

UFSCar – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CCET – CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DQ – DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
Trabalho de Conclusão de Curso

ANA CAROLINE RANGEL DOS SANTOS

**APLICAÇÃO DA RMN_q NA QUÍMICA FORENSE: ANÁLISE
DE CANABINOIDES**

SÃO CARLOS

2025

ANA CAROLINE RANGEL DOS SANTOS

**APLICAÇÃO DA RMN_q NA QUÍMICA FORENSE: ANÁLISE
DE CANABINOIDES**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao
Departamento de Química da Universidade
Federal de São Carlos, para obtenção do título de
Bacharel em Química
Orientador(a): Prof. Dr. Tiago Venâncio

SÃO CARLOS

2025



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQ/CCET

Rod. Washington Luís km 235 - SP-310, s/n - Bairro Monjolinho, São Carlos/SP, CEP 13565-905

Telefone: (16) 33518206 - <http://www.ufscar.br>

DP-TCC-FA nº 23/2025/DQ/CCET

Graduação: Defesa Pública de Trabalho de Conclusão de Curso

Folha Aprovação (GDP-TCC-FA)

FOLHA DE APROVAÇÃO

ANA CAROLINE RANGEL DOS SANTOS

APLICAÇÃO DA RMNQ NA QUÍMICA FORENSE: ANÁLISE DE CANABINOIDES

Trabalho de Conclusão de Curso

Universidade Federal de São Carlos – Campus São Carlos

São Carlos, 03 de julho de 2025

ASSINATURAS E CIÊNCIAS

Cargo/Função	Nome Completo
Orientador	Prof. Dr. Tiago Venâncio
Membro da Banca 1	Dra. Marília Vilela Salvador
Membro da Banca 2	Dra. Dorai Periotto Zandonai



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Samuel Schwab, Professor(a)**, em 14/07/2025, às 09:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufscar.br/autenticacao>, informando o código verificador **1918066** e o código CRC **3BEFDA7A**.

Referência: Caso responda a este documento, indicar expressamente o Processo nº 23112.001933/2024-38

SEI nº 1918066

Modelo de Documento: Grad: Defesa TCC: Folha Aprovação, versão de 02/Agosto/2019

Dedico este trabalho aos meus pais,
Lucia e Osmario, que sob muito sol,
fizeram-me chegar até aqui, na
sombra.

AGRADECIMENTO

Agradeço aos meus pais, Lucia Rangel e Osmario Santos, que sempre sonharam comigo, me apoiaram em cada passo e fizeram o impossível para que eu chegasse até aqui. Sem o carinho, a presença constante e a confiança inabalável de vocês, esse momento não seria possível. Obrigada por estarem ao meu lado desde o início, quando esse sonho começou com uma ida pro Sul, e por permanecerem firmes mesmo com a distância e os anos. Vocês acreditaram em mim muito além do que eu mesma seria capaz, e me ensinaram que sonhos, com amor e coragem, realmente podem se tornar realidade. A maior sorte da minha vida é ter vocês como meus pais.

Ao meu irmão, Alberto Rangel, obrigada por sempre fazer questão de estar presente, por encarar horas de viagem só para me ver, por me arrancar risadas mesmo nos dias difíceis e por ser essa metade tão essencial de quem eu sou. É um privilégio dividir a vida contigo.

À minha família como um todo, mas especialmente à Clarice Cristina Rangel, Bruna Rangel, Agatha Cristina Rangel, Johnatas Chaves, João Fillipe Coelho, Nelson Santos, Diego Santos e aos meus padrinhos Eliana e Amauri Rangel — vocês são minha base. O cuidado, apoio e carinho que recebi de vocês nesses anos é algo que nunca vou conseguir retribuir à altura.

Aos meus amigos de vida: Ana Carla Lopes, Ana Paula Oliveira, Antonio Santana, Gabriel Andrade, Guilherme Andrade, Isabelle Macedo, Juliana Silva, Lucas Silva, Mariana Justino, Mila Lima e Vinicius Costa. Obrigada por nunca soltarem a minha mão, mesmo com a distância. Os conselhos, o afeto, as conversas intermináveis e os risos leves foram meu alicerce em tantos momentos. Vocês são um dos maiores presentes da minha vida — e parte fundamental de quem eu sou.

Aos amigos da graduação: Amanda Boni, Breno Rampinelli, Camila Pelizzer, Felipe Magdalena, Max Carmelo, Victor Sagava, Vinicius Jiricó e Welligton Pio — obrigada por fazerem dessa fase um capítulo leve e divertido. Pelas festas caóticas, pelos lanches sem fim, pelo cinema, shopping e macarrões de sábado... cada momento com vocês fez tudo valer mais a pena.

E em especial, ao Felipe Lopes e ao Leonardo Arabe — vocês não foram só grandes amizades, mas verdadeiros pilares que me impediram de desistir de tudo, inclusive de mim. Estiveram comigo nos piores dias e celebraram comigo os melhores. Vocês se tornaram parte da minha história de um jeito que nenhuma palavra vai traduzir por completo. Sou eternamente grata por ter cruzado o caminho de vocês.

Aos colegas e amigos do Laboratório de RMN da UFSCar, minha gratidão. Em especial, ao professor Antônio Gilberto, obrigada por me acolher no grupo e me dar a oportunidade de fazer parte dessa equipe. Ao Tiago Venâncio, por aceitar ser meu orientador nessa reta final. À minha equipe de estagiários — Heyder Carlos, João Paulo, Luiz Felipe e Victor Bachs — por tornarem o dia a dia mais leve e infinitamente mais divertido. À Paula Scarabotto, pelo apoio, atenção e paciência ao longo do meu aprendizado. À Luciana Vizzoto por todos os conselhos, conhecimento compartilhado e o acolhimento cheio de carinho. E ao Rafael Esteves, por sempre acreditar em mim mais do que eu julgo merecer — isso fez toda a diferença.

Por fim, mas com todo o amor do mundo, aos meus filhos de quatro patas, José Antônio, Bento e Mário. Sei que vocês jamais lerão esse agradecimento, mas são parte essencial da minha vida. É graças a esse amor puro e constante que os meus dias são infinitamente melhores. Vocês são alegria, companheirismo e amor em forma de rabo abanando.

A todos vocês, obrigada por tornarem minha existência uma vida que vale a pena ser vivida. Para além desse trabalho, agradeço por serem quem são — inclusive àqueles que passaram pela minha vida e, mesmo seguindo por outras estradas, deixaram sua marca em mim.

