

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

USO DA CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA NA
IDENTIFICAÇÃO DE ENTORPECENTES NO INSTITUTO DE
CRIMINALÍSTICA DE BOTUCATU.

JÉSSICA NOGUEIRA BUENO

PROF. DR. LUÍS FERNANDO BARBISAN

DR. BENEDITO RINALDO CARDANA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção de Bacharel em Ciências Biomédicas.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM. DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Bueno, Jéssica Nogueira.

Uso da cromatografia de camada delgada na identificação de entorpecentes no Instituto de Criminalística de Botucatu / Jéssica Nogueira Bueno. - Botucatu, 2022

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biomédicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Luís Fernando Barbisan

Coorientador: Benedito Rinaldo Cardana
Capes: 21007004

1. Análise cromatográfica. 2. Toxicologia. 3. Drogas.
4. Entorpecentes. 5. Criminalística.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, campus de Botucatu, pela estrutura e empenho oferecidos com a finalidade de garantir uma qualificação de excelência.

À Superintendência da Polícia Técnico-científica do estado de São Paulo, especialmente o Instituto de Criminalística de Botucatu, por oferecer a oportunidade de estagiar e aprender seus meios de trabalho.

À toda a Equipe de Perícias Criminalísticas de Botucatu pela disponibilidade e empenho com que desempenharam a tarefa de ensino.

Aos Peritos Criminais Benedito Rinaldo Cardana e Ralph Gomes de Oliveira por acompanhar, ensinar e aconselhar meu trabalho e aprendizado, oferecendo importante apoio para meu crescimento profissional e pessoal.

Aos meus familiares, que me acompanharam e me incentivaram durante todo o período de graduação, me dando suporte e condições para chegar até aqui.

Aos meus amigos, que tornaram essa caminhada mais leve e alegre.

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos.”

Eleanor Roosevelt

RESUMO

A cromatografia é uma técnica de separação e identificação de componentes de substâncias orgânicas, amplamente utilizada em laboratórios por ser um método simples, econômico e de fácil visualização. Nela, a separação ocorre através da passagem dos componentes da mistura levada pela fase móvel através de uma fase estacionária. Isso acontece devido às diferentes interações dos componentes com as fases móveis e estacionária. Existe mais de um tipo de cromatografia, desde as mais simples até as mais complexas e elaboradas, e a utilização de cada uma delas depende da finalidade e da substância a ser analisada. Por ter uma grande variedade de combinações entre as fases móvel e estacionária, a cromatografia se torna uma técnica versátil e de grande aplicação, sendo uma delas a identificação de substâncias entorpecentes.

As substâncias entorpecentes apreendidas e destinadas ao exame toxicológico no Instituto de Criminalística de Botucatu (IC), passam por um processo administrativo denominado cadeia de custódia para garantir a idoneidade do material e de sua origem. Consiste na verificação do conteúdo do material isolado em uma embalagem transparente e lacrada e do número do lacre, tudo devendo corresponder ao que está descrito no documento de Requisição de Exame emitido pelo Delegado de Polícia Judiciária. Em seguida as substâncias entorpecentes apreendidas são protocoladas internamente e adicionadas no programa digital Gestor de Laudos do IC. Depois da conferência e cadastro, as substâncias entorpecentes passam por dois exames toxicológicos. O primeiro é o exame químico toxicológico inicial, que é um teste qualitativo colorimétrico. O segundo é o exame químico toxicológico definitivo, que consiste na cromatografia de camada delgada (CCD). Os dois exames variam de reagentes de acordo com o tipo de substância entorpecente a ser identificado. No IC de Botucatu são examinadas as substâncias maconha, crack e cocaína. O exame colorimétrico é um exame rápido necessário para atender o estado de flagrante delito. Já a CCD é um exame que requer mais tempo para o resultado, sendo mais preciso. Utilizar os dois métodos combinados para a confirmação das substâncias entorpecentes evita resultados falso-positivos ou falso-negativos, dando segurança na conclusão do laudo.

Palavras-chave: Toxicologia. Entorpecente. Cromatografia.

ABSTRACT

Chromatography is a technique for separating and identifying components of organic substances, widely used in laboratories because it is a simple, economical and easily visualized method. In it, the separation occurs through the passage of the components of the mixture carried by the mobile phase through a stationary phase. This is due to the different interactions of the components with the mobile and stationary phases. There is more than one type of chromatography, from the simplest to the most complex and elaborate, and the use of each one depends on the purpose and substance to be analyzed. By having a large variety of combinations between the mobile and stationary phases, chromatography becomes a versatile technique with wide application, one of which is the identification of narcotic substances.

The narcotic substances seized and destined for toxicological examination at the Institute of Criminalistics of Botucatu, go through an administrative process called chain of custody to ensure the legitimacy of the material and its origin. It consists of verifying the content of the isolated material in a transparent and sealed package and the seal number, all of which must correspond to what is described in the Examination Request document issued by the Judiciary Police Delegate. Then, the narcotic substances seized are filed internally and added to the Report Manager digital program. After the conference and registration, the narcotic substances undergo two toxicological tests. The first is the initial chemical toxicology test, which is a qualitative colorimetric test. The second is the definitive chemical toxicological test, which consists of thin layer chromatography. Both of the tests vary in reagents according to the type of narcotic substance to be identified. The Institute of Criminalistics of Botucatu examines the substances marijuana, crack and cocaine. The colorimetric exam is a quick exam necessary to attend the state of flagrante delicto. The chromatograph is an exam that requires more time for the result, being more accurate. Using the two methods combined for the confirmation of narcotic substances avoid false-positive or false-negative results, providing certainty in the conclusion of the report.

Key-words: Toxicology. Narcotics. Chromatography.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 – DEMONSTRAÇÃO DE TESTE DE TRIAGEM POSITIVO PARA MACONHA COM HALO AZUL- VIOLÁCIO..... | 18 |
| FIGURA 2 – ESTRUTURA QUÍMICA DA COCAÍNA..... | 19 |
| FIGURA 3 – ESQUEMA DE REFINO DOS PADRÕES DE USO DA COCAÍNA..... | 20 |
| FIGURA 4 – DEMONSTRAÇÃO DE TESTE DE TRIAGEM POSITIVO PARA COCAÍNA, EVIDENCIANDO A COLORAÇÃO AZUL- TURQUESA..... | 21 |
| FIGURA 5 – CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA UTILIZADA COMO TESTE DE CONSTATAÇÃO DEFINITIVA PARA MACONHA..... | 23 |
| FIGURA 6 – CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA UTILIZADA COMO TESTE DE CONSTATAÇÃO DEFINITIVA PARA COCAÍNA (À ESQUERDA) E CRACK (À DIREITA)..... | 24 |

