objeto de estudo, podendo este ser uma cena de crime, um documento falsificado, uma bebida envenenada, dentre várias outras possibilidades. Por esta interdisciplinaridade, um único caso pode envolver cientistas de várias áreas, desde antropólogos, historiadores e psicólogos até biólogos, geólogos e médicos, sendo que a “verdade final” é alcançada através do esforço conjunto de todos os campos.

A ciência forense, apesar de ser recentemente explorada, está crescendo e se expandindo cada vez mais. Têm como principal papel elucidar os mais variados tipos de crimes baseada no fato de que todo e qualquer tipo de contato deixa um vestígio e têm, inclusive, colaborado para preservar a vida de pessoas inocentes^{2,3}, como demonstrado com os exames de DNA.

Porém, como citado por Melson¹, validações ainda são necessárias nas diversas áreas da investigação criminal uma vez que condenações injustas provenientes de vários fatores são descobertas frequentemente. Tais fatores, que incluem, por exemplo, advogados incompetentes, promotores antiéticos, equívoco de testemunhas oculares, falta de informação por parte dos policiais alheios à polícia científica na cena do crime, falta de equipamentos e materiais para uma análise *in situ* adequada e falta de conhecimento de outras técnicas de análise, são alguns dos principais problemas enfrentados pelo perito criminal, que ainda enfrenta situações judiciais em que as provas menos confiáveis continuam sendo consideradas como tendo a mais forte evidência, tanto pelos leigos quanto pelos próprios juízes³. Isto nos mostra que novos protocolos e métodos de análise devidamente validados são necessários. Porém, são poucos os lugares que dispõem de equipamentos mais eficientes uma vez que estes são caros, tornando-se necessários métodos e técnicas mais baratas e que forneçam o resultado desejado.

Isto não necessariamente significa que todos os protocolos e métodos devem ser substituídos uma vez que estudos mais recentes sobre os antigos métodos demonstraram que alguns deles funcionam muito bem para o que se deseja. Quanto aos estudos mais atuais de novos métodos e protocolos, juízes conservadores tendem a pedir provas e métodos baseados nos antigos, que nem sempre levam a resultados conclusivos. Porém, esta é uma realidade que já está mudando, com a ascensão de novas pessoas no poder judiciário, com mais experiência nos métodos forenses do que apenas no Direito propriamente dito (referência verbal)^a.

^a Citado por Adilson Pereira e Fernando Crnkovic´ no III Simpósio Forense no mini-curso Criminalística I – Análise e coleta de materiais em locais de crime, Ribeirão Preto, 29 de Setembro de 2011.

1.1.1 Uma abordagem sucinta sobre pesquisas, projetos, técnicas e análises forenses

Numa análise forense, deve-se ter em mente que a evidência de ausência nem sempre significa ausência de evidência (referência verbal)^b. Por muito tempo, a falta de evidência se deu não pela ausência propriamente dita desta, mas pela falta de meios de se obtê-las ou pela falta de informação por parte das pessoas que fazem parte da investigação, direta ou indiretamente (referência verbal)^a, que acabam por destruir as provas objetivas e/ou complementares por não conhecerem os protocolos.

Isto pode ser percebido pela falta de informação, sem generalizações. Por exemplo, num local de crime, frequentemente são os policiais que aparecem na cena antes dos peritos e, por não conhecerem os protocolos, acabam por prejudicar algum vestígio que poderia ajudar na investigação. Ou por parte da própria população em geral que acaba alterando a posição de algum elemento, mesmo que sem a intenção de dano à investigação.

Por esse motivo, há projetos de ensino e educação sobre leis criminais e forenses em escolas a partir do ensino médio, principalmente nos Estados Unidos⁴, que visam a divulgar os conceitos sobre as ciências forenses ao mesmo tempo em que difundem como agir e o que fazer caso alguém se depare com uma situação onde seja necessária a perícia.

Como já citado anteriormente, há algumas idéias pré-concebidas, sejam elas sobre os atuais protocolos ou sobre os métodos utilizados, que precisam ser revisados ou até mesmo descartados. Para que isso aconteça, mais pesquisa deve ser realizada nessa área. Porém, dizer que muita coisa precisa ser mudada é um erro já que a maioria das técnicas, protocolos, métodos e metodologias em voga atualmente funcionam bem nas perícias.

Um exemplo disto está na própria análise da cena do crime, onde o perito já deve encontrá-la devidamente isolada independente da sua dimensão e, depois, restringir criteriosamente o acesso a ela. Além disso, deve-se usar roupas e equipamentos adequados, como luvas, aventais, máscaras, toucas, placas numéricas para identificação dos principais pontos na cena, padrões de medida para fotografia, dentre

^a Citado por Adilson Pereira e Fernando Crnkovic´ no III Simpósio Forense no mini-curso Criminalística I – Análise e coleta de materiais em locais de crime, Ribeirão Preto, 29 de Setembro de 2011.

^b Citado por Pamela Patrícia Cámpora Oñate na 58ª Jornada Farmacêutica da UNESP no mini-curso Perícia Criminal, Araraquara, 25 de Agosto de 2011.

outros. Estes são procedimentos simples e básicos, mas que garantem um bom resultado no final, além da própria segurança do perito. A etapa de coleta e identificação da amostra também deve ser muito bem feita. Esta deve ser documentada, desde o seu surgimento no local do crime até a sua análise e descrição final, de forma a se estabelecer um histórico completo e fiel de sua origem (referência verbal)^c.

A técnica de reprodução simulada ou reconstituição da cena do crime também é bastante utilizada para a elucidação de casos criminais e requerem um estudo mais amplo para sua fiel reprodução uma vez que este pode não envolver apenas a área imediata (aquele em que ocorreu o crime), como também a área relacionada (que envolve as cercanias da área imediata). Esta reconstrução pode ser feita tanto em tempo real quanto por imagens computadorizadas, manuais ou maquetes. Caso a reconstituição seja em tempo real, é necessário que sejam utilizadas condições senão iguais, muito semelhantes àquelas de quando houve o delito^{5,6}, geralmente envolvendo atores que tenham as mesmas características físicas (principalmente peso e altura) dos envolvidos na cena.

Porém, este não é um processo simples por razões óbvias. Mesmo dispondo de testemunhas oculares, o que nem sempre acontece, estas são consideradas provas subjetivas e estão sujeitas a erros ou até manipulação da informação. Além disso, não é possível obter uma visão geral e completa do ato em si. Para isso, os peritos muitas vezes têm que recorrer à chamada lógica indutiva (que formula teorias) e à lógica dedutiva (que fará inferências baseadas nas teorias formadas pela lógica dedutiva considerando que estas sejam verdadeiras)⁷. Aliado a tudo isso, há *softwares*, como o *Detective* e outros, que ajudam nas reconstruções das imagens^{8,9}, permitindo uma visão mais ampla e clara do que aquela que se teria a olho nu além de tornarem mais nítidas imagens digitais.

Há casos também em que não há nem DNA nem impressões digitais para serem estudados¹⁰. Geralmente estes tipos de crime requerem um levantamento de possíveis suspeitos e a investigação dar-se-á a partir destas pessoas; sendo analisadas determinadas circunstâncias que dependerão da cena do delito. Essas circunstâncias podem incluir particularidades, como, por exemplo: 1) as fibras encontradas na roupa da vítima condizem com as encontradas nas calças do suspeito? 2) O tipo de terra encontrado nesta mesma cena é o mesmo tipo de terra encontrado na sola do tênis do

^c Citado por Adilson Pereira e Fernando Crnkovic' no III Simpósio Forense no mini-curso Criminalística II – Simulação de Local de Crime, Ribeirão Preto, 30 de Setembro de 2011.

suspeito? 3) A marca das pegadas deixadas sugerem que este anda apoiando mais a parte direita do pé direito no chão? 4) Pelo modo que empunha a arma, como visto nas gravações, o suspeito parece ser canhoto?

Através de todos esses levantamentos, pode-se não chegar ao suspeito em si, mas, com certeza o leque de opções será bem reduzido, facilitando as investigações.

É preferível laboratórios forenses que utilizem equipamentos não muito caros e que, mesmo assim, não percam sua qualidade, possibilitando a realização de análises automatizadas e com bons limites de detecção¹¹, uma vez que não são todos os laboratórios que podem arcar com as despesas de um equipamento de ponta.

Porém, para aqueles laboratórios que dispõem de recursos, é possível a utilização de técnicas avançadas de identificação e separação de DNA⁸ e Microscópios Eletrônicos de Varredura (MEV). Recentemente também foi desenvolvido um sistema robótico versátil que permite uma autópsia menos invasiva e que realiza escaneamentos de superfícies em três dimensões¹².

Outro avanço relativamente custoso, mas menos que os citados acima, é a criação de um banco de dados que contenha informações como sequenciamento de DNA, impressões digitais, modelos de cabeças e rostos para análises antropométricas, dentre outras. O banco de dados em si não é algo tão caro. O que o torna custoso é a sua atualização uma vez que as informações precisam ser coletadas para poderem ser catalogadas. Porém, um modo de tornar o processo mais acessível seria fazer um levantamento apenas entre os indivíduos de interesse, como feito na Noruega, onde apenas os condenados por crimes violentos são obrigados a fornecerem sua carga genética⁸.

1.1.2 Profissionais e suas áreas de atuação

Como já explicitado, a pesquisa forense é um campo multidisciplinar e envolve o conhecimento de profissionais de diversas áreas.

A cena de um crime deve ser sempre isolada, documentada, fotografada e desenhada com as mesmas proporções e tudo deve ser analisado pelo perito, que examinará as áreas minuciosamente.

Estes profissionais atuam nas diversas áreas do exame pericial, como na coleta, análise e interpretação dos fatos. Todos eles são treinados para não deixarem nada passar despercebido, desde as provas visíveis, como pegadas, cartuchos de munição e

marcas, passando pelas provas mais minuciosas, como fibras, fios de cabelo e resíduos até as marcas latentes, como impressões digitais e manchas de sangue ou materiais biológicos não aparentes. Um bom perito também dá importância primeiramente aos materiais biológicos (já que estes passam por processos degradativos mais rapidamente) e depois aos vestígios físicos mais vulneráveis à ação de outros elementos, como as fibras, cabelos e pós, que podem ser espalhados pelo vento¹³.

Enquanto alguns desses profissionais são responsáveis pelo trabalho direto na cena, coletando as amostras, documentando-as e acondicionando-as apropriadamente, outros farão a análise laboratorial destas na busca de algo que elucide ou forneça informações relevantes sobre o caso.

Porém, o trabalho dos peritos e criminalistas não se restringe apenas à coleta, armazenamento e análise de amostras. Muitos atuam nas entranhas da psique criminoso, tentando responder perguntas que levariam a um perfil psicológico do criminoso, seu *modus operandi* e possíveis motivações para descobrir se o modo de agir do suspeito ou do acusado realmente condiz com a realidade apresentada por ele.

Médicos, biólogos, físicos, químicos, engenheiros e diversos outros profissionais estão inseridos nas investigações criminais e dificilmente uma única ciência será capaz de elucidar um caso. Às vezes são necessários outros especialistas, podendo estes até serem alheios ao mundo da investigação, como desenhistas (que elaboram retratos falados), estudiosos específicos (coleccionadores, que podem contribuir com informações bem peculiares), tradutores, dentre outros.

Como apresentado numa entrevista com Valter Stefani pela Agência FAPESP em 2006¹⁴, há muitos peritos cursados e preparados, porém, falta suporte financeiro adequado para a maioria dos laboratórios forenses. Outro problema é a falta de químicos neste mercado de trabalho, mesmo entre aqueles que trabalham com substâncias químicas que requerem um cuidado especial em seu manuseio. Nesta entrevista é ressaltado também que profissionais com doutorado também são requisitados uma vez que estes já têm prática e conhecimentos que os habilitam a introduzir novos métodos de modo confiável nas análises.

Hoje em dia todos sabem que a realidade do trabalho pericial não condiz com os apresentados nos inúmeros seriados e filmes. Dentre muitas, ressaltam-se:

- a. Não há equipamentos de análises tão rápidas quanto às mostradas. Geralmente uma análise minuciosa como de DNA ou

de impressões digitais podem demorar bastante dependendo das outras análises que estejam sendo feitas no laboratório. Além disso, não há bancos de dados suficientemente eficientes que nos informem exatamente a pessoa que deixou a impressão digital ou a amostra biológica. O banco de dados virtual, na verdade, nos mostra uma lista de possibilidades, as quais devem ser estudadas por peritos especialistas.

b. Buscas nas casas de suspeitos também demoram para serem realizadas uma vez que é necessário um mandado judicial, fato não observado na televisão⁸.

c. O trabalho de um perito é corrido e estafante, chegando este a trabalhar em vários casos ao mesmo tempo, atendendo várias chamadas num mesmo dia. É comum um perito ser avisado de outra cena de crime que precisa ser avaliada mesmo já estando examinando uma e tendo outra elencada para visitar. Esses aspectos não são mostrados nos seriados, onde o perito parece ter bastante tempo para pensar apenas em um ou, no máximo, dois casos.

d. Um perito criminal também não é versátil em todas as áreas da criminalística, como mostrado nos seriados⁸. O mesmo que analisa a cena não é o que analisará as amostras, que também não serão os que interrogarão as testemunhas ou efetuarão a prisão. Um perito é especializado em determinada área técnico-científica e será nesta área que ele atuará, mais frequentemente.

Dentre as várias áreas de estudo presentes encontram-se:

1.1.2.1 Antropologia

A antropologia forense é a aplicação de conhecimentos de antropologia física (aquela que estuda o homem fóssil e suas características anatômicas, fisiológicas e raciais) na identificação de cadáveres ou restos cadavéricos. Difere-se da identificação genética no fato de ser apenas uma identificação morfológica⁷.

Os antropologistas forenses trabalham em lugares onde tenha havido desastres em massa, onde geralmente há uma destruição maciça do corpo, com cadáveres abandonados (estágio avançado de decomposição), mutilados e/ou desfigurados e no estudo e análise dos ossos, que podem dar informações importantes tanto na identificação (idade, sexo, raça, altura e peso) quanto na elucidação do que pode ter ocorrido com o indivíduo^{7,13}.

Porém reconstruir o rosto de uma pessoa a partir de sua ossada não é um trabalho nada fácil. Para um bom resultado, os antropologistas trabalham em conjunto com outros profissionais como desenhistas, escultores (que realizam as modelagens de acordo com as descrições dos antropologistas), matemáticos (que fazem modelos matemáticos para reformar o rosto) e programadores (que criam *softwares* multifuncionais para prever determinados aspectos, como o envelhecimento)⁸.

Todas estimativas são feitas através de comparações com bancos de dados e devem levar em consideração fatores ambientais como atividade dos insetos, localização, clima, predadores, dentre outros além do tempo de morte e estado cadavérico^{15,16}

Porém, a prática da antropologia forense em países emergentes é relativamente escassa devido à falta de profissionais qualificados na área, deixando muitos restos mortais sem uma identificação positiva e alguns casos de homicídio sem resolução¹⁷.

1.1.2.2 Odontologia

Conforme descrito na referência 7 sobre a odontologia e a odontologia forense:

“A Odontologia é a área da saúde humana que estuda e trata o sistema estomatognático (face), abrangendo ossos, musculatura mastigatória, articulações, dentes e tecidos... Odontologia Forense é a especificidade que pesquisa fenômenos físicos, químicos e biológicos que podem ter atingido o ser humano. Através da análise da arcada dentária e dos dentes, pode-se obter informações relevantes na solução de problemas de cunho criminológico. As técnicas de ADN garantiram melhoria no trabalho de um odontologista, porque mesmo em casos

onde os vestígios humanos se tornam escassos, os dentes tendem a resistir às mais extremas situações, pois tratam-se das peças mais resistentes do corpo humano. A identificação através dos dentes permite o estudo dos aspectos assinalados para a Antropologia Forense, através de métodos de reconstrução e comparação... os dentes são estruturas fundamentais à identificação médico-legal, em virtude da sua resistência (à putrefação, ao calor, aos traumatismos e à ação de certos agentes químicos) e especificidade (cada dentadura é única).

Entre as características individualizantes a analisar encontram-se: nº de dentes, alterações morfológicas congênitas ou adquiridas (hábitos, profissão, etc.), alterações da posição ou rotação, alterações patológicas (cáries) ou traumáticas, existência de tratamentos ortodônticos (coroas, pontes, próteses fixas ou amovíveis)...

Outra forma de identificação é através das marcas de mordida. Define-se como marca de mordida a impressão causada unicamente pelos dentes ou em combinação com outra parte da boca..."

A primeira vez que se utilizaram os dentes para identificação de corpos foi em Viena, em 1849, após um incêndio em uma ópera¹³.

Todos os detalhes são registrados pelo dentista, que são comparados ora com um banco de dados, ora com a arcada dentária de um suspeito, que pode ser tanto de um crime onde os dentes podem ter sido utilizados como arma ou até em casos de maltratos familiares, geralmente contra crianças¹⁸. Há também casos de desastres em massa, como o já citado incêndio em Viena, onde a odontologia forense tem um papel-chave na identificação dos corpos desfigurados e decompostos, ou mesmo em casos de afogamento, acidentes de trânsito e terremotos¹⁹.

Além destes, pode ser útil também para estimativa da faixa etária do indivíduo²⁰ e para extração de DNA²¹.

1.1.2.3 Química

A química forense consiste na utilização de seus conhecimentos para a elucidação de um delito.

Um laboratório químico forense trabalha na análise de amostras como *GSR* (do inglês Gunshot Residues), impressões digitais, falsificação de documentos, DNA, drogas, análise de traços, explosivos, entre outros²².

A química em casos criminais é muito utilizada também em análises por comparações²³ a fim de verificar fatores como os apresentados nas primeiras páginas deste capítulo: 1) esta fibra encontrada na camiseta do suspeito é a mesma que aquela encontrada na cena? 2) esta amostra de solo na sola do sapato da vítima é a mesma encontrada na casa do suspeito? 3) de qual represa vem a água encontrada nas roupas da vítima?

Técnicas cromatográficas e de espectrometria de massas também vêm sendo bastante utilizadas para a detecção de drogas, agentes de *doping* e carabinóides sintéticos através da quantificação dos metabólitos formados no corpo^{24,25}.

Posteriormente será comentado mais sobre o papel da química nas ciências forenses.

1.1.2.4 Medicina

A medicina, dentro das análises forenses, emprega um conhecimento múltiplo de suas especialidades e geralmente os profissionais dessa área devem ter um conhecimento amplo sobre o corpo humano, não restrito a uma determinada parte ou órgão.

Os patologistas são especialistas no funcionamento do corpo humano e determinam as mudanças estruturais e funcionais que acontecem neste. Dentre suas funções está a determinação do tempo e a causa da morte. Porém, suas funções não se restringem a exames cadavéricos, podendo estes, também, analisar ferimentos resultantes de assaltos ou estupros, por exemplo¹³.

1.1.2.5 Entomologia

Os entomologistas forenses são especialistas em insetos e outros artrópodes e suas interações; utilizam seus conhecimentos sobre estes para, principalmente, determinar o intervalo de tempo decorrido de morte através dos vários estágios de larvas e insetos presentes no corpo.

Atualmente o entomologista forense não trabalha apenas com os insetos^{26,27} e as informações *post-mortem* extraídas desta fauna no corpo. Aliadas a eles, estes profissionais utilizam técnicas envolvendo análises de DNA que contribuem para aumentar a precisão na estimativa do tempo decorrido desde a morte^{28,29}.

1.1.2.6 Outros Especialistas

Além das especialidades descritas, outras modalidades de exames exigem habilidades específicas. O universo pericial inclui exames de instrumentos de crime, veículos, documentos, entorpecentes, dentre outros.

1.1.3 Crimes. Tipos de Crime. Locais de Crime. Provas.

A idéia de crime e castigo não é nada recente, estando presente desde há muito em escritos antigos como o Código de Hamurábi, mais conhecido como “Lei do Olho por Olho” ou “Lei de Talião”, que tinha caráter “justo e legal” de um modo radical. As eras se passaram e com o advento da religião cristã, o conceito de culpa ganhou um significado mais religioso e ligado ao pecado, conceito este que muitas vezes substituía até o conceito de justiça do próprio Estado³⁰.

Durante a história apareceram personalidades que estudaram o crime e o criminoso em suas diferentes formas (referência verbal)^d. Alcmeon de Crotona, por exemplo, acreditava que havia uma relação entre o cérebro humano e a sua conduta, concordando com o pensamento de Ésope, que defendia que os crimes são proporcionais à capacidade dos que o cometem. Sobre as punições, Pitágoras dizia que a pena não deve ter função de castigo ou expiação, mas de exemplo de caráter preventivo, ideal parecido com o de Montesquieu, que diz que o legislador deve ser eficiente na

^d Citado por Arlindo da Silva Lourenço no III Simpósio Forense no mini-curso Criminologia clínica e psicologia criminal, Ribeirão Preto, 29 de Setembro de 2011.

prevenção do delito e não apenas na aplicação da pena uma vez que esta deve ter apenas sentido reeducador.

Hipócrates, ao defender que todo vício é fruto da loucura; Platão ao dizer que o erro do homem sempre foi o motivo de seus males e Sêneca ao citar que a ira é a mola propulsora dos crimes, dão explicações racionais sobre o que poderia impelir um ser humano a cometer um crime.

Posteriormente, surgem pensadores como Rousseau, que diz que o homem é bom, sendo que a sociedade o corrompe, Senderey dizia que o meio-ambiente é um fator secundário na criminalidade. Pritchard defendia a “moral insana”, que consistiria basicamente numa perversão mórbida dos sentimentos naturais, afetos, inclinações, temperamento, hábitos, disposições morais e impulsos naturais sem qualquer distúrbio ou defeito notável do intelecto ou conhecimento ou faculdades de raciocínio e, em particular, sem qualquer ilusão ou alucinação insana.

Para que uma ação seja considerada criminosa de modo a resultar em uma responsabilidade jurídico-penal para o respectivo autor, esta deve estar prescrita por uma lei como um crime (tipicidade).

Pode-se definir *crime* como todo comportamento humano que consiste numa ação penalmente relevante, ação esta que é típica, ilícita (ou antijurídica), culposa e punível, sendo que uma ação penalmente relevante é todo comportamento humano dominado ou dominável pela vontade. Em outras palavras, o crime é o resultado de uma conduta (prescrita na lei), havendo vínculo (nexo causal) entre ambos (referência verbal)^a. Ou seja, nem todo comportamento humano dominado pela vontade que possa parecer um crime é necessariamente um crime. Para ser, este deve preencher um tipo prescrito pela lei, ou seja, se essa ação preenche uma tipicidade especial no Código Penal³¹. Caso seja confirmada a tipicidade e a intenção de dolo (consciência e vontade de realização do ato), tem-se, ainda, que se analisar a existência ou não da ilicitude.

A exclusão de ilicitude é a retirada do caráter antijurídico de uma conduta tipificada como criminosa e, no Código Penal Brasileiro, no artigo 23, esta acontece com as seguintes causas: estado de necessidade, legítima defesa, estrito cumprimento do dever legal e exercício regular de direito³².

Cumprindo-se a tipicidade e a ilicitude, define-se então a culpa. O juízo de censura de culpa só pode ser formulado sobre um imputável uma vez que as penas só se

^a Citado por Adilson Pereira e Fernando Crnkovic´ no III Simpósio Forense no mini-curso Criminalística I – Análise e coleta de materiais em locais de crime, Ribeirão Preto, 29 de Setembro de 2011.

aplicam a quem seja suscetível de um juízo de censura de culpa. Para aqueles a quem não podem ser aplicadas, geralmente aplicam-se medidas de segurança, como no caso dos menores de 16 anos ou aos portadores de anomalias psíquicas ou de um estado patológico equiparado. Portanto, é necessário que o agente tenha capacidade de culpa a fim de ser aplicado o juízo de culpa³¹.

Além do fato ter consistido numa ação típica, ilícita e culpável, é preciso que este ainda seja punível. De acordo com a referência 31:

“Então chega-se à conclusão que por vezes existem determinados factos praticados no seio de acções penalmente relevantes, típicas, ilícitas culposas, mas contudo os agentes não são punidos. E porque é que não há punibilidade em sentido estrito?

- Ou porque não se verificam condições objectivas de punibilidade;

- Ou então porque se trata de uma isenção material, no caso de desistência;

- Ou porque se trata de uma causa pessoal de isenção de pena.

...Porque quando se analisa a responsabilidade jurídico-penal de alguém, tem-se de analisar detalhadamente todas estas categorias.

Ainda que intuitivamente se possa dar automaticamente a resposta, tem-se de percorrer estas etapas porque, por hipótese, se chegar à conclusão que aquele comportamento não foi dominado nem tão pouco era dominável pela vontade humana, imediatamente se nega a responsabilidade criminal do agente.”

Entre outras palavras, um ato pode ser penalmente relevante, típico, ilícito e culposos mas não há punibilidade devido a fatores como: retroatividade ou decadência da lei, perdão aceito, renúncia de queixa, retratação ou morte do agente, anistia, dentre outros.

Há várias maneiras de se classificarem os crimes.

Uma classificação, por exemplo, consiste na idéia de que todo crime em si resulta em algo danoso a algum bem jurídico³⁰. Assim, têm-se os seguintes grupos:

- Crimes contra a vida: homicídios, lesão corporal e instigação a suicídio e aborto;
- Crimes contra a honra: injúria, calúnia e difamação;
- Crimes contra o patrimônio: furto, roubo, extorsão, violação de direitos autorais ou de marca, dentre outros;
- Crimes contra a dignidade sexual: estupro, corrupção de menores e assédio sexual;
- Crimes contra a incolumidade pública: acidente de trânsito, atropelamento e programa nuclear não devidamente credenciado;
- Crimes contra o patrimônio histórico: roubo de antiguidades, contenha de antiguidades roubadas e demolição;
- Crimes contra a administração da justiça: falso testemunho e denúncia caluniosa;
- Crimes econômicos: estelionato, lavagem de dinheiro e fraude.

Além desta classificação, podem existir outras baseadas na forma de execução, na gravidade, nos agentes, na lesividade, dentre outros^{33,34}, com por exemplo, na doutrina brasileira:

- Quanto aos agentes: unissubjetivos (praticado por uma só pessoa, permitindo a co-autoria ou a participação de terceiros, como calúnia) e plurissubjetivos (exigem duas ou mais pessoas, como formação de quadrilha);
- Quanto à lesividade: de dano (consumado com a efetiva lesão do bem jurídico, como homicídio) ou de perigo (se consuma com a possibilidade de dano, como crime de contágio venéreo);
- Quanto ao sujeito: comuns (podem ser praticados por qualquer pessoa, como furto) ou próprios (só podem ser cometidos por uma determinada categoria de pessoas, como crime de peculato);
- Quanto à duração do crime: instantâneos (aqueles que, quando consumados, encerram-se, como homicídio), permanentes (aqueles que ocorrem quando a consumação se prolonga dependente do agente, como cárcere privado) e

instantâneos de efeitos permanentes (aqueles em que, depois de consumada a infração, os efeitos permanecem independentemente da vontade do agente);

- Quanto à ação do agente: comissivos (necessitam de uma ação positiva do agente, como homicídio), omissivos (pressupõem uma conduta de omissão, como em omissão de socorro) e comissivos por omissão (transgressão do dever legal de impedir o resultado, como um médico deixar de prestar socorro médico);
- Quanto à materialidade do crime: material (requer a prática de uma ação criminosa que exige a sua produção para a consumação, como o infanticídio) e de mera conduta (onde apenas o comportamento já produz o crime, como invasão de domicílio);
- Quanto à complexidade: simples (quando se encaixa em apenas uma descrição legal, como furto) e complexos (quando se encaixa em dois ou mais tipos penais com uma única descrição, como latrocínio, que é roubo seguido de morte);
- Quanto aos atos de realização: unissubsistentes (realizam-se apenas com um ato, como injúria) e plurissubsistentes (necessitam de dois ou mais atos que compõem a conduta, como furto);
- Quanto à realização do crime: consumados (sua prática reúne todos os elementos de sua definição legal) e tentados (aqueles que, uma vez iniciados, não se consumam por circunstâncias alheias à vontade do agente);
- Quanto à vontade do agente: doloso (quando o agente quer ou assume o risco de produzir o resultado), culposo (quando o agente não tem a intenção de produzir o resultado) e preterdoloso (quando o ato se inicia com dolo e o resultado se produz culposamente).