RESUMO

O consumo e o tráfico de drogas ilícitas constituem um dos principais desafios enfrentados pela sociedade contemporânea, afetando negativamente a saúde pública, a segurança e o sistema judiciário. Substâncias como os canabinoides e a cocaína figuram entre as mais problemáticas no contexto nacional, sendo frequentemente adulteradas com o objetivo de aumentar o volume comercializado e intensificar seus efeitos psicoativos. Essas práticas não apenas elevam a toxicidade dos compostos, como também dificultam sua correta identificação em análises periciais. Nesse cenário, a Química Forense desempenha um papel fundamental na identificação e quantificação dessas substâncias, fornecendo suporte técnico-científico para ações legais e estratégias de saúde pública. Dentre as técnicas analíticas disponíveis, destaca-se a Ressonância Magnética Nuclear Quantitativa (RMNq), por permitir a quantificação absoluta de compostos sem a necessidade de padrões externos idênticos à molécula, além de diferenciar estruturas químicas similares e detectar adulterantes com elevado grau de precisão. Este trabalho tem como objetivo investigar a aplicação da RMNq na análise forense de entorpecentes, com ênfase nos canabinoides, discutindo suas vantagens e limitações em relação a outras metodologias, como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a espectrometria de massas (EM). São também apresentados estudos que evidenciam a eficácia da técnica na determinação da pureza e na identificação de compostos ilícitos, contribuindo para o desenvolvimento de métodos mais robustos e confiáveis na área da química forense.

Palavras-chave: RMN quantitativa; Química Forense, Canabinoides.

ABSTRACT

The consumption and trafficking of illicit drugs represent major challenges for contemporary society, with direct impacts on public health, security, and the judicial system. Substances such as cannabinoids and cocaine are often adulterated to increase volume and enhance psychoactive effects, which not only raises their toxicity but also complicates their proper identification in forensic analyses. In this context, Forensic Chemistry plays a crucial role in the identification and quantification of these substances, providing technical and scientific support for legal actions and public health strategies. Among the available analytical techniques, Quantitative Nuclear Magnetic Resonance (qNMR) stands out for enabling absolute quantification of compounds without the need for external standards identical to the analyte, in addition to distinguishing similar chemical structures and detecting adulterants with high precision. This study aims to investigate the application of qNMR in forensic drug analysis, with an emphasis on cannabinoids, discussing its advantages and limitations in comparison to other methodologies, such as high-performance liquid chromatography (HPLC) and mass spectrometry (MS). Studies demonstrating the effectiveness of qNMR in determining purity and identifying illicit compounds are also presented, contributing to the development of more robust and reliable methods in forensic chemistry.

Key-words: Quantitative NMR; Forensic Chemistry; Cannabinoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do equipamento RMN com identificação dos principais componentes. ...	4.
Figura 2 - a) Sinal do FID obtido no domínio do tempo. b) Sinal do FID no domínio de frequência	5.
Figura 3 - Esquema de detecção e transmissão do sinal de RMN.....	6.
Figura 4 - Movimento de precessão dos núcleos originando um vetor magnetização do campo (M_0) na direção do campo aplicado (B_0).	7.
Figura 5 - Sequência de pulso de Inversão-Recuperação e seu efeito sobre a Magnetização.....	9.
Figura 6 - Representação de um diagrama de energia dos spins com a campo magnético igual a zero e diferente de zero.....	10.
Figura 7 - Triângulo de Pascal.....	11.
Figura 8 - Relação Sinal/Ruído para limite de detecção e quantificação por RMN.....	17.
Figura 9 - Planta Cannabis Sativa	21.
Figura 10 - Fitocanabinoide Δ^9 -tetrahydrocannabinol.....	22.
Figura 11 - Estruturas química dos Canabinoides Sintéticos.	23.
Figura 12 - Espectro de RMN de ^1H de óleo de semente de cânhamo enriquecido com CBD, CBDA, Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, THCA, CBG e CBN.....	26.
Figura 13 - Espectros de RMN de ^1H de 0,5 mg (em peso) de cada canabinoide, com 1 mg de antraceno como padrão interno.....	27.
Figura 14 - Espectros de RMN de ^1H a 60 MHz de THC (acima) e CBD (abaixo), com padrão interno e regiões de interesse destacadas para análise por RMN quantitativa (RMNq). O asterisco indica o pico residual do solvente CDCl_3	28.
Figura 15 - Espectro típico de RMN de ^1H de extrato etanólico de cânhamo da variedade Santhica.	29.
Figura 16 - Comparação entre os resultados obtidos por RMN e LC-MS/MS nas amostras de óleo de CBD analisadas. LOD (RMN): limite de detecção do método de RMN quantitativa; Δ^9 -THC: Δ^9 -tetrahydrocannabinol.	30.
Figura 17 - Cromatogramas obtidos por HPLC-UV/DAD da análise dos extratos etanólicos de cânhamo das amostras C1 (A) e C4 (B), com detecção em 210 nm	31.

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Categorias das Técnicas Analíticas.	25.
Tabela 2 - Tabela de comparação dos teores de canabinoides (mg/g) em inflorescências de cânhamo determinados por RMNq e HPLC.....	30.
Tabela 3 - Tabela Conteúdo de THC e CBD calculado (% p/p) obtido por RMN quantitativa (RMNq)	32.
Tabela 4 - Tabela Comparando resultados obtidos por RMN de bancada e HPLC.....	32.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

AM – Ácido Maleico

AQ – Tempo de Aquisição (*Acquisition Time*)

B₀ – Campo Magnético Externo Aplicado

CB1 – Receptor Canabinoide tipo 1

CB2 – Receptor Canabinoide tipo 2

CBD – Canabidiol

CBDA – Ácido Canabidiólico

CBG – Canabigerol

CDCl₃ – Clorofórmio Deuterado

CN – Concentração de Núcleos

DMS – Dimetilsulfona

DR – Resolução Digital (*Digital Resolution*)

DRX – Difração de Raios-X

D1 – Tempo de Espera entre Pulsos (*Delay Time*)

EM – Espectrometria de Massas

FID – Decaimento Livre de Indução (*Free Induction Decay*)

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (*High Performance Liquid Chromatography*)

IR – Infravermelho

LQ – Limite de Quantificação

LD – Limite de Detecção

M₀ – Vetor de Magnetização no Equilíbrio

M – Componente de Magnetização Detectável

MS – Espectrometria de Massas (*Mass Spectrometry*)

NS – Número de Varreduras (*Number of Scans*)

ppm – Partes por Milhão

RMN_q – Ressonância Magnética Nuclear Quantitativa

RG – Ganho do Receptor (*Receiver Gain*)

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RMN-¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Prótons de Hidrogênio

RMN-¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

S/R – Relação Sinal/Ruído

SC – Canabinoides Sintéticos (*Synthetic Cannabinoids*)

SNC – Sistema Nervoso Central

SW – Janela Espectral (*Spectral Width*)

SWGDRUG – *Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs*

T1 – Tempo de Relaxação Longitudinal (*Spin-Lattice Relaxation*)