LISTA DE SIGLAS

CCD – Cromatografia de camada delgada

GDL – Gestor de Laudos

IC – Instituto de Criminalística

SNC – Sistema Nervoso Central

SPTC – Superintendência da Polícia Técnico-Científica

THC – Δ^9 -tetraidrocanabinol

LISTA DE ABREVIATURAS

g - gramas

mL - mililitros

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 10 |
| 2. METODOLOGIA | 13 |
| 2.1 Cadeia de custódia | 13 |
| 2.2 Conferência, protocolo e recebimento de amostras destinadas ao exame toxicológico | 15 |
| 2.3 Exames toxicológicos de constatação inicial | 15 |
| 2.3.1 Maconha | 16 |
| 2.3.2 Cocaína..... | 18 |
| 2.4 Exame toxicológico de constatação definitiva | 22 |
| 2.4.1 Maconha | 22 |
| 2.4.2 Cocaína..... | 23 |
| 3. DISCUSSÃO | 24 |
| 4. CONCLUSÃO | 26 |
| 5. REFERÊNCIAS | 26 |

1. INTRODUÇÃO

A cromatografia é uma técnica físico-química de separação e identificação de componentes de uma mistura, baseada na distribuição de um soluto entre duas fases: a fase móvel e a fase estacionária (PERES, 2002). O processo cromatográfico se dá pela passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, que arrasta consigo a mistura e ocasiona a retenção seletiva de cada um dos componentes pela fase estacionária, de acordo com suas afinidades. As diferentes interações entre componentes, fase estacionária e fase móvel resultam nas migrações diferenciais dos componentes de uma mistura (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

Embora existam relatos de diferentes métodos de separação ao longo da história (COLLINS, 2006, 2009), a técnica cromatográfica foi descrita pela primeira vez pelo russo Mikhail S. Tswett em 1903. Tswett se formou em ciências com ênfase em botânica e seu primeiro trabalho descreveu a estrutura da célula, o movimento do protoplasma e a estrutura de cloroplastos. Esse trabalho representou o início de sua pesquisa que acabou levando ao desenvolvimento da cromatografia (ETTRE, 2000).

Em 1903, ele apresentou à Sociedade de Ciências de Varsóvia os resultados preliminares de seus experimentos com pigmentos vegetais, onde buscava separar os componentes presentes em extratos de folhas pela passagem de éter dietílico (fase móvel) em uma coluna de vidro com carbonato de cálcio (fase estacionária). No entanto, esse estudo recebeu uma série de críticas por não apresentar muitas informações e os pesquisadores dessa área questionaram a validade da nova técnica descrita por Tswett (COLLINS, 2006). Foi então que, em 1906, ele publicou dois trabalhos descrevendo detalhadamente suas pesquisas.

Nesses novos trabalhos, Tswett explicou que para a realização do extrato de folhas ele testou alguns solventes orgânicos e observou que cada um se comportava de maneira diferente, extraindo maior ou menor quantidade de substâncias (COLLINS, 2009). Ele assumiu que a razão desse comportamento se devia às interferências de algumas forças moleculares que ligavam os pigmentos aos substratos das folhas. Assim, ele identificou, corretamente, a adsorção como a base dessas forças moleculares (ETTRE, 2003).

Para separar os compostos presentes no extrato de folhas, Tswett testou diversos tipos de sólidos orgânicos e inorgânicos, sendo que os melhores foram carbonato de cálcio e inulina, que seriam as fases estacionárias. O sólido escolhido foi colocado em uma coluna de vidro e foi adicionado um líquido apolar (vários líquidos também foram testados e o

melhor foi o éter dietílico), que foi a fase móvel (COLLINS, 2006). A passagem descendente do líquido apolar conseguiu separar os pigmentos do extrato, distinguindo-os em faixas coloridas. Tswett descreveu o que hoje conhecemos como cromatografia líquido-sólido em coluna seca.

Foi também em um desses novos trabalhos de 1906 que Tswett usou, pela primeira vez, os termos cromatografia, para descrever o processo de separação, e cromatograma, para descrever as bandas coloridas separadas na coluna. O nome cromatografia possivelmente se deu pela formação das bandas coloridas na coluna. A origem da palavra vem do grego, onde *chroma* significa cor, e *grafe* significa escrever. No entanto, o próprio Tswett indicou em seu trabalho que a separação não depende da cor, e sim das interações das substâncias com a fase estacionária (AMORIM, 2019).

Ao longo dos anos a cromatografia passou por grande evolução e hoje conhecemos alguns tipos de cromatografia. Elas podem ser classificadas de acordo com a forma física do sistema cromatográfico ou de acordo com a fase móvel empregada. Pela forma física do sistema encontramos as cromatografias planar e por coluna; a planar subdivide-se em cromatografia em papel, em camada delgada e por centrífuga, enquanto a por coluna é dividida em cromatografia líquida, gasosa e supercrítica. Em relação à classificação pela fase móvel empregada, são três os tipos de cromatografia: gasosa, líquida e supercrítica (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998; PERES, 2002).

Dentro da classe de cromatografia planar, é importante destacar a cromatografia de camada delgada (CCD). A CCD é uma técnica de adsorção líquido-sólido, muito usada nos laboratórios de química orgânica por ser um método simples, econômico e de fácil visualização (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998). É frequentemente usada para acompanhar reações orgânicas, purificar substâncias, estabelecer se dois compostos são idênticos e determinar o número de componentes em uma mistura. Nessa técnica, a separação dos componentes acontece devido à migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente fixo em uma superfície plana (AMORIM, 2019). A fase estacionária na CCD é formada por uma fina camada de sólido granulado (sílica, alumina ou poliamida) depositado sobre uma placa de vidro ou alumínio. As substâncias a serem analisadas são diluídas com compostos específicos e então é colocado uma gota dessa solução em um ponto próximo a borda da placa. Depois que a placa estiver seca, ela é colocada em uma cuba contendo a fase móvel, de forma que só a base da placa fique submersa. O solvente, por capilaridade, molha

toda a fase estacionária, arrastando consigo as partículas. Após a placa secar, aplica-se um reativo de cor para fazer a revelação (BELE; KHALE, 2011).

A escolha do tipo ideal de cromatografia a ser utilizada depende do material que será analisado. Devido à variedade de combinações de componentes que podem ser usados nas fases estacionária e móvel, essa técnica tem grande flexibilidade (AMORIM, 2019). Além disso, o fato de o processo poder ser realizado em diferentes temperaturas, garante a versatilidade da técnica, permitindo que ela seja aplicada desde átomos a grandes quantidades de substâncias e assim, tenha aplicações em diversas áreas (ETTRE, 2000), como na farmacologia, podendo caracterizar e identificar fármacos (LINI et al, 2014; AZEREDO et al, 2004), na agricultura e ramo alimentar (SHERMA, 2000), na toxicologia para identificação de entorpecentes e drogas de abuso (GOULART, 2012), entre outros.