Os locais de crime e as provas também têm classificações próprias que ajudam na descrição detalhada presente no laudo pericial (referência verbal)^a:

LOCAIS DE CRIMES

- Interno: todo sítio que abrange um ambiente fechado;

^a Citado por Adilson Pereira e Fernando Crnkovic´ no III Simpósio Forense no mini-curso Criminalística I – Análise e coleta de materiais em locais de crime, Ribeirão Preto, 29 de Setembro de 2011.

- Externo: todo sítio não coberto;
- Área Imediata: aquela em que ocorreu o evento;
- Área Relacionada: aquela que cobre as adjacências ou cercanias de onde ocorreu o evento;
- Local Idôneo: mantiveram-se as características após o crime;
- Local Inidôneo: não se mantiveram as características após o crime.

PROVAS

- Subjetivas/Informativas: são aquelas que se baseiam em relatos, como testemunhas, vítimas e acusados;
- Objetivas/Materiais: são aquelas que se baseiam em comprovações, como constatações e verificações;
- Complementares: são aquelas que se fornecem dados a mais (complementam), como datiloscopia, vida pregressa e reconstituições de cena;
- Diretas: são aquelas que permitem conclusões (geralmente estas têm a prioridade);
- Indiretas: são circunstanciais e levam a um raciocínio.

1.1.4 *Materiais de uma Perícia de Campo*

As condições precárias de trabalho de um perito criminal constitui a realidade em diversas partes do Brasil, onde os profissionais não têm disponível, às vezes, nem um kit básico contendo os principais itens de trabalho para avaliação de uma cena de crime. Isso se agrava com os locais impróprios para análise e bens em estado deploráveis para o trabalho³⁵. Visto que as provas materiais podem ser a diferença entre a condenação e a libertação de um acusado, várias localidades já empregam uma maior atenção a estes fatores, distribuindo kits e melhorando as condições de trabalho do perito.

Dentro de um kit básico de um perito, encontra-se os seguintes instrumentos³⁶:

- Pincéis, pós (preto, branco, magnético, etc), fitas adesivas (para revelação e coleta de impressões digitais);
- Lupa (para permitir uma melhor visão de um vestígio pequeno);

- Óculos e máscara (para proteção pessoal em locais contaminados);
- Lanternas e lanternas UV (ajuda a revelar sêmen, saliva e sangue);
- Câmeras (algumas produzem imagens de acordo com a temperatura, podendo revelar um cadáver oculto, por exemplo);
- Envelopes e sacos para evidências;
- Emissor de *laser* (ajuda a definir a trajetória de um projétil);
- Luvas;
- Trena;
- Placas (para numeração e catalogação de evidências).

Dependendo o tipo de perícia, os instrumentos de trabalho podem variar ligeiramente. Porém, estes apresentados estão entre os mais frequentemente utilizados para a investigação direta numa cena de crime.

1.2 A Química aplicada à investigação criminal

Há muito “crimes químicos” são cometidos de diferentes formas. Era muito comum, nas grandes civilizações de antigamente, como a Grécia e Roma, haver assassinatos por envenenamento. Era usual também, na idade média, o uso de substâncias alucinógenas e alguns venenos provindos de animais.

Atualmente, apesar das inúmeras técnicas de detecção e quantificação para os mais diversos analitos, crimes químicos ainda continuam a serem cometidos, como a utilização do *Aldicarb* (chumbinho), arsênico ou cianetos, além de clorofórmio, éteres e flunitrazepam combinado com Ácido γ -hidroxibutírico e cetamina (coquetel conhecido popularmente como “Boa-Noite-Cinderela”) para dopagem.

Além destes, solventes também podem ser usados para início de incêndio, gases para asfixia e agentes de *doping*, tudo isso se encaixando dentro do extenso ramo da investigação química.

O trabalho dos químicos forenses é de um modo geral, a análise para identificação de materiais, de modo a estabelecer uma possível ligação destes com o crime e o suspeito propriamente dito.

Um profissional de química treinado deve ser capaz de determinar a composição, natureza e proveniência dos materiais, bem como estabelecer as correspondências de cada tipo de amostra, aplicando uma extensa lista de técnicas analíticas³⁷.

Geralmente um químico forense deve ser bem analítico e perspicaz já que a grande maioria das amostras não é pura e devem passar por processos tanto de purificação quanto de análises que podem comprometer a quantidade já escassa do analito desejado na matriz. Além disso, o químico deve ter conhecimentos de farmacologia e análises clínicas, pois muitas vezes estará trabalhando com quantidades traço de drogas em matrizes complexas como sangue e urina.

Uma grande variedade de técnicas e instrumentação laboratorial é usada na química forense, incluindo espectrofotometria (absorção atômica, ultravioleta, infravermelho e visível), ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)^{38,39}, NAA (nêutron activation analysis)^{40,41}, cromatografias, MEV (microscopia eletônica de varredura)⁴², dentre outros.

As técnicas espectrofotométricas e visuais são uma das mais utilizadas tanto no laboratório quanto na própria cena por gerar resultados visíveis a olho nu e praticamente instantâneos, como a utilização de luminol para detecção de fluidos latentes como sangue lavado e de rodizonato para detecção de resíduos de disparo de armas de fogo. Porém, muitas vezes não se deseja saber apenas se há emissão de luz ou fluorescência, mas a intensidade desta radiação. Nestes casos, utiliza-se um espectrofotômetro.

Um espectrofotômetro consiste em uma fonte emissora de luz que emite um feixe luminoso de um determinado comprimento de onda, ajustado pelo operador, em uma amostra. A luz transmitida após a passagem pela amostra é então comparada com a luz incidida na mesma por um sistema de lentes e fotocélulas. O decréscimo na intensidade da luz transmitida através da substância indica a presença de materiais que absorvem a luz naquele comprimento de onda³⁷. Como a absorbância é uma medida quantitativa, a concentração do material absorvente é proporcional à quantidade de luz transmitida.

A espectrofotometria na região do infravermelho é útil na identificação de compostos orgânicos uma vez que certas ligações entre átomos absorvem nesta região. O mesmo vale para a espectrofotometria na região do ultravioleta, que ajuda a distinguir, por exemplo, amostras de proteínas e ácidos nucleicos, como o DNA. Já a espectrofotometria de absorção atômica oferece meios de determinar o espectro de

absorção, ferramenta útil na análise de metais como aqueles encontrados em fragmentos de cartuchos de armas de fogo³⁷.

A técnica de ICP-MS é utilizada principalmente para discriminação de materiais de diferentes origens, como cinzas de cigarros⁴³, documentos⁴⁴ e bebidas⁴⁵ uma vez que cada material, mesmo pertencendo a um mesmo grupo, têm sua “identidade química” diferente um do outro.

Esta técnica apresenta uma sensibilidade superior e uma ampla faixa linear, podendo realizar análises simultâneas de elementos e monitorar isótopos destes⁴⁵.

A análise por ativação de nêutron (NAA) tem sido uma técnica que atrai bastante atenção também na área forense por oferecer bons resultados em análises comparatórias, por tornar possível modos de análises ou rotas de análises independentes⁴¹. Há relatos na literatura desta técnica ser usada para análise de drogas, como a heroína⁴⁶, de fragmentos de cartuchos de armas de fogo⁴⁷ e até de tijolos para comparação forense⁴⁸. Há a possibilidade também da utilização desta técnica para a determinação de arsênico no cabelo de corpos enterrados há centenas de anos³⁷.

No NAA, um feixe de nêutrons provindos de um reator nuclear é direcionado a uma amostra, que se torna temporariamente radioativa, emitindo raios- γ que são característicos da composição da amostra³⁷.

As técnicas cromatográficas são utilizadas principalmente em análises toxicológicas para identificação de drogas, narcóticos^{49,50} e venenos^{51,52}, como os rodenticidas. Pode ser aplicada também para discriminação e comparação entre amostras a fim de se estabelecer ou não uma similaridade entre elas como, por exemplo, em análise de tinta em documentos a fim de se detectar alteração ou forja deste^{53,54} ou o mais conhecido, para discriminação de diferentes tipos de material (como, por exemplo, terra encontrada em cenas de crime) uma vez que a cromatografia tem uma habilidade natural de separar pequenas porções de componentes diferentes.

O cromatógrafo pode também ser acoplado a um espectrômetro de massas. Numa análise deste tipo, o equipamento contém uma longa coluna onde os componentes serão injetados. Com um detector no final da coluna, parte da amostra é analisada no próprio cromatógrafo enquanto a outra é enviada ao espectrômetro de massas onde o gás carregador será separado. A amostra é então ionizada, sendo os fragmentos ionizados separados por massa e carga, gravando-se então o espectro final⁵⁵.

A cromatografia em camada delgada é utilizada, às vezes, para separação de narcóticos e corantes de fibras.

Um microscópio eletrônico de varredura utiliza um feixe de elétrons (que passam através da superfície da amostra, que emitirá elétrons secundários que serão coletados por um detector⁵⁵) no lugar dos fótons de um microscópio óptico convencional, fornecendo informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos de uma amostra além da aparência tridimensional da imagem (que podem ser úteis quando fotos em larga escala e análises não são suficientes⁵⁵), pois, como descrito por Dedavid⁴², o limite máximo de resolução dos microscópicos ópticos é estabelecido pelos efeitos de difração devido ao comprimento de onda da radiação incidente. Deste modo, os microscópicos ópticos convencionais ficam muito limitados, a um aumento máximo de 2000x, uma vez que acima deste valor os detalhes menores são imperceptíveis. Para que a resolução possa ser aumentada, deve-se utilizar uma radiação com comprimento de onda menor que a luz visível para iluminação do objeto além de um polimento perfeito da superfície a ser observada, situação esta última muito difícil de conseguir experimentalmente sem destruição da amostra.

Técnicas associadas ao MEV permitem a análise dos elementos é feita através de raios-X que são produzidos quando o feixe de elétrons inicial bombardeia a amostra. Como cada elemento emite um padrão de onda única, estes podem ser determinados⁵⁵.

Há vários trabalhos na literatura utilizando-se o MEV e, no campo criminal, a técnica pode ser utilizada, por exemplo, para análise da potencialidade inflamável de líquidos através de sua composição química⁵⁶, classificação de vidros para um possível banco de dados⁵⁷ e para um estudo controlado de ossos queimados⁵⁸, além de seu amplo uso nas análises de resíduos de disparos (íons chumbo, antimônio e bário) onde cada arma de fogo produz um resíduo único em relação ao tamanho das partículas produzidas e sua composição química⁵⁵.

Outra técnica também utilizada é a espectrofotometria de ressonância magnética nuclear (RMN), que faz uso do fato que o núcleo de algumas moléculas absorvem radiação em campos magnéticos fortes. O núcleo em certas moléculas absorve radiação de frequências características, possibilitando a identificação de amostras em baixa quantidade ou impuras³⁷.

Porém, nem sempre as análises químicas envolvem equipamentos eletrônicos laboratoriais, mesmo porque estes equipamentos não são uma realidade para muitos centros de investigação devido aos custos de aquisição e manutenção destes ou até mesmo pela falta de profissionais especializados. Existem outras análises químicas forenses que não envolvem o uso de equipamentos muito sofisticados (como os próprios

exemplos dados acima da detecção de sangue por luminol e a utilização da cromatografia em camada delgada para separação de narcóticos e corantes).

Outros exemplos envolvendo esses tipos de análises químicas estão no exame de documentos que, além de envolver a parte da comparação caligráfica realizada por profissionais específicos, são inspecionadas as características físicas e químicas da tinta e do papel. A pólvora, por exemplo, revela a presença de restos de borracha enquanto nos documentos queimados é espalhada uma solução dissolvida em vinil para endurecer e proteger os restos chamuscados¹³. Também são utilizadas iluminações UV e IV, que identifica diferentes tintas por fluorescência já que cada tipo de tinta responde a um comprimento de onda de iluminação diferente, além de partículas finas de grafite que, por ser um condutor elétrico, se acumulam nos sulcos das folhas uma vez que o campo magnético trata diferentemente lugares afundados (referência verbal)^e.

A química básica também está presente na identificação de alteração de veículos onde ocorra a remarcação dos sinais de identificação, como nos chassis; essa modalidade de adulteração envolve a remoção da numeração original (gravada em baixo-relevo nas peças) por desgaste mecânico (como com uma lixa), polimento e a aplicação de uma nova numeração por punção. A gravação dos caracteres originais, produzidos ainda na linha de montagem, produz uma compactação diferenciada na região da estrutura cristalina abaixo e adjacente aos referidos caracteres. Após a remoção da numeração original por desgaste mecânico, tais imperfeições produzidas na estrutura cristalina da peça metálica permanecem na mesma, invisíveis à olho nu. Tais sinais de adulteração podem ser descobertas através de um ataque químico na superfície metálica com uma solução aquosa básica de hexacianoferrato de potássio, que revela a numeração original removida uma vez que há diferença de reatividade dos sítios da superfície, havendo uma maior velocidade de reação de precipitação na região da numeração original⁵⁹.

Como a balística e o *doping* serão tratados mais especificamente em tópicos posteriores, nesta parte da introdução será dada uma maior ênfase para a toxicologia, pois esta faz parte de dois dos maiores grandes problemas do mundo de hoje: as drogas de abuso e o álcool.

^e Citado por Alessandra Pereira da Silva no III Simpósio Forense no mini-curso Química Forense, Ribeirão Preto, 01 de Outubro de 2011.

1.2.1 Toxicologia forense

Como já dizia Paracelso, todas as substâncias são venenos; não há nenhuma que não o seja. A dose certa diferencia um veneno de um medicamento.

Atualmente, sabe-se que, apesar dos maus olhos com que a química é vista por muitas pessoas mal-informadas, esta não é uma ciência envolta em obscuridades e nem feita com o intuito de por em risco a saúde das pessoas e do planeta. Mas também devemos ter em mente que nem mesmo uma substância aparentemente inofensiva é completamente inócua. Seguindo esta linha de raciocínio, até a água pode ser um perigo em potencial de acordo com a “dose” ingerida, como já diria Paracelso. Um conhecimento que todos têm, mas que, pela psicologia, se torna estranho pensar.

A toxicologia estuda os efeitos nocivos decorrentes das interações de substâncias químicas com o organismo⁶⁰.

Os toxicologistas examinam uma extensa lista de materiais como manchas de sangue, urina e gases sanguíneos à procura de traços de venenos ou drogas. Alguns dos testes empregados podem ser simples como a cromatografia em camada delgada, ou mais elaborados como a cromatografia a gás ou eletroforética e análise serológica de amostras de sangue. Na análise de morte por causas desconhecidas, amostras dos pulmões, sangue, urina, humor vítreo e conteúdos estomacais da vítima são examinados na procura de traços de veneno ou medicamentos. Insetos encontrados próximos ao cadáver também são coletados e examinados uma vez que eles podem absorver traços de drogas ou venenos do corpo que podem ser detectados mesmo depois de as concentrações no corpo caírem a limites abaixo do detectável³⁷.

Durante um processo analítico deve-se investigar o órgão-chave para o estudo além de ter um conhecimento prévio sobre os sintomas para se ter idéia da droga, do veneno ou da toxina. Às vezes é necessário também investigar os subprodutos de degradação biológicos do agente tóxico utilizado já que, dependendo da velocidade de degradação, este pode não mais ser encontrado no organismo.

Aqui cabe fazer um adendo sobre a definição de alguns termos utilizados. Um agente tóxico é aquele que é capaz de causar dano a um sistema biológico, alterando funções ou levando à morte, dependendo da exposição; toxicante são os agentes tóxicos produzidos por atividades humanas; toxinas são aqueles produzidos por atividades naturais, como a toxina botulínica e venenos são os agentes tóxicos que alteram ou destroem as funções vitais⁶⁰.

Dentre alguns dos venenos encontrados, encontram-se os organofosforados, inseticidas que contém fósforo em sua estrutura orgânica e, em quadros toxicológicos, atuam como potentes inibidores da enzima acetilcolinesterase, cuja função é ajudar na quebra por hidrólise da acetilcolina, um neurotransmissor encontrado no cérebro, responsável pelos impulsos nervosos^{61,62}. Essa quebra é necessária a fim de se evitar a difusão lateral e a ativação sequencial dos receptores envolvidos. Os sintomas começam a aparecer em aproximadamente 30 minutos depois da exposição, dependendo do composto, dose e via de absorção, sendo a dose letal em humanos de 15 a 20 mg⁶². Os organofosforados podem causar quadros de intoxicação graves e a grande maioria é de uso agrícola, como os praguicidas⁶³.

Outra classe de venenos são os carbamatos que, assim como os organofosforados, são utilizados no controle de parasitas em animais e também possui um mecanismo de ação baseado na inibição da acetilcolinesterase⁶⁴. Pode também gerar pneumonia por aspiração após a ingestão. O *Aldicarb*, ou o famoso “chumbinho”, pertence a este classe, sendo considerado o carbamato de maior toxicidade disponível no mercado⁶⁵.

Há muitos outros tipos de venenos com diferentes tipos de ação, como os cianetos, que causam paradas respiratórias e debilitam o sistema nervoso central; a estricnina, que causa morte por asfixia; a ricina, que provoca dores de estômago, diarreia e vômitos com sangue e a toxina botulínica, que age sobre o sistema neurológico, causando paralisia dos músculos respiratórios⁶⁶. Há também substâncias que não matam imediatamente, independente da dose aplicada. Mas, por terem meia-vida longa, vão se bioacumulando e matam a longo prazo, como a cumarina.

Na análise de álcool ingerido, o interesse maior é descobrir a sobriedade de um indivíduo na hora de cometido o delito. Para isso, são utilizados testes de bafômetros, que podem ser feitos com um espectrofotômetro de infra-vermelho portátil, ou através de células de combustível ou o mais comum, que emprega diversos tubos de vidro ou plástico e alguns reagentes químicos: ácido sulfúrico, dicromato de potássio, água e nitrato de prata. A oxidação do álcool resulta na redução do íon dicromato, de cor laranja, a íon cromato, de cor verde. Então um dispositivo elétrico que emprega uma fotocélula compara a cor da solução teste com uma solução padrão, determinando quantitativamente o teor de álcool rapidamente, que é proporcional ao teor de álcool na corrente sanguínea³⁷.

As drogas são divididas em três categorias:

1. **Depressoras:** diminuem a atividade cerebral e podem dificultar o processamento das mensagens que são enviadas ao cérebro. Fazem parte deste grupo o álcool e outros solventes, calmantes, opiáceos, maconha, morfina, heroína e clorofórmio;

2. **Estimuladoras:** aumentam a atividade pulmonar, diminuem a fadiga e aumentam a percepção, ativando os demais sentidos. Fazem parte deste grupo as anfetaminas, cocaína, cafeína e nicotina;

3. **Perturbadoras:** são aquelas que distorcem o funcionamento do cérebro, fazendo com que a pessoa passe a perceber as coisas deformadas, muitas vezes causando a despersonalização. Fazem parte deste grupo a maconha, cogumelos, ácido lisérgico, mais conhecido como *LSD*, *ecstasy* e o *DMT* (dimetiltriptamina), princípio ativo do *ayahuasca*.

Os estimulantes, como a cocaína, são mais viciantes por serem de efeito rápido e por apresentarem meia-vida menor no organismo, o que possibilita vários usos num mesmo dia.

As vias de administração, que são os caminhos pelos quais os fármacos em geral são colocados em contato com o organismo, são basicamente divididas também em três categorias:

1. **Tópica:** quando se aplica a droga diretamente no local de ação;

2. **Enteral:** quando a substância é recebida pelo trato digestivo;

3. **Parenteral:** quando a substância é recebida por outra forma que não seja pelo trato digestivo.

Porém, ao se tratar de drogas de abuso, não se considera a primeira categoria (a tópica) uma vez que não há drogas aplicadas diretamente no local de ação e somente parte da enteral, a ingestão por via oral. Portanto, para drogas, as vias de administração possíveis são oral e parenteral, que incluem aplicações subcutâneas, intramusculares e intravenosas. Por não passarem diretamente pelo fígado, as drogas administradas por vias parenterais estarão mais disponíveis para o corpo.

A análise de tóxicos (incluindo venenos e drogas) no corpo pode ser feita em várias matrizes. Mais recentemente melhores técnicas para a detecção destas nos cabelos ou nos pêlos pubianos vêm sendo desenvolvidas. Como o cabelo cresce de 1 a 2 cm por mês, ele contém a identidade das drogas utilizadas em cada período de seu

crescimento, como opiáceos, cocaína, metadona e anfetaminas (referência verbal)^b. As análises no cabelo são vantajosas devido ao menor grau de deterioração, podendo-se passar décadas, séculos ou até milênios. Além disso, a capacidade quelante dos metais o fazem se ligar muito facilmente aos compostos formadores do cabelo (queratina, lipídeos, melanina, dentre outros). Porém, a união com as proteínas depende da estrutura química da droga, da capacidade de penetração de membrana e da severidade da dopagem e, apesar de permitir o conhecimento do grau de severidade, não permite estabelecer dias exatos de consumo nem o grau de dependência (somente períodos)^b.

Outras possíveis matrizes de identificação de tóxicos envolvem:

- Vômitos: para identificação do que foi ingerido além de informar se a via de administração do tóxico foi por ingestão;
- Sangue: não é ideal para exames toxicológicos, pois é sua função transportar as toxinas para órgãos com funções excretoras e, conseqüentemente, é desintoxicado mais rapidamente. Porém, se o objetivo do exame é a detecção em apenas algumas horas (ou, no máximo, um dia), é uma boa matriz de detecção;
- Urina: possui alta concentração de tóxico, é de fácil obtenção, e a amostragem geralmente apresenta-se em grande volume. Porém, a maior parte das excreções são de metabólitos e é de fácil adulteração;
- Humor Vítreo: utilizado em análises de *post-mortem*. É de fácil acesso, possui poucas proteínas, é protegido pela circulação e é livre de bactérias. Utilizado para determinar drogas, álcool e pode ajudar a determinar a data de morte pela concentração de potássio (que varia conforme o tempo de morte);
- Fígado: por ser um órgão de metabolização, possui alta concentração de tóxico;
- Rim: utilizado para determinação de metais;
- Cérebro: utilizado para determinações de inalantes, como solventes, e álcool. Possui a vantagem de ser resistente à putrefação.
- Trato digestório intestinal: por ter uma grande variação de pH ao longo deste, possibilita a absorção de substâncias com *pKa* diferentes além de ser uma rede de órgãos com grande área de contato.

Um outro avanço recente da química no estudo das drogas envolve o processo de geo-localização^b, que é a identificação da proveniência da amostra pela variedade

^b Citado por Pamela Patrícia Cámpora Oñate na 58ª Jornada Farmacêutica da UNESP no mini-curso Perícia Criminal, Araraquara, 25 de Agosto de 2011.

isotópica de carbono e nitrogênio. Este processo permite identificar o país de origem da droga, podendo-se enquadrar o traficante em criminoso nacional ou internacional.

1.2.2 Resíduos de disparo e explosivos

A pólvora foi descoberta pelos chineses numa época em que os alquimistas procuravam descobrir a fórmula do elixir da imortalidade. Muitas das misturas testadas por eles resultavam em incêndios, principalmente naquelas que envolviam o enxofre e o salitre⁶⁷, dois compostos considerados mágicos naquela época. À medida que se aumentavam os estudos sobre esses compostos, descobriu-se uma fórmula para a preparação da pólvora, que consistia em aproximadamente 75% de salitre seco (KNO₃), funcionando como fornecedor de O₂ (comburente), 13% de carvão vegetal e 12% de enxofre, atuando como combustível (referência verbal)^f, sendo esta primeira formulação chamada de *Pólvora Negra*.

Há várias reações que ocorrem ao mesmo tempo na detonação da pólvora negra, sendo a mais simples (referência verbal)^g:



A principal característica de um material explosivo é a capacidade de se transformar quimicamente em gases, ou seja, sofrer combustão, muito rapidamente, desenvolvendo calor, produzindo calor e gerando uma grande quantidade de trabalho sobre os gases tanto liberados quanto já presentes devido à ação do calor liberado. Geralmente estes materiais apresentam uma instabilidade natural que pode ser acionada por chama, choque, atrito ou calor⁶⁸. Como pode-se perceber na reação acima, na explosão da pólvora negra, cujos reagentes são todos sólidos, os produtos são todos gasosos. Apesar do sulfeto de potássio ser um sólido na temperatura ambiente, o alto calor no momento da reação o transforma em um gás momentâneo.

Diferentemente do que se imagina, o explosivo em si não causa dano apenas pelo calor, pois este está restrito a apenas um raio centrado no ponto de origem da explosão. Outro fator que também causa dano e este, possuindo um raio maior que a

^f Citado por Antônio José Ipólito no III Simpósio Forense no mini-curso Química Forense, Ribeirão Preto, 01 de Outubro de 2011.

^g Citado por Sérgio H. Frasson Scaffi na 41ª Semana da Química no mini-curso Guerra Química, Araraquara, 18 de Outubro de 2011.

onda de calor, é a onda de choque formada pelos gases em expansão, tanto os gerados na detonação quanto os do próprio ambiente.

A propriedade explosiva de uma substância depende da presença de determinados grupos funcionais na molécula desta. Estes grupos geralmente possuem a característica de formarem uma grande quantidade de gases durante sua combustão além da liberação de calor, como, por exemplo, os grupos contendo nitrogênio [-NO₂, -ONO₂, -N=N, -N=N=N-, NX₃ (X = halogênio) e -N=C], outros grupos contendo oxigênio (-OCIO₂, -OCIO₃, -O-O- e -O-O-O-) e alguns grupos contendo carbono [M-C (M = metal) e -C=C-]⁶⁸.

A pólvora negra, apesar de ter sido bastante utilizada, foi substituída por outros compostos que geram menos fumaça e resíduos. A pólvora *CBC 216*, por exemplo, utilizados para calibre .38 SLP, possuem 97% de nitrocelulose, 1,5% de difenilamina, 1,0% de sulfato de potássio e 0,2% de carbono grafite. A mistura iniciadora, contida na espoleta, emprega estifinato de chumbo, nitrato de bário, trissulfeto de antimônio e tetrazeno^{69, 70}.

Devido às características de liberação de calor e expansão gasosa, os materiais explosivos são utilizados dentro dos cartuchos de armas de fogo. Uma vez iniciada a reação pelo choque do cão de um revólver no percutor, que atinge a parte de trás do cartucho (a espoleta), a mistura iniciadora nela é comprimida e os cristais de estifinato de chumbo e tetrazeno se quebram, havendo sua detonação. Assim, uma chama cujo oxidante é o nitrato de bário e o combustível é o trissulfeto de antimônio se forma e os gases formados dentro do cartucho se expandirão e farão tamanha pressão que arremessarão o projétil. Alumínio pode estar presente também na composição para haver uma maior vivacidade da chama⁷⁰.

Uma vez que os vapores dos componentes que antes estavam dentro do cartucho entram em contato com o exterior, onde há uma diferença de temperatura muito grande, eles rapidamente se condensam de modo a minimizar a área de superfície. Como este é um processo rápido, a condensação ocorre predominantemente na forma de partículas esféricas, que são identificadas no microscópio eletrônico de varredura ou por análise por ativação de nêutrons. O tamanho e o formato destas partículas variam de acordo com o tipo de arma empregada e o calibre⁷¹.

Os exames residuográficos atuais pesquisam resíduos sólidos decorrentes do disparo em vários tipos de lugares. O exame químico envolve a *Reação de Griess* para a detecção do nitrito e a reação do chumbo com o rodizonato de sódio. Porém, como o

nitrito pode se converter rapidamente a nitrato ou se volatilizar na forma de ácido nitroso caso o ambiente seja muito úmido, este teste vem sendo descartado nas perícias atuais por existir pouca confiabilidade como prova pericial (referência verbal)^g. Outros componentes como o antimônio e o bário não são facilmente detectados por reações colorimétricas e, portanto, precisam de outros meios para serem identificados na amostra. Para tal, utiliza-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A coleta do resíduo de disparo geralmente é feita através de fitas adesivas, esparadrapos, algodão, papéis adesivos ou papéis de filtro. Também são relatados métodos alternativos como a utilização de uma resina polimérica à base de PVAL (polivinil álcool), desenvolvida por pesquisadores da *Bundeskriminalamt*, na Alemanha e uma outra resina polimérica instantânea desenvolvida pelo perito Hélio Rochel, do Instituto de Criminalística de São Paulo⁷¹.