T2 – Tempo de Relaxação Transversal (*Spin-Spin Relaxation*)

THC – Δ^9 -Tetraidrocanabinol

THCA – Ácido Tetraidrocanabinólico

UV – Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISÃO DA LITERATURA	3
3.1. Ressonância magnética nuclear (RMN)	3
3.1.1. CRITÉRIOS QUANTITATIVOS.....	13
3.1.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO	15
3.2. Química forense.....	18
3.3. Toxicologia forense	18
3.4. Drogas.....	19
3.4.1. CANABINOIDES	21
3.5. Identificação dos entorpecentes.....	24
3.6. Aplicação de RMNq na identificação de canabinoides	25
3.7. A RMN dentre as demais técnicas.....	29
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. INTRODUÇÃO

O consumo e o comércio de drogas ilícitas figuram entre os problemas mais graves enfrentados pela saúde pública e pela segurança em escala global. Substâncias como a maconha e seus derivados, incluindo os canabinoides naturais e sintéticos, estão entre as mais consumidas e, frequentemente, associadas a efeitos adversos à saúde, desenvolvimento de dependência química e impacto direto sobre o aumento da criminalidade. Além dos danos individuais, o tráfico de entorpecentes configura-se como um dos principais desafios à segurança pública, contribuindo para a instabilidade social e a violência urbana, seja pela disputa entre facções criminosas, seja pelos delitos cometidos por usuários em busca de sustento para o vício.

Considerando a relevância do combate ao tráfico, é imprescindível que as análises laboratoriais de drogas apreendidas forneçam dados precisos para auxiliar as investigações, contribuindo para a responsabilização penal e a compreensão dos riscos toxicológicos associados. Esses dados não apenas fundamentam juridicamente a aplicação da legislação penal vigente, como também subsidiam estudos toxicológicos voltados à avaliação dos riscos associados ao uso de drogas puras ou adulteradas. Além disso, os exames forenses contribuem para a formulação de políticas públicas mais eficazes no enfrentamento do tráfico e na redução dos danos decorrentes do consumo abusivo de entorpecentes.

No Brasil, os impactos do tráfico de cannabis sobre a sociedade são especialmente expressivos, estando diretamente associados à alta incidência de apreensões e ao encarceramento por delitos relacionados à posse, cultivo ou comercialização dessa substância. Segundo dados do Ministério da Justiça, a maconha figura entre as drogas mais apreendidas no país, evidenciando a dimensão do problema enfrentado pelas autoridades. O enfrentamento deste cenário exige ações integradas que envolvam desde operações de repressão até procedimentos de análise técnica nos laboratórios forenses. Conforme disposto na Lei nº 11.343/2006, a simples constatação pericial da natureza da substância por um profissional habilitado já é suficiente para configurar a materialidade do delito, o que reforça a importância de se utilizarem metodologias analíticas confiáveis, precisas e reprodutíveis.

A Química Forense desempenha um papel fundamental nesse processo, permitindo a caracterização detalhada dos compostos presentes nas amostras apreendidas e a detecção de possíveis adulterantes. No caso dos canabinoides, essas adulterações podem ter como objetivo tanto o aumento do volume do produto (por meio de substâncias como açúcares ou óleos vegetais) quanto a intensificação dos efeitos psicoativos, como ocorre na adição de

canabinoides sintéticos ou solventes industriais. A presença desses compostos não só altera a composição da droga, como pode aumentar significativamente sua toxicidade. Assim, o uso de técnicas analíticas é essencial para determinar a pureza das amostras, rastrear sua origem, avaliar seu potencial nocivo e fornecer suporte técnico-científico às investigações criminais.

Dentro da Química Forense, a Toxicologia Forense é a área especializada na detecção e análise de substâncias químicas em amostras biológicas ou materiais apreendidos. Essa área pode ser subdividida, por exemplo, em toxicologia post mortem, aplicada à investigação de mortes suspeitas, e ante mortem, voltada à análise de substâncias ilícitas em indivíduos vivos. As análises toxicológicas são geralmente realizadas a partir de matrizes como sangue, urina ou cabelo, permitindo a identificação de compostos psicoativos, como o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), e suas correlações com os efeitos observados no organismo humano.

Entre as técnicas mais relevantes empregadas nesse contexto, destaca-se a Ressonância Magnética Nuclear Quantitativa (RMNq). A RMN, já amplamente reconhecida por sua eficácia na elucidação estrutural de compostos orgânicos, apresenta na modalidade quantitativa um diferencial essencial: a capacidade de determinar a concentração absoluta de substâncias sem a necessidade de padrões externos idênticos a molécula ou curvas de calibração complexas. Essa técnica permite ainda a análise simultânea de múltiplos componentes, oferecendo uma visão completa da composição química da amostra — o que é especialmente útil na análise de extratos de cannabis, que podem conter dezenas de compostos distintos.

A RMNq tem se mostrado promissora na análise de canabinoides tanto em sua forma natural quanto em suas versões sintéticas, sendo capaz de diferenciar estruturas químicas semelhantes, identificar adulterantes e verificar a pureza das amostras com elevado grau de precisão. Quando comparada a métodos mais tradicionais, como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) ou a espectrometria de massas (EM), destaca-se por exigir menor preparo da amostra, proporcionar resultados reprodutíveis e preservar o material original para possíveis reanálises.

Este trabalho tem como objetivo investigar a aplicação da técnica de RMNq na análise de canabinoides apreendidos em contexto forense, discutindo suas vantagens, limitações e potenciais contribuições em comparação com outras técnicas analíticas. Serão também apresentados estudos de caso que ilustram a eficácia da metodologia na identificação de compostos, determinação da pureza e detecção de adulterações, contribuindo para o fortalecimento do uso da RMNq como ferramenta de apoio à Química Forense.

2. OBJETIVOS

O trabalho tem como objetivo investigar a aplicação da Ressonância Magnética Nuclear quantitativa (RMNq) na análise de substâncias ilícitas, com ênfase na identificação de canabinoides.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Ressonância magnética nuclear (RMN)

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma das técnicas espectroscópicas mais relevantes na investigação estrutural de compostos químicos. Sua aplicação permite identificar o ambiente químico de núcleos específicos, a intensidade (área) dos sinais — que reflete a quantidade relativa de núcleos responsáveis —, além da análise dos acoplamentos spin-spin entre núcleos vizinhos. Por essas razões, a RMN é amplamente utilizada em áreas como química, bioquímica, medicina e geologia ^{[1][2]}.