As atividades que compõem a atuação da perícia criminal abrangem várias áreas de conhecimento, sendo necessário, assim, a utilização de diferentes técnicas para a demonstração dos casos que envolvem a criminalística. A criminalística é a ciência utilizada para elucidar um crime, através da determinação da dinâmica da cena, da coleta e da interpretação de vestígios. A principal ferramenta da criminalística é a ciência forense, uma área multidisciplinar que dá suporte às investigações por meio de técnicas que facilitam a investigação. Dentro dos elementos utilizados pela criminalística para analisar de forma metodológica e científica os componentes de uma investigação pericial está a toxicologia (FOLTRAN; SHIBATTA, 2011).

A toxicologia, ou estudo dos tóxicos, é a ciência que busca compreender as substâncias tóxicas, sua existência, ocorrência, comportamentos e mecanismos de ação (FUKUSHIMA; AZEVEDO, 2008), ou seja, os efeitos tóxicos de certo agente químico em decorrência de sua interação com o sistema biológico (AIELLO; PEÇANHA, 2011). Ao longo do tempo, as drogas e fármacos foram usados devido a seus efeitos benéficos e desejados, no entanto, começou-se a observar os efeitos indesejados e negativos à saúde do indivíduo, levando a estudos mais detalhados em relações a possíveis efeitos toxicológicos. Desse modo, a toxicologia se subdividiu em diversas áreas, permitindo o aperfeiçoamento do conhecimento referente a cada área de atuação (PASSAGLI, 2007).

Dentro da multidisciplinaridade da toxicologia, temos a toxicologia forense, que é a ciência aplicada às necessidades do direito civil ou criminal (TARELHO, 2003). Seu

principal objetivo é rastrear, detectar e quantificar as substâncias tóxicas eventualmente presentes em situações criminais, culminando em uma posterior decisão judicial (ALVES, 2005; PASSAGLI, 2007).

Este trabalho tem como objetivo descrever os métodos utilizados para a identificação de entorpecentes na perícia criminalística, com ênfase na área de toxicologia e no uso da cromatografia, de acordo com os procedimentos realizados na unidade do Instituto de Criminalística de Botucatu.

2. METODOLOGIA

2.1 Cadeia de custódia

Todo processo forense tem como passo essencial o exame detalhado da cena do crime, onde se busca por vestígios que tenham valor probatório para a investigação. Para isso, é necessário um isolamento adequado bem como uma preservação do local do crime, e assim evitar que vestígios sejam perdidos e assegurar que os mesmos são autênticos. Os vestígios devem ser coletados de acordo com princípios e procedimentos estabelecidos, denominados cadeia de custódia, para que posteriormente possam ser reconhecidos como prova (MACHADO, 2017).

O Artigo 158-A do Decreto de Lei nº 3.689 (Código de Processo Penal) define cadeia de custódia como “o conjunto de todos os procedimentos utilizados para manter e documentar a história cronológica do vestígio coletado em locais ou em vítimas de crimes” (BRASIL, 1941). Dessa forma, a cadeia de custódia engloba toda a sequência de eventos desde o reconhecimento do vestígio, seu isolamento e coleta até o processamento, resultado final e descarte do mesmo, sendo essencial para manter a idoneidade e a rastreabilidade da evidência (LOPES; GABRIEL; BARETA, 2006; MACHADO, 2017).

Todos esses procedimentos relacionados à cadeia de custódia precisam ter as mínimas condições de segurança e cuidado, pois a presença de erros ou a ausência dos procedimentos corretos podem gerar grandes prejuízos ao processo, como danos irreversíveis no material coletado, o que ocasiona a falta de integridade da prova e compromete, conseqüentemente, a idoneidade do processo, causando dúvidas sobre a autenticidade da evidência (MACHADO, 2017). Por isso, é necessário o registro das informações de campo, de laboratório e também das pessoas que manusearam a amostra, as quais devem desenvolver

as atividades conforme um programa previamente estabelecido pela instituição (LOPES; GABRIEL; BARETA, 2006).

Na área da toxicologia forense, as amostras que chegam são recebidas como evidências, as quais serão posteriormente analisadas e seus resultados serão apresentados na forma de laudo. Essas amostras são, em sua grande maioria, únicas e em pequenas quantidades. Nesse caso, a cadeia de custódia permite reduzir o prejuízo ou a inviabilidade da análise toxicológica, o extravio ou dano das amostras. Assim, seguindo padrões cautelosos de análise e manuseio, se evita alegações de adulteração ou negligência que possam comprometer ou alterar as decisões tomadas em cada processo (LOPES; GABRIEL; BARETA, 2006).

Todo este processo é previsto em lei, segundo a Resolução SSP-336, de 11-12-2008, que prevê, entre outros artigos:

Art. 1º. Nas ocorrências policiais em que houver apreensão de drogas, deverá o produto ser acondicionado em embalagens apropriadas transparentes, as quais serão devidamente lacradas, na presença da Autoridade Policial, do escrivão e dos policiais que efetuaram a apreensão e imediatamente encaminhadas à competente unidade da Superintendência da Polícia Técnico-Científica (SPTC), mediante o preenchimento da requisição de exame constando o número de lacre daquele lote, além dos dados de praxe da requisição.

Art. 2º. Antes do encaminhamento, a Autoridade Policial deverá determinar que o material apreendido, já acondicionado, seja lacrado, fotografado e pesado na forma bruta.

Parágrafo único. A fotografia deverá instruir o respectivo procedimento de polícia judiciária.

Art. 3º. Recebido o material, o responsável pela perícia o fotografará novamente e providenciará, após conferência do número do lacre, a retirada deste e de quantidade necessária para a realização das perícias, tanto de constatação, quanto da definitiva.

Parágrafo único. Após o exame, a droga deverá ser novamente acondicionada em embalagem própria da SPTC e receber novo lacre numerado.

Art. 4º. Do laudo de constatação provisório deverão constar o peso líquido, identificação da substância, os números dos lacres recebidos da Autoridade Policial e os colocados na sede da unidade da SPTC.

Art. 5º. A Autoridade Policial, decidindo pela elaboração do auto de prisão em flagrante delito, ao remeter cópia deste ao Poder Judiciário, solicitará autorização para a incineração da substância apreendida, fazendo constar nesse expediente os números definitivos dos lacres dos invólucros.