1.2.3 Exames papiloscópicos

Tomando-se uma impressão digital, a leitura das cristas papilares se dá no sentido horário, sendo iniciada na posição 12 horas. Isto é feito para evitar confusões na hora da nomenclatura das linhas que formam a impressão digital. Geralmente são requeridos 12 pontos para se considerar que há elementos suficientes para uma identificação precisa.

Para coletar as impressões utilizam-se pós reveladores, que podem ser ou não magnetizados e/ou brilhantes. Estes pós se aderem aos depósitos de água e gordura, comuns em impressões recentes.

Antigamente, dependendo do suporte onde estava a impressão digital, como superfícies molhadas ou em pele humana, era praticamente impossível identificá-la. Para contornar esses problemas, foram desenvolvidas nanopartículas de óxidos de zinco utilizadas em um pó que reage com a gordura das impressões digitais mesmo na presença de água. Em seguida, ilumina-se a região com luz ultravioleta e a digital, brilhante, é registrada (referência verbal)^h.

^g Citado por Sérgio H. Frasson Scaffi na 41ª Semana da Química no mini-curso Guerra Química, Araraquara, 18 de Outubro de 2011.

^h Citado por Caroline Cássia Silva Brito no III Simpósio Forense no mini-curso Papiloscopia, Necropapiloscopia e Fotografia Forense, Ribeirão Preto, 30 de Setembro de 2011.

Para impressões digitais em pele humana, cientistas da Oak Ridge National Laboratory (EUA) desenvolveram um equipamento portátil que utiliza a técnica de espectroscopia de superfície aumentada. O instrumento é feito com nanofios revestidos de prata⁸.

Porém, impressões digitais em superfícies molhadas e em pele humana estão prestes a serem reveladas por um único equipamento que vaporiza uma mistura de moléculas de metanol e água carregadas eletricamente sobre a área investigada. Uma vez em contato com a mistura, cada superfície emite íons específicos que são captados por um aparelho no qual os sinais são transformados em unidades de imagem. Além disso, o aparelho é capaz de distinguir substâncias em que o autor da marca tocou antes, como drogas, pólvora, metais, dentre outros⁸.

Para análise papiloscópicas em cadáveres, dependendo do estado de conservação e do tempo de morte, deve-se promover a quebra da rigidez cadavérica e a reidratação dos tecidos através de um líquido hidratante especial para que haja a soltura da pele. Uma vez solta a pele, ela passa por um processo de tratamento (cujo tempo é variável) para depois ser utilizada adequadamente (inserida na mão do analista, como se fosse uma luva) para a extração da impressão digital (referência verbal)^h.

O perito técnico Marco Aurélio, do Instituto de Identificação Pedro Mello, descreve a utilização de uma solução de detergentes líquidos como um novo método de conservação e reidratação para identificação necropapiloscópica⁷².

Esta solução é composta de um tensoativo aniônico, para remoção da gordura nos tecidos epidérmicos; de um tensoativo anfótero, devido a sua compatibilidade com a pele de modo a reduzir a irritabilidade; de um neutralizante, que neutraliza o pH do meio, deixando os tensoativos catiônicos compatíveis com os aniônicos de modo a potencializar a ação de ambos; de um conservante, que atua como componente bacteriostático, inibindo a reprodução de bactérias; um sequestrante, que complexa íons essenciais ao crescimento das bactérias, dificultando o aparecimento destas e potencializando o sistema conservante; de uma essência aromatizante; de um corante e de água, com função hidratante e solubilizante⁷².

^h Citado por Caroline Cássia Silva Brito no III Simpósio Forense no mini-curso Papiloscopia, Necropapiloscopia e Fotografia Forense, Ribeirão Preto, 30 de Setembro de 2011.

1.2.4 *Doping esportivo*

O doping esportivo consiste na utilização de drogas ou de outros métodos ilícitos para aumentar o desempenho do atleta. Nesta área, o papel do analista é controlar o uso de substâncias proibidas usadas para melhorar o rendimento físico. O controle de dopagem é estipulado pelo COI (Comitê Olímpico Internacional), que credencia os laboratórios para realizarem as análises⁷³, sendo os principais objetivos evitar a vantagem desleal e manter a saúde do atleta, uma vez que a utilização de muitas das substâncias pode ter conseqüências graves⁷⁴.

Dentre algumas substâncias utilizadas frequentemente em doping, destacam-se os diuréticos furosemida, propranolol e triantereno, sendo que todas podem ser identificadas através de exames de urina. O grande problema é que, nesta matriz, muitas drogas existem como seus metabólitos e para algumas drogas, tais metabólitos são os únicos compostos detectáveis⁷⁵.

Registros do COB (Comitê Olímpico Brasileiro) mostram quais eram as substâncias mais consumidas em escala mundial em 2005. Atualmente as porcentagens podem ser diferentes, ainda que as principais substâncias usadas continuem as mesmas. O levantamento analisou os casos de 139.836 atletas dentre os quais 2.958 tiveram resultados positivos para doping: 43,4% usaram anabolizantes; 14,2%, beta-2 agonistas; 11,8% estimulantes; 11,7% canabinóides; 7,6%, glucocorticosteróides; 5,7%, diuréticos e outros agentes mascarantes; 3,8%, hormônios e 1,8%, outros⁷⁶. Mais sobre cada uma destas classes de substâncias será abordado posteriormente.

Todo ano uma lista com substâncias e métodos de *doping* proibidos é lançada pela WADA (*World Anti-Doping Agency*)⁷⁷. Em análises oficiais de controle de doping, cerca de 300 drogas e metabólitos são analisados para cada amostra, o que demanda que os laboratórios credenciados para realizarem as análises detenham técnicas capazes de fazer um *screening* de uma vasta gama de drogas em um período de tempo curto, sendo que os principais métodos envolvem as cromatografias e a espectrometria de massas (GC/MS, LC/MS).

1.2.5 *Análise de sangue por Luminol*

O *luminol* utilizado para detecção, preparado a partir de uma reação lenta entre cristal de *luminol* com peróxido de hidrogênio, quando entra em contato com o sangue,

utiliza o ferro na hemoglobina como agente catalisador, causando uma reação de quimiluminescência (Figura 1). Mesmo que tenha sido limpo, a cena fica com uma coloração azul brilhante, que é captada mais claramente com a utilização de uma luz negra. A fluorescência dura cerca de 30 segundos⁷.

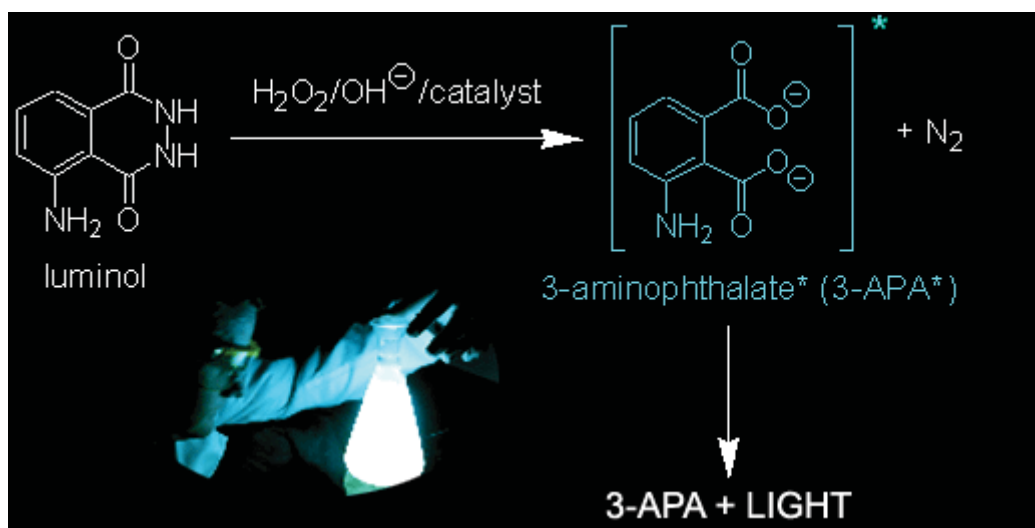


Figura 1. Reação do *luminol* com peróxido de hidrogênio utilizando o ferro da hemoglobina como catalisador⁵⁵.

1.2.6 Avanços na genética forense

Vários avanços nas técnicas de identificação por DNA aconteceram em um relativo curto espaço de tempo. Atualmente os analistas podem identificar fatores como cor de cabelo, cor da pele, características faciais, dentre outras, em pouco tempo, mesmo que as amostras de DNA encontradas sejam muito pequenas. Neste caso, equipamentos podem criar réplicas do DNA para serem examinadas ao detectar a reação em cadeia da polimerase (*PCR*)¹³.

Há casos que mais parecem cenas de seriados policiais, mas que acontecem nos laboratórios detentores de tecnologias e profissionais mais capacitados. Um exemplo é o caso de Simon Moran, um exímio assaltante que havia cometido mais de 100 assaltos e que foi preso por causa de uma única gota de suor. Este material, colhido em um saco plástico, passou por um sistema de isolamento e amplificação conhecida como *DNA LCN*.

Outro avanço que contribui de forma inigualável observa-se em casos em que o material genético foi praticamente destruído pelo fogo onde o DNA, composto por uma sequência de 3 bilhões de bases, é reduzido a retalhos com menos de 400. Nesses casos, utilizam-se polimorfismos de nucleotídeo simples (SNP), que identificam mutações mínimas, que tornam o DNA de cada pessoa único.

Outras inovações são (i) o desenvolvimento de identificação do DNA nas mitocôndrias, que é muito mais abundante do que aquele contido no núcleo; (ii) da leitura agilizada com métodos sofisticados de automação, pelos quais é possível executar leituras num ritmo de 500 testes por dia e (iii) da técnica criada pela empresa *TGen* a qual permite individualizar amostras de DNA que representem menos de 0,1% do total coletado⁸.

Cientistas de Hong Kong e dos EUA trabalham para tornar possível a realização dos testes de DNA em tempo real. Os americanos demonstraram que um nanotransistor pode ser ligado a um sensor de DNA para isso. Os cientistas de Hong Kong conseguiram multiplicar o material genético de modo a se realizar o teste em escala portátil utilizando um microchip e um sensor eletroquímico⁸.

Há também projetos para o futuro, com o objetivo de construir retratos falados a partir de amostras de DNA, além de se extraírem dados como origem geográfica e etnia⁸.

1.3 A Balística Forense – Uma outra visão

Muitas vezes não é suficiente ter o conhecimento químico para fazer uma análise de uma cena de crime onde houve um disparo com uma arma de fogo. Frequentemente é necessário ter, ao menos, uma idéia do funcionamento e do mecanismo de disparo, além do conhecimento dos tipos de armas, munições e do próprio ambiente onde se deu o fato para que a análise possa ser confiável. Às vezes, ao se realizar uma coleta na mão de um suspeito para verificar a presença de chumbo por um método colorimétrico, deparamos com um resultado negativo. Este resultado não necessariamente significa que não havia chumbo ou que a amostra fora tratada de um modo incorreto, mas que o tiro poderia simplesmente ter sido disparado por uma pistola, que deposita menos material particulado na mão do atirador do que o revólver, ou de uma arma de cano longo, cuja deposição se dará preferencialmente nas roupas e no cabelo, fazendo com

que as partículas depositadas de chumbo sejam tão escassas que não podem ser assim detectadas nas mãos do suspeito. Mais do que isso, pode também significar que o atirador possa ter lavado as mãos ou que o disparo fora realizado em questão de horas, o que também diminui a quantidade de partículas.

As armas de fogo podem ser classificadas de várias maneiras (referência verbal)ⁱ:

1. Quanto ao funcionamento:

- Armas de Repetição: com sistema de tiro em que é preciso acionar manualmente um mecanismo para carregar a munição e efetuar o disparo, sendo que a retirada de cartuchos também é feita manualmente;
- Armas Semi-automáticas: com sistema de tiro em que a munição é recarregada automaticamente. Atira um projétil para cada aperto do gatilho usando a energia do disparo para carregar um novo cartucho, eliminando assim a necessidade de recarregar manualmente;
- Armas Automáticas: com sistema de tiro em que a munição é disparada continuamente enquanto o gatilho é pressionado, ao mesmo tempo em que os cartuchos são descartados sem operação manual. Usa a energia do disparo para expelir e ejetar o estojo e recarregar com um novo cartucho, o que permite a execução de rajada.

2. Quanto ao tipo de cano:

- Alma Lisa: são as armas cujos canos não possuem raiaduras, geralmente utilizadas para caça, como as espingardas.
- Alma Raiada: são as armas cujos canos possuem raiamento. Estas armas arremessam projéteis com grande precisão e são fundamentais para a balística forense, pois a identificação da arma pode ser feita através do projétil (confronto balístico microscópico).

ⁱ Citado pelo Coronel Fernando Paluan no III Simpósio Forense no mini-curso de Balística, Ribeirão Preto, 01 de Outubro de 2011.

3. Quanto à ação do disparo:

- Ação Simples: necessita armar ou engatilhar o cão. Estes tipos de armas são mais perigosas, pois é muito mais fácil ocorrer um tiro acidental.
- Ação Dupla: não precisa haver o prévio engatilhamento do cão.

Como curiosidade, a nomenclatura das armas de fogo se dá por dois principais métodos. Ou considerando-se a fábrica, o calibre e o ano do projeto como em fuzil *Imbel cal 7,62mm M964* ou considerando-se as iniciais do projetista e ano da patente como em fuzil *AK47*.

Calibre é a medida do diâmetro do projétil ou do diâmetro interno do cano em milímetros, centésimos ou milésimos de polegadas. Deste modo, uma arma de calibre .50 tem meia polegada ou 12,7mm. A medida em calibre é usada pelo sistema americano enquanto que a medida em milímetros é utilizada pelo sistema europeu. Deste modo, o fuzil Imbel descrito no parágrafo acima, com 7,62mm, é um fuzil de calibre .30.

1.3.1 *Balística Interna, Externa e Terminal*

A balística em si é dividida em três principais áreas.

A *balística interna* estuda a arma e o início do tiro, cujo processo que ocorre para que possa haver a projeção do projétil é representado na Figura 2. Os exames de balística interna incluem as raias deixadas no projétil a fim de se realizar o confronto balístico microscópico. Porém, outros fatores (como as marcas deixadas pelos percutores ou as ranhuras produzidas nas culatras) também podem fornecer informações.

A *balística externa* estuda a trajetória do projétil desde quando este abandona a arma até momentos antes de atingir o alvo. Esta parte da balística estuda a trajetória do projétil e a influência do próprio ambiente no percurso e no impacto desta⁷⁸. O estudo da balística externa é fundamental para haver uma boa coleta dos resíduos ou para o próprio estudo da cena do crime.

A *balística terminal* estuda os efeitos quando se atinge o alvo. Pode fornecer dados sobre o estado da vítima antes do disparo (se já estava morta ou não, por exemplo) ou da distância aproximada do tiro.

Todas estas três áreas de estudo são muito importantes numa investigação forense, pois cada uma nos dá informações específicas que, juntas, ajudam muito a entender a cena por inteiro.

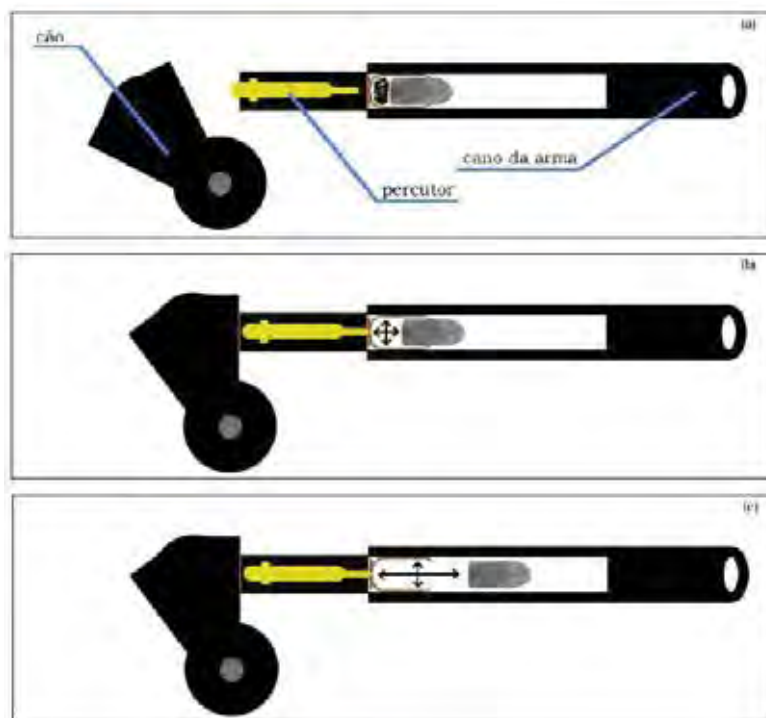


Figura 2. Processo de ejeção do projétil por uma arma de fogo
(Imagem retirada da ref. 70)

Como representado na figura acima, quando há o acionamento do cão ao se apertar o gatilho, este entra em choque com o percutor, que atinge a espoleta onde está a mistura iniciadora que será detonada (a). Uma vez detonada, ocorre uma reação de oxidação (combustão) no cartucho formando gases que expelirão o projétil (b e c).

Todas as evidências são coletadas e submetidas a análises rigorosas. A base da identificação de uma arma de fogo vem do fato de que cada arma produz marcas peculiares no cartucho e/ou no projétil disparado (como se fossem “impressões digitais”), uma vez que o processo de fabricação e o uso da referida arma variam⁵⁵.

Parte dos resíduos sólidos provenientes do disparo permanece dentro do cano, outra parte ao redor do tambor e da câmara de percussão da própria arma. O restante é projetado para fora, atingindo as mãos, os braços, os cabelos e as roupas do atirador, além de se espalharem pela própria cena⁷⁰.

Após a deposição dos resíduos sobre as mãos, a perda dessas partículas ocorre de forma contínua e ininterrupta. Por esse motivo, a coleta, sempre que possível, deve ser realizada rapidamente, sendo que estimativas sobre o tempo decorrido em função do número de partículas encontradas não devem ser levadas em consideração para fins investigativos. Porém, os resíduos depositados nas roupas, em superfícies como móveis e cadáveres não expostos ao meio ambiente podem persistir por semanas ou até meses⁷¹.

1.3.2 *Cartuchos e munições*

O estudo dos cartuchos e das munições é parte crucial para qualquer investigação forense porque, além de serem neles que estarão contidas as amostras para confronto químico, estes também fornecem informações de como pode ter ocorrido a dispersão dos resíduos no ambiente.

Na página da CBC⁶⁹, há imagens e uma descrição sucinta dos tipos de projéteis e munições fabricados por ela, dos quais alguns estão representados na figura 3.

Os projéteis determinam o desempenho e a finalidade da munição (defesa, perfuração, precisão e prática esportiva). As munições encamisadas saem com velocidade maior, pois sofrem menos ação do atrito no cano da arma.

Na fabricação de projéteis ogivais, os mais comuns hoje em dia, há a preocupação com o seu coeficiente aerodinâmico e a capacidade de incorporação de maior massa num menor diâmetro. Caso estes projéteis fossem disparados por uma arma de alma lisa, elas tenderiam a girar 180° ao longo da trajetória, perdendo velocidade e precisão⁷⁹.

Os raiamentos servem para garantir estabilidade aos projéteis ogivais ao longo de sua trajetória ao acrescentar a eles uma aceleração tangencial durante o disparo devido ao movimento de rotação em torno do próprio eixo. A estabilidade também pode ser melhorada mediante a remoção de massa da base dos projéteis, deslocando o centro de gravidade no sentido da ogiva.

O chumbo sempre foi muito utilizado para a fabricação de projéteis devido ao seu baixo custo. Por possuir baixa dureza, as deformações permanecem no metal mesmo após a remoção do esforço mecânico que as produziu. Por isso, uma liga de chumbo e antimônio é utilizada na fabricação dos projéteis de modo a conferir uma maior dureza ao material além de se utilizar uma graxa lubrificante para evitar que fiquem acumulados resíduos metálicos no raiamento do cano, o que acarretaria perda de

precisão e um aumento da pressão dos gases produzidos pela queima da pólvora, podendo ser perigoso⁷⁹.

(a)



(b)



(c)



Figura 3. Munições da CBC para pistolas (a) e revólveres (b). Em (c) estão representadas as munições de ponta oca (características expansivas)

De acordo com Andrade, A. B.⁷⁹, excetuando as de uso militar, os projéteis podem ser divididos em 4 tipos básicos, sendo os dois primeiros de maior interesse para este estudo por serem utilizados mais frequentemente:

1. Projéteis não expansivos: com a ponta da ogiva endurecida e constituídos por um núcleo de chumbo. São projéteis com grande poder de penetração e pouco poder de destruição, utilizados normalmente contra alvos protegidos por anteparos. Por causa do seu poder de penetração, são contraindicados para policiamento urbano.

2. Projéteis expansivos: a ponta da ogiva é desenhada de modo a se deformar durante o impacto [como em (c) da figura 3]. Isto produz um aumento do ferimento e do sangramento com a destruição do tecido e transferência de toda a sua energia cinética para o alvo. São muito utilizadas no trabalho policial por causa da sua perda de energia quando se chocam com o alvo, diminuindo o risco de ricochete e de penetração em alvos indesejados.

3. Projéteis fragmentáveis: são projetados para se desintegrarem completamente durante o impacto contra o alvo, produzindo inúmeros fragmentos de pequeno tamanho, que funcionam como projéteis secundários. Apresentam baixa penetração.

4. Projéteis parcialmente fragmentáveis: projetados para se romperem durante o impacto, como os projéteis fragmentáveis, mas sua base é projetada para penetrar o alvo, como nos expansivos.

Na página da CBC há uma figura comparativa entre o dano provocado por um projétil expansivo e o de um não expansivo (Figura 4), mostrando o alto poder de destruição de um projétil expansivo em comparação com o outro em uma gelatina balística, preparada de modo com que sua viscosidade e densidade se pareçam com a de um corpo humano.

Na Figura 5 é demonstrado em 4 etapas o tiro de um projétil expansivo numa gelatina balística onde se repara perfeitamente o projétil antes do momento de impacto e este logo após atravessar o alvo, quando este já estará com a ponta deformada. Através desta imagem pode-se perceber também a expansão e deslocamento temporário de ar formado dentro da gelatina, fato responsável pelo grande fator destrutivo deste tipo de projétil.

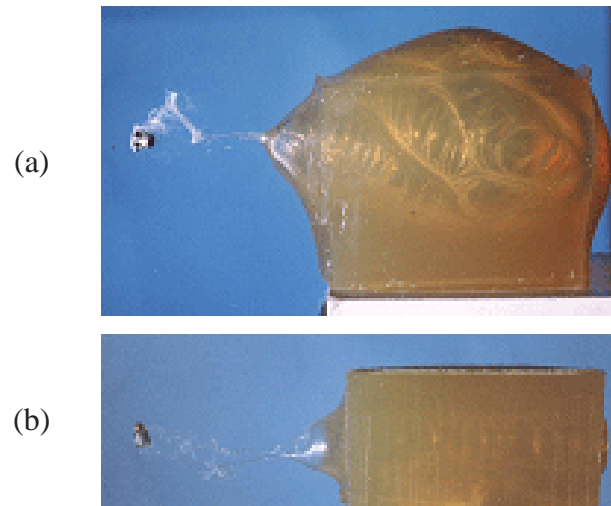


Figura 4. Comparação entre um tiro com (a) projétil expansivo e o de um tiro com (b) projétil não-expansivo. As cavidades temporárias resultantes foram feitas por um projétil *9mm Copper Bullet* (expansivo) e um *ETOG 9mm* de 124gr. (não-expansivo).

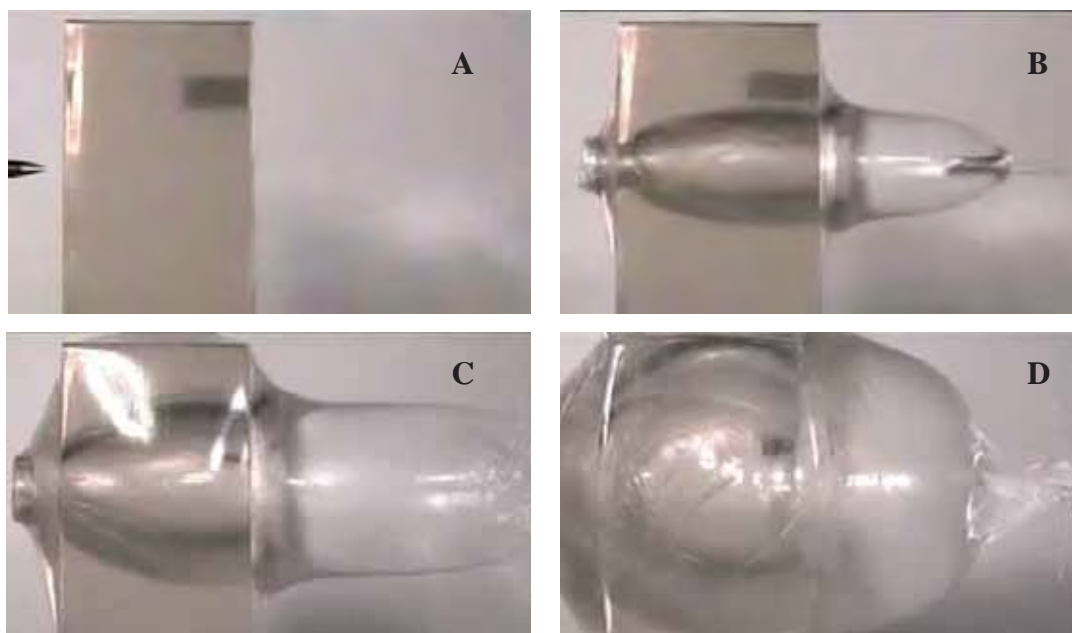


Figura 5. Cavidade formada por um tiro de projétil expansivo numa gelatina balística. Pela figura pode-se perceber em A que o projétil não está deformado antes de atingir o alvo e, após atingi-lo, a ponta se deforma, como pode-se ver em B.

1.4 *Doping* – Um problema não só esportivo

São muitas as substâncias consideradas proibidas^{73,74}, dentre elas, destacam-se os estimulantes, os analgésicos, os diuréticos e os anabolizantes. Além das substâncias, há alguns métodos que também são considerados doping⁸¹: aumento da transferência de oxigênio, manipulação química e física e doping genético.

Atualmente vivemos numa realidade onde em torno de 18-25% dos jovens de 12 a 21 anos relatam o uso de *OTC* (over-the-counter drugs), que são medicamentos que podem ser vendidos diretamente ao consumidor sem a devida prescrição de um profissional da saúde. De um modo geral, o uso de *OTC* e de medicamentos ilícitos são maiores entre os adolescentes da América do Norte do que entre os da Europa e da Ásia. Cerca de dois terços dos usos dessas drogas envolvem o esporte organizado e o outro terço faz parte de questões sociais que poderiam levar um pré-adolescente a utilizar tais medicamentos⁸².

Informações de onde se pode obter tais medicamentos é de conhecimento de 12% dos pré-adolescentes, de 29% dos adolescentes e de 38% dos colegiais, sendo que muitos deles (e dos atletas também) preferem admitir o uso de cocaína a ter que admitir o uso de esteróides⁸².

Como visto, o uso de agentes de *doping* não são restritos apenas a atletas. Jovens esportistas escolares e amadores não-competitivos também os usam. O mau uso de esteróides, por exemplo, é crescente entre os freqüentadores de ginásios. Só nos Estados Unidos, estima-se que cerca de 1 a 3 milhões de pessoas utilizam esteróides. Estas estimativas, assim como nos demais países, é igual a aproximadamente 1% das respectivas populações. Uma pesquisa anônima feita na Suécia com 6000 adolescentes de 16 e 17 anos revelou que 3,2% dos homens usaram alguma vez esteróides (AAS), não havendo relato de uso entre as mulheres⁸³.

Para cuidar de problemas deste tipo nos esportes organizados, em 1999 foi criada a WADA, que é uma iniciativa compartilhada do esporte e de governos para promover e coordenar a luta contra o doping internacional e nacional através da educação, advocacia, pesquisa e liderança.

As regras atuais que governam o uso de *doping* no esporte consideram que uma violação por *doping* ocorre ao se encontrar nos fluidos do corpo uma substância proibida, um metabólito de uma substância proibida ou um composto quimicamente ou farmacologicamente relacionado a uma substância proibida⁸⁴.

Na maioria dos casos, a urina é a matriz escolhida para os exames de *doping* devido ao grande volume e por não ser um método invasivo⁷⁴, sendo que o principal método de identificação consiste na cromatografia geralmente acoplada a um espectrômetro de massas, ainda que possam ser detectadas no sangue outras substâncias como os hormônios.