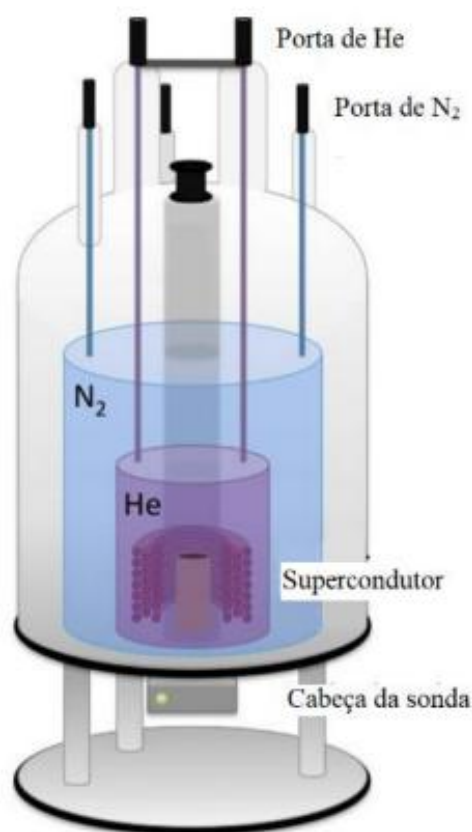
A observação do fenômeno de ressonância magnética ocorreu em 1945, de maneira independente, por dois grupos liderados por Felix Bloch e Edward Purcell, ambos trabalhando em universidades distintas. As metodologias adotadas também diferiam: Bloch mediu a tensão induzida por uma bobina disposta perpendicularmente ao campo magnético, baseada na coerência de fase dos spins; enquanto Purcell observava a energia irradiada por radiofrequência proveniente dos núcleos excitados. Ambos os trabalhos foram reconhecidos com o Prêmio Nobel de Física em 1952. Curiosamente, Purcell já mencionava, na ocasião, procedimentos iniciais para aplicações quantitativas da técnica ^{[3][4]}.

Avanços importantes ocorreram nos anos seguintes. Na década de 1950, constatou-se que a frequência de ressonância era influenciada diretamente pelo campo eletrônico ao redor do núcleo, revelando que a vizinhança química altera a resposta de cada nuclídeo. Posteriormente, nos anos 1960, a rotação da amostra (*spinning*) foi incorporada, trazendo maior homogeneidade ao campo e melhorando a resolução espectral. Ainda nessa época, foi desenvolvido o desacoplamento de spins, simplificando os espectros ao suprimir interações específicas ^[5].

Na década de 1970, foi introduzido o uso de ímãs supercondutores, que possibilitaram campos magnéticos mais intensos e estáveis, resultando em melhor sensibilidade e resolução espectral. Já nas décadas de 1980 e 1990, o uso de gradientes de campo e sequências de

multipulsos tornou-se rotina, ampliando as possibilidades da técnica tanto para aplicações acadêmicas quanto industriais ^[5]. O espectrômetro de RMN moderno é composto por um campo magnético constante e homogêneo, gerado por uma bobina supercondutora. Para garantir a supercondutividade, essa bobina é resfriada com hélio líquido (~ 4 K), e envolta por um segundo reservatório de nitrogênio líquido (~ 77 K), que reduz a evaporação do hélio. A sonda do espectrômetro abriga bobinas de radiofrequência responsáveis por excitar a amostra e detectar os sinais emitidos. Essas bobinas devem apresentar uniformidade na excitação e elevada sensibilidade à detecção, mesmo em amostras diluídas ou instáveis (Figura 1) ^{[5][6][7][8]}.

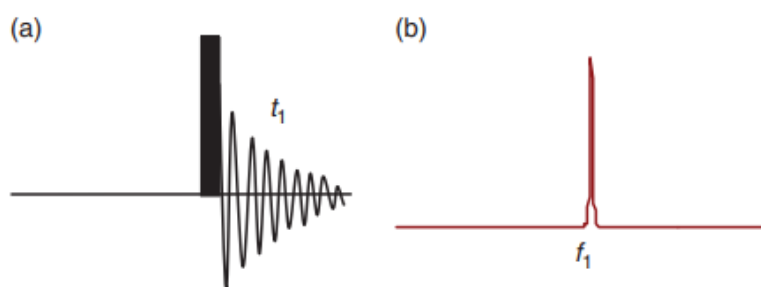
Figura 1. Esquema do equipamento RMN com identificação dos principais componentes.



Fonte. CLARIDGE, T. D. W. High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2016.

O sinal observado na RMN é conhecido como decaimento livre de indução (FID, do inglês *Free Induction Decay*), resultante da relaxação dos núcleos ao retornarem ao estado de equilíbrio térmico (Figura 2.a). Esse sinal é convertido, via Transformada de Fourier, em um espectro representado no domínio da frequência (Figura 2.b) tornando um espectro interpretável com picos em frequências discretas (uma para cada onda cosseno no FID original) ^{[5][6][8]}.

Figura 2.a. Sinal do FID obtido no domínio do tempo. **2b.** Sinal do FID no domínio de frequência

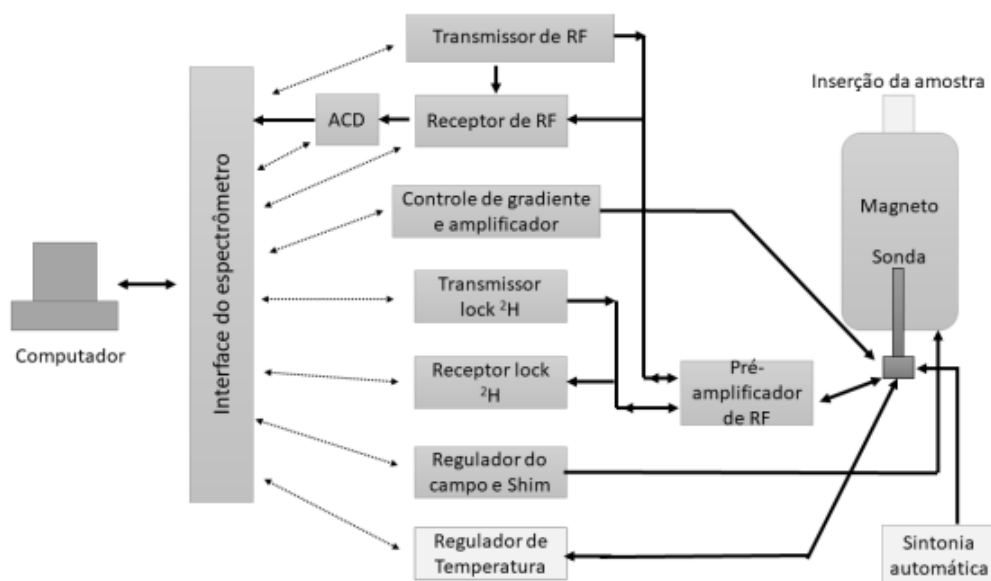


Fonte. RINALDI, P. L.; MONWAR, M. Two-Dimensional NMR. In: Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry. Oxford: Elsevier, 2017. p. 475–487.