2.2 Conferência, protocolo e recebimento de amostras destinadas ao exame toxicológico

Todo material apreendido que é destinado ao exame toxicológico recebe na delegacia um lacre da Polícia Civil, que contém um número de identificação para garantir a sua rastreabilidade. Posteriormente, esse material é encaminhado ao Instituto de Criminalística (IC) da região correspondente, onde passa por uma verificação do número do lacre, que deve ser correspondente ao descrito na requisição que acompanha o mesmo.

Após a verificação do material e da requisição, o material é registrado no Gestor de Laudos (GDL). O GDL é uma plataforma de registro e controle das ocorrências que integra as forças policiais e o poder judiciário. Somente assim, ele recebe um número de protocolo, o qual é utilizado como controle interno do Instituto.

A requisição é um documento que ampara uma exigência legal, ou seja, uma ordem de uma autoridade para que se cumpra um determinado procedimento que, no caso, se trata do exame toxicológico (PEREIRA, 2015).

Caso os dados não estejam de acordo, todo o material, assim como a requisição, deve ser devolvido à delegacia de origem para que se apure falhas no registro da requisição ou possível adulteração do conteúdo do material ou da requisição.

2.3 Exames toxicológicos de constatação inicial

O Instituto de Criminalística de Botucatu é responsável pela realização de algumas reações de constatação toxicológica, como a constatação de maconha, cocaína e crack. As demais substâncias entorpecentes que, por acaso, derem entrada no Instituto, são encaminhadas para o Núcleo de Perícias Criminalísticas de Sorocaba, Instituição hierarquicamente superior que é responsável pelo suporte técnico, por dispor de equipamentos de análise mais completos e sofisticados para a análise toxicológica, garantindo assim maior eficiência e fidedignidade dos resultados.

Antes de iniciar qualquer procedimento, é importante que todo o material e o ambiente que serão utilizados sejam corretamente higienizados para evitar uma possível contaminação e assim, prejudicar o resultado final da análise. É feita, também, a verificação dos reagentes e se estão em perfeito estado. A vidraria utilizada é correspondente a de um laboratório de

química analítica convencional. Dessa forma os utensílios são previamente lavados com detergente neutro, enxaguados na água corrente e depois passados na água destilada. Na bancada de preparo dos reagentes e das amostras é utilizado o etanol, que é o álcool mais utilizado para a desinfecção devido ao seu baixo custo e fácil disponibilidade (FRUTUOSO et al, 2018).

Os exames toxicológicos de constatação inicial são baseados em testes colorimétricos, os quais têm como princípio a mudança de cor quando há interação de uma substância com algum reagente químico. Esses testes são populares devido a suas reações químicas serem simples e produzirem resultados visíveis que podem ser interpretados a olho nu, além de terem um baixo custo. No entanto, pela baixa especificidade e conseqüentemente, a possibilidade de interferência de outras substâncias, eles são indicados somente como testes de triagens (PINTO et al, 2015). Dessa forma, o resultado negativo em um teste de constatação inicial elimina a possibilidade de ser a substância química pesquisada, enquanto o resultado positivo define a necessidade de outras técnicas confirmatórias (MOREAU; SIQUEIRA, 2016).

2.3.1 Maconha

Cientificamente conhecida como *Cannabis sativa* L, a maconha é uma das plantas mais antigas conhecidas pelo homem (KALANT, 2001). Acredita-se que ela tenha sido cultivada por pelo menos 12 mil anos (PAIN, 2015). Originária da Ásia, essa planta era usada na fabricação de produtos têxteis, devido a resistência do seu caule. Possivelmente, a maconha foi trazida clandestinamente ao Brasil pelos escravos africanos, que a usavam devido às suas propriedades hipnóticas, iniciando e disseminando, assim, o seu uso recreativo pelo país (CARLINI, 2006).

A maconha foi descrita pela primeira vez em 1753 pelo botânico sueco Carl Von Linné (PASSAGLI, 2007). Pertencente à família das Cannabaceae, a cannabis é uma angiosperma dicotiledônea, geralmente dióica e com ciclo anual e é predominantemente cultivada em zonas de clima quente e temperado. É uma planta complexa e até o momento já foram identificadas mais de 750 substâncias químicas diferentes (RADWAN et al, 2015), distribuídas em algumas classes. Dentre elas se destaca os terpenofenóis, classe responsável pela atividade farmacológica da maconha (BORDIN et al, 2012). A classe terpenofenólica é

composta por mais de 100 canabinoides (RADWAN et al, 2015), os quais são encontrados unicamente em plantas do gênero *Cannabis* e são classificados em dois grupos: os canabinoides psicoativos (por exemplo, Δ^9 -tetraidrocanabinol (THC)) e os não psicoativos (por exemplo, canabidiol e canabinol) (BORDIN et al, 2012).

De todos os canabinoides presentes na *Cannabis sativa* L, o THC é o principal componente encontrado na planta e também o responsável pelos efeitos psicoativos da maconha, sendo que sua concentração está diretamente ligada à potência de seus efeitos (BORDIN et al, 2012). Essa substância foi isolada e teve sua estrutura demonstrada em 1964 por Gaoni e Mechoulam, sendo encontrada, principalmente, na resina que as plantas fêmeas produzem (GONÇALVES; SCHLICHTING, 2014).

A maconha é uma droga modificadora do Sistema Nervoso Central (SNC) que provoca perturbação na atividade cerebral, promovendo assim, distorções perceptivas e cognitivas (FONTE, 2006). O THC pode agir no cérebro, coração ou aparelho cardiovascular e pulmões. Os efeitos agudos da droga incluem estado inicial de euforia, agitação e hilaridade, seguido de um período de reflexão, relaxamento e tranquilidade (PASSAGLI, 2007). No entanto, algumas pessoas apresentam efeitos contrários, como ansiedade, pânico, diminuição das habilidades mentais, entre outros. O uso crônico da maconha causa déficit de aprendizagem e memória, diminuição progressiva da motivação, doenças pulmonares e infertilidade (RIGONI; OLIVEIRA; ANDRETTA, 2006).

Atualmente, a maconha é a droga ilícita mais cultivada, traficada e consumida mundialmente (BORDIN et al, 2012). No Brasil, o último levantamento de dados sobre o uso de drogas coordenado pela Fundação Oswaldo Cruz mostrou que 7,7% dos brasileiros entre 12 a 65 anos já usaram maconha ao menos uma vez (BASTOS et al, 2017). Dados comparativos de apreensão de maconha e cocaína do Governo Federal (2021) mostram que a apreensão de maconha praticamente dobrou de 2019 para 2020. Além disso, dados coletados no IC de Botucatu apontam que somente entre outubro de 2021 a fevereiro de 2022, houveram 85 apreensões de maconha.