Todas as amostras de urina devem ser enviadas o mais rápido possível até um laboratório devidamente credenciado, que fará a análise desta para a presença de substâncias ou métodos proibidos. A maior parte das organizações esportivas adota a mesma lista de substâncias proibidas, porém, alguns esportes podem ter uma ligeira variação, como no automobilismo e no arco e flecha, onde o uso de álcool e de beta-bloqueadores também é proibido⁸¹.

Além da urina e do sangue, estudos vêm sendo feitos também para detecção destas mesmas substâncias nos cabelos uma vez que estes compostos possuem um maior tempo de permanência neles que podem ser semanas ou meses, dependendo do comprimento da haste capilar. Porém, nenhuma análise deve ser substituída uma vez que elas se completam. As análises em sangue e urina fornecem informações de curto prazo do uso de drogas por um indivíduo enquanto o cabelo fornece informação em longo prazo do histórico de uso desta mesma pessoa⁸⁴.

Eventualmente um atleta pode necessitar de algum tipo de medicação que possua na sua formulação uma substância proibida, seja por motivos de saúde, seja por indicação médica. Se este for o caso, é necessário contatar a respectiva confederação ou a federação internacional para que haja a solicitação de uma permissão especial que poderá ser concedida após a análise do diagnóstico e da indicação apropriada de um determinado medicamento⁸¹.

1.4.1 Principais classes de substâncias proibidas

Dentre as classes de substâncias mais conhecidas utilizadas como *doping*, encontram-se:

1.4.1.1 Estimulantes

Aumentam os níveis de atividades motoras e cognitivas ao estimular o funcionamento do cérebro (ou seja, diretamente no sistema nervoso central), permitindo

que o atleta tenha uma maior capacidade física momentânea, como a diminuição da fadiga e o aumento da percepção e dos demais sentidos. Além destes efeitos, dilatam as pupilas, aumentam o número de batimentos cardíacos e a pressão arterial. Porém, se a dose tomada for muito elevada ou o indivíduo apresentar sensibilidade, pode aumentar muito a temperatura do corpo (40-41°C), dificultando o processo de refrigeração deste, podendo causar convulsões.

Essas substâncias são utilizadas principalmente em esportes como basquete, futebol, vôlei e ciclismo.

O uso crônico de estimulantes como as anfetaminas podem ocasionar destruição dos neurônios, agressividade, paranóia, esquizofrenia e alucinações além de tremores e respiração rápida⁸⁵.

Fazem parte dessa classe a nicotina, a cafeína, as anfetaminas e a cocaína (Figura 6).

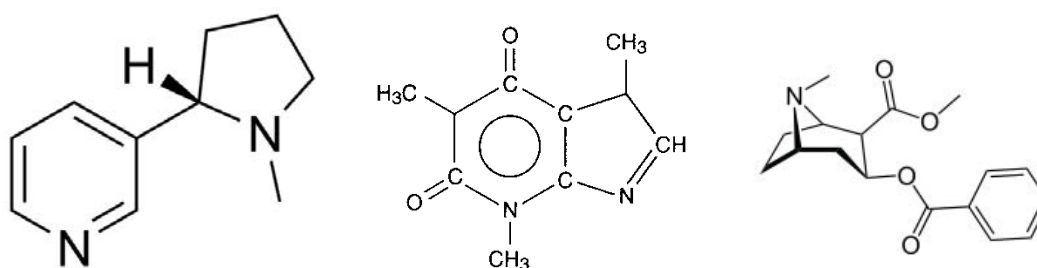


Figura 6. Estruturas químicas da Nicotina, da Cafeína e da Cocaína, respectivamente

1.4.1.2 Analgésicos narcóticos

São drogas utilizadas para alívio da dor. Ao reduzir a dor de certas lesões ou atividades, permitem ao atleta aguentar por mais tempo, gerando uma certa “resistência natural”. Porém, considerando-se a redução da dor sentida, pode acontecer de um atleta agravar uma lesão devido à não-percepção desta ou da gravidade desta. Como outros efeitos podem causar perda de equilíbrio e de coordenação, náuseas, vômitos, insônia, depressão, diminuição da frequência cardíaca e ritmo respiratório e diminuição da capacidade de concentração⁸⁶.

Essas substâncias são muito utilizadas em esportes que exigem esforço contínuo e repetitivo (fisicamente muito exigentes), como a maratona e o triatlo.

O uso crônico destas substâncias pode desencadear síndromes de abstinência⁸⁷.

Fazem parte dessa classe a morfina, a piridina, a metadona e a codeína (Figura 7), substâncias estas derivadas do ópio (atuantes do sistema nervoso central)⁸⁸.

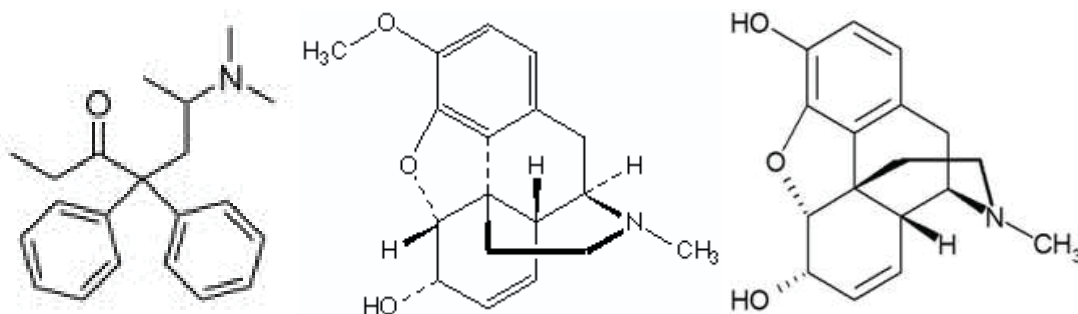


Figura 7. Estruturas químicas da Metadona, da Codeína e da Morfina, respectivamente. Pode-se perceber claramente a semelhança estrutural entre a codeína e a morfina.

1.4.1.3 Diuréticos

Aumentam a quantidade de urina produzida e excretada, levando a uma diluição de outras substâncias ilegais que podem estar presentes na urina que de outra forma seriam detectadas em concentrações altas, agindo então como uma substância mascarante. Além disto, são utilizadas também para perda de peso de modo a reduzir rapidamente a massa corporal do atleta ou até mesmo para expulsar outros tipos de substâncias dopantes mais rapidamente do organismo.

Por permitir a perda de peso, os diuréticos são muito utilizados em esportes onde estejam presentes categorias de pesos, como o boxe, o judô, o halterofilismo e o caratê⁸⁸.

Os diuréticos podem causar desidratação, câimbras, doenças renais, perda acentuada de sais minerais, alterações no volume do sangue e no ritmo cardíaco, sendo que se os problemas cardíacos e renais tornarem-se muito graves, podem levar até mesmo à morte⁸⁶.

Na Figura 8 estão representados os diuréticos triantereno e furosemida.

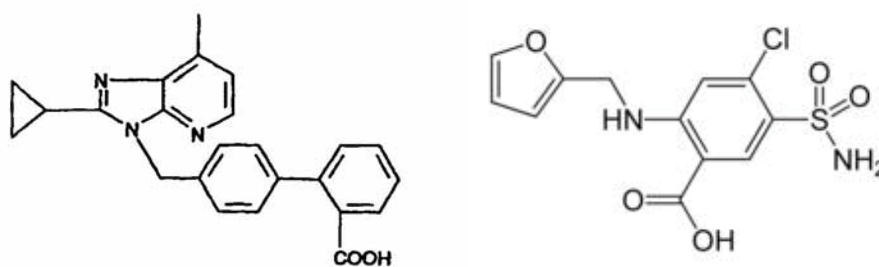


Figura 8. Estruturas químicas do Triantereno e da Furosemida, respectivamente

1.4.1.4 Anabolizantes

Promovem o crescimento celular e a sua divisão, resultando no desenvolvimento de diversos tipos de tecidos, especialmente o muscular e o ósseo^{73,77}. São compostos derivados da testosterona. Quando tomados em doses altas, aumentam o metabolismo basal (quantidade calórica ou energética que o corpo utiliza, durante o repouso, para o funcionamento de todos os órgãos), o número de hemácias e a capacidade respiratória, reduzindo a taxa de gordura corporal e ganhando força, potência e maior tolerância ao exercício físico. Por isso são muito utilizados em halterofilistas, lutadores de artes marciais e outros esportes que envolvam força explosiva além de serem utilizados também simplesmente porque o indivíduo deseja um corpo mais musculoso⁸⁸.

Os anabolizantes podem causar sérios prejuízos como aumento da agressividade, infartos em jovens (devido ao aumento do músculo cardíaco), atrofiamento dos testículos, ginecomastia, esterilidade, redução do bom colesterol (HDL) e aumento do mal colesterol (LDL), dentre vários outros.

Os principais esteróides anabolizantes utilizados são a nandrolona, o estonozoil, o anadrol e a testosterona⁸⁸ (Figura 9).

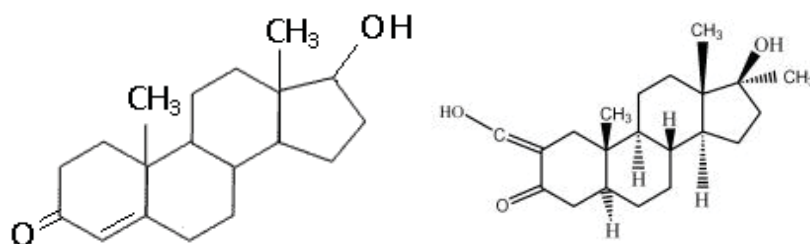


Figura 9. Estruturas químicas da Testosterona e do Anadrol, respectivamente

Além destas classes mais conhecidas de agentes de doping, também há os Beta-2 Agonistas (aumentam a massa muscular e diminuem a gordura), os Beta-bloqueantes (combate ao nervosismo, stress e ansiedade, usados em esportes de alta precisão como xadrez, tiro ao alvo e nado sincronizado), os canabinóides (aumento auditivo e percepção visual), os glucocorticosteróides (garantem reserva energética e ajudam a equilibrar os níveis psíquicos e físicos dos atletas), as hormonas peptídicas (ajudam a fixar os aminoácidos necessários para a construção dos músculos), dentre outras^{86,88}.

1.4.2 Métodos de doping

São considerados métodos de *doping*: o aumento da transferência de oxigênio, a manipulação química e física e o *doping* genético:

1.4.2.1 Aumento da transferência de oxigênio

É uma espécie de *doping* sanguíneo ou a utilização de transportadores artificiais de oxigênio. Neste tipo de *doping*, há o aumento artificial da captação, transporte ou aporte de oxigênio (incluindo o uso de perfluoroquímicos, efaproxiral e produtos de hemoglobina modificada como substitutos do sangue baseados em hemoglobina), aumentando a distribuição deste aos músculos, principalmente nas condições de exercícios físicos que exigem grande resistência^{81, 89}.

O *doping* sanguíneo consiste em injetar em um atleta os glóbulos vermelhos de outra pessoa de modo a remover o seu próprio sangue até três meses antes da competição, guardando-o e então voltando a injetá-lo, resultando por fim num aumento do volume sanguíneo.

Em outras palavras, este tipo de *doping* inclui a utilização de sangue autólogo (do próprio indivíduo), homólogo (de indivíduos diferentes de uma mesma espécie) ou heterólogos (de indivíduos de espécies diferentes)⁸⁹.

1.4.2.2 Manipulação química e física

Inclui a manipulação ou a tentativa de manipulação, visando a alteração da integridade e validade das amostras coletadas no controle de dopagem, como cateterismo e substituição e/ou alteração da urina original pela de outra pessoa. Inclui também infusões intravenosas, exceto as administradas por ocasiões hospitalares ou investigações clínicas⁸¹.

A manipulação química e física é a última na frequência de classe de utilização de doping (0,1%) de todas as descobertas no mundo inteiro, sendo a manipulação física preferida ao invés da manipulação química.

Dentre as substâncias utilizadas, existe o *Probenecid*, que bloqueia a secreção de testosterona além de ser utilizado para o bloqueio de substâncias dopantes e para o atraso da eliminação de drogas anabólicas, agindo como um agente de camuflagem. Outros agentes de camuflagens utilizados são a *finasterida* e a *epitestosterona*⁸⁹.

1.4.2.3 Doping genético

O *doping* genético consiste na transferência de células ou elementos genéticos como o DNA e o RNA e o uso de agentes biológicos ou farmacológicos que modifiquem a expressão gênica⁸¹ ou, mais especificamente, de acordo com a WADA⁷⁷: “o uso não terapêutico de células, genes, elementos genéticos ou da modulação da expressão de genes, com a capacidade de melhorar o desempenho atlético”. A terapia genética em si é utilizada para reparar um gene com defeito, porém, também é possível, através dela, aumentar, por exemplo, as proteínas musculares, o que dentro do esporte é considerado um abuso⁸⁹.

No *doping* genético, genes modificados são implantados em vetores (vírus inofensivos, alterados para não transmitirem doenças). Então esses vetores são injetados no corpo do atleta, levando gene modificado para o destino desejado nas células que passam a produzir quantidades maiores de substâncias que melhoram o desempenho esportivo⁹⁰.

Suplementos alimentares não são proibidos ou considerados *doping* esportivo, mas a maioria destes incluem aminoácidos, creatina, vitaminas e sais minerais e não são avaliados devidamente pelos órgãos governamentais de muitos países. Estudos mostram que estes produtos não contêm apenas o que deveriam conter, de acordo com os rótulos,

mas eventualmente contêm até precursores de hormônios e testosterona, o que pode constituir *doping* positivo. Por causa disso, devem-se utilizar apenas produtos testados previamente de modo a não correr o risco de contaminação⁸¹.

1.5 A furosemida

A furosemida é um derivado do ácido antranílico e pertence à classe dos diuréticos de alça, sendo muito utilizada no tratamento de insuficiência cardíaca congestiva, insuficiência renal crônica, edemas e hipertensão.

A furosemida atua nos rins, ocasionando um aumento na produção de urina^{91, 92}. Após ingerida, a furosemida é rapidamente absorvida e quase toda ela é excretada na urina, uma parte como droga inalterada e uma outra bem menor como metabólitos⁹². Vários métodos são realizados para detectar furosemida nesta matriz, como Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e cromatografia em camada delgada além da espectrofotometria na região do UV e alguns métodos de confirmação baseados em cromatografia gasosa. Para a análise de furosemida em fármacos também são muito utilizados os métodos potenciométricos com eletrodos íon-seletivos⁹³ e muitos dos métodos colorimétricos na região do visível envolvem reações não-estáveis ou requerem aquecimento por um longo tempo. Outros métodos desenvolvidos para detecção e quantificação de furosemida estão expressos na Tabela 1.

A furosemida age ao bloquear a absorção de sais e líquidos na alça de Henle (Figura 10) e, em menor escala, nos túbulos dos rins, resultando em uma menor perda de água por osmose e, conseqüentemente, no acúmulo de água no rim de modo que uma maior quantidade de água é excretada. Tal ação explica a contribuição para a perda de peso e seu efeito de mascaramento de outros agentes químicos de *doping* uma vez que uma maior quantidade de água acumulada corresponde a uma maior diluição destes agentes^{93, 94}.

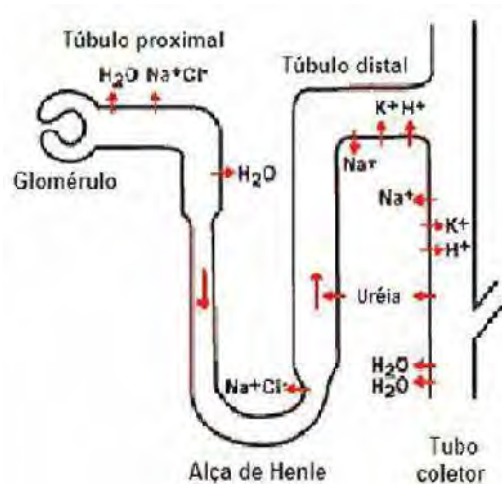


Figura 10. Representação Esquemática da Ação da Furosemida no rim.

Imagem adaptada de: <http://ltc.nutes.ufrj.br/toxicologia/imagens/henle.gif>

Tabela 1. Métodos analíticos para determinação e quantificação de furosemida por (a) potenciometria, (b) espectrofotometria e (c) cromatografia.

a) Métodos Espectrofotométricos

Matriz	λ (nm)	Faixa Linear	Limite de Detecção	Referência
Fármacos	585	$7,56 \times 10^{-3}$ a $6,05 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$	$2,49 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	95
Fármacos	262	1,0 a $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$	-	96
Fármacos e Urina	513	$1,00 \times 10^{-4}$ a $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$	$3,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	97
Fármacos e Urina	Excitação: 270 Emissão: 410	$1,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$3,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	98
Fármacos e Urina	520	1,75 a $21,0 \mu\text{g mL}^{-1}$	-	99
Fármacos e Urina	500	2,50 a $30,0 \mu\text{g mL}^{-1}$	-	99
Fármacos	410	$2,0 \times 10^{-5}$ a $4,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	$5,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	100
Urina	Excitação: 237 Emissão: 415	$1,2 \times 10^{-3}$ a $4,0 \mu\text{g mL}^{-1}$	$0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$	101
Fármacos	498	4 a 40 mg L^{-1}	$1,2 \text{ mg L}^{-1}$	102

b) Métodos Potenciométricos

Matriz	Eletrodo	Faixa Linear	Limite de Detecção	Referência
Fármacos, Urina, soro sanguíneo e leite	Pt Hg Hg ₂ (Fur) ₂ Grafite	5,0x10 ⁻⁷ a 1,0x10 ⁻² mol L ⁻¹	3,8x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	103
Fármacos	Membrana de PVP	1,59x10 ⁻⁴ a 1,00x10 ⁻² mol L ⁻¹	1,19x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	104
Fármacos e Urina	Carbono Vítreo	A partir de 5,5x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹	1,38x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	105
Fármacos	Carbono Vítreo Voltametria Cíclica	6,0x10 ⁻⁷ a 3,2x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	1,0x10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	106
Fármacos e Urina ^a	μBondapak C ₁₈	15 a 500 ng mL ⁻¹	15 ng mL ⁻¹	107
Urina e Soro Sanguíneo ^a	Coluna de fase reversa 8MBC ₁₈	0,25 a 5 ng μL ⁻¹ (soro) 0,50 a 10 ng μL ⁻¹ (urina)	16 ng mL ⁻¹ (soro) 9 ng mL ⁻¹ (urina)	108
- ^a	Octadecilsilano	1,0 a 10 μg mL ⁻¹	0,5 μg mL ⁻¹	109

^a: utiliza-se HPLC porém a detecção é potenciométrica.

c) Métodos Cromatográficos

Matriz	Coluna e λ (nm)	Faixa Linear	Limite de Detecção	Referência
Fármacos	μ Bondapak C ₁₈ , Detecção a 280 nm.	75 – 500 ng na coluna	-	110
Fármacos	Novopak C ₁₈ , Detecção a 240 nm.	-	-	111
Fármacos	RP Accurasil ODS C ₁₈ , Detecção a 233 nm.	1,01 a 121,8 μg mL ⁻¹	0,3 μg mL ⁻¹	112
Soro Sanguíneo	Extração em fase sólida on-line Detecção a 271 nm	5 a 1000 ng mL ⁻¹	-	113
Urina	Coluna de fase reversa de alta velocidade Detecção a 270 nm	-	0,05 μg mL ⁻¹	114
Plasma e Urina	Chromolith® RP 18e Excitação: 230 Emissão: 410	7,8 a 1000 ng mL ⁻¹	3,0 ng mL ⁻¹	115
Urina	Hypersil ODS-C ₁₈	-	2,0 ng mL ⁻¹	116
Células em cultura	C ₁₈	2 – 100 μmol L ⁻¹	0,1 μmol L ⁻¹	117
Plasma Sanguíneo	Chromolith Performance RP-18e Excitação: 235 Emissão: 402	-	8,2 ng mL ⁻¹	118

1.6 O íon chumbo

Desde os primórdios da civilização é conhecido que o chumbo possui efeitos tóxicos no organismo humano, tendo sido bastante utilizado em casos de envenenamento¹¹⁹. A exposição constante ao chumbo pode causar uma doença conhecida como saturnismo, que pode causar disfunção renal, alteração no comportamento, retardo mental, dores, constipações e úlceras orais. Além disso, é conhecida também sua toxicidade ao sistema reprodutor, ao fígado e ao sistema imunológico. Testes foram feitos em animais como ratos e camundongos, descobrindo-se que sais inorgânicos de chumbo (em cuja ligação entre o metal e o ligante é iônica) têm propriedades químicas e toxicológicas diferentes dos compostos organometálicos de chumbo, onde as ligações entre o metal e o ligante é covalente, sendo o rim o principal órgão-alvo dos sais de chumbo, independente da rota de administração^{120, 121}.

O mecanismo de intoxicação do chumbo é complexo e varia desde a substituição do cálcio no tecido (com sua posterior eliminação por acidose sem necessariamente haver a recalcificação), até interferências no Ciclo de Krebs¹¹⁹.

Além dos resíduos de disparo já anteriormente citados, o chumbo também pode ser encontrado em tintas, baterias de automóveis, pilhas, soldas e emissões industriais.

A maioria dos métodos para determinação de chumbo envolve a espectrometria de absorção atômica, além de métodos potenciométricos acoplados ou não a outros métodos de detecção, como demonstrado pelos trabalhos da Tabela 2.

Tabela 2. Métodos analíticos para determinação e quantificação de chumbo em amostras diversas.

Matriz	Método	Faixa Linear	Limite de Detecção	Referência
Várias	Voltametria de pulso diferencial	$1,0 \times 10^{-9}$ a $8,1 \times 10^{-7}$ mol L^{-1}	$6,0 \times 10^{-10}$ mol L^{-1}	122
Águas naturais	Injeção em fluxo com extração em fase sólida	-	$0,9 \mu\text{g L}^{-1}$	123
Urina	Espectrometria de absorção atômica de chama	-	$11 \mu\text{g L}^{-1}$	124
Amostras ambientais	Espectrometria de absorção atômica de chama com injeção em fluxo	-	$0,32 \mu\text{g L}^{-1}$	125
Sangue	Plasma acoplado a Espectrometria de Massas	-	$0,1 \text{ ng mL}^{-1}$	126
Resíduos de disparo	Voltametria de pulso diferencial anódico	0,3 a $10,0 \text{ mg L}^{-1}$	$0,2 \text{ mg L}^{-1}$	127
-	Eletrodo impresso	1 a 50 ppm	<1 ppm	128
Água	Espectrometria de absorção atômica de chama	-	$3 \mu\text{g L}^{-1}$	129
Alimento	Espectrometria de fluorescência	$0 - 100 \mu\text{g L}^{-1}$	$0,31 \mu\text{g L}^{-1}$	130
-	Voltametria de Pulso Diferencial	$5,0 \times 10^{-9}$ a $2,0 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} e $2,5 \times 10^{-8}$ a $5,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}	-	131
-	Voltametria Cíclica	$5,0 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}	$1,0 \times 10^{-9}$ mol L^{-1}	132
Água, chá, solo e poeira	Espectrometria de absorção atômica de chama	-	$3,7 \mu\text{g L}^{-1}$	133
Sangue	Potenciometria	-	0,006 $\mu\text{mol L}^{-1}$	134
-	Espectrometria de absorção atômica	-	$3,1 \text{ ng mL}^{-1}$	135

1.7 Aspectos da espectrometria no UV/VIS: espectroscopia de reflectância difusa^{136, 137}

Diferentemente da espectroscopia de absorção, a espectroscopia de reflectância havia sido pouco estudada por ser considerada inviável para análises quantitativas já que, a partir de *spot tests* convencionais, a precisão não era tão boa¹³⁸. Tal fato foi reconsiderado após haver o desenvolvimento de instrumentos analíticos (fibras ópticas e esferas de reflectância melhores), sendo possível então a análise quantitativa por reflectância acopladas a *spot tests*, apresentando resultados muito melhores¹³⁹.

A espectroscopia de reflectância é um processo relativamente complexo que ocorre quando um feixe de radiação atinge a superfície de uma amostra. Caso a amostra seja sólida, ocorrerá reflexão especular em cada superfície plana, porém, como há muitas destas superfícies orientadas aleatoriamente, a radiação é refletida em todas as direções. Geralmente a intensidade da radiação refletida é independente do ângulo de observação.

Diferentemente da reflexão especular, a reflexão difusa ocorre em superfícies foscas ou opacas devido à reflexões múltiplas a partir das superfícies das partículas que constituem o meio. Este tipo de reflexão compreende um processo que acontece devido à penetração da radiação em um substrato sólido (como um pó finamente dividido), sendo que parte desta radiação retorna para a superfície do substrato, ocorrendo também dispersão múltipla e absorção parcial da radiação pelas partículas ou fibras que constituem o substrato sólido^{139,140,141,142}. Como há muitas superfícies orientadas aleatoriamente, a radiação é refletida em todas as direções, sendo a intensidade independente do ângulo de observação.

Vários modelos foram desenvolvidos de modo a descrever a intensidade da radiação refletida difusamente de um modo quantitativo. Dentre estes, está o modelo de Kubelka e Munk, relacionando a concentração da amostra com a reflectância através da relação entre o coeficiente de absorção molar do analito (k), coeficiente de dispersão ou de espalhamento (s) e poder de reflectância em um meio semi-infinito (infinitamente fino):

$$f(R'_\infty) = \frac{(1 - R'_\infty)^2}{2R'_\infty} = \frac{k}{s} \quad \text{(Equação 1)}$$

Onde R'_{∞} é a razão entre a intensidade refletida pela amostra e a de um padrão não-absorvente, como o cloreto de potássio finamente moído.

Para uma amostra diluída, k está relacionado à absortividade molar ϵ e à concentração de analito c pela equação:

$$k = 2,303 \epsilon c \quad (\text{Equação 2})$$

A aplicação da Equação 2 fornece uma relação linear entre a concentração da amostra e a função $f(R'_{\infty})$ para concentrações médias e altas, enquanto que para concentrações mais baixas pode haver um desvio da linearidade¹⁴⁰.

Nas medidas de reflectância, são lidos os sinais da radiação transmitida refletida (reflectância, T_R), análoga à transmitância e, conseqüentemente, descrita analogamente à absorbância: $A_R = -\log (T_R)$.

T_R é dado por $T_R = I \times I_0^{-1}$, sendo I_0 a intensidade da radiação incidida e I a intensidade da radiação refletida pelo meio. Deste modo, T_R é um número entre 0 e 1. Deste modo, o tratamento dos dados obtidos se dá semelhantemente ao tratamento dos dados quando se trabalha com absorbância, sendo a os gráficos de A_R construídos principalmente em função da concentração direta ou do logaritmo desta¹⁴¹.

1.8 Química Verde: conceitos básicos

A química verde, também conhecida como “química sustentável” é uma filosofia cuja principal função é o encorajamento de produtos e processos que reduzam ou eliminem o uso de substância e métodos perigosos¹⁴³. A química verde em si pode ser aplicada às diversas áreas da química: orgânica, inorgânica, bioquímica, analítica e físico-química, com ênfase em aplicações industriais e pesquisa.

É importante ressaltar que a química verde é distinta da química ambiental. Enquanto a química verde procura a redução e a prevenção da poluição, a ambiental é a química do meio-ambiente e dos poluentes químicos na natureza.

A filosofia verde é baseada em 12 princípios^{144,145}, envolvendo a prevenção, síntese e utilização de produtos menos perigosos bem como a utilização de solventes

menos tóxicos, uso racional de energia, utilização de matéria-prima renovável, dentre outros.

Apesar de haver certas discordâncias (uma vez que a química verde não considera, num primeiro momento, a parte econômica), a conscientização sobre a redução, prevenção e eliminação dos perigos através desta filosofia rebatem este problema. Infelizmente, muitas micro-empresas e indústrias não têm o capital suficiente para, no começo de seu desenvolvimento, aderir completamente (ou mesmo parcialmente a esta filosofia). Mesmo as grandes empresas, via de regra, apresentam uma certa relutância, uma vez que os investimentos, muitas vezes, são maiores ao se adotar a filosofia verde.