De forma geral, o caminho percorrido pelo sinal gerado até alcançar o sistema de processamento do espectrômetro pode ser dividido em etapas específicas (Figura 3). Inicialmente, a amostra, ao ser submetida a um campo magnético externo, permite que os núcleos com spin interajam com uma radiação de radiofrequência característica. Esse estímulo promove uma transição energética do núcleo para um estado excitado. Quando o sistema retorna ao estado de equilíbrio, parte dessa energia é devolvida na forma de ondas de rádio, compondo o sinal que será detectado ^{[5][6][7]}.

A captação desse sinal ocorre por meio das bobinas posicionadas na sonda do equipamento. A radiofrequência coletada segue, então, para um pré-amplificador, que tem como função reforçar eletronicamente a intensidade do sinal recebido. A partir daí, o sinal amplificado é conduzido até o console, composto por diversos circuitos e placas eletrônicas que regulam os parâmetros do experimento — como os pulsos de radiofrequência, o ajuste fino da homogeneidade do campo magnético por meio das bobinas de *shim*, e o próprio sistema de recepção do espectro ^{[5][6][7]}.

Figura 3. Esquema de detecção e transmissão do sinal de RMN.



Fonte. Elaborado a partir de CLARIDGE, T. D. W. High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2016.

A técnica de RMN, assim como outras formas de espectroscopia como ultravioleta (UV) e infravermelho (IR), baseia-se na interação da matéria com radiação eletromagnética. No entanto, o tipo de interação observado na técnica de RMN é característico: o sinal espectral obtido está diretamente relacionado ao comportamento de uma propriedade intrínseca dos núcleos atômicos, denominada spin nuclear. Essa propriedade é descrita por um número quântico específico, o número quântico de spin (I), cujos valores podem ser tanto inteiros quanto fracionários ($0, \frac{1}{2}, 1 \dots$), dependendo do isótopo em questão ^[9].

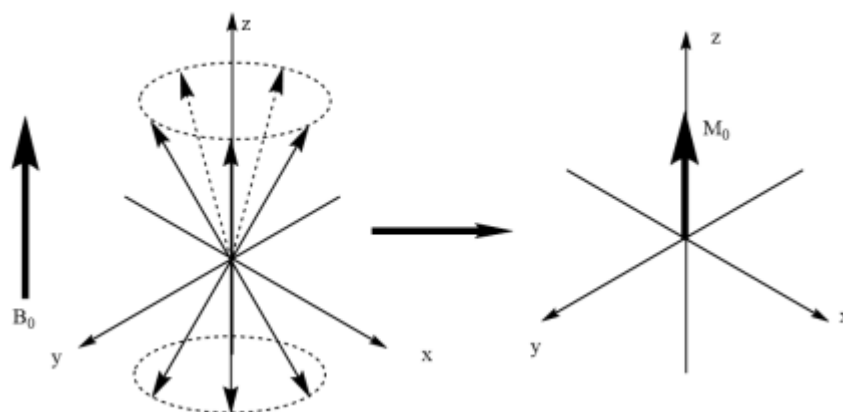
Sob uma perspectiva macroscópica, pode-se interpretar o spin nuclear, como uma pequena esfera com carga positiva que se movimenta circularmente no núcleo em torno de um eixo, esse movimento rotacional gera dois efeitos físicos: o dipolo magnético, que será expresso como momento magnético nuclear (μ) e um momento angular (P) ^{[5][6][7][10]}. O número de estados de spins permitidos é determinado pela relação $2I+1$, podendo assumir valores a partir de zero ou múltiplos de $\frac{1}{2}$. No caso de núcleo com spin $\frac{1}{2}$ há dois estados de spin possíveis $+\frac{1}{2}$ e $-\frac{1}{2}$, os quais se orientam em sentidos opostos no campo magnético externo ^[10].

Nos casos em que $I=0$, o núcleo não apresenta momento angular ou magnético, portanto, não possui spin nuclear, tornando-se inativo na técnica de RMN. Comumente, os núcleos em que mais se obtém espectros de RMN apresentam a condição de $I=\frac{1}{2}$ e possuem distribuição de carga esférica e uniforme ^[9].

Núcleos com spin $\frac{1}{2}$ apresentam dois níveis energéticos distintos. O estado de menor energia ocorre quando o spin está alinhado ao campo magnético externo (B_0), sendo representado por $I = +\frac{1}{2}$, enquanto o estado de maior energia corresponde aos spins opostos a B_0 , ou seja, $I = -\frac{1}{2}$. Como resultado, forma-se um pequeno desequilíbrio populacional, com ligeiramente mais núcleos no estado de menor energia. Esse desbalanceamento é chamado de excesso populacional e é essencial para que ocorra o fenômeno de ressonância. A absorção de energia acontece de forma quantizada, e a diferença energética entre os dois estados é expressa por ΔE , que depende diretamente da intensidade do campo magnético. Ou seja, quanto maior o B_0 , maior será ΔE , o que amplifica o excesso populacional e, conseqüentemente, a intensidade do sinal detectado ^[10].

Para compreender esse processo, pode ser usado um modelo vetorial clássico como apresentado na figura 4, que demonstra o comportamento do núcleo em termos de movimento de precessão. O momento magnético do núcleo gira ao redor do eixo z, que corresponde à direção do campo B_0 . Esse movimento gera uma frequência característica chamada de frequência de Larmor, que coincide com a frequência da radiação de radiofrequência aplicada. Quando essas frequências se alinham, ocorre o acoplamento ressonante, possibilitando a absorção da energia necessária para a transição entre os estados de spin. A soma vetorial do movimento de precessão de todos os núcleos gera o chamado vetor de magnetização (M_0), orientado ao longo do eixo z ^{[9][10]}.

Figura 4. Movimento de precessão dos núcleos originando um vetor magnetização do campo (M_0) na direção do campo aplicado (B_0).



Fonte. Elaborado a partir de SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005. p. 127–315.