O principal teste de triagem utilizado para a identificação da maconha é o Teste Duquenois-Levine. Esse teste colorimétrico é baseado na identificação da natureza fenólica da estrutura química dos canabinoides sendo, portanto, um teste não-específico, já que outros

compostos presentes em outros vegetais podem se comportando de maneira semelhante, gerando resultados falso-positivos (PINTO et al, 2015).

Para realizar o teste primeiramente é preparado o reativo de Duquenois: adiciona-se 4 g de vanilina, 0,1 mL de acetaldeído e 200 mL de álcool etílico. Esta solução é então transferida para um tubo de ensaio onde já está contido uma porção da amostra que se deseja identificar. Após agitação, adiciona-se 2 mL de ácido clorídrico de forma delicada pela borda do tubo para que vá ao fundo dele e, assim, fiquem separados por diferença de densidade. Como resultado positivo, observa-se a presença de um halo azul-violáceo entre essas duas substâncias, indicando a presença de THC, como demonstrado na Figura 1. Nesse teste, o THC é extraído da planta pelo Duquenois, ficando no meio líquido. Ele reage com o ácido clorídrico, mudando sua composição e conseqüentemente, mudando a cor do meio.

FIGURA 1 – DEMONSTRAÇÃO DE TESTE DE TRIAGEM POSITIVO PARA MACONHA COM HALO AZUL-VIOLÁCIO.



FONTE: Autoria própria

2.3.2 Cocaína

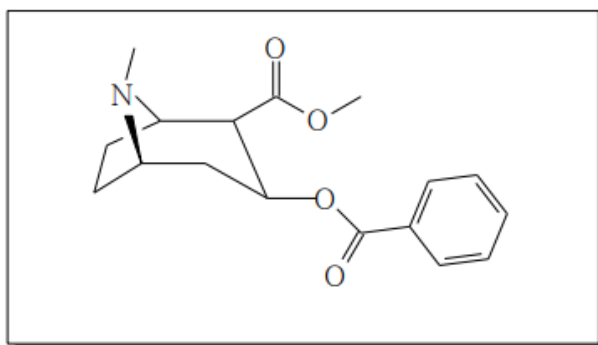
A cocaína é o principal alcaloide encontrado nas folhas da planta *Erythroxylon coca*, também conhecida como coca boliviana. Originária da zona tropical dos Andes, essa planta cresce na forma de arbusto com folhas brancas e pequenas e frutos vermelhos, se

desenvolvendo melhor em climas quente e úmido. Ela consegue se manter produtiva por um período de 30 anos ou mais, rendendo 3 a 4 colheitas por ano (FABRI, 2011).

Escavações arqueológicas do Peru e da Bolívia sugerem que seu uso pelas grandes civilizações pré-colombianas data de mais de 4500 anos. Essas civilizações utilizam a folha da coca em rituais religiosos e curativos. Antes da chegada dos espanhóis à América o uso da coca era privilégio da nobreza Inca, tendo se popularizado entre os índios no período colonial e posteriormente, se disseminado pelo mundo (FERREIRA; MARTINI, 2001).

A cocaína é uma droga relativamente recente. Somente em 1859 que o químico alemão Albert Niemann isolou, pela primeira vez, o extrato da cocaína entre os demais alcaloides presentes na planta, o qual representava 80% do total de alcaloides. Os demais alcaloides compreendem a nicotina, a cafeína e a morfina e em menores quantidades, a tiamina, a riboflavina e o ácido ascórbico. A estrutura química da cocaína (Figura 2), no entanto, só foi caracterizada em 1898 e, em 1902, Willsatt conseguiu produzir em laboratório a cocaína sintética (FERREIRA; MARTINI, 2001).

FIGURA 2 – ESTRUTURA QUÍMICA DA COCAÍNA (C₁₇H₂₁NO₄).



FONTE: NEVES; YAMASHITA, 2013

Essa droga pode se apresentar em diferentes aspectos, como pó, grânulos, pedras e pasta, sendo principalmente consumida nas formas de sal (cloridrato de cocaína) e base-livre (crack). O cloridrato de cocaína é um sal solúvel em água, obtido na forma de pó branco e cristalino, sendo suas principais vias de administração a intravenosa e intranasal. O crack, por sua vez, se apresenta como pedra, é pouco solúvel em água, mas facilmente volatilizado quando aquecido (CONCEIÇÃO, 2014), podendo então ser fumado (PASSAGLI, 2007). O esquema do refino dos padrões de uso da cocaína está demonstrado na Figura 3.

produzindo a sensação de euforia, prazer, ansiedade, estado de alerta, aumento do ritmo respiratório, diminuição do apetite, insônia, entre outros. Subsequentemente, observa-se uma redução destes neurotransmissores a valores abaixo do normal, levando os usuários a um estado de depressão (CARLINI, et al 2001; FABRI, 2011; NEVES; YAMASHITA, 2013).

O uso prolongado da cocaína faz com que o cérebro se adapte e dependa desta substância para funcionar normalmente, assim, quando o indivíduo para de usar a droga e a quantidade de dopamina na fenda sináptica reduz, pode apresentar fadiga, depressão e humor alterado (FABRI, 2011), podendo ocasionar maior suscetibilidade ao comportamento violento (NEVES; YAMASHITA, 2013). A dependência da cocaína é um grande desafio da saúde pública, já que resulta em significativo número de problemas médicos, psicológicos e sociais, incluindo a violência e a criminalidade (PASSAGLI, 2007).

A técnica utilizada para a identificação preliminar de cocaína é o Teste de Scott. Em uma placa escavada coloca-se a amostra e adiciona-se uma solução de tiocianato de cobalto a 0,5%, de cor rosa. Em seguida adiciona-se 2 a 3 gotas de uma solução de ácido clorídrico diluído 1:5 à amostra. Como resultado positivo, observa-se o aparecimento de uma coloração azul devido a interação do tiocianato de cobalto, em meio ácido, com a cocaína, como demonstrado na Figura 4, indicando a possível presença de cocaína na amostra (PASSAGLI, 2007). Esse teste não é específico, já que vários outros fármacos e substâncias reagem com o tiocianato e produzem a mesma resposta. Dessa forma, é obrigatória a realização de outras técnicas para se confirmar o resultado, aumentando, assim, a segurança na identificação da cocaína e minimizando os resultados falso-positivos (MOREAU; SIQUEIRA, 2016).

FIGURA 4 – DEMONSTRAÇÃO DE TESTE DE TRIAGEM POSITIVO PARA COCAÍNA, EVIDENCIANDO A COLORAÇÃO AZUL-TURQUESA.