A Espectroscopia de Reflectância Difusa associada ao *spot test* é uma metodologia extremamente simples, rápida, econômica e menos poluente que promove baixo ou nenhum risco ao operador e ao meio ambiente. Dessa forma, ela é considerada uma metodologia limpa ou verde ou ainda ambientalmente benigna, tornando-se atrativa e promissora em análise quantitativa por estar em total consonância com os princípios da química verde.

2 OBJETIVOS

O presente projeto tem como objetivos:

- 2.1 Desenvolvimento e aplicação de metodologia analítica limpa, simples, rápida e sensível para as análises forenses de furosemida em urina para *doping* esportivo;
- 2.2 Desenvolvimento e aplicação de metodologia analítica limpa, simples, rápida e sensível para as análises de chumbo em amostras de resíduos de disparo e caçaças, bem como a validação de cada uma das metodologias propostas;
- 2.3 Desenvolvimento e aplicação de um método de coleta de resíduos de disparo que seja rápida, simples, fácil e de baixo custo.

3 METODOLOGIA, EQUIPAMENTOS E MATERIAS

A seguir, serão descritas a metodologia, os equipamentos, os reagentes e as principais soluções utilizadas no presente trabalho.

3.1 Metodologia

O *spot test* é um procedimento químico utilizado para identificação ou quantificação de diversos tipos de substâncias através da reação entre o analito de interesse e um reagente químico de identificação em um suporte sólido (papel de filtro, placa de toque, entre outros). Esta reação deve ser mensurável por algum método, ou seja, deve haver ou mudança de cor, ou evolução de gás, ou precipitação, etc.

A metodologia utilizada baseia-se em medidas de reflectância difusa do produto colorido formado na reação de *spot test* entre o analito de interesse (íon chumbo e furosemida, separadamente) com seus respectivos reagentes cromogênicos, no comprimento de onda de máximo sinal, utilizando como suporte sólido papel de filtro.

Nas Figuras 11 e 12 encontram-se representados, respectivamente, o procedimento para a realização do *spot test* e um exemplo de aplicação obtido experimentalmente.

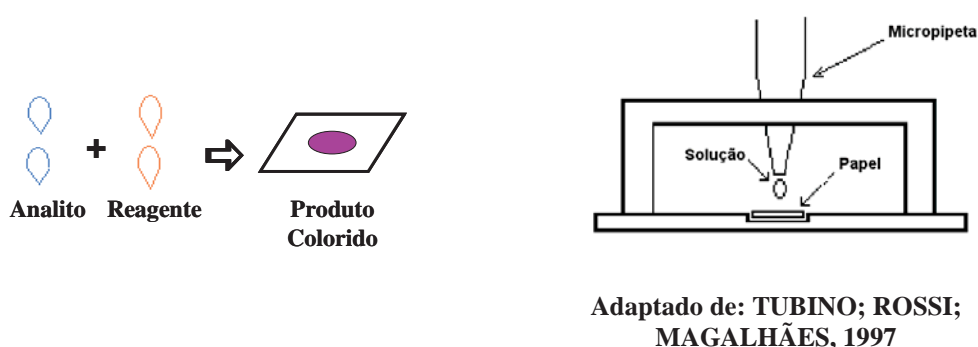


Figura 11. Procedimento e suporte para a realização da reação de *spot test*.



Figura 12. Exemplo de *spot test* realizado em papel de filtro, havendo a mudança de cor, mensurável através de um acessório de reflectância acoplado ao espectrofotômetro

3.2 Equipamentos

As medidas de reflectância foram efetuadas em um equipamento portátil composto de uma esfera integradora e fibra óptica da marca *Ocean Optics*, acoplado a um espectrofotômetro *USB2000* com o software *OOIBase32* (Figura 13). As medidas de pH foram efetuadas em pHmetro *Tecnal* modelo *Tec-2*, com eletrodo de vidro. Todos os equipamentos encontravam-se instalados em salas devidamente equipadas com energia estabilizada e ar condicionado.

As medidas de volume foram efetuadas com buretas classe A e micropipetas “Brand” (1000 μL) e “Eppendorf” (10-100 μL). A vidraria utilizada no preparo das soluções foi de grau A e as pesagens foram realizadas em balança analítica *Mettler Toledo* modelo *AG204*. Para solubilização dos analitos foi utilizado um banho de ultra-som, marca *Thornton* e agitadores magnéticos.

Como suporte sólido foi utilizado papel de filtro qualitativo *Whatman 1* e para testes qualitativos foi utilizado um secador de cabelo convencional da marca *Tany*, modelo *PRO3000*.

Para as coletas de resíduos de disparo foram utilizados cotonetes flexíveis 100% algodão da marca *Extra*[®], algodão em bolas 100% hidrófilo da marca *Topz*[®] e membranas de celulose¹⁴⁶ projetadas pelo Grupo de Materiais Fotônicos do Instituto de Química, UNESP, de Araraquara, que gentilmente forneceu ao Grupo Fritz Feigl amostras secas e úmidas (99% água, 1% celulose) da membrana para o andamento deste projeto.

3.3 Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados durante os experimentos foram todos de grau p.a:

- Nitrato de Chumbo >99,99%, *Sigma-Aldrich*;
- Rodizonato de Sódio 97%, *Sigma-Aldrich*;
- Nitrito de Sódio 99%, *Merck*, Alemanha;
- Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) 99%, *Sigma*.
- Furosemida >99,99%, *Purifarma*;
- Cloreto de Ferro (III) 99%, *Merck*;
- Brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB) 99%, *Sigma*;
- 4-Dimetilaminocinamaldeído (p-DAC) 98%, *Acros Organics*;
- Ácido Etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 99%, *Merck*;
- Tartarato de Sódio e Potássio 99,0%, *Synth*;
- Ácido L(+) Tartárico 99,0%, *Synth*;
- Cartuchos C₁₈, Bond Elut, *Varian*, 500 mg;
- Água deionizada *Milli-Q*;
- Uréia, p.a., *Sigma*;
- Fosfato de Potássio Dibásico, 98,0%, *Vetec*;
- Cloreto de Amônio, p.a., *Mallinckrodt*;
- Cloreto de Sódio, 100,0%, *Mallinckrodt*;
- Cloreto de Cálcio, 75%, *Reagen*.

O preparo das principais soluções se deu como mostrado a seguir:

Para o desenvolvimento do método para a detecção e quantificação de chumbo, foi selecionado o reagente Rodizonato de Sódio em meio de SDS e tampão (pH 2,8) de Ácido Tartárico/Tartarato de Sódio por já ser amplamente utilizado em perícias criminais e, portanto, tornando o método mais acessível para este tipo de análise.

Para este trabalho foram utilizadas as seguintes soluções principais:

- **Solução Estoque de Chumbo 5000 ppm:** a solução foi preparada através da dissolução de 0,7982g de nitrato de chumbo em 100mL de água deionizada. As demais soluções de chumbo utilizadas neste trabalho foram preparadas através de diluições adequadas desta solução.

- **Solução Tampão Ácido Tartárico/Tartarato de Sódio (pH 2,8):** o ácido tartárico $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparado pela dissolução de 3,000g do ácido em 100mL de água deionizada e o tartarato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparado pela dissolução de 5,642g do sal em água deionizada. Em seguida, o tartarato de sódio foi sendo adicionado no ácido tartárico até a solução atingir pH 2,8, medido por um pHmetro. Quando houvesse a precipitação, a solução tampão era filtrada e o pH era medido novamente, sem que tenha sido observada alteração significativa.

- **Reagente Cromogênico:** a solução foi preparada através da solubilização de 0,0280g de rodizonato de sódio (ROD) e 0,0260g de SDS em 10mL de solução tampão.

Para o desenvolvimento do método para a detecção e quantificação de furosemida, foi selecionado o reagente Cloreto de Ferro (III) em meio de DTAB uma vez que dentre todas as reações testadas, esta se mostrou bastante eficiente no quesito praticidade, facilidade, rapidez e custo relativo.

Para este trabalho foram utilizadas as seguintes soluções principais:

- **Solução Estoque de Furosemida $7,50 \text{ mmol L}^{-1}$:** a solução foi preparada através da solubilização de 0,2481g de furosemida em 100mL de etanol destilado. As demais soluções de furosemida utilizadas neste trabalho foram preparadas através da devida diluição desta solução também em etanol.

- **Reagente Cromogênico:** a solução foi preparada através da dissolução de 0,0924g de FeCl_3 e 0,0832g de DTAB em 10mL de água deionizada.



Figura 13. Espectrômetro portátil e fibra óptica utilizados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ambos os métodos aqui descritos foram realizados por *spot test* com leitura espectrofotométrica em um espectrofotômetro portátil que pode ser levado até o local onde se deseja realizar a leitura, essencial para uma análise forense rápida.

4.1 Chumbo

O íon chumbo (II) possui a massa molar aproximada de $207,20 \text{ g mol}^{-1}$ e possui a configuração eletrônica $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} 6s^2$.

4.1.1 Testes qualitativos

Foi necessária a realização de testes qualitativos para determinar o comprimento de onda de máximo sinal para o produto colorido formado, além de testar a intensidade deste a partir das diferentes concentrações de chumbo para obter uma idéia inicial da concentração de analito que pode ser detectada pelo método a ser desenvolvido neste trabalho. Paralelamente, também foi estudado o efeito do uso de surfactantes na reação, representada na Figura 14, a fim de verificar se havia ou não um aumento da sensibilidade.

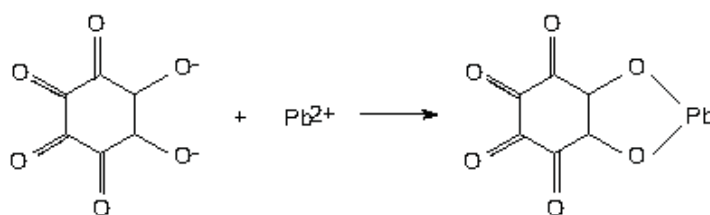


Figura 14. Esquemática da reação de Chumbo(II) com o reagente cromogênico Rodizonato.

O produto colorido formado na superfície do papel de filtro possui uma cor rosada intensa cujo espectro, em 545 nm , é mostrado na figura 15.

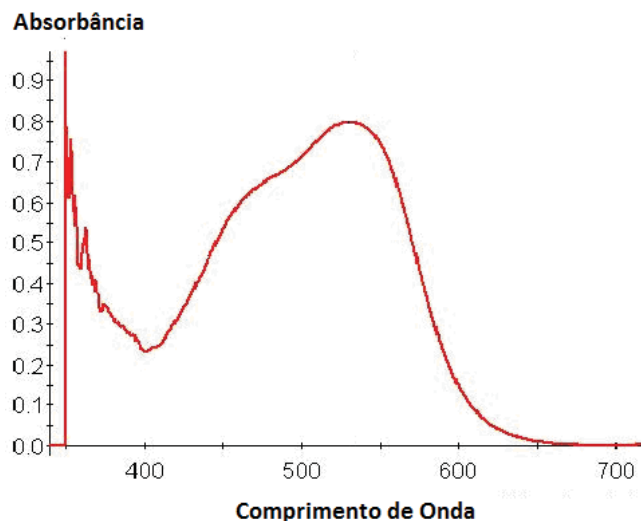


Figura 15. Espectro de A_R da reação de spot test no papel de filtro entre Pb^{2+} e ROD em meio tamponado. O valor máximo de A_R foi em 545 nm. $[Pb^{2+}] = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

Após verificar que, com a utilização de surfactantes na reação havia uma melhora significativa na quantificação de chumbo (sem a utilização de surfactantes, a quantificação se restringia a valores próximos de 20 ppm enquanto que, com a utilização destes, conseguiu-se obter leituras de concentrações de chumbo em torno de 5 ppm), decidiu-se então estudar a influência de um surfactante catiônico (CTAB) e um aniônico (SDS) nas manchas produzidas pela reação no papel de filtro.

Para tal, utilizou-se concentrações de surfactante acima da concentração micelar crítica ($0,8 \text{ mmol L}^{-1}$ para o CTAB e $8,0 \text{ mmol L}^{-1}$ para o SDS)¹⁴⁷ e as concentrações de chumbo utilizadas para os testes foram de 250 e 1500 ppm.

Como a solução de surfactante ao entrar em contato com a solução de chumbo resultava em precipitação, optou-se por adicioná-la no reagente cromogênico.

O teste de influência do surfactante na mancha foi realizado de 3 maneiras distintas:

- Adição de $20\mu\text{L}$ da solução de Pb^{2+} e, logo em seguida, $20\mu\text{L}$ da solução do reagente cromogênico;
- Adição de $20\mu\text{L}$ da solução do reagente cromogênico e, logo em seguida, $20\mu\text{L}$ da solução de Pb^{2+} ;
- Adição de $20\mu\text{L}$ da solução do reagente cromogênico e, após secagem, adição de $20\mu\text{L}$ da solução de Pb^{2+} . A secagem foi realizada com um secador de cabelo a uma distância aproximada de 10 cm.

Deste modo, além de se testar a influência do surfactante, testa-se também a influência da ordem de adição e da prévia secagem do reagente cromogênico no papel de filtro na formação da mancha. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Leitura das reflectâncias para o teste de mancha no papel de filtro utilizando CTAB e SDS e variando-se a ordem de adição e secagem do reagente cromogênico.

		CTAB			SDS		
		Teste 1 ¹	Teste 2 ²	Teste 3 ³	Teste 1 ¹	Teste 2 ²	Teste 3 ³
250 ppm	A _{R1}	0,311	0,378	0,324	0,221	0,629	0,623
	A _{R2}	0,264	0,387	0,329	0,238	0,640	0,637
	A _{R3}	0,273	0,337	0,326	0,247	0,642	0,620
	A _R médio	0,283	0,367	0,326	0,235	0,637	0,627
1500 ppm	A _{R1}	0,536	0,716	0,810	0,535	0,886	0,893
	A _{R2}	0,537	0,718	0,785	0,517	0,884	0,932
	A _{R3}	0,575	0,723	0,820	0,533	0,880	0,887
	A _R médio	0,556	0,719	0,805	0,528	0,883	0,904

¹ – Solução de Pb²⁺ + Reagente Cromogênico

² – Solução do Reagente Cromogênico + Solução de Pb²⁺

³ - Solução do Reagente Cromogênico + secagem + Solução de Pb²⁺

Sem a adição de surfactantes, as reflectâncias medidas foram 0,213 para a solução de chumbo 250 ppm e 0,473 para a solução de chumbo 1500 ppm.

Através desta tabela, pode-se perceber que os testes com CTAB mostraram uma melhora significativa no sinal principalmente ao adicionar primeiramente o reagente cromogênico e depois a solução de chumbo.

Os testes com SDS mostraram uma melhora significativa no sinal, bem melhor que a do CTAB ao se adicionar primeiramente o reagente cromogênico e depois a solução de chumbo. Secar o papel antes da adição do analito não alterou significativamente o resultado final.

As manchas para o Teste 1 (analito + reagente cromogênico), para os dois surfactantes, foram mais dispersas e fracas no papel, principalmente para o SDS, havendo gradientes de coloração visivelmente bem definidos.

As manchas do Teste 2 (reagente cromogênico + analito), para os dois surfactantes, foram bem menos dispersas, mais centralizadas e com maior sinal, por serem mais intensas.

As manchas do Teste 3 (reagente cromogênico + secagem + analito) visivelmente foram muito parecidas com as do Teste 2 para o CTAB enquanto que, para o SDS, não houve mudança aparente.

Portanto, decidiu-se realizar a reação na ordem de adição ROD com SDS em meio tamponado + analito, sem prévia secagem.

4.1.2 Triagem das Variáveis e Planejamento Composto Central

A otimização das condições experimentais foi realizada utilizando planejamento de experimentos.

O planejamento fatorial completo é utilizado para estimar os efeitos das diversas variáveis nas respectivas leituras. Geralmente, é utilizado antes do Planejamento Composto Central caso haja mais de dois fatores, uma vez que este último é realizado mais facilmente com apenas um par de variáveis, que serão analisadas em cinco níveis. A realização do Planejamento Composto Central com muitas variáveis resulta em mais que cinco níveis de análise, tornando-se necessária a realização de muitos testes, o que seria demorado, além de consumir muito mais reagentes. Ambos os planejamentos são importantes para desenvolver novas análises e métodos analíticos, pois determinam as condições ótimas com poucos testes.

Tendo-se analisado anteriormente no tópico 4.1.1 a influência da ordem de adição nas medidas de reflectância, não houve a necessidade de realizar o Planejamento Fatorial. Partiu-se então para o planejamento composto central, analisando em cinco níveis (-1,41; -1; 0; +1; +1,41) as variáveis concentração de ROD e concentração de SDS. A partir das leituras obtidas serão analisadas as condições ótimas para a reação a partir da superfície de resposta. As variáveis estudadas em seus respectivos níveis e a matriz utilizada estão apresentadas na Tabela 4. Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados analisados utilizando os programas *Minitab 15* e *Statistica 6.0*.

Tabela 4. Matriz do planejamento composto central com as variáveis [ROD] e [SDS].

$$[\text{Pb}^{2+}] = 250 \text{ ppm} .$$

Nº	Variáveis não codificadas		Variáveis codificadas		A _R médio
	[SDS] (mmol L ⁻¹)	[ROD] (%)	[SDS] (mol L ⁻¹)	[ROD] (%)	
1	5,73	0,129	-1	-1	0,512
2	9,27	0,129	+1	-1	0,425
3	5,73	0,271	-1	+1	0,628
4	9,27	0,271	+1	+1	0,618
5 ^a	7,50	0,200	0	0	0,617
6 ^a	7,50	0,200	0	0	0,614
7 ^a	7,50	0,200	0	0	0,621
8 ^a	7,50	0,200	0	0	0,613
9	5,00	0,200	-1,41	0	0,524
10	10,0	0,200	+1,41	0	0,644
11	7,50	0,100	0	-1,41	0,463
12	7,50	0,300	0	+1,41	0,652

a: ponto central realizado em quadruplicata, n =3.

Observando-se a superfície de resposta juntamente com sua curva de nível (Figura 16), cuja matriz está representada na Tabela 4, percebe-se que há uma região de máximo valor de A_R situada na área mais escura do gráfico que representa as condições ótimas para a realização da reação de *spot test* quantitativo. Esta região é considerada ótima porque, considerando os fatores estudados no planejamento, apresentou um maior sinal de reflectância, o que permite uma maior sensibilidade do método uma vez que, quanto maior o sinal, mais vezes o analito pode ser diluído e, conseqüentemente, menores concentrações deste podem ser quantificadas.

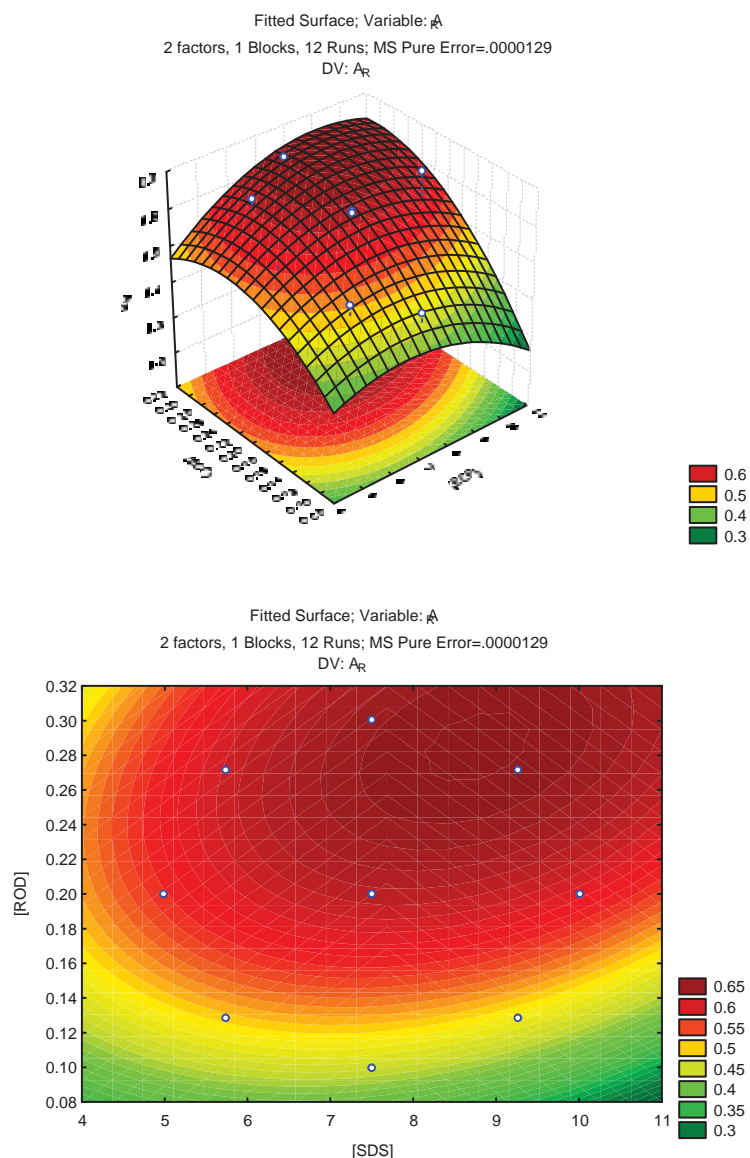


Figura 16. Superfície de resposta otimizada com sua respectiva curva de nível para a medida de A_R em 545 nm em função das variáveis: [SDS] e [ROD]. Foram adicionados

20 μL de solução de Pb^{2+} 250 ppm em cada experimento.

$$\text{Equação: } A_R = -0,083 + 0,082x[\text{SDS}] - 0,007x[\text{SDS}]^2 + 2,714x[\text{ROD}] - 7,125x[\text{ROD}]^2 + 0,154x[\text{SDS}]x[\text{ROD}]$$

Depois de realizada toda a análise estatística dos dados e definida a superfície de resposta determinou-se que as melhores condições experimentais são: adicionar no papel de filtro 20 μL do reagente cromogênico ([ROD] = 0,28% e [SDS] 9 mmol L^{-1} em

10 mL do tampão ácido tartárico/tartarato de sódio a pH 2,8) e, logo em seguida, 20 μ L do analito.

4.1.3 Estabilidade do produto da reação

Com o objetivo de avaliar a estabilidade óptica do produto colorido da reação de *spot test* em relação ao tempo entre o íon chumbo, ROD e SDS em meio tamponado no papel de filtro, realizou-se um acompanhamento cinético do valor de A_R a 545 nm a cada 5 minutos até completar 1 hora.

Os resultados obtidos no estudo de estabilidade óptica do produto formado demonstram que o produto atinge sua estabilidade óptica após 5 minutos depois de adicionada a solução de chumbo, mostrando um valor de reflectância aproximadamente constante por até 60 minutos, de acordo com a Figura 17. Os cinco minutos iniciais são necessários para a secagem do papel ao ar livre.

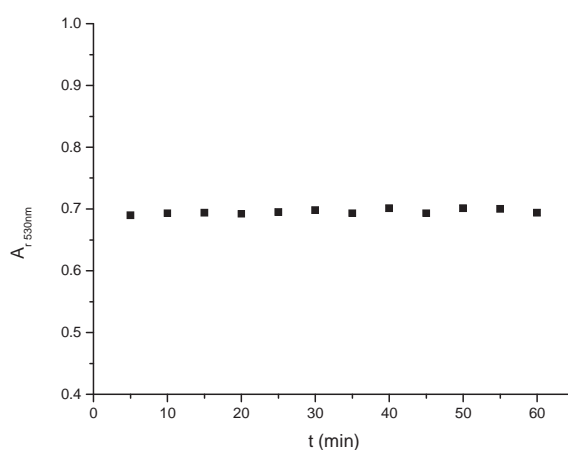


Figura 17. Estabilidade óptica do produto da reação do chumbo em *spot test* entre 0 e 60 minutos.

4.1.4 Testes de linearidade, repetibilidade e curva analítica

O teste de linearidade foi repetido 3 vezes utilizando concentrações de 2 a 3000 ppm de chumbo. Para valores abaixo de 4,7 ppm o sinal de reflectância era muito baixo e, portanto, sujeitos a um erro muito grande. Para valores muito altos de concentração de chumbo, as manchas não ficavam uniformes e ocorriam perdas, pois as soluções

permeavam através dos papéis de filtro, alterando a concentração do analito para análise. Tendo-se em mente estes intervalos, construiu-se então a curva analítica.

A curva analítica, numa faixa linear de 4,7 a 140 ppm, foi construída através das devidas diluições da solução estoque de chumbo(II) (5000 ppm), descrita anteriormente. Um branco contendo 20 µL do reagente cromogênico e 20 µL de água deionizada foi preparado para zerar o equipamento.

A Tabela 5 e a Figura 18 apresentam, respectivamente, os dados e a curva analítica construída a partir de soluções padrão de chumbo.

Tabela 5. Medidas de absorvância em processos de reflexão para a Curva Analítica do chumbo, já descontado o valor do branco.

[Pb ²⁺] (ppm)	A _R (média)
4,70	0,010
9,40	0,021
18,75	0,088
37,50	0,143
65,60	0,256
93,70	0,398
140,0	0,553

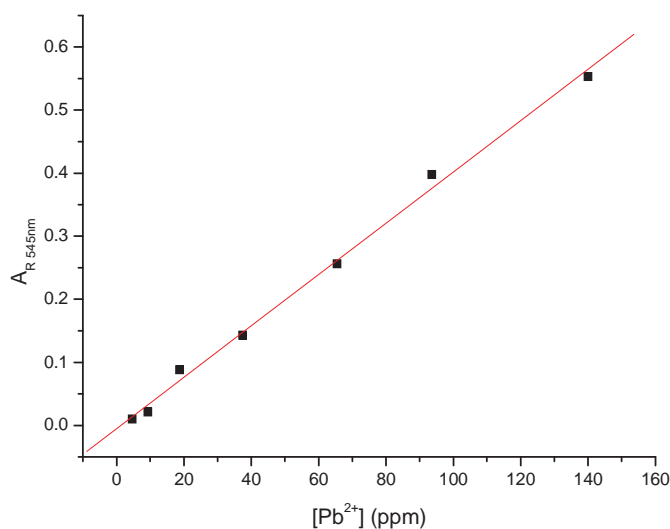


Figura 18. Curva Analítica para determinação de Pb²⁺. Relação Linear ($r = 0,998$) sendo os valores de A_r para esta faixa de concentração ajustados pela equação: $A_R = 0,00407 \times [Pb^{2+}] - 0,00511$.

Em seguida, foram feitos ensaios a fim de verificar a repetibilidade do método dentro de um mesmo dia (Intradia) e entre dias diferentes (Interdia). Para tal, foram feitos 3 experimentos repetindo alguns pontos da curva analítica, sendo dois desses experimentos realizados num mesmo dia em períodos diferentes e o terceiro, no dia subsequente a fim de se calcular o Desvio Padrão Relativo (RSD).

O RSD Intradia foi de 1,10% e o RSD Interdia de 2,40%.

Os resultados apresentados mostraram que as medidas são precisas e satisfatórias por apresentarem bons desvios e um bom coeficiente para a curva analítica.

4.1.5 Limites de Detecção e Quantificação

Com o objetivo de determinar os Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ), foram preparados 10 brancos, segundo a IUPAC¹⁴⁸, do mesmo modo descritos nos procedimentos acima realizando-se a leitura dos *spot tests* em 545 nm. Foram obtidos os seguintes valores, apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Absorbância média em processos de reflexão e desvio para os brancos de ROD e SDS

A_R médio	0,0097
Desvio (σ)	0,0015

Para determinar o Limite de Detecção (LD), partiu-se da seguinte fórmula:

$$LD = \frac{3\sigma}{B},$$

onde σ é o desvio e B é o coeficiente angular da curva analítica.

Para determinar o Limite de Quantificação (LQ), partiu-se da seguinte fórmula:

$$LQ = \frac{10\sigma}{B}.$$

Tabela 7. Limites de detecção e quantificação do chumbo.

	mol.L⁻¹	[Pb²⁺] mg.L⁻¹ (ppm)
LD	5,41.10 ⁻⁶	1,12
LQ	1,81.10 ⁻⁵	3,75

4.1.6 *Aplicação do método proposto para análise de contaminação em amostras de cachaças comerciais*

A determinação de chumbo foi realizada em três amostras de cachaça fortificadas com o limite máximo permitido pela ANVISA (0,2 ppm). Inicialmente, escolheu-se o método de determinação de chumbo por espectrometria de absorção atômica como método de comparação, utilizando-se as condições: ar acetileno, fenda de 1,0 nm e no comprimento de onda de 217,0 nm, comprimento de onda bem próximo do começo da região do UV. Para este método, a adição de padrão foi realizada a partir da diluição de uma solução estoque 10 ppm de chumbo(II) preparada em HNO₃ 1% em diferentes balões de 50 mL enquanto que para a quantificação pelo método proposto seguiu-se apenas com uma pré-concentração de 100 vezes (de 0,2 ppm para 20 ppm) utilizando apenas a evaporação da cachaça e posterior coleta dos resíduos com água deionizada.