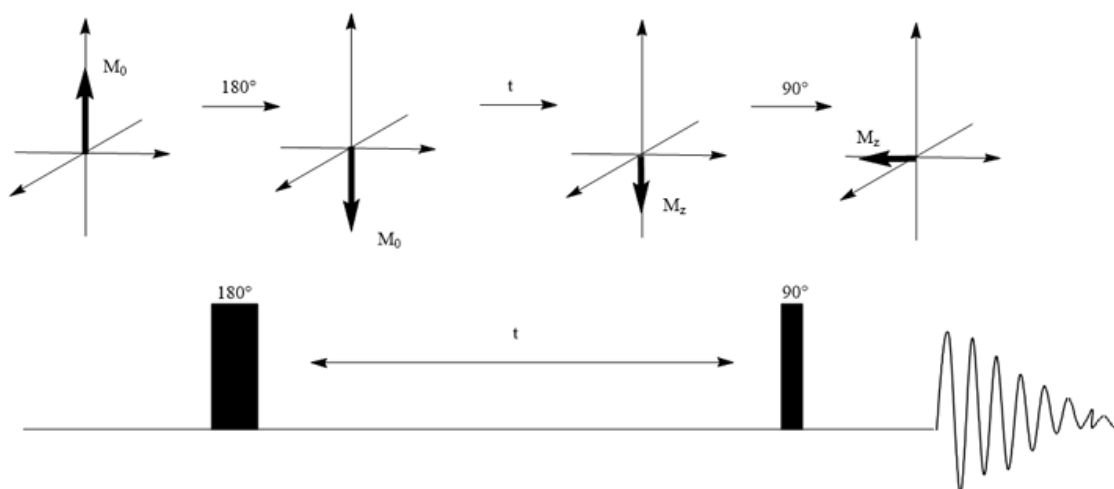
Quando aplicado um pulso de radiofrequência (rf), o vetor de magnetização longitudinal (M_0), inicialmente orientado ao longo do eixo z, sofre um desvio em direção ao plano horizontal (xy). Esse desvio gera uma nova componente transversal de magnetização (M), que é a responsável pela emissão do sinal detectável. Esse componente é registrado durante um intervalo conhecido como tempo de aquisição (AQ). Nesse período, à medida que os núcleos precessionam e gradualmente retornam ao seu estado de equilíbrio térmico, o sinal resultante diminui exponencialmente, originando o que se conhece como decaimento livre de indução (FID – *Free Induction Decay*) [9].

Entre os aspectos mais relevantes para a ocorrência da ressonância está o processo de relaxação, definido como o tempo necessário para que os núcleos excitados retornem completamente ao estado fundamental de equilíbrio térmico após a ação do pulso de radiofrequência [5][6][10]. Diferente de outras técnicas espectroscópicas, baseadas em transições eletrônicas, a RMN apresenta tempos de relaxação significativamente mais longos — em alguns casos, a recomposição do estado de equilíbrio pode demorar vários segundos ou até minutos. Por isso, é incorreto considerar a relaxação como um evento instantâneo ou espontâneo. A recomposição do equilíbrio é fortemente influenciada por interações locais entre os spins e pelo movimento aleatório das moléculas. Essas movimentações geram um campo magnético flutuante, e quando esse campo momentaneamente oscila na mesma frequência da frequência de Larmor, ele induz o processo de relaxação. Caso a relaxação não se complete antes da aplicação de um novo pulso, o sinal detectado poderá ser comprometido, já que parte dos núcleos ainda estará fora do estado de equilíbrio. Isso resulta na chamada saturação do sinal, afetando negativamente a sensibilidade do espectro e, consequentemente, a confiabilidade da análise [5][6][10].

A relaxação pode ocorrer de duas formas: relaxação longitudinal (T_1) e relaxação transversal (T_2). O T_1 é o mais conhecido, sendo também nomeado de relaxação spin-rede se trata de um processo entálpico, onde o equilíbrio populacional é restituído ($N_\alpha > N_\beta$) devido à perda de energia transferida para os spins em forma de calor [6]. Com esta explicação, fica mais claro o motivo da nomenclatura spin-rede, pois a energia perdida é dissipada pela rede estrutural de tal forma que a eficiência é influenciada pela maneira como a molécula se movimenta por essa rede, temperatura e viscosidade [11]. Sendo definido então que o tempo ideal de recuperação pode ser estimado a partir de $5T_1$, momento em que cerca de 99,33% dos spins se encontram novamente em situação de equilíbrio. O hidrogênio, possui valores de T_1 entre 0,5 e 5 segundos, enquanto o ^{13}C o tempo de relaxação costuma atingir até 10 segundos, podendo ultrapassar esse

valor dependendo do ambiente químico do núcleo. Portanto, para um T_1 igual a 3 segundos é ideal aguardar 15 segundos para assegurar que a relaxação tenha sido completa. Experimentalmente, a maneira mais rápida de se medir o T_1 é realizar o experimento de inversão-recuperação (*inversion recovery*) onde realiza-se uma perturbação do equilíbrio do spin e sequencialmente se aplica um pulso de radiofrequência a 180° para inverter a população ($(N_\alpha > N_\beta)$) conforme demonstrado na figura 5 [5][6][7].

Figura 5. Sequência de pulso de Inversão-Recuperação e seu efeito sobre a Magnetização.



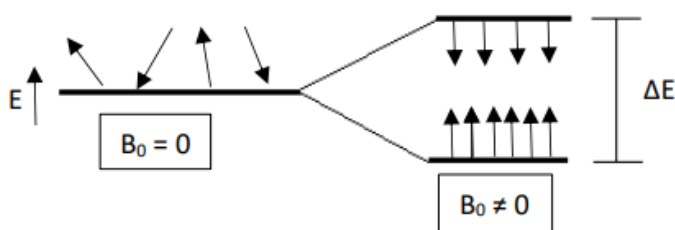
Fonte. Elaborado a partir de SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005. p. 127–315.

A relaxação transversal, ou relaxação spin-spin, ocorre naturalmente e de maneira simultânea com a T_1 . Os dois mecanismos de relaxação são diferentes pois T_1 ocorre na perda de energia dos spins para o sistema, e T_2 ocorre por meio do processo conhecido como *flip-flop*, ou simplesmente a troca de energia entre os spins através de processos entrópicos [6].

Cada próton presente em uma molécula pode ressoar em frequências distintas, dependendo do ambiente eletrônico ao seu redor. Em um campo magnético externo, os elétrons que circundam os núcleos geram um momento magnético próprio (μ), o qual se alinha ao campo B_0 e afeta o grau de blindagem dos prótons. Quando o spin do núcleo se orienta paralelamente ao campo (α), ocorre uma redução da blindagem eletrônica, fazendo com que os sinais se desloquem para regiões de maior frequência. Por outro lado, quando o spin está antiparalelo ao campo (β), há aumento da blindagem, e a frequência de ressonância do próton é deslocada para valores menores. Cada orientação corresponde a um nível de energia específico, o que gera uma diferença populacional entre os estados, resultando em frequências de absorção distintas [6][7].

A Figura 6 ilustra esse fenômeno, apresentando um diagrama que compara o comportamento dos spins em um núcleo de spin $\frac{1}{2}$, tanto na ausência quanto na presença de um campo magnético externo. O sinal de RMN é detectado no momento em que o núcleo, após absorver energia quantizada, retorna ao seu estado fundamental, liberando essa energia na forma de radiofrequência (rf) [5][6].

Figura 6. Representação de um diagrama de energia dos spins com a campo magnético igual a zero e diferente de zero.