FONTE: Autoria própria

2.4 Exame toxicológico de constatação definitiva

Dadas as limitações dos testes colorimétricos, é necessário que os resultados positivos obtidos passem por técnicas mais específicas, com princípios físico-químicos distintos dos ensaios anteriores, para que se confirme o resultado, garantindo a qualidade do laudo final e evitando equívocos analíticos (BORDIN et al, 2012).

Para a constatação definitiva das substâncias, utiliza-se o método de cromatografia em camada delgada, um método de análise qualitativa que possibilita a determinação da identidade de uma amostra por comparação com um padrão (SILVA, 2009). Além disso, a CCD é um método simples, rápido e econômico (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998)

Na cromatografia em camada delgada, a fase estacionária é composta por uma fina camada de sílica gel depositada sobre uma placa de vidro (sílica gel G 60 - espessura 250 µm). A fase móvel se altera dependendo do tipo de substância que se deseja analisar.

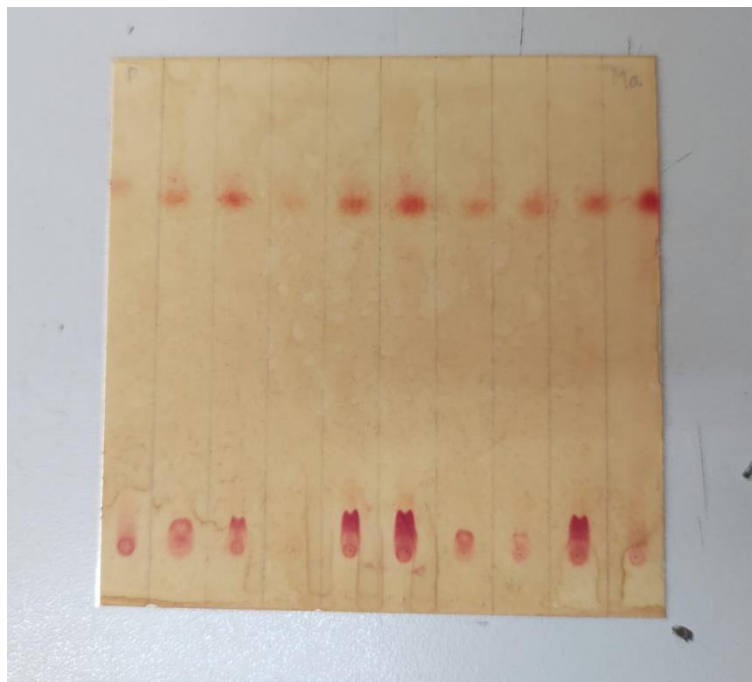
2.4.2 Maconha

A preparação das amostras se dá adicionando-se 1,0 mL de éter de petróleo para 0,2 g de cada amostra. O éter atua como um solvente extrator do THC. Estas amostras são aplicadas na cromatoplaça, juntamente com a substância entorpecente padrão, com o auxílio de um tubo capilar de vidro. A substância padrão, nesse caso a maconha, tem como objetivo servir de base para comparar a pureza e a presença do princípio ativo frente às amostras testadas.

Para a fase móvel, é utilizada uma solução de tolueno e clorofórmio na proporção de 7:3. A placa é inserida na cuba, já contendo a fase móvel, de modo que só a base da placa fique em contato com a solução. A cuba é, então, tampada e a corrida acontece até que o solvente atinja a altura desejada.

Após a corrida, é aplicado o revelador, o qual consiste numa mistura de 1 g do reagente Fast Blue diluído em 100 mL de água destilada. Após a aplicação, deve-se deixar a placa secar. Como resultado positivo, observam-se manchas de coloração avermelhada com o tempo de retenção igual ao do padrão canabinoide utilizado, como demonstrado na Figura 5.

FIGURA 5 – CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA UTILIZADA COMO TESTE DE CONSTATAÇÃO DEFINITIVA PARA MACONHA.



FONTE: Autoria própria

2.4.3 Cocaína

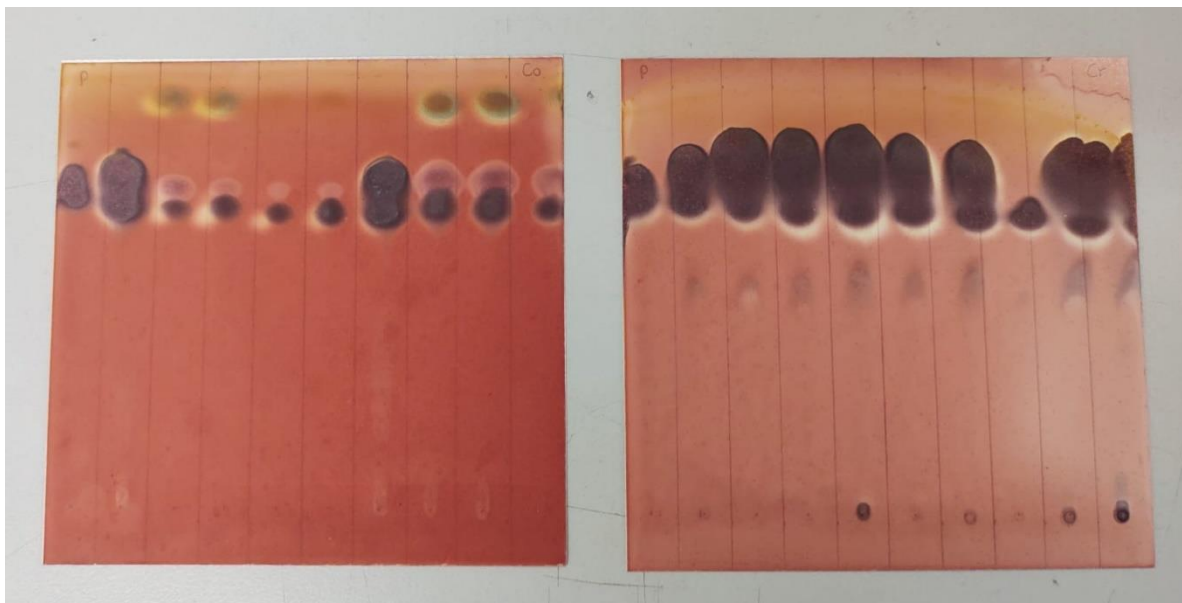
Para a cocaína, o preparo das amostras se dá com a adição de clorofórmio e éter etílico na proporção de 2:1, que atua como extrator do alcaloide presente na cocaína. Posteriormente, elas são aplicadas na cromatoplaça com o auxílio de um tubo capilar.

Como fase móvel, é utilizado uma solução de clorofórmio e metanol na proporção de 1:1. A placa é inserida na cuba, já contendo a fase móvel, de modo que só a base da placa fique em contato com a solução. A cuba é, então, tampada e a corrida acontece até que o solvente atinja a altura desejada.