Foram construídos gráficos de A_R vs. [Pb²⁺] padrão adicionado, sendo a concentração de chumbo na cachaça diluída analisada pela extrapolação da curva, na interseção com o eixo das abscissas no lado negativo. O resultado é expresso em mg L⁻¹.

A quantificação pelo método proposto seguiu-se então como feito até o presente momento, adicionando-se 20μL do reagente cromogênico e 20μL da solução pré-concentrada em água no papel de filtro qualitativo.

Porém, a espectrometria de absorção atômica não se mostrou muito efetiva para esta quantidade de chumbo, não sendo possível uma boa detecção do analito na amostra. Ainda assim, mesmo não se obtendo resultados significativos a fim de se compararem os métodos, realizou-se a quantificação pelo método proposto, cujos resultados estão expressos na Tabela 8. A exatidão do método foi então determinada posteriormente por adição de padrão e recuperação.

Tabela 8. Primeira recuperação pelo método proposto em cachaças comerciais.

Amostra	[Pb ²⁺] após pré-concentração (ppm)	[Pb ²⁺] encontrada (ppm)	Recuperação (%)
A	20,0	19,4	97,0
B		19,6	98,0
C		19,9	99,5

Para os próximos testes realizados, utilizou-se novamente técnica de espectrometria de absorção atômica aplicando-a após a pré-concentração da amostra para confirmar os resultados; o preparo da amostra seguiu-se como descrito acima para ambos os métodos, sendo a pré-concentração feita de 0,18 a 18 ppm. Os resultados estão expressos na Tabela 9.

Tabela 9. Segunda quantificação em cachaças comerciais.

		Método de Comparação ^c	Método Proposto	Teste t (4,303) ^b
Amostra	[Pb ²⁺] adicionado (ppm)	[Pb ²⁺] encontrado (ppm) ^a	[Pb ²⁺] encontrado (ppm) ^a	
A	0,180	0,159 ± 0,000	0,182 ± 0,001	29,5
B		0,168 ± 0,001	0,191 ± 0,002	5,58
C		0,168 ± 0,002	0,188 ± 0,001	3,50

^a: Média ± Desvio Padrão (D.P.), n=3;

^b: Valores críticos de t ao nível de confiança de 95%;

^c: Absorção Atômica.

Como visto pela tabela acima, os resultados obtidos pelo método de comparação diferiram um pouco quando comparados com os resultados obtidos pelo método proposto, provavelmente por esta estar muito diluída para a utilização deste método. Pode-se ver também que o valor do teste estatístico para cada amostra implica que as quantificações feitas pelos métodos, se comparadas entre si, estão estatisticamente diferentes, exceto pela amostra C. Tais resultados podem ser devido à leitura num

comprimento de onda muito próximo do começo do UV, suscetível a erros maiores por se localizar na faixa de incerteza além dos resultados dos desvios terem dado muito baixos, o que implicaria em um alto valor do teste estatístico mesmo que os resultados fossem bem próximos um do outro. Além disso, tais valores próximos de zero podem representar erros do aparelho e não do método em si. Deste modo, optou-se então por validar o método proposto através da adição de padrão e recuperação, mostrados na Tabela 10.

Tabela 10. Validação do Método Proposto por Adição de Padrão e Recuperação.

Amostra	[Pb²⁺] adicionado (ppm)	[Pb²⁺] encontrado (ppm)	Recuperação (%)
A	---	19,2	---
	15	33,2	97,1
	30	50,1	101,8
	45	66,1	102,9
	60	81,4	102,8
B	---	18,9	---
	15	34,4	101,5
	30	50,9	104,1
	45	65,1	101,9
	60	79,4	100,6
C	---	19,2	---
	15	33,4	97,7
	30	52,1	105,9
	45	65,4	101,9
	60	81,6	103,0

Os resultados expressos na tabela acima mostram que o método proposto pode ser aplicado para análises de amostras de cachaças com uma boa precisão, exatidão e confiabilidade.

4.1.7 Testes de Coleta de Resíduos de Disparo

4.1.7.1 Testes Laboratoriais

Inicialmente, investigou-se a potencialidade do método de coleta em laboratório. Para este teste, utilizou-se luva látex impregnada com chumbo(II) e nitrito. Uma vez tendo-se o material impregnado com os resíduos, a coleta foi feita com cotonete e algodão de quatro modos diferentes: com EDTA, com água deionizada, com solução tampão Ácido Tartárico/Tartarato de Sódio (pH 2,8), usada no preparo do reagente cromogênico e a seco. O reagente cromogênico para ambos os analitos (rodizonato de sódio em SDS para o chumbo e dapsona e naftiletlenodiamina em meio de ácido clorídrico 0,6 mol L⁻¹ para nitrito, baseado na Reação de Griess, substituindo ácido sulfanílico por dapsona¹⁴⁹) foi gotejado em cada cotonete e em cada algodão em um tubo de ensaio a fim de verificar a detectabilidade.

Com o EDTA foi possível apenas a detecção de nitrito. Não foi possível detectar o chumbo(II) porque o complexo Pb-EDTA é muito estável e não pode liberar o íon chumbo(II) para a reação com o ROD. Como o método de liberação do íon da molécula de EDTA é lento e envolve o uso de ácidos fortes concentrados e propõe-se um método simples, rápido e seguro para que a análise possa ser feita na hora, o uso de EDTA foi desconsiderado para as próximas análises de testes laboratoriais.

Já com a utilização do cotonete impregnado com água deionizada, com tampão e a seco foi possível a detecção de ambos sem aparente diferença entre os métodos de coleta. Porém, optou-se pelo uso de água deionizada, pois a coleta a seco poderia tornar difícil a transferência do resíduo para o papel de filtro uma vez que a idéia inicial era a transferência por pressão (onde a reação seria feita no próprio cotonete que seria, logo após, colocado em cima do papel de filtro enquanto uma pressão mecânica era aplicada a este de modo a “deixar impresso” o produto colorido para a respectiva leitura) e a coleta com tampão poderia tornar a mancha no papel de filtro menos uniforme de acordo com estudos feitos anteriormente neste mesmo trabalho durante o teste de mancha apresentado no tópico 4.1.1.

Inicialmente, foram quantificadas as quantidades de chumbo(II) e de nitrito nas concentrações de 150 e 2 ppm, respectivamente, presentes na solução de impregnação e depois os resíduos coletados na luva a fim de se verificar a eficiência de coleta, que foi de 94,0% para o chumbo e de 91,0% para o nitrito.

O mesmo procedimento foi realizado outras vezes, porém, não se conseguiu realizar a quantificação uma vez que não se conseguia repetibilidade na extração de chumbo e, principalmente, de nitrito devido à sua alta instabilidade.

Na sequência, os testes foram realizados *in situ* diretamente da mão do atirador logo após o disparo a fim de verificar a viabilidade do método de coleta e análise.

4.1.7.2 Testes *in situ*

As coletas foram realizadas no Clube de Tiro MAAT (Magri Associação Araraquarense de Tiro), na cidade de Araraquara, Estado de São Paulo, localizada na Rodovia Vicinal Abílio Augusto Corrêa, Km 2,3, no Bairro dos Machados.

A coleta *in situ* foi realizada de várias maneiras diferentes, sendo estas diferenciadas pelo material de coleta (inicialmente com cotonetes e algodão, e posteriormente com membranas de celulose^{146,147,148} secas e úmidas) e pela solução na qual seria embebida o material de coleta (a seco, água deionizada, tampão ácido tartárico/tartarato de sódio e EDTA com posterior extração com HNO₃ 10% (v/v)¹⁴⁹).

Todos os tiros foram feitos no período da manhã com dia ensolarado, tempo seco, velocidade do vento leve e temperaturas em torno de 26 a 28°C. Os disparos foram realizados com revólveres calibre .38 e com uma pistola calibre .22. A coleta foi feita pelo método de esfregação¹⁵⁰ nas regiões do dorso e da pinça-dorsal, de acordo com a Figura 19.

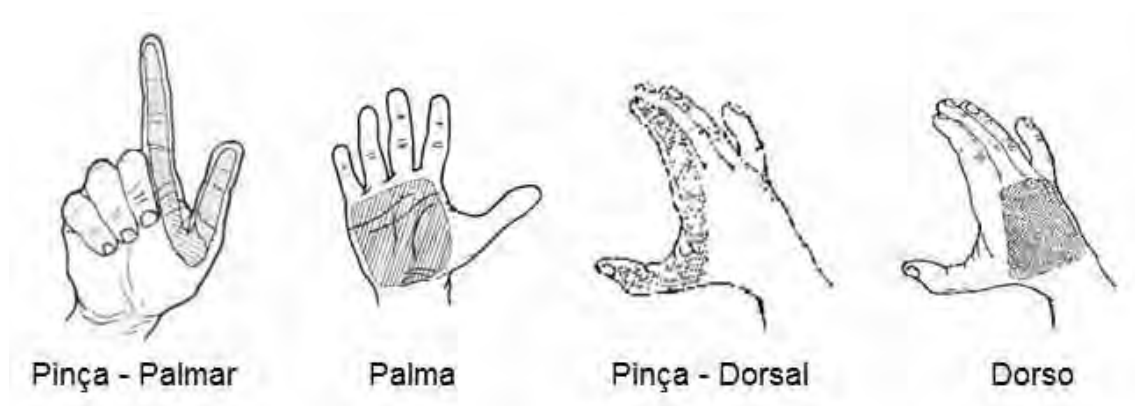


Figura 19. Principais regiões de coleta de resíduos de disparo ¹⁵⁰.

Testes qualitativos *in situ* foram realizados, detectando-se a presença de chumbo.

A extração com EDTA foi realizada segundo REIS, *et al*¹⁵⁰, envolvendo a coleta com cotonetes embebidos em EDTA 2% e a posterior extração dos íons chumbo utilizando HNO₃ 10% (v/v), banho de ultrassom e aquecimento por 1 hora.

Todas as amostras foram levadas ao laboratório, onde se deu continuidade às análises. Estas foram testadas com o reagente cromogênico diretamente no cotonete ou no algodão para fins qualitativos e posteriormente testados métodos de extração rápidos, para fins quantitativos, como prensa no papel de filtro (após reação no material de coleta e posterior extração no papel de filtro e com extração direta do material de coleta e posterior reação no papel de filtro) ou extração por adição de água deionizada e posterior reação de *spot test* com o reagente cromogênico, como demonstrado no fluxograma da Figura 20.

A Tabela 11 mostra resumidamente os resultados obtidos através destas coletas.

Tabela 11. Comparação entre os diferentes tipos de coleta de resíduos de disparo de armas de fogo utilizando cotonetes e algodão em bolas.

	A seco	H₂O deionizada	Tampão	EDTA 2%
Cotonetes de algodão	Média eficiência Qualitativa	Baixíssima eficiência	Baixíssima eficiência	Não foi possível a quantificação
Algodão em bolas	Baixa eficiência Qualitativa	Baixíssima eficiência	Baixíssima eficiência	Não foi possível a quantificação

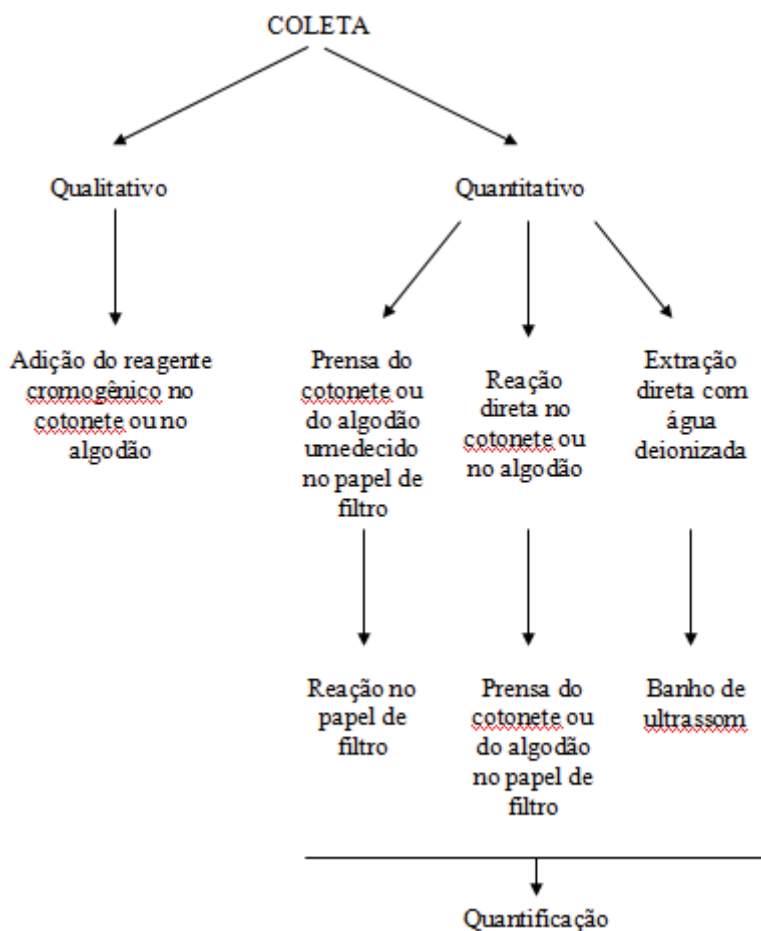


Figura 20. Fluxograma esquemático dos tipos de coletas feitos.

Na coleta com EDTA não foi possível a detecção do íon (tanto no pH original da solução após tratamento quanto no pH de trabalho, que era em torno de 3,5) mesmo após a extração descrita na literatura, além da utilização de ácido forte e aquecimento por um longo tempo para a extração, descartando-se sua utilização.

As coletas realizadas com água deionizada e tampão ácido tartárico/tartarato de sódio não foram eficientes, com aparecimento de uma coloração muito fraca devido à possível diluição dos resíduos e à permanência de uma boa parte destes na pele do atirador.

As coletas a seco mostraram-se melhores que as demais coletas, principalmente utilizando-se os cotonetes de algodão, onde os resíduos estavam concentrados em uma menor área, o que melhorava as detecções qualitativas, porém, sem resultados satisfatórios quantitativamente devido à dificuldade de extração.

Posteriormente, testaram-se as membranas de celulose seca e úmida para as coletas nas mãos dos atiradores, nos locais de impacto dos projéteis e no material particulado dentro do cartucho já usado.

A coleta com as membranas secas foi realizada pela aderência desta, levemente umedecida com água deionizada, como mostrado na Figura 21. Esperou-se, então, a secagem (de 1 a 2 minutos). Em seguida, a membrana foi friccionada no local de coleta com a adição de uma pressão com os dedos do coletor e então armazenada em tubo de centrífuga lacrado com *parafilm*.

A coleta com as membranas úmidas foi realizada pela aderência direta no local de coleta, como mostrado pela figura 21. Esperou-se então por aproximadamente 1 minuto e, em seguida, a membrana foi coletada e armazenada em tubo de centrífuga lacrado com *parafilm*.

A tabela 12 mostra os resultados obtidos através desta coleta.

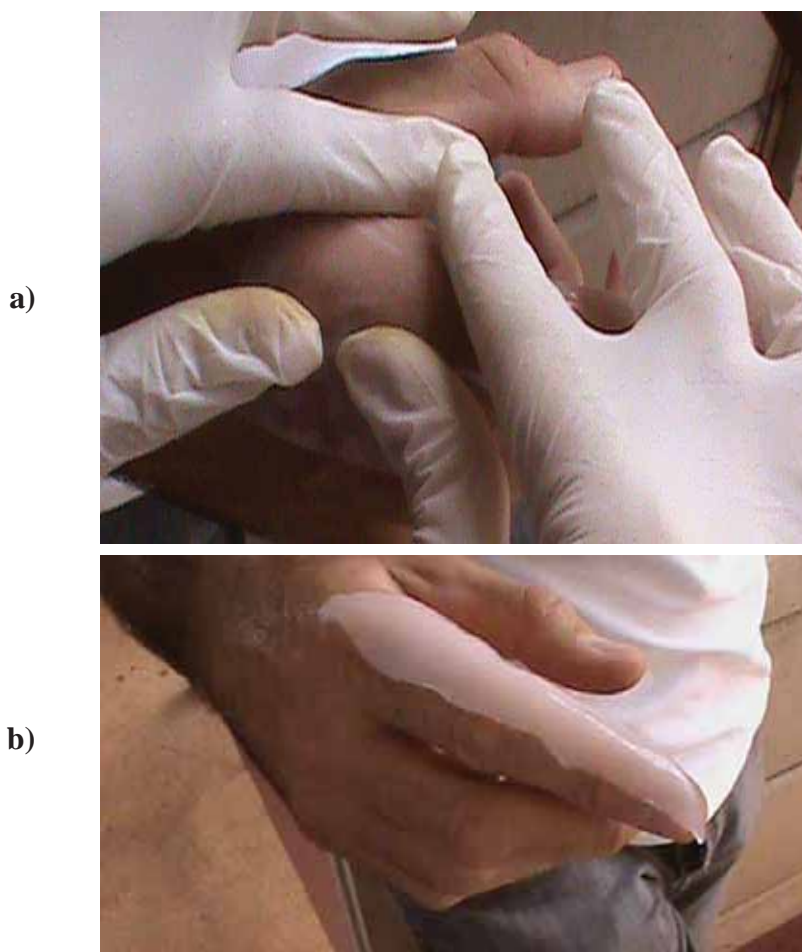


Figura 21. Coleta com as membranas a) seca e b) úmida.

Tabela 12. Comparação entre os diferentes tipos de coleta de resíduos de disparo de armas de fogo utilizando as membranas secas e úmidas.

	Membrana Seca	Membrana Úmida
Comparação entre as membranas aplicadas à coleta de resíduos de disparo	Coloração forte; Sem diluição natural do analito; Armazenamento à temperatura ambiente.	Coloração fraca; Com diluição natural do analito; Armazenamento em geladeira

A coleta com a membrana úmida não foi completamente viável, pois, por desprender muita água, esta acaba diluindo naturalmente o analito durante o seu armazenamento (que deve ser feito em geladeira), além de haver uma possível perda de resíduos, durante a coleta, devido aos líquidos despreendidos.

4.1.8 Aplicação do método proposto para a quantificação dos resíduos de disparo coletados

Feitas as coletas, as amostras foram levadas ao laboratório, sendo analisadas diretamente e por adição de padrão e recuperação. Para cada uma das 3 amostras, juntou-se dez membranas a fim de poder se trabalhar com uma maior quantidade de solução matriz para a sua utilização nas soluções padrões.

O tratamento das membranas se deu pela adição de 50 mL de água deionizada num béquer com agitação vigorosa com um bastão de vidro. Em seguida, o béquer foi levado a um banho no ultrassom por 20 minutos, agitou-se a solução novamente com o bastão por mais 5 segundos e depois foi deixado em repouso por mais 5 minutos. O preparo das soluções para a adição de padrão, em balões de 10 mL, é mostrado na tabela 13 e os resultados obtidos estão mostrados na tabela 14. O padrão de chumbo foi feito na concentração de 250 ppm e os balões foram completados até o menisco com água deionizada.

Tabela 13. Preparo das adições de padrão para a quantificação de chumbo nos resíduos de disparo de armas de fogo.

Balão	1	2	3	4	5
$V_{(Pb^{2+})}$ amostra (mL)	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
$V_{(padrão)^a}$ (mL)	-	0,388	0,776	1,16	1,55

^a: A solução padrão de chumbo foi preparada após a quantificação da solução do balão 1 a fim de se ter uma idéia de qual a concentração do padrão de Pb^{2+} a ser preparado.

Tabela 14. Adição de Padrão e Recuperação para a quantificação de chumbo.

Amostra	$[Pb^{2+}]$ adicionado (ppm)	$[Pb^{2+}]$ encontrado (ppm)	Recuperação (%)
Local de Impacto	---	19,4	---
	9,70	30,5	$114,4 \pm 2,3$
	19,4	43,0	$121,6 \pm 0,5$
	29,1	49,5	$103,4 \pm 0,8$
	38,8	58,1	$99,7 \pm 0,6$
Cartucho Deflagrado	---	7,23	---
	2,97	10,2	$98,9 \pm 11,0$
	5,94	14,4	$120,9 \pm 6,4$
	8,91	16,4	$102,7 \pm 7,4$
	11,9	20,3	$110,0 \pm 5,7$

Os resultados expressos na tabela acima mostram que o método proposto possui uma boa recuperação para as análises de resíduos de disparo coletados com membrana de celulose seca. Porém, para a análise nas mãos dos atiradores, não foi possível a quantificação. Testes posteriores mostraram que apenas uma parte do resíduo é desprendido da membrana para a solução de modo que nem todo o coletado estará disponível para a reação com o reagente cromogênico. Deste modo, decidiu-se realizar a reação diretamente na membrana e no momento da leitura posicionou-se papel de filtro na parte de trás da mesma. Para tal, foram coletadas 11 amostras, cujas concentrações, todas dentro da curva analítica, variaram de 6,66 a 122 ppm.

Testes mostraram que a utilização de ácido clorídrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ à membrana a regenera, podendo então ser reutilizada para outras coletas.

Estudos complementares ainda serão feitos em cima deste tema (coleta na mão e regeneração da membrana).

Após as referências, na seção de Anexos, estão algumas fotos tiradas durante a coleta no clube de tiro MAAT e das pessoas que me ajudaram, seja fornecendo material (revólveres, pistolas, cartuchos, pólvora e projéteis) seja pela boa disposição e interesse em me ajudar.

4.2 Furosemida

4.2.1 *Testes qualitativos e testes preliminares com o reagente cromogênico escolhido*

Para os testes qualitativos de furosemida visando análise de *doping* esportivo, testaram-se vários tipos de reações e reagentes cromogênicos a fim de se selecionar o melhor para se trabalhar visando a criação um método rápido e simples:

- Molibdato de sódio em meio de ácido sulfúrico: a furosemida foi dissolvida em acetona e a reação resultou numa coloração azulada intensa. Porém, com a desvantagem de ter que utilizar ácido concentrado para que a reação ocorra.
- Paládio(II): furosemida dissolvida em solução alcalina de hidróxido de sódio a pH 10. A reação produziu uma coloração vermelho-sangue. Porém, ao se refazer o teste, percebeu-se que ao adicionar NaOH (utilizado para ajustar o pH) no branco, a solução de Paládio(II) adquire tonalidade parecida com a da reação com Furosemida, o que compromete a sensibilidade do método.
- *p*-DAC: para o teste foi utilizado furosemida em acetona e *p*-DAC em meio ácido e, mesmo sobre aquecimento até a ebulição, nenhuma reação pode ser observada. Posteriormente tentou-se aumentar a concentração de *p*-DAC e HCl porém, novamente sem resultado.
- *p*-DAB: para o teste foi utilizado furosemida em acetona e *p*-DAB em meio ácido e nenhuma reação pode ser observada a frio. Ao se aquecer a solução, uma coloração alaranjada teve início. Testou-se depois a influência de surfactantes na reação,

mas estes não foram efetivos. Apesar de ter uma sensibilidade relativamente boa, esta reação não se mostrou efetiva para ser analisada através de spot-test uma vez que deve passar por duas etapas de aquecimento sendo uma delas até quase a ebulição.

- Ninidrina: para o teste foi utilizada furosemida em acetona, molibdato em água deionizada e ninidrina em etanol. Cogitou-se a hipótese de realizar a reação em micro-ondas, mas a utilização de solventes orgânicos tornava o método arriscado. Então testou-se com aquecimento em banho-maria, mas a reação demorava muito para ocorrer efetivamente, apesar de sua boa sensibilidade.

- Outras reações também foram testadas, como a diazotação com nitrito e naftiletlenodiamina (NED) com dapsona ou ácido sulfanílico e todas as combinações possíveis destes reagentes. Porém, a reação não era estável. Havia também a necessidade de utilizar ácido sulfúrico 10 mol L^{-1} . Os testes foram repetidos outras vezes, mas sempre com resultados conflitando com os anteriormente obtidos. Foi testado também o reagente p-cloranil, sem resultado aparente e permanganato de potássio, cuja reação consiste na descoloração do permanganato em meio de ácido sulfúrico pela furosemida em acetona. Porém, neste caso, a reação não atingia uma estabilidade e o produto colorido tendia a desaparecer, gerando óxido de manganês espalhado no papel de filtro.

REAÇÃO COM FERRO (III): a reação de furosemida com ferro (III) foi testada inicialmente na presença de cloreto de potássio, para manter a força iônica do meio e ácido clorídrico diluído para ajuste do pH¹⁵¹. Após a aplicação da furosemida no papel de filtro impregnado com o reagente cromogênico, houve a formação de um complexo de cor avermelhada.

Após estes testes, outros foram realizados de modo a testar a influência de surfactantes catiônicos e aniônicos na reação, a ordem de adição dos reagentes e o melhor solvente para a furosemida.

Inicialmente, testou-se os surfactantes SDS (8 mmol L^{-1}) e DTAB (15 mmol L^{-1}).

A utilização do surfactante SDS precipitava tanto a solução de ferro quanto a de furosemida. Já o surfactante DTAB, quando em contato com o FeCl_3 , não precipitava e resultava em uma aparente melhora nos sinais de reflectância.

Em seguida, realizou-se o teste de Ordem de Adição a fim de verificar qual a ordem que gerava um melhor sinal e uma mancha mais homogênea no papel de filtro.

Para tal, foram realizados 8 experimentos (cada um com diferentes ordens de adição) sendo cada um deles divididos em 2 outros (um utilizando DTAB e outro não).

A concentração de FeCl_3 utilizada foi de 10 mmol L^{-1} , DTAB 15 mmol L^{-1} , KCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e furosemida $7,5 \text{ mmol L}^{-1}$ em meio etanólico e os volumes de cada uma das soluções foram 15 (FeCl_3), 10 (KCl), 10 (HCl), e 15 (FUR) μL .

Os oito testes realizados e as médias das triplicatas de suas respectivas absorvâncias em processo de reflexão na presença e na ausência de DTAB estão mostradas na tabela 15.

Tabela 15. Testes de ordem de adição e utilização do surfactante DTAB

Ordem de Adição codificada	Ordem de Adição não-codificada	Presença de DTAB	A_r médio
1	FUR – FeCl_3 – KCl – HCl	Sem	0,027
		Com ¹	0,071
2	FUR – KCl – HCl - FeCl_3	Sem	0,002
		Com ¹	0,006
3	FeCl_3 – KCl – HCl – FUR	Sem	0,008
		Com ¹	0,011
4	FeCl_3 – FUR – KCl – HCl	Sem	0,029
		Com ¹	0,120
5	KCl – HCl – FUR - FeCl_3	Sem	0,043
		Com ¹	0,006
6	KCl – HCl - FeCl_3 – FUR	Sem	0,082
		Com ¹	0,100
7	FUR - FeCl_3	Sem	0,075
		Com ¹	0,075
8	FeCl_3 - FUR	Sem	0,120
		Com ¹	0,133

¹: Para os testes com DTAB, este foi adicionado na solução de FeCl_3 .

Analisando estes resultados, pode-se perceber que a utilização de DTAB contribui positivamente para o sinal da maioria dos experimentos.

Além disso, notou-se também que para a maioria dos casos, a adição do reagente cromogênico antes da solução de furosemida resulta numa melhor mancha e num melhor sinal enquanto que não foi constatada uma contribuição positiva significativa para a utilização de KCl e HCl na reação em papel de filtro. Isto pode ocorrer porque, uma vez que os volumes utilizados são muito pequenos, a adição destes dois reagentes estará diluindo ainda mais o analito e o reagente cromogênico, resultando num menor sinal.

As melhores manchas quanto à uniformidade e intensidade foram encontradas no experimento 8. Portanto, a ordem de adição utilizada em todos os experimentos deste ponto em diante consistirá em 20 μ L do reagente cromogênico (FeCl₃ e DTAB) + 20 μ L da solução de furosemida, resultando em um complexo avermelhado cujo espectro, em 477 nm é mostrado na figura 22.