Fonte. Elaborado a partir de CLARIDGE, T. D. W. High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2016.

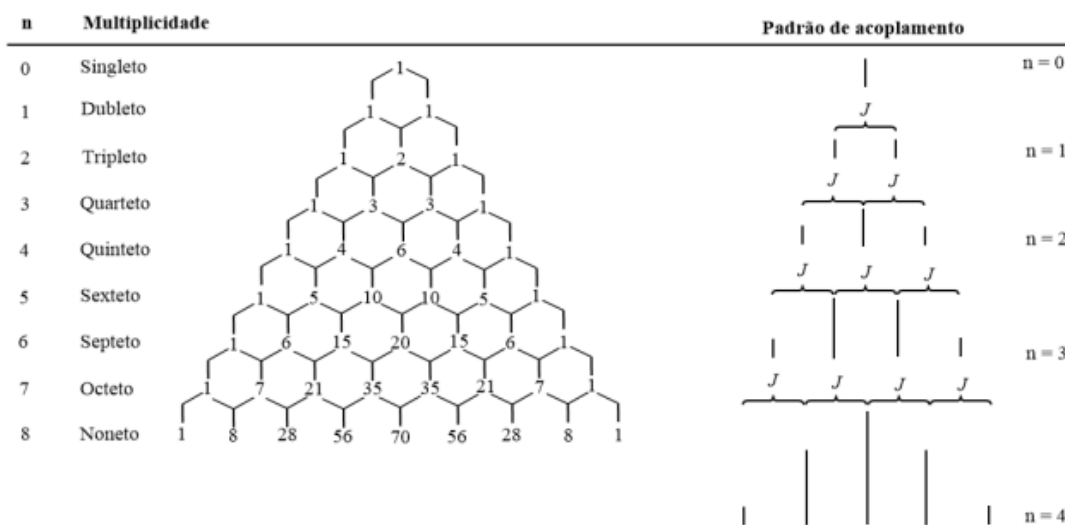
Quando os núcleos estão mais blindados eletronicamente, seus sinais de ressonância aparecem deslocados para regiões de menor frequência no espectro, geralmente posicionadas à direita. Já os núcleos com menor blindagem apresentam sinais em frequências mais elevadas, localizadas à esquerda do espectro. Além da influência do campo gerado pelos elétrons ao redor do núcleo, há também o efeito dos campos magnéticos criados por prótons vizinhos, que interferem nos sinais observados. Isso ocorre por meio do acoplamento entre os spins nucleares, fenômeno que provoca a divisão dos sinais em múltiplas componentes — ou seja, define a sua multiplicidade. Esse padrão de divisão pode ser determinado por meio da Equação 1, na qual I representa o número quântico de spin do núcleo e n o número de núcleos acoplados a ele [5][6].

$$m = 2nI + 1$$

Eq.1

Deste modo, o ^1H quando $I = \frac{1}{2}$ as multiplicidades do sinal serão dadas pela forma $n+1$. Se acaso não houver acoplamento com outro núcleo $n=0$ e, portanto, $m=1$ sendo visualizado no espectro um singlete. Quando $n=1$, $m=2$, sendo observável um dublete e assim sucessivamente. A intensidade na qual esses sinais irão apresentar seguem o Triângulo de Pascal (Figura 7) [5][6].

Figura 7. Triângulo de Pascal



Fonte. Elaborado a partir de SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 7. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005. p. 127–315.

Para obtenção de um espectro que possua boa sensibilidade e resolução, é ideal que alguns parâmetros sejam avaliados, dentre estes tem-se o número de varredura (NS), tempo de aquisição (AQ), número de pontos (TD), janela espectral (SW), tempo de relaxação (T_1) e ganho do receptor (RG). Em espectros quantitativos, o tempo de espera fundamental deve obedecer a relação $D_1 + AQ = 5T_1$, sendo D_1 o tempo de espera entre um pulso e outro ^{[5][9]}.

A relação sinal/ruído é um fator que pode influenciar na percepção da resolução de um espectro, especialmente em sinais de baixa intensidade, dificultando a distinção entre sinais próximos. Embora não seja um fator determinante direto da resolução espectral, o aumento dessa relação contribui para uma melhor sensibilidade do equipamento. Na equação 2, são apresentados os parâmetros que podem ser modificados para obter um aumento desta relação (S/R) ^{[5][9]}.

$$S/R \propto \sqrt{N} A T_s^{-1} \times B_0^{3/2} \times \gamma^{5/2} \times T_2^* (NS)^{1/2}$$

Eq.2

Onde, N é o número de mols, T_s a temperatura, NS número de varreduras, A a abundância do núcleo e T_2^* é a combinação de duas formas em que o campo magnético pode variar na amostra: 1) variação a partir da inhomogeneidade do campo magnético estático; 2) aumento do campo magnético flutuante devido a relaxação natural (interação inter e intramoleculares da amostra), e o campo magnético fixo. Conforme for maior esta relação,

maior será a sensibilidade do espectro obtido. Desta forma, observa-se que com o aumento do número de varreduras do espectro, há o aumento da relação S/R [6]. Este parâmetro, é o mais aplicado como forma de se aumentar a sensibilidade de um espectro, pois se trata de uma solução simples. É necessário também observar que a abundância natural e constante magnetogírica (γ), características pertencentes ao núcleo de trabalho, detêm suas influências na sensibilidade do espectro que foi obtido [6].

A relação entre a resolução digital (DR) e o tempo de aquisição (AQ) pode ser dada pela equação 3.

$$DR = \frac{1}{AQ}$$

Eq.3

Portanto, para se obter espectros com uma boa resolução digital é necessário alto tempos de aquisição, de tal forma que quanto menor for o valor de DR melhor resolvido será o espectro obtido [4]. Ao aumentar o número de pontos de aquisição (TD) ou diminuir a janela espectral (SW) obtém-se uma melhor resolução do FID, entretanto a alteração do valor de SW não é uma decisão muito interessante, pois ao diminuir este parâmetro, maior será o AQ e, ainda, poderá existir a possibilidade de ocorrer a perda de sinais que estão localizados nas extremidades do espectro (Equações 4 e 5) [4].

$$AQ = \frac{TD}{2SW}$$

Eq.4

$$FID_{res} = \frac{SW}{TD}$$

Eq.5

Estes parâmetros citados acima devem ser analisados a cada experimento, podendo ser alterados a depender da amostra e das características específicas de núcleos (tempo de relaxação, concentração da amostra etc.) [4].