Após a corrida, é aplicado o revelador, o qual consiste numa solução de 1 g de cloreto de platina, 20 g de iodeto de potássio e 400 mL de água destilada. Após a aplicação, deve-se deixar a placa secar.

Como resultado positivo, forma-se uma mancha violeta, violeta-azulado, violeta-amarronzado ou violeta-acinzentado, indicando a formação do precipitado decorrente do complexo alcaloide-iodoplatina, como demonstrado na Figura 6.

FIGURA 6 – CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA UTILIZADA COMO TESTE DE CONSTATAÇÃO DEFINITIVA PARA COCAÍNA (À ESQUERDA) E CRACK (À DIREITA).



FONTE: Autoria própria

3. DISCUSSÃO

A criminalística utiliza procedimentos técnicos baseados em métodos desenvolvidos e inerentes às diversas áreas, para assim, auxiliar e informar as atividades policiais e judiciárias de investigação criminal (GARRIDO; GIOVANELLI, 2009). As análises toxicológicas que tem finalidade forense podem fornecer evidências essenciais para a elucidação do crime e a base de um diagnóstico confiável é a realização de uma análise eficiente, sendo de grande importância o conhecimento da abrangência da técnica analítica utilizada (BORDIN et al, 2012).

Os métodos de triagem, geralmente testes colorimétricos, empregados para a constatação inicial de entorpecentes tem como objetivo verificar a presença ou ausência de uma determinada classe ou grupo de compostos. Dessa forma, a escolha de um método de triagem é fundamental, pois é ela que vai definir o conjunto de analitos que serão procurados e detectados. Esses testes colorimétricos embora sejam populares devido a sua facilidade de execução e baixo custo, não apresentam muita especificidade, sofrendo interferências de outras substâncias, e por isso, são indicados apenas como testes de triagem, necessitando de técnicas mais específicas para se confirmar o resultado.

Pelas limitações dos testes colorimétricos, a cromatografia entra como um método clássico amplamente usado para a constatação definitiva de entorpecentes. As técnicas cromatográficas são consideradas como os melhores métodos analíticos para a identificação de drogas, devido sua seletividade e capacidade tecnológica. No caso do IC de Botucatu, a técnica cromatográfica utilizada é a em camada delgada, um método rápido, confiável e de baixo custo. A cromatografia é utilizada em vários campos da química forense, sendo essencial para garantir um resultado de qualidade e evitar equívocos analíticos.

Como uma instituição independente e regida pelo Estado, o Instituto de Criminalística apresenta dificuldades e impedimentos comuns a quase todos os órgãos públicos do Brasil. A maior questão observada é a falta de recursos financeiros, atingindo diretamente a qualidade do serviço prestado por carência de material para a realização dos procedimentos previstos.

A realização dos exames toxicológicos acontece em ambiente com certa precariedade, se valendo de estrutura adaptada. Os procedimentos, dessa forma, podem acarretar prejuízos ao profissional, já que não possui condições adequadas de trabalho, segurança e bem-estar e, também, ao meio ambiente por não haver descarte plenamente seguro de resíduos. A carência de investimento tecnológico e de servidores suficientes causam impactos significativos na produção do saber científico e, conseqüentemente, criminal. Por fim, a falta de preparo dos profissionais que atuam em conjunto com a Polícia Técnico-científica prejudica todo o trabalho pericial por, diversas vezes, não atenderem a cadeia de custódia, procedimento indispensável para a idoneidade dos resultados finais.

Mesmo diante de tantos obstáculos, os procedimentos técnicos realizados no Instituto de Criminalística conseguem gerar resultados extremamente satisfatórios, seja pela inquestionabilidade das técnicas empregadas ou pelo grande empenho do profissional perito criminal. Isso acarreta em resultados finais confiáveis e poucas vezes questionáveis, garantindo confiança no trabalho pericial em todas as áreas que abrangem a criminalística, sendo a toxicologia uma das áreas com maior idoneidade por apresentar cadeia de custódia rigorosa, metodologia e tecnologia baseadas em conhecimento científico e disponível para todo o Instituto.

4. CONCLUSÃO

A toxicologia forense apresenta um papel indispensável na constatação de substâncias entorpecentes e conta com técnicas simples e seguras para a identificação dos princípios ativos que se deseja encontrar, especialmente nos casos de maconha e cocaína que são os realizados pelo Instituto de Criminalística de Botucatu. Todos os procedimentos técnicos referentes às áreas da ciência forense empregados para a elucidação de crimes pela Polícia Técnico-científica se mostram eficientes e confiáveis, atendendo às necessidades jurídicas como objetivo final, apesar de todos os obstáculos presentes nas instituições estaduais do Brasil.

Os conhecimentos químicos e toxicológicos impactam de forma grande no processo investigativo da perícia forense, por isso é importante salientar a necessidade de investimento em técnicas analíticas, assim como em uma infraestrutura de qualidade, para o aprimoramento dos peritos e de suas respectivas funções para um melhor resultado das análises laboratoriais forenses.

5. REFERÊNCIAS

AIELLO, T. B.; PEÇANHA, M. P. Análise toxicológica forense: da ficção científica à realidade. **Revista Eletrônica de Biologia**, v. 4, n. 3. 2011.

ALVES, S. R. **Toxicologia forense e saúde pública: Desenvolvimento e avaliação de um sistema de informações como potencial ferramenta para a vigilância e monitoramento de agravos decorrentes da utilização de substâncias químicas**. 2005. 132 p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública – FIOCRUZ. 2005.

AMORIM, A. F. V. **Métodos cromatográficos**. 1. ed. Fortaleza: EdUECE, 2019.

AZEREDO, F. S. *et al.* Validação de técnica analítica em cromatografia em camada delgada comparativa para identificação de fármacos anorexígenos sintéticos em produtos fitoterápicos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 1, p. 17-24. 2004

BELE, A. A.; KHALE, A. An overview on thin layer chromatography. **IJPSR**, Raipur, v. 2, n. 2, p. 256-267. 2011.

BASTOS, F. I. P. M. *et al.* III Levantamento nacional sobre o uso de drogas pela população brasileira. **ICICT/FIOCRUZ**. 2017

BORDIN, D. C. *et al.* Análise forense: pesquisa de drogas vegetais interferentes de testes colorimétricos para identificação dos canabinoides da maconha (*Cannabis Sativa* L.). **Quím. Nova**, São Paulo, v. 35, n. 10, p. 2040-2043. 2012.

BRASIL. Código de Processo Penal. 11 ed. São Paulo: JusPodivm, 2022.