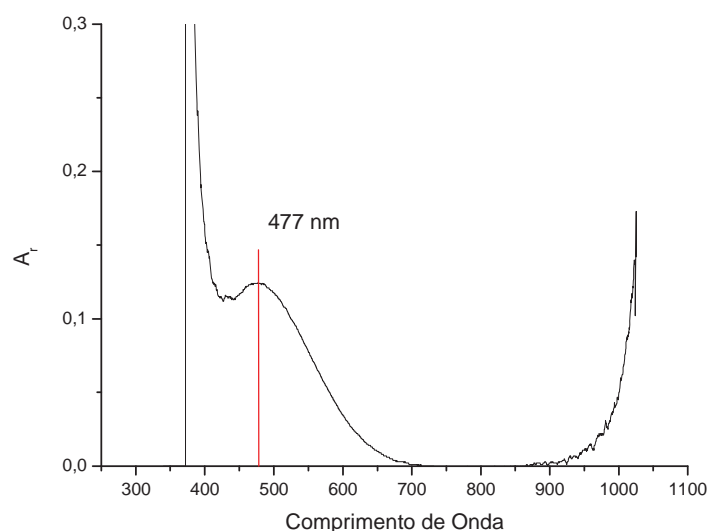


Figura 22. Espectro de A_R da reação de spot test no papel de filtro entre Furosemida e FeCl₃ em meio etanólico. O valor máximo de A_R foi em 477 nm. [FUR] = 7,5 mmol L⁻¹.

Em seguida, estudou-se a influência de 3 solventes principais possíveis para a furosemida a fim de se escolher o melhor deles para as medidas. Os solventes testados foram: etanol, acetona e etanol/acetona 1:1. A utilização do hidróxido de sódio, um outro solvente utilizado para a furosemida, foi descartada porque este, em contato com o íon ferro, geraria hidróxido de ferro pouco solúvel. As soluções de furosemida testadas foram: 7,50 e 5,25 mmol L⁻¹. Os resultados estão expressos na tabela 16.

Tabela 16. Testes de escolha do solvente.

Solvente	[FUR] (mmol L ⁻¹)	A _R médio
Etanol	7,50	0,126
	5,25	0,077
Acetona	7,50	0,084
	5,25	0,038
Etanol/Acetona	7,50	0,065
1:1	5,25	0,025

Apesar de a furosemida se solubilizar melhor em acetona, possibilitando uma maior faixa de concentração para a curva analítica, os sinais se mostraram melhores em etanol, bem como a uniformidade da mancha. Além disso, o etanol é mais barato e está mais ligado aos princípios da química verde por ser menos tóxico e originado de fontes renováveis.

4.2.2 *Triagem das variáveis e Planejamento Composto Central*

Antes de realizar o planejamento composto central, foram feitos alguns testes qualitativos para o estudo da influência do pH do meio na reação. O pH da solução do reagente cromogênico sem a alteração deste está entre 2,5 a 3,0, pH em que a reação ocorre normalmente com uma boa mancha e um bom sinal. Em valores de pH menores, a reação não ocorre devido à competição dos hidrogênios e do ferro pelo sítio de reação da furosemida; em valores de pH maiores que 4,0 ocorre a formação de hidróxidos de ferro. Portanto, visto estas limitações, decidiu-se trabalhar com a solução sem alteração do pH.

O planejamento composto central foi analisado em cinco níveis (-1,41; -1; 0; +1; +1,41) nas variáveis concentração de FeCl₃ e concentração de DTAB. A partir das leituras obtidas serão analisadas as condições ótimas para a reação a partir da superfície de resposta. As variáveis estudadas em seus respectivos níveis e a matriz utilizada estão

apresentadas na Tabela 17. Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados analisados utilizando o programa *Statistica 6.0* e *Minitab 15*.

Tabela 17. Matriz do planejamento composto central para o FeCl₃ e DTAB.

$$[\text{FUR}] = 7,5 \text{ mmol L}^{-1}$$

Nº	Variáveis não codificadas		Variáveis codificadas		A _R médio
	[FeCl ₃] (mol L ⁻¹)	[DTAB] (mol L ⁻¹)	[FeCl ₃] (mol L ⁻¹)	[DTAB] (mol L ⁻¹)	
1	0,040	0,016	-1	-1	0,106
2	0,090	0,016	+1	-1	0,088
3	0,040	0,044	-1	+1	0,099
4	0,090	0,044	+1	+1	0,084
5	0,030	0,030	-1,41	0	0,130
6	0,100	0,030	+1,41	0	0,111
7	0,065	0,010	0	-1,41	0,119
8	0,065	0,050	0	+1,41	0,075
9 ^a	0,065	0,030	0	0	0,145
10 ^a	0,065	0,030	0	0	0,133
11 ^a	0,065	0,030	0	0	0,139
12 ^a	0,065	0,030	0	0	0,139
13 ^a	0,065	0,030	0	0	0,139

a: ponto central realizado em quintuplicata, n=3.

Observando-se a superfície de resposta juntamente com sua curva de nível (Figura 23), cuja matriz está representada na Tabela 17, percebe-se que há uma região de máximo valor de A_R situada na área mais escura do gráfico que representa as condições ótimas para a realização da reação do *spot test* quantitativo.

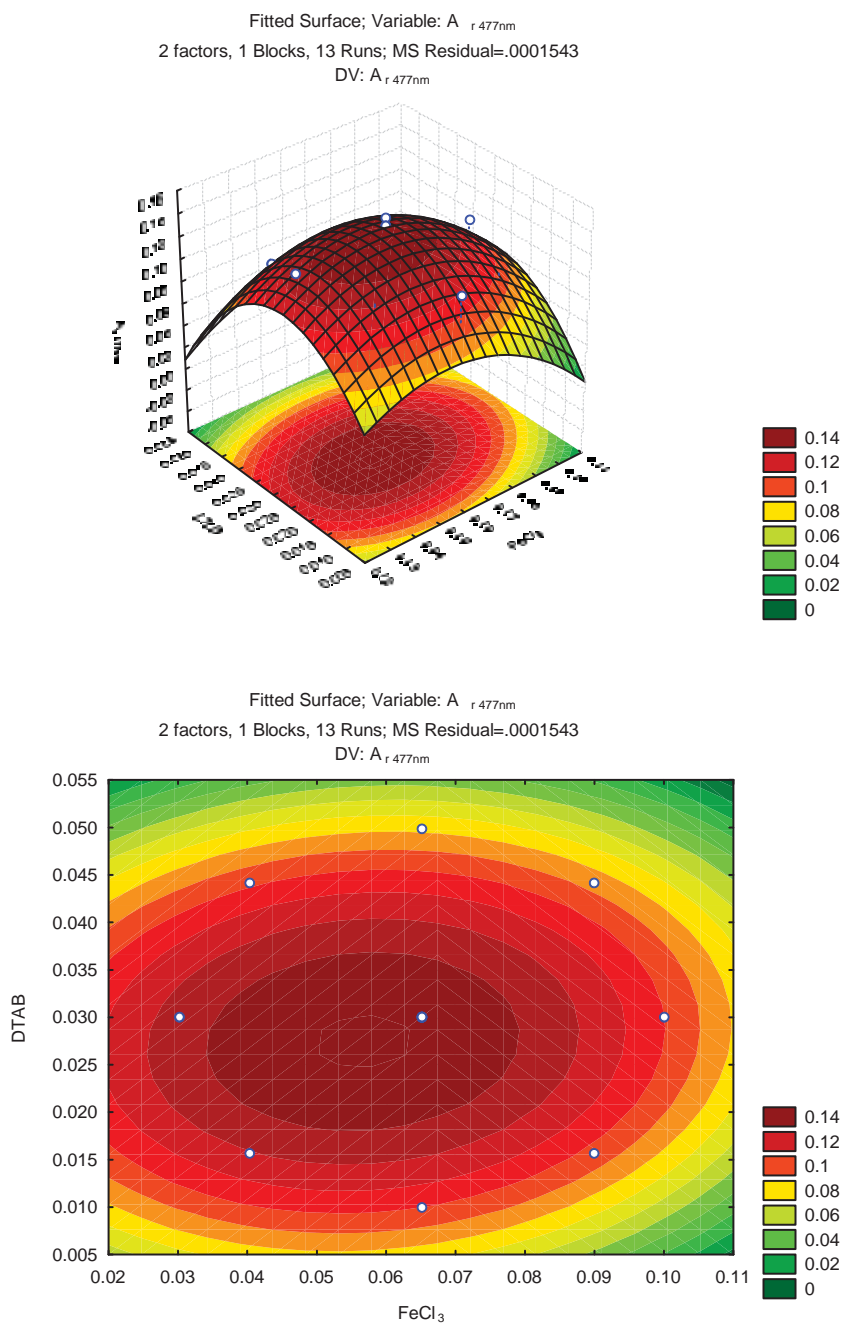


Figura 23. Superfície de resposta otimizada com sua respectiva curva de nível para a medida de A_R em 477 nm em função das variáveis: [FeCl₃] e [DTAB]. Foram adicionados 20 μL da solução de furosemida 7,50 mmol L⁻¹ em cada experimento.

$$\text{Equação: } z = -0,017 + 2,366x[\text{FeCl}_3] - 21,020x[\text{FeCl}_3]^2 + 6,601x[\text{DTAB}] - 123,125x[\text{DTAB}]^2 + 2,143x[\text{FeCl}_3]x\text{DTAB}$$

Depois de realizada toda a análise estatística dos dados e definida a superfície de resposta determinou-se que as melhores condições experimentais seriam: [FeCl₃] = 0,057 mol L⁻¹; [DTAB] = 0,027 mol L⁻¹.

4.2.3 Estabilidade do produto da reação

Com o objetivo de avaliar a estabilidade óptica do produto colorido da reação de *spot test* em relação ao tempo entre furosemida, FeCl_3 e DTAB no papel de filtro, realizou-se um acompanhamento cinético do valor de A_R a 477 nm a cada 5 minutos até completar 1 hora.

Os resultados obtidos no estudo de estabilidade óptica do produto formado demonstram que o produto atinge sua estabilidade óptica após 5 minutos depois de adicionada a solução de furosemida, mostrando um valor de reflectância aproximadamente constante pelos 60 minutos das medidas, de acordo com a figura 24. Os cinco minutos iniciais são necessários para a secagem do papel ao ar livre.

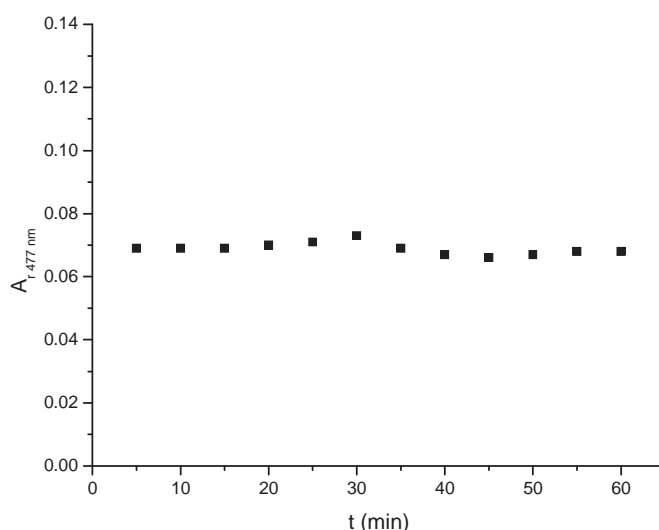


Figura 24: Estabilidade óptica do produto da reação da furosemida em *spot test* entre 0 e 60 minutos.

4.2.4 Testes de linearidade, repetibilidade e curva analítica

O teste de linearidade foi repetido 3 vezes utilizando concentrações de 0,75 a 7,50 mmol L^{-1} de furosemida. A curva analítica, numa faixa linear de 1,65 a 7,50 mmol L^{-1} , foi construída através das devidas diluições da solução estoque de furosemida (7,50 mmol L^{-1}), descrita anteriormente. Um branco contendo 20 μL do reagente cromogênico

e 20 µL de etanol foi preparado para zerar o equipamento. Concentrações acima do último ponto da curva não foram testados por problemas de solubilização.

A Tabela 18 e a Figura 25 apresentam, respectivamente, os dados e a curva analítica construída a partir de soluções padrão de furosemida.

Tabela 18. Medidas de A_R para a Curva Analítica da furosemida, já descontado o valor dos brancos.

[FUR] mmol L ⁻¹	A_R (média)
1,65	0,027
2,55	0,040
3,45	0,058
4,35	0,074
5,25	0,095
6,15	0,116
7,50	0,138

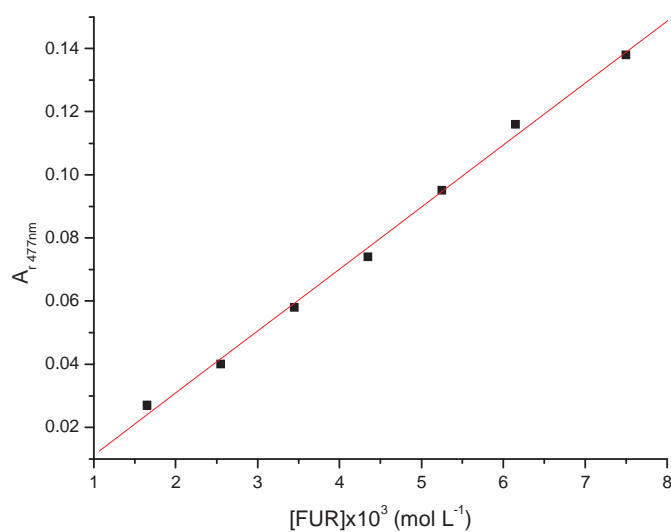


Figura 25: Curva Analítica para determinação de furosemida. Relação Linear ($r = 0,9981$) sendo os valores de A_r para esta faixa de concentração ajustados pela equação:

$$A_R = 0,01964 \times [FUR] - 0,00843.$$

Em seguida, foram feitos ensaios a fim de verificar a repetibilidade do método dentro de um mesmo dia e entre dias diferentes. Para tal, foram feitos 3 experimentos

repetindo alguns pontos da curva analítica, sendo dois desses experimentos realizados num mesmo dia em períodos diferentes e o terceiro, no dia subsequente a fim de se calcular o Desvio Padrão Relativo (RSD).

O RSD Intradia foi de 1,81% e o RSD Interdia de 1,11%.

Os resultados apresentados mostraram que as medidas são bastante precisas e satisfatórias.

4.2.5 Limites de Detecção e Quantificação

Com o objetivo de determinar os Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ), foram preparados 10 brancos, segundo a IUPAC¹⁵⁰, do mesmo modo descritos nos procedimentos acima realizando-se a leitura dos *spot tests* em 477 nm. Os valores de reflectância média e o desvio estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19. A_R e desvio para os brancos de $FeCl_3$ e DTAB

A_R médio	0,0788
Desvio (σ)	$3,18 \times 10^{-3}$

Para determinar o cálculo de ambos os limites, utilizou-se a mesma fórmula apresentada anteriormente no tópico 4.1.5.

Tabela 20. Limites de detecção e quantificação para a furosemida

	[FUR] mmol.L ⁻¹
LD	0,49
LQ	1,62

4.2.6 Adição de padrão e recuperação em urina sintética

A urina sintética utilizada foi preparada segundo LAUBE, N.¹⁵², exceto pelo uso da creatinina, que não fora utilizada, segundo recomendação de SEMAAN, F. S.,⁹⁷ A composição está demonstrada na Tabela 20.

Tabela 21. Preparo da Urina Sintética

Composição	Concentração (g L⁻¹)
CaCl ₂ . 2H ₂ O	1,0
NaCl	3,0
Na ₂ SO ₄	2,0
KH ₂ PO ₄	1,0
KCl	2,0
NH ₄ Cl	1,0
Uréia	25

O estudo de interferência destes compostos foi realizado em três diferentes concentrações relativas às apresentadas na tabela acima (50, 100 e 200%). Notou-se interferência apenas da uréia, que deve ser eliminada antes da etapa de quantificação. Optou-se por fazer a eliminação através de extração em fase sólida com coluna C₁₈ (*Varian*) por ser um processo relativamente rápido, fácil e eficiente uma vez que já haviam trabalhos na literatura que demonstravam a aplicabilidade da coluna C₁₈ para análise de Furosemida em urina e plasma sanguíneo.

O condicionamento da coluna foi feito através da adição de 3mL de metanol seguido de 3mL de água deionizada. Em seguida, inseriram-se 20 mL da amostra. A lavagem foi feita com 10 mL de água deionizada e a eluição com 1 mL de etanol (pré-concentração de 20x).

Os resultados das 3 recuperações realizadas estão mostrados na tabela 22.

Tabela 22. Adição de Padrão e Recuperação para as amostras de Urina Sintética

Ensaio	$10^4 \times [\text{FUR}]_{\text{adicionada}}$ (mol L ⁻¹)	$10^4 \times [\text{FUR}]_{\text{encontrada}}$ (mol L ⁻¹)	Recuperação (%)
1°	1,25	1,27	101,6
	1,96	1,98	101,0
	2,64	2,83	107,2
	3,33	3,62	108,7
2°	1,47	1,51	102,7
	2,15	2,30	107,0
	2,84	2,90	102,1
	3,52	3,69	104,8
3°	1,47	1,49	101,4
	2,15	2,27	105,6
	2,84	2,97	104,6
	3,52	3,59	102,0

Os resultados expressos na tabela acima mostram que o método proposto possui uma boa recuperação para análises de urinas tratadas com extração em fase sólida com uma boa precisão, exatidão e confiabilidade.

4.2.7 Aplicação do método proposto para amostras de urina sintética

A determinação de furosemida foi realizada em três amostras de urina sintética fortificadas com uma concentração de $2,18 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e o método de referência utilizado para comparação se baseia na reação de *p*-DAC em meio ácido⁹⁵.

O tratamento da amostra se deu como feito no tópico 4.2.6., exceto pelo método de referência, cuja pré-concentração fora de 50x devido à sua menor sensibilidade e a eluição, com acetona, que é o solvente da furosemida utilizado no trabalho.

Os resultados estão demonstrados na Tabela 23.

Tabela 23. Validação do Método Proposto para Amostras de Urina Sintética

Amostra	Método Comparativo [FUR] $\times 10^4$ (mol L ⁻¹)	Método Proposto [FUR] $\times 10^4$ (mol L ⁻¹)	Teste t (4,303)
A	2,18	2,19	1.8×10^{-4}
B	2,05	2,09	3,20
C	2,32	2,24	3,53

Os resultados expressos na tabela acima mostram que o método proposto pode ser aplicado para análises de amostras de urina com uma boa precisão e confiabilidade.

4.2.8 *Aplicação do método proposto por adição de padrão e comparação com um método de referência para amostra de urina natural*

As determinações de furosemida foram realizadas em uma amostra de urina natural proveniente de um doador sadio do sexo masculino com idade de 23 anos, no caso o próprio analista.

Para os testes de adição de padrão e recuperação, o condicionamento da coluna foi feito do mesmo modo descrito no tópico 4.2.6.

Os resultados das recuperações realizadas estão mostrados na tabela 24.

Tabela 24. Adição de Padrão e Recuperação para a amostra de Urina Natural

Ensaio	$10^4 \times [\text{FUR}]_{\text{adicionada}}$ (mol L ⁻¹)	$10^4 \times [\text{FUR}]_{\text{encontrada}}$ (mol L ⁻¹)	Recuperação (%)
1	1,25	1,39	111,2
	2,02	2,02	100,0
	2,64	2,87	108,7

A determinação de furosemida na urina natural foi feita por comparação pelo mesmo método de referência. A urina foi fortificada com uma concentração de $1,39 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

O tratamento da amostra se deu como feito no tópico 4.2.7., exceto pelo método de referência, cuja pré-concentração fora agora de 75x de modo a ajustar a concentração após pré-concentração em um dos pontos da curva analítica do método.

Os resultados estão demonstrados na Tabela 25.

Tabela 25. Validação do Método Proposto para Amostras de Urina Natural

Amostra	Método Comparativo [FUR]x10⁴ (mol L⁻¹)	Método Proposto [FUR] x10⁴ (mol L⁻¹)	Teste t (4,303)
A	1,37	1,41	0,822

Os resultados expressos pelos resultados das tabelas acima, excetuando o último ponto da adição de padrão e recuperação, mostram que o método proposto pode ser aplicado para análises de amostras de urina natural com uma boa precisão e confiabilidade.

4.3 Resumo das figuras de mérito

Na tabela abaixo encontra-se um resumo de todas as figuras de mérito para a determinação de Pb^{2+} e FUR.

Tabela 25. Resumos das figuras de mérito para cada um dos analitos estudados

	Pb^{2+}	FUR
Comprimento de onda (nm)	545	477
Componentes do reagente cromogênico	ROD em meio de SDS e tampão ácido tartárico/tartarato de sódio a pH 2,8	FeCl_3 em meio aquoso de DTAB
Concentrações dos componentes do reagente cromogênico	[ROD] = 0,28% [SDS] = 9 mmol L ⁻¹	[FeCl_3] = 57 mmol L ⁻¹ [DTAB] = 27 mmol L ⁻¹
Ordem de adição dos reagentes	Reagente cromogênico + analito	Reagente cromogênico + analito
Estabilidade óptica	5 a 60 minutos	5 a 60 minutos
Linearidade	4,7 a 140 ppm	1,65 a 7,50 mmol L ⁻¹
Curva analítica	$0,00407 \times [\text{Pb}^{2+}] - 0,00511$	$0,01964 \times [\text{FUR}] - 0,00843$
Coefficiente de correlação	0,9977	0,9981
Repetibilidade intradia (%)	1,10	1,81
Repetibilidade interdia (%)	2,40	1,62
LD	1,12 ppm	0,49 mmol L ⁻¹
LQ	3,75 ppm	1,62 mmol L ⁻¹

5 CONCLUSÃO

Este estudo, visando desenvolver um procedimento mais limpo, prático, simples, barato e portátil para análise de chumbo e outro para a análise de furosemida revelou ser possível a utilização de spot test combinado com a espectroscopia de reflectância difusa na determinação quantitativa e qualitativa destes analitos nas matrizes estudadas (resíduos de disparo de armas de fogo e cachaça para o chumbo e urina sintética e natural para a furosemida) utilizando *spot test* em papel de filtro qualitativo.

Uma vez que reduzida quantidade de reagente (20 μ L de cada) é utilizada para a análise, os métodos são muito mais “verdes” do que os procedimentos normais descritos na literatura até o presente momento, gerando resultados tão confiáveis quanto aqueles. Além disso, mostrou-se ser possível a quantificação de chumbo nas amostras de disparo de armas de fogo utilizando os materiais já disponíveis nos laboratórios forenses além do desenvolvimento de uma técnica de coleta destes resíduos que é simples, barata e que permite a extração rápida e a quantificação do material coletado, apresentando também a vantagem de regeneração fácil e rápida da membrana para a sua posterior reutilização.

Portanto, considerando-se a simplicidade, rapidez, baixo custo, baixo consumo, eficiência, repetibilidade e sensibilidade, os métodos desenvolvidos podem ser considerados em consonância com a química verde para a quantificação de chumbo e furosemida, oferecendo vantagens sobre outras técnicas atualmente usadas.

PERSPECTIVAS DE TRABALHO FUTURO

O trabalho de coleta e análise dos resíduos de disparo de armas de fogo continuará no doutorado através da pesquisa de novas técnicas e novos métodos para tentar aumentar a sensibilidade de quantificação e a eficiência de coleta com a membrana celulósica.

Além disso, a aplicabilidade analítica da quantificação está sendo estudada para uma maior contribuição do método para análises forenses, visando estudos probabilísticos de dispersão dos resíduos e das relações “quantidade de partículas/tempo decorrido do disparo” e “quantidade de partículas/distância de disparo”, aplicando métodos estatísticos para as análises.

Além disso, será testada a potencialidade do uso das membranas em outras aplicações forenses, como estudos de coleta e quantificação de outros resíduos provenientes de disparos com o intuito de uma detecção multi-resíduos. Está em curso nesse laboratório estudos focando a regeneração das membranas para reutilização nas determinações forenses, objetivando um método verde e mais barato.

REFERÊNCIAS

- 1 MELSON, K. E. President's editorial: the journey to justice. **Journal of Forensic Sciences**, v. 48, n. 705, p. 5-7, 2003.
- 2 ALKIMIA. **Química forense**.
Disponível em: < <http://alkimia.tripod.com/curiosidades/forense.htm>>. Acesso em: 02 fev. 2010.
- 3 BOHAN, T. L. Strengthening forensic science: a way station on the journey to justice. **Journal of Forensic Sciences**, v. 55, n. 1, p. 5-7, 2010.
- 4 ELKINS, K. M. Council of Forensic Science Educators: strengthening forensic science through education. In: ACS NATIONAL MEETING & EXPOSITION, 242, 2011, Denver. **Abstracts...** Denver, 2011
- 5 TAVARES, R. Polícia reconstitui assassinato próximo ao Jace de Assis. **Correio de Uberlândia**, Uberlândia, 6 abr. 2011.
Disponível em: < <http://www.correiodeuberlandia.com.br/cidade-e-regiao/policia-reconstitui-assassinato-proximo-ao-jacy-de-assis/>>. Acesso em: 06 out. 2011.
- 6 ACUSADO de matar desempregado ajuda a reconstruir a cena do crime. **GCN**, Franca, mar. 2011.
Disponível em:
<http://www.gcn.net.br/jornal/index.php?codigo=125028&codigo_categoria=3>.
Acesso em: 06 out. 2011.
- 7 CIÊNCIAS forenses: investigação criminal. mar. 2011.
Disponível em: <<http://www.youblisher.com/p/136789-Ciencias-Forenses/>> Acesso em: 06 out. 2011.
- 8 ARAÚJO, T. T. Ciência contra o crime. **Revista Superinteressante**, n. 257, out. 2008.
Disponível em: <<http://super.abril.com.br/ciencia/ciencia-crime-447772.shtml>> Acesso em: 06 out. 2011.
- 9 AMORIM, F. L. P. A animação gerada por computador aplicada à área forense. **Revista Prova Material**, v. 5, n. 9, p. 12-17, abr. 2008.
- 10 STOIAN, M. G. et al. A bank robbery: a puzzle solved by forensic chemistry examination. **Chemistry and Materials Science**, v. 72, n. 3, p. 145-162, 2010.
- 11 GARDNER, E. A. Introducing forensic chemistry to the undergraduate curriculum. In: ACS NATIONAL MEETING, 239th., 2010, San Francisco. **Abstracts...** San Francisco, 2010.
- 12 CHRISTIAN, E. L. et al. Virtobot – a multi-funcional robotic system for 3D surface scanning and automatic post. **The International Journal of Medical Robotics**, v. 6, n. 1, p. 18-27, 2010.

13 CRIME e prática forense. **Discovery Channel**.

Disponível em: <http://www.discoverybrasil.com/guia_crime/index.shtml>. Acesso em: 07 out. 2011.

14 GERAQUE, E. Ciência que desvenda crimes. **Agência FAPESP**, jun. 2006.

Disponível em: <<http://www.agencia.fapesp.br/5588>>. Acesso em: 07 out. 2011.

15 PRIETO, J. L.; MAGANA, C.; UBELAKER, D. H. Interpretation of postmortem change in cadavers in Spain. **Journal of Forensic Sciences**, v. 49, n. 5, p. 918-923, 2004.

16 ISCAN, M. Y.; OLIVEIRA, H. E. S. Forensic anthropology in Latin America. **Forensic Science International**, v. 109, p. 15-30, 2000.

17 LESSA, A. Violence and impunity in check: problems and perspectives under the optics of the forensic anthropology in Brazil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, n. 5, 2009.

18 BISWAJIT, S.; UTTAM, D.; SUPRATIM, G. Why a “dental surgeon” for identification in forensic science? **Journal of Indian Medical Association**, v. 108, n. 11, p. 769-775, 2010.

19 SUSMITA, S.; PREETI, S.; NITIN, G. Experimental studies of forensic odontology to aid in the identification process. **Journal of Forensic Dental Science**, v. 2, n. 2, p. 69-76, 2010.

20 OGINO, T.; OGINO, H. Application to forensic odontology of aspartic acid racemization in unerupted and supernumerary teeth. **Journal of Dental Research**, v. 67, n. 10, p. 1319-1322, 1988.

21 YAMADA, Y. et al. Sequential mitochondrial DNA from teeth and application to forensic odontology. In: CURRENT TOPICS IN FORENSIC SCIENCE, 14th., 1996, Yokosuka. **Proceedings...** Tokyo, 1996.

22 NAWYN, J. Forensic chemistry, a look from the past to the future. In: NORTHWEST REGIONAL MEETING OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 16th., 2010, Portland. **Abstracts...** Portland, 2010.

23 PYE, K. et al. Forensic comparison of soil samples: assessment of small-scale spatial variability in elemental composition, carbon and nitrogen isotope ratios, color and particle size distribution. **Forensic Science International**, v. 163, n. 1/2, p. 59-80, 2006.

24 MEYER, M. R.; MAURER, H. H. Current status of hyphenated mass spectrometry in studies of the metabolism of drugs of abuse, including doping agents. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 2011. In Press.

25 KEELY, B. Forensic chemistry. Drugs on money. **Chemistry Review**, v. 13, n. 4, p. 22-24, 2004.

- 26 KULSHRESTHA, P.; SATPATHY, D. K. Use of beetles in forensic entomology. **Forensic Science International**, v. 120, n. 1/2, p. 15-17, 2001.
- 27 POHJOISMAKI, J. L. O. et al. Indoors forensic entomology: colonization of human remains in closed environments by specific species of sarcosaprophagous flies. **Forensic Science International**, v. 199, n. 1/3, p. 38-42, 2010.
- 28 WELLS, J. D.; STEVENS, J. R. Application of DNA-based methods in forensic entomology. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p. 103-120, 2008.
- 29 TARONE, A. M.; FORAN, D. R. Gene expression during blow fly development: improving the precision of age estimates in forensic entomology. **Journal of Forensic Sciences**, v. 56(S1), p. S112-S122, 2011.
- 30 CALHAU, L. B. **Resumo de criminologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Impetus, 2009.
- 31 ALBERTO, O. M. G. **Teoria do facto punível ou teoria da infracção**. Disponível em: <http://octalberto.no.sapo.pt/teoria_do_facto_punivel_ou_teorias_da_infraccao.htm>. Acesso em: 06 out. 2011.
- 32 GONÇALVES, V. E. R. **Direito penal: parte geral**. 12. ed. São Paulo: Saraiva, 2006. v. 7.
- 33 FRANCA, A. **Tipos de crimes**. 2009. Disponível em: <<http://pt.shvoong.com/law-and-politics/law/1909743-tipos-crimes/>>. Acesso em: 06 out. 2011.
- 34 FARINELLI, J. R. Tipos de crimes. **InfoEscola**, mar. 2010. Disponível em: <<http://www.infoescola.com/direito/tipos-de-crimes/>>. Acesso em: 08 out. 2011.
- 35 POLÍCIA Civil ganha novos equipamentos de perícia para ajudar na investigação de crimes. **TV Globo Minas**, out. 2011. Disponível em: <<http://g1.globo.com/videos/minas-gerais/v/policia-civil-ganha-novos-equipamentos-de-pericia-para-ajudar-na-investigacao-de-crimes/1653209/>> Acesso em: 13 out. 2011.
- 36 SOEIRO, R. Objetos do ofício. **Revista Superinteressante**, n. 293, jul. 2011.
- 37 SULLIVAN, D. M. Chemistry explained: foundations and applications. **Forensic Chemistry**. Disponível em: <<http://www.chemistryexplained.com/Fe-Ge/Forensic-Chemistry.html>>. Acesso em: 13 out. 2011.
- 38 WOLF, R. E. What is ICP-MS. And more importantly, what can it do? **USGS: Science for a Changing World**, 2010. Disponível em: <<http://minerals.cr.usgs.gov/icpms/intro.html>>. Acesso em: 17 out. 2011.

- 39 WORLEY, J.; KVECH, S. ICP-MS. **VirginiaTECH**: Department of Civil and Environmental Engineering, 2000.
Disponível em:
<<http://www.cee.vt.edu/ewr/environmental/teach/smprimer/icpms/icpms.htm>>. Acesso em: 17 out. 2011.
- 40 TIAN, W. et al. Role of neutron activation analysis in metrology of modern inorganic trace analysis. II. Parametric NAA: an ideal "back-up" method for relative NAA. **He Huaxue Yu Fangshe Huaxue**, v. 26, n. 4, p. 193-197, 2004.
- 41 BYRNE, A. R.; KUCERA, J. Role of the self-validation principle of NAA in the quality assurance of bioenvironmental studies and in the certification of reference materials. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM HARMONIZATION OF HEALTH RELATED ENVIRONMENTAL MEASUREMENTS USING NUCLEAR AND ISOTOPIC TECHNIQUES, 1996, Hyderabad. **Proceedings...** Viena: IAEA, 1996. p. 223-238.
- 42 DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura**: aplicação e preparação de amostras. Porto Alegre: Ed. PUCRS, 2007.
- 43 SUZUKI, Y.; SUZUKI, S. Forensic discrimination of cigarette ash by the analysis of trace elements by ICP-MS. In: INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIES, 2010, Honolulu. **Abstracts...** Washington, DC: American Chemical Society, 2010.
- 44 VAN ES, A.; DE KOEIJER, J.; VAN DER PEIJL, G. Discrimination of document paper by XRF, LA- ICP -MS and IRMS using multivariate statistical techniques. **Science & Justice**, v. 49, n. 2, p. 120-126, 2009.
- 45 MAHMOOD, N.; PETRACO, N.; HE, Y. Elemental fingerprint profile of beer samples constructed using 14 elements determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS): multivariation analysis and potential application to forensic sample comparison. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 2011. In Press.
- 46 ZHANG, Z. Y. et al. Study of trace impurities in heroin by neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 262, n. 1, p. 295-297, 2004.
- 47 SEDDA, A. F.; ROSSI, G. Bullets fragments identification by comparison of their chemical composition obtained using instrumental neutron activation analysis. **Forensic Science International**, v. 206, n. 1/3, p. e5-e7, 2011.
- 48 SCHEID, N. et al. Forensic investigation of brick stones using instrumental neutron activation analysis (INAA), laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS) and X-ray fluorescence analysis (XRF). **Applied Radiation and Isotopes**, v. 67, p. 2128-2132, 2009.
- 49 PIETSCH, J. et al. Alternative method for forensic determination of lysergic acid diethylamide and related compounds in body fluids by liquid-liquid extraction and HPLC with fluorescence detection. **Chromatographia**, v. 60, n. 1/2, p. 89-92, 2004.

- 50 LAUSSMANN, T.; MEIER-GIEBING, S. Forensic analysis of hallucinogenic mushrooms and khat (*Catha edulis FORSK*) using cation-exchange liquid chromatography. **Forensic Science International**, v. 195, p. 160-164, 2010.
- 51 ADAMOWICZ, P.; KALA, M. Simple HPLC method for the identification of the most commonly used rodenticides in Poland. **Poland Z Zagadnien Nauk Sadowych**, v. 64, p. 373-381, 2005.
- 52 MEISER, H. Detection of anticoagulant residues by a new HPLC method in specimens of poisoned animals and a poison control case study. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 29, n. 6, p. 556-563, 2005.
- 53 CHENG, K.; PU, C. Identification of ballpoint inks in forged writing strokes on documents by HPLC: differentiating similarly colored inks suspected to be used on altered handwritten entries. **International Journal of Forensic Document Examiners**, v. 4, n. 4, p. 323-328, 1998.
- 54 HIGASHIKAWA, Y. et al. Forensic discrimination of trace fragments of photocopied materials. **Bunseki Kagaku**, v. 56, n. 12, p. 1147-1152, 2007.
- 55 TRIPLETT, D. **Forensics: back-calculating the truth.**
Disponível em: <http://www.facstaff.bucknell.edu/mvigeant/univ_270_03/Derek/>.
Acesso em: 06 out. 2011.
- 56 CASTRO, K. et al. Are these liquids explosive? Forensic analysis of confiscated indoor fireworks. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 400, p. 3065-3071, 2011.
- 57 RAMOS, D.; ZADORA, G. Information-theoretical feature selection using data obtained by scanning electron microscopy coupled with and energy dispersive X-ray spectrometer for the classification of glass traces. **Analytica Chimica Acta**, v. 705, n. 1/2, p. 207-217, 2011.
- 58 GEORGE, C. R. Controlled study of burned bones using scanning electron microscopy from forensic contexts. In: ACS NATIONAL MEETING & EXPOSITION, 241st, 2011, Anaheim. **Abstracts...** Anaheim, 2011.
- 59 OLIVEIRA, M. F. Química forense: a utilização da química na pesquisa de vestígios de crime. **Química Nova na Escola**, v. 24, p. 13-15, 2006.
- 60 PARANÁ. Secretaria da Saúde. **Conceitos básicos de toxicologia.**
Disponível em:
<http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/zoonoses_intoxicacoes/Conceitos_Basicos_de_Toxicologia.pdf>. Acesso em: 20 out. 2011.
- 61 BOCANEGRA, M. A. et al. Pralidoxime for organophosphate poisoning: regarding two paediatric cases. **Farmacia Hospitalara**, v. 33, n. 6, p. 336-337, 2009.

62 OVASIO, L.; FRAMARINI, S.; BACCARO, F. Multiple organ dysfunction in acute organophosphate poisoning. **Medicina Intensiva / Sociedad Española de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias**, v. 35, n. 7, p. 450-452, 2011.

63 FERNANDEZ, M. S. et al. Domestic poisoning due to organophosphates. **Anales de Pediatría**, v. 71, n. 5, p. 478-479, 2009.

64 NERO, L. A. et al. Organofosforados e carbamatos no leite produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e ações sobre *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 201-204, 2007.

65 AMORIM, M. A. et al. **Intoxicação exógena por carbamato conhecido popularmente como “chumbinho”.**

Disponível em:

<http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2006/inic/inic/03/INIC0000788_OK.pdf>.

Acesso em: 20 out. 2011.

66 VASCONCELOS, Y. Qual é o veneno mais venenoso do mundo? **Mundo Estranho**.

Disponível em: <<http://mundoestranho.abril.com.br/materia/qual-e-o-veneno-mais-venenoso-do-mundo>>. Acesso em: 20 out. 2011.

67 CHINA antiga. **Discovery Channel**.

Disponível em:

<http://discoverybrasil.uol.com.br/china_antiga/invencoes_tecnologias/polvora/index.shtml?cc=BR>. Acesso em: 31 out. 2011.

68 NUNES, A. L. **Apostila de química e explosivos.**

Disponível em: <<http://www.slideshare.net/AlexandroSilvaNunes/qumica-explosivos-apostila>>. Acesso em: 31 out. 2011.

69 COMPANHIA BRASILEIRA DE CARTUCHOS. **Munições da CBC para pistolas e revólveres.**

Disponível em: <<http://www.cbc.com.br>>. Acesso em: 31 out. 2011.

70 CHEMELLO, E. Ciência forense: balística. **Química Virtual**, p. 1-10, fev. 2007.

71 MARTINY, A.; PINTO, A. L. **Aplicação da microscopia eletrônica de varredura à análise de resíduos de tiro.**

Disponível em:

<http://rmct.ime.eb.br/arquivos/RMCT_3_quad_2008/aplic_microscop_elet_resid_tiro.pdf>. Acesso em: 31 out. 2011.

72 DULTRA, M. A. L. Novo método para conservação e reidratação na identificação necropapiloscópica. **Revista Prova Material**, v. 6, p. 12-16, dez. 2005.

73 COMITÊ OLÍMPICO BRASILEIRO. **Antidoping.**

Disponível em: <www.cob.org.br/pesquisa_estudo/antidoping.asp>. Acesso em: 03 fev. 2010.

- 74 DOPING: a química vai ao Pan. **Química Hoje**, n. 7, p. 14-16, jan.-mar. 2007.
- 75 KOLMONEN, M. et al. A general screening method for doping agents in human urine by solid phase extraction and liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 585, p. 94-102, 2007.
- 76 DOPING nas Olimpíadas. **Veja.com.**, jul. 2008.
Disponível em:
<http://veja.abril.com.br/idade/exclusivo/perguntas_respostas/doping/index.shtml>.
Acesso em: 01 nov. 2011
- 77 WORLD ANTI-DOPING AGENCY. **The prohibited list**.
Disponível em: <<http://www.wada-ama.org/en/>>. Acesso em: 01 nov. 2011.
- 78 KUMAR, M. K. et al. Microscopic and spectrometric characterizations of trace evidence materials present on the discharged lead bullet and shot: a case report. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 15, p. 11-18, 2011.
- 79 ANDRADE, A. B. Projéteis: configuração e performance. **Revista Prova Material**, v. 7, p. 11-14, abr. 2006.
- 80 SILVA, D. C.; SANTOS, J. B. Um estudo sobre a técnica de análise qualitativa de partículas de chumbo provenientes de resíduos de disparo com armas de fogo em mãos de supostos atiradores. **Revista Prova Material**, v. 2, p. 14-18, abr. 2004.
- 81 COMITÊ OLÍMPICO BRASILEIRO. **Informações sobre o uso de medicamentos no esporte**. Disponível em:
<http://www.cob.org.br/pesquisa_estudo/pdfs/Livreto_doping_2010.pdf>. Acesso em: 03 fev. 2010.
- 82 CARPENTER, P. C. Performance-enhancing drugs in sport. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 36, p. 481-495, 2007.
- 83 SJÖQVIST, F.; GARLE, M.; RANE, A. Use of doping agents, particularly anabolic steroids, in sports and society. **The Lancet**, v. 371, p. 1872-1882, 2008.
- 84 KINTZ, P. **Detection of doping agents in human hair**. New York: Taylor and Francis, 2007. p. 241-254.
- 85 CENTRO BRASILEIRO DE INFORMAÇÕES SOBRE DROGAS PSICOTRÓPICAS. **Drogas estimulantes**.
Disponível em:
<http://www.unifesp.br/dpsicobio/cebrid/quest_drogas/drogas_estimulantes.htm#1>.
Acesso em: 03 nov. 2011.
- 86 MATOS, D. O doping. **NotaPositiva**.
Disponível em:
<http://www.notapositiva.com/trab_estudantes/trab_estudantes/educfisica/educfisica_trabalhos/doping.htm>. Acesso em: 06 nov. 2011.

- 87 ANALGÉSICOS opióides e antagonista. **MedicinaNET**.
Disponível em:
<http://www.medicinanet.com.br/conteudos/biblioteca/2582/analgesicos_opioides_e_antagonista.htm>. Acesso em: 06 nov. 2011.
- 88 COSTA, A. J. S. Doping nos esportes. **Spiner**, 2004.
Disponível em:
<<http://www.spiner.com.br/modules.php?name=News&file=print&sid=583>>. Acesso em: 06 nov. 2011.
- 89 TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN. **Substâncias e métodos**.
Disponível em: <<http://www.doping-prevention.de/pt/substances-and-methods/>>.
Acesso em: 07 nov. 2011.
- 90 PARANÁ. Secretaria de Estado da Educação. **Doping genético**.
Disponível em:
<<http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=98>>.
Acesso em: 06 nov. 2011.
- 91 BOSCH, M. E. et al. Recent developments in analytical determination of furosemide. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, p. 519-532, 2008.
- 92 CASLAVSKA, J.; THORMANN, W. Rapid analysis of furosemide in human urine by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence and electrospray ionization trap mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 770, p. 207-216, 2002.
- 93 SHARMA, S. P.; LAHIRI, S. C. A preliminary investigation into the use of FTIR microscopy as a probe for the identification of bullet entrance holes and the distance of firing. **Analytica Chimica Acta**, v. 49, p. 197-204, 2009.
- 94 NORTHROP, D. M.; MARTIRE, D. E. Separation and identification of organic gunshot and explosive constituents by micellar electrokinetic capillary electrophoresis. **Analytica Chemistry**, v. 63, p. 1038-1042, 1991.
- 95 GOTARDO, M. A. et al. Determination of furosemide in pharmaceutical formulations by diffuse reflectance spectroscopy. **Talanta**, v. 64, n. 2, p. 361-365, 2004.
- 96 DIAS, I. L. T.; MARTINS, J. L. S.; OLIVEIRA NETO, G. Furosemide determination by first-derivative spectrophotometric method. **Analytical Letters**, v. 38, p. 1159-1166, 2005.
- 97 SEMAAN, F. S.; CAVALHEIRO, E. T. G. Spectrophotometric determination of furosemide based on its complexation with Fe(III) in ethanolic medium using a flow injection procedure. **Analytical Letters**, v. 39, p. 2557-2567, 2006.

- 98 SEMAAN, F. S.; NOGUEIRA, P. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. Flow-based fluorimetric determination of furosemide in pharmaceutical formulations and biological samples: use of micelar media to improve sensitivity. **Analytical Letters**, v. 41, p. 66-79, 2008.
- 99 THARPA, K.; BASAVAIHAH, K.; VINAY, K. B. Use of a diazocoupling reaction for sensitive and selective spectrophotometric determination of furosemide in spiked human urine and farmaceuticals. **Chemical Papers**, v. 64, n. 4, p. 415-423, 2010.
- 100 GARCIA, M. S. et al. Flow-injection spectrophotometric determination of frusemide or sulphathiazole in pharmaceuticals. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, p. 453-459, 1997.
- 101 PERALTA, C. M.; FERNÁNDEZ, L. P.; MASI, A. N. Solid phase extraction using nylon membranes with fluorescence detection as a fast and sensitive method for amiloride and furosemide determination in urine samples. **Microchemical Journal**, v. 98, p. 39-43, 2011.
- 102 SEVILLANO-CABEZA, A.; CAMPÍMS-FALCÓ, P.; SERRADOR-GARCÍA, M. C. Extractive-spectrophotometric determination of furosemide with sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate in pharmaceutical formulations. **Analytical Letters**, v. 30, n. 1, p. 91-107, 1997.
- 103 SANTINI, A. O. et al. Potentiometric sensor for furosemide determination in pharmaceuticals, urine, blood serum and bovine mill. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 1, p. 64-73, 2009.
- 104 DIAS, I. L. T. et al. A poly(vinyl chloride) membrane electrode for the determination of the diuretic furosemide. **Analytical Letters**, v. 37, n. 1, p. 35-46, 2004.
- 105 BARROSO, M. B.; ALONSO, R. M.; JIMÉNEZ, R. M. Electrochemical determination of the loop diuretics piretadine and furosemide in pharmaceutical formulations and urine. **Analytica Chimica Acta**, v. 305, n. 1/3, p. 332-339, 1995.
- 106 YANG, A. Electrochemistry property and the voltametric determination of furosemide. **Yaowu Fenxi Zazhi**, v. 30, n. 5, p. 915-918, 2010.
- 107 BARROSO, M. B.; JIMENÉZ, R. M.; ALONSO, R. M. Determination of piretanide and furosemide in pharmaceuticals and human urine by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. **Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 675, p. 303-312, 1996.
- 108 LI, H. Z. et al. Determination of furosemide in serum and urine by high-performance liquid chromatography with electrochemical detector. **Yaoxue Xuebao**, v. 26, n. 12, p. 923-927, 1991.
- 109 KAMATA, K. et al. High-performance liquid chromatographic method for the determination of furosemide using an electrochemical detector. **Iyakuhi Kenkyu**, v. 19, n. 1, p. 103-106, 1988.

110 ROTH, J.; RAPAKA, R. S.; PRASAD, V. K. An highperformance liquid chromatography procedure for the analysis of furosemide in pharmaceuticals-analysis of furosemide tablets and furosemide injections. **Analytical Letters**, v. 14, n. 13, p. 1013-1030, 1981.

111 ANAPURE, S. A.; KHANNA, S.; DIGHE, V. S. Highperformance liquid chromatography method for frusemide and spironolactone combination. **The East Pharm**, v. 32, p. 193-194, 1989.

112 BASAVAIHAH, K.; CHANDRASHEKAR, U. Sensitive micro analysis of frusemide (furosemide) in bulk drug and formulations by visible spectrophotometry and high performance liquid chromatography (HPLC). **Indian Journal of Chemical Technology**, v. 12, n. 4, p. 401-406, 2005.

113 OKUDA, T.; YAMASHITA, K.; MOTOHASHI, M. High-performance liquid chromatography using on-line solid-phase extraction: determination of furosemide in human serum. **Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 682, p. 343-348, 1996.

114 VENTURA, R. et al. Fast screening method for diuretics, probenecid and other compounds of doping interest. **Journal of Chromatography, A**, v. 655, n. 2, p. 233-242, 1993.

115 WENK, M. et al. Determination of furosemide in plasma and urine using monolithic silica rod liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 1367-1370, 2006.

116 CAMPÍNS-FALCÓ, P.; HERRÁEZ-HERNÁNDEZ, R.; SEVILLANO-CABEZA, A. Column-switching techniques for screening of diuretics and probenecid in urine samples. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 244-248, 1994.

117 BANSAL, T. et al. Concurrent determination of topotecan and model permeability markers (atenolol, antipyrine, propranolol and furosemide) by reversed phase liquid chromatography: utility in Caco-2 intestinal absorption studies. **Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 859, p. 261-266, 2007.

118 GALAON, T. et al. High-throughput liquid-chromatography method with fluorescence detection for reciprocal determination of furosemide or norfloxacin in human plasma. **Biomedical Chromatography**, v. 21, p. 40-47, 2007.

119 BRASIL MEDICINA. **Saturnismo ou intoxicação por chumbo.**

Disponível em:

<http://www.brasilmedicina.com.br/noticias/pgnoticias_det.asp?AreaSelect=3&Codigo=134>. Acesso em: 06 nov. 2011.

120 SILBERGELD, E. K.; WAALKES, M.; RICE, J. M. Lead as a carcinogen: experimental evidence and mechanisms of action. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 38, p. 316-323, 2000.

- 121 MARKUS, J.; McBRATNEY, A. B. A review of the contamination of soil with lead II. Spatial distribution and risk assessment of soil lead. **Environment International**, v. 27, p. 399-411, 2001.
- 122 ALIZADEH, T.; AMJADI, S. Preparation of nano-sized Pb^{2+} imprinted polymer and its application as the chemical interface of an electrochemical sensor for toxic lead determination in different real samples. **Journal of Hazardous Materials**, v. 190, n. 1/3, p. 451-459, 2011.
- 123 ANTHEMIDIS, A. N. et al. On-line sorptive preconcentration platform incorporating a readily exchangeable Oasis HLB extraction micro-cartridge for trace cadmium and lead determination by flow injection-flame atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 98, n. 1, p. 66-71, 2011.
- 124 SAENZ, M. et al. Electrochemical generation of lead volatile species as a method of sample introduction for lead determination by atomic absorption spectrometry. **Electroanalysis**, v. 22, n. 23, p. 2842-2847, 2010.
- 125 ANTHEMIDIS, A. N.; ADAM, I. S. I.; ZACHARIADIS, G. A. Poly(etheretherketone)-turnings a novel sorbent material for lead determination by flow injection flame atomic absorption spectrometry and factorial design optimization. **Talanta**, v. 81, n. 3, p. 99-1002, 2010.
- 126 HSIEH, H. et al. Lead determination in whole blood by laser ablation coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry. **Talanta**, v. 79, n. 2, p. 183-188, 2009.
- 127 RODRIGUEZ, J. A. et al. Multicommutated anodic stripping voltametry at tubular bismuth film electrode for lead determination in gunshot residues. **Electroanalysis**, v. 21, n. 3/5, p. 452-458, 2009.
- 128 LOH, H. C.; AHMAD, M.; TAIB, M. N. Electrochemical sensor for the lead determination: development and characterization. In: ASIAN CONFERENCE ON SENSORS AND THE INTERNATIONAL CONFERENCE, 2005, Kuala Lumpur. **Proceedings...** New York: Institute of Electrical and Electronics Engineers, 2005.
- 129 QUINAIA, S. P. et al. On-line preconcentration system using a mini-column of activated carbon for cadmium and lead determination in water by flame atomic absorption spectrometry. **Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy**, v. 51, n. 5, p. 225-233, 2006.
- 130 QIN, D.; ZHENG, W.; YANG, X. Lead determination in puffed food by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. **Jiaxiang Health and Epidemic Prevention Station in Shandong Province**, v. 21, n. 12, p. 1964-1965, 2005.
- 131 XU, Q.; LIU, N.; ZHU, J. Lead determination on MWNT/Nafion composite modified glassy carbon electrodes. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 11, p. 1510-1514, 2005.

- 132 ADRAOUI, I. et al. Lead determination by anodic stripping voltammetry using a p-phenylenediamine modified carbon paste electrode. **Electroanalysis**, v. 17, n. 8, p. 685-693, 2005.
- 133 SOYLAK, M. et al. Factorial design in the optimization of preconcentration procedure for lead determination by FAAS. **Talanta**, v. 65, n. 4, p. 895-899, 2005.
- 134 MATHIEU, H. et al. Blood lead determination by potentiometric stripping analysis. **Annales de Biologie Clinique**, v. 61, n. 6, p. 667-672, 2003.
- 135 BARANGUAN, M. T.; LABORDA, F.; CASTILLO, J. R. Reagent injection FIA system for lead determination by hydride generation-quartz-tube atomic absorption spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 374, n. 1, p. 115-119, 2002.
- 136 HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 5.ed. New York: W. H. Freeman. p. 435-444.
- 137 SKOOG, D. A. **Princípios de análise instrumental**. 5.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. p. 124-125.
- 138 KEALEY, D. Quantitative reflectometry. 1. Principles and scope. **Talanta**, v. 19, p. 1563-1569, 1972.
- 139 NARAYANASWAMY, R. Optical chemical sensors: transduction and signal processing. **Analyst**, v. 118, p. 317-322, 1993.
- 140 GHAUCH, A. et al. Quantitative measurements of ammonium, hydrogenophosphate and Cu(II) by diffuse reflectance spectrometry. **Talanta**, v. 48, n. 2, p. 385-392, 1999.
- 141 TUBINO, M.; ROSSI, A. V.; MAGALHÃES, M. E. A. Quantitative spot tests of Fe(III), Cr(IV) and Ni(II) by reflectance measurements. **Analytical Letters**, v. 30, n. 2, p. 271-282, 1997.
- 142 WENDLANT, W. W.; HECHT, H. G. **Reflectance spectroscopy**. New York: Interscience Publishers, 1966.
- 143 ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Green chemistry**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/greenchemistry>>. Acesso em: 20 maio 2009.
- 144 LENARDÃO, E. J. "Green chemistry": os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.
- 145 CALIFORNIAN DEPARTMENT OF TOXIC SUBSTANCES CONTROL. **Green**. Disponível em: <<http://www.dtsc.ca.gov/PollutionPrevention/GreenChemistryResources/index.cfm>>. Acesso em: 2 maio 2009.

- 146 BARUD, H. S. **Materiais multifuncionais baseados em celulose bacteriana**. 2010. 172 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.
- 147 ATTWOOD, D.; FLORENCE, A. T. **Princípios físico-químicos em farmácia**. 3.ed. São Paulo: Ed. USP, 2003. 744 p.
- 148 INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Limit of detection and limit of quantification**. Disponível em: <http://old.iupac.org/dhtml_home.html>. Acesso em: 20 maio 2009.
- 149 LUIZ, V. H. M. **Desenvolvimento de método analítico para análise de nitrito por espectroscopia de reflectância difusa**. 2009. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso – (Bacharelado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.
- 150 REIS, E. L. T. et al. Identificação de resíduos de disparos de armas de fogo por meio da técnica de espectrometria de massas com fonte de plasma indutivo. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 409-413, 2004.
- 151 ZIVANOVIC, L. et al. Spectrophotometric determination of furosemide as its iron(III) complex in pharmaceutical preparations. **Mikrochimica Acta**, v. 1, n. 1/2, p. 49-54, 1990.
- 152 LAUBE, N. Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines. **Journal of Crystal Growth**, v. 233, p. 367-374, 2001.

ANEXOS - Fotos da Coleta de Resíduos de Disparo



Figura Anexo 1. Clube de Tiro MAAT.



Figura Anexo 2. Disparo com revólver.



Figura Anexo 3. Resíduos provenientes de um disparo feito com revólver.



Figura Anexo 4. Coleta com algodão/cotonete realizado pelo método do esfregão.



Figura Anexo 5. Coleta com membrana úmida.



Figura Anexo 6. Coleta com membrana seca.



Figura Anexo 7. Coleta com cotonete de um local de impacto.



Figura Anexo 8. Resultado *in situ* de uma coleta qualitativa de resíduos em um cartucho calibre .22. A coloração amarela representa o branco enquanto a vermelha é o resultado da reação.



Figura Anexo 9. Revelação *in situ* de resíduos de chumbo em um papel de filtro qualitativo.



Figura Anexo 10. Revelação laboratorial por nebulização das membranas. A membrana com um asterisco representa o branco. As 3 membranas do lado direito da figura são coletas onde havia pouco resíduo para ser coletado.