BRUNI, A. T., VELHO, J. A., OLIVEIRA, M. F. **Fundamentos de Química Forense – Uma análise prática da química que soluciona crimes**. 1 ed. Campinas: Millenium Editora, 2012.

CARLINI, E. A. *et al.* Drogas psicotrópicas: o que são e como agem. **Revista Imesc**, v. 3, p. 9-35. 2001.

CARLINI, E. A. A história da maconha no Brasil. **J bras psiquiatr**, v. 55, n. 4, p. 314-317. 2006.

CARVALHO, D. C.; MÍDIO, A. F. Quality od cocaine seized in 1997 in the street-drug market of São Paulo city, Brazil. **Rev Bras Ciencias Farmacêuticas**, v. 39, n. 1, p. 71-75, jan/mar. 2003.

COLLINS, C. H. Cem anos das palavras cromatografia e cromatograma. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 889-890. 2006.

COLLINS, C. H. Michael Tswett e o “nascimento” da cromatografia. **Scientia Chromatographica**, São Carlos, v. 1, n. 1, p. 7-20. 2009.

CONCEIÇÃO, V. N. *et al.* Estudo do teste de Scott via técnicas espectroscópicas: um método alternativo para diferenciar cloridrato de cocaína e seus adulterantes. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 37, n. 9. 2014.

DADOS comparativos de apreensão de maconha e cocaína – 2013 a 2021. **Governo Federal**, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/pf/pt-br/aceso-a->

informacao/estatisticas/diretoria-de-investigacao-e-combate-ao-crime-organizado-dicor/comparativos_de_apreensao_de_maconha_e_cocaina.pdf/view>. Acesso em: 03 de jun. de 2022.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. **Química Nova Escola**, nº 7, p. 21-25, maio. 1998.

ETTRE, L. S. Chromatography: the separation technique of the 20th century. **Chromatographia**, v. 51, n. ½, p. 7-17, janeiro. 2000.

ETTRE, L. S. M.S. Tswett and the invention of chromatography, **LCGC Europe**, p. 2-7, setembro. 2003.

FABRI, Rodrigo; SIQUEIRA, Louise; FABRI, Angélica. Aspectos gerais, farmacológicos e toxicológicos da cocaína e seus efeitos na gestação. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 2, p. 13. 2011.

FERREIRA, P. E. M.; MARTINI, R. K. Cocaína: lendas, história e abuso. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 23, n. 2, p. 96-9. 2001.

FOLTRAN, R. K.; SHIBATTA, L. A ciência forense e as principais áreas auxiliares. **ATENÇÃO AO IDOSO AÇÃO MULTIPROFISSIONAL EM SAÚDE**, 2011.

FONTE, C. Comportamentos aditivos: Conceito de droga, classificações de droga e tipos de consumo. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, v. 3, p. 104-112. 2006.

FRUTUOSO, D. *et al.* **Limpeza e desinfecção de materiais e superfícies**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade de Santa Catarina.

FUKUSHIMA, A. R.; AZEVEDO, F. A. História da Toxicologia parte I – breve panorama brasileiro. **RevInter**, v. 1, n. 1, out. 2008

GARRIDO, R. G.; GIOVANELLI, A. Criminalística: origens, evolução e descaminhos. **Cadernos de ciências sociais aplicadas**, p. 43-60. 2009.

GOULART, D. S. **Aplicações das técnicas de cromatografia no diagnóstico toxicológico**. 2012. 37 p. Seminário (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás.

GONÇALVES, G. A. M.; SCHLICHTING, C. L. R. Efeitos benéficos e maléficos da Cannabis sativa. **Revista UNINGÁ Review**, v. 20, n. 2, p. 92-97, out/dez. 2014.

KALANT, H. Medicinal use of cannabis: History and current status. **Pain Res Manage**, v. 6, n. 2, p. 80-91. 2001.

LOPES, M.; GABRIEL, M. M.; BARETA, G. M. S. Cadeia de custódia: uma abordagem preliminar. **Visão Acadêmica**, v. 7, n. 1. 2006.

LINI, R. S. *et al.* Caracterização de fármacos por cromatografia em camada delgada. **Rev. Bras. Farm.**, v. 95, n. 1, p. 486-498. 2014.

MACHADO, M. M. Importância da cadeia de custódia para prova pericial. **RCML**, v. 1, n. 2, p. 8-12. 2017.

MOREAU, R. L. M; SIQUEIRA, M. E. P. B. **Toxicologia Analítica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

NETTO, O. B. Traficantes lançam a cocaína colorida. **Revista Perícia Federal**. Brasília, v. 1, n. 1, p. 14-16, março. 1999.

NEVES, G. O.; YAMASHITA, M. **Caracterização de amostras de cocaína apreendida pela polícia civil do estado de Rondônia**. 2013. 80 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) – Universidade Federal de Rondônia.

PAIN, S. A potted history. **Nature**, v. 525, setembro. 2015.

PASSAGLI, M. **Toxicologia Forense: Teoria e Prática**. Campinas: Millenium Editora LTDA, 2007.

PEREIRA, M. L. Intervenção Federal: requisição judicial. **Informativo Jurídico da Biblioteca Ministro Oscar Saraiva**, p. 195-200. 2015.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, jul./abr. 2002.

PINTO, G. A. T. *et al.* Avaliação da técnica de imunocromatografia para análise de drogas de abuso no contexto da química forense. **Rev. Bras. Crimin**, v. 4, n. 3, p. 28-37. 2015.

RADWAN, M. M. *et al.* Isolation and pharmacological evaluation of minor cannabinoids from high-potency Cannabis sativa. **J Nat Prod.**, v. 78, n. 6, p. 1271-1276, junho. 2015.

RIGONI, M. S.; OLIVEIRA, M. S.; ANDRETTA, I. Consequências neuropsicológicas do uso da maconha em adolescentes e adultos jovens. **Ciências & Cognição**, v. 8, p. 118-126, agosto. 2006.

ROSA, C. T. A. **Locais de crime contra a pessoa: recomendações técnicas para a padronização de procedimentos e metodologias**. Criminalística: procedimentos e metodologias, Campinas: Millenium Editora

SHERMA, J. Thin-layer chromatography in food and agricultural analysis. **J. Chromatogr. A**, v. 880, p. 129-147. 2000

SILVA, R. S. *et al.* Óleo essencial de limão no ensino da cromatografia em camada delgada. **Quim. Nova**, v. 32, n. 8, p. 2234-2237. 2009.

TARELHO, S. M. L. H. **Implementação de técnicas analíticas de determinação de benzodiazepinas aplicadas à Toxicologia Forense**. 2003. Tese de Doutorado - Universidade de Aveiro.