3.1.1. Critérios quantitativos

Conforme mencionado anteriormente, a técnica de RMN é amplamente utilizada para a elucidação de estruturas moleculares e, além disso vem se tornando cada vez mais importante na área de química analítica para realização de medidas quantitativas. A técnica de RMNq possui diversas vantagens em relação a outras técnicas com o mesmo propósito, como a não necessidade de calibrações frequentes, pois o equipamento mantém sua estabilidade por mais tempo. Além disso, apresenta um baixo tempo de análise, é uma técnica não destrutiva, permite a determinação de mais de um analito em uma mistura e exige um preparo de amostra simples, entre outros benefícios. Entretanto, o principal fator que torna a RMN uma técnica tão apropriada para quantificação é seu caráter de técnica primária ou absoluta. Isso significa que há uma relação de proporcionalidade entre a concentração do analito e o sinal analítico, eliminando a necessidade do uso de um material de referência contendo o analito de trabalho [12][13]. Em muitos casos, o padrão de referências ou padrões analíticos são difíceis de serem obtidos e/ou possuem um alto custo, tornando uma análise inviável. Na área da química forense, esse fator se torna ainda mais relevante, pois a produção de novas substâncias ocorre de forma extremamente rápida, tornando o desenvolvimento de material de referência um processo mais difícil [13][14].

A RMNq ainda é uma técnica pouco difundida, sendo mais comumente aplicada a análises farmacêuticas, indústrias químicas e análise de drogas na área forense [13][14]. Existem diversos métodos que utilizam a RMNq, mas na literatura são encontrados com maior frequência aqueles onde se utilizam padrão interno, padrão externo e por calibração de pulso elétrico (ERETIC/Pulcon) [15]. Cada um destes métodos apresenta vantagens e desvantagens. As mais relevantes estão relacionadas à contaminação da amostra, recuperação do analito e capacidade em gerar resultados mais precisos [16].

Na metodologia envolvendo o uso de padrão interno, será necessário a adição de um novo componente ao mesmo ambiente da amostra, para realização da análise, isto implica que a recuperação da mesma será mais trabalhosa, entretanto, a precisão é maior e menor é a incerteza atribuída ao método [14]. Na utilização de um padrão externo, o problema citado anteriormente não ocorre, pois a amostra e o padrão estão em recipientes distintos. No entanto, a incerteza associada se torna maior, pois há um aumento na quantidade de termos analisados (temperatura, massa do solvente e analito, pureza do padrão, área do sinal etc.), levando a uma precisão menor nos resultados. Isso ocorre porque as incertezas individuais de cada termo são

adicionadas ao cálculo ^[14]. Mas, a mesma solução do padrão pode ser utilizada para realizar a quantificação de mais de uma amostra em diferentes análises ^[17].

No método de padrão interno, é realizada a adição de um padrão certificado à solução, mas para isto ele deve cumprir algumas exigências, sendo elas ^[17]:

- (i) ser solúvel no solvente deuterado que será utilizado;
- (ii) ser quimicamente inerte;
- (iii) o sinal deste não pode ser sobreponível aos sinais da amostra;
- (iv) não ser volátil;
- (v) não ser higroscópico;
- (vi) ser estável;
- (vii) ser de alta pureza.

Os padrões que são mais utilizados para estes fins, são o ácido maleico (AM) e dimetilsulfona (DMS), no geral o AM se trata de um bom padrão interno, pois segue todos os critérios exigidos, além de possuir um deslocamento químico em aproximadamente 6,4 ppm, que geralmente se trata de uma região onde há uma menor densidade de sinais. Entretanto, sua solubilidade se resume basicamente a solventes polares como água e metanol. A problemática no uso de ácidos carboxílicos se atribui a análise de substâncias básicas, como as aminas, pois pode levar a uma reação de ácido-base ^[12].

Como citado anteriormente, a técnica de RMNq se encontra em vantagem em relação às demais técnicas, devido a uma relação muito importante entre o sinal do espectro e a estrutura da molécula. A área do sinal que é obtida a partir da integral do sinal de interesse, é diretamente proporcional ao número de núcleos correspondentes, conforme equação 6 ^[12].

$$I_x = K_s \cdot N_x$$

Eq.6

Onde I_x é a área do sinal. K_s é a constante do espectrômetro e N_x o número de núcleos. Como K_s deve ser equivalente em todas as equações de um mesmo experimento, a partir da comparação de dois sinais é obtida uma nova relação, sendo então a razão entre as áreas dos dois núcleos analisados equivalente à razão de núcleos referente aos sinais ^[12]. Desta maneira, a pureza é calculada de maneira simples (Equação 7), onde são analisadas as áreas e números de núcleos comentados anteriormente.

$$P_x = \frac{I_x}{I_{pi}} \frac{N_{pi}}{N_x} \frac{M_x}{M_{pi}} \frac{m_{pi}}{m_x} P_{pi}$$

Eq.7

Esta equação é utilizada para determinar a pureza de um analito quando se utiliza um padrão interno como referência, onde P_x é a pureza da amostra que será calculado, M_x massa molar da amostra, M_{pi} massa molar do padrão interno, m_x massa pesada da amostra, m_{pi} massa pesada do padrão interno e P_{pi} é a pureza do padrão interno que foi utilizado na análise [12]. Assim, para a análise de uma amostra via RMNq, é imprescindível que pelo menos um sinal do analito esteja livre de sobreposições com outros sinais da amostra ou de impurezas. Da mesma forma, o sinal do padrão não deve apresentar sobreposição nem conter impurezas próximas ao seu espectro [12].

Além disso, é fundamental que o equipamento esteja devidamente calibrado, com boa homogeneidade de campo e sintonia da sonda, e programado para a aquisição de espectros quantitativos. Isso porque experimentos de rotina, especialmente a integração desses espectros, apresentam uma exatidão de 10 a 20%, o que pode comprometer a confiabilidade dos resultados[5]. Para que este tipo de situação seja evitado, é necessário seguir alguns procedimentos na hora de se adquirir os dados para realização do RMNq, como respeitar o tempo de relaxação de T_1 para a espera da sequência de pulsos, assim como, a digitalização do espectro, pois os espectros que possuem baixa resolução digital acabam por gerar sinais com multiplicidade e integrais equivocadas, atribuindo uma interpretação incorreta [5][10].

Após a aquisição, a parte de processamento de dados é uma parte crucial para obtenção de dados quantitativos com alta precisão, principalmente a integração dos sinais. A integração deve ser feita de maneira minuciosa, de modo a cobrir toda a área relativa do sinal, incluindo os sinais satélites de algum átomo que não foi desacoplado. Do mesmo modo, os ajustes de fase e da linha de base são de extrema importância, pois sinais fora de fase e espectros não corrigidos (com distorção na linha de base) irão acarretar um erro de integração dos sinais, levando a uma incerteza maior do método empregado [5][7][10].

3.1.2. Validação do método

Realizar a validação de um método analítico consiste em avaliar sua eficiência, com o propósito de comprovar sua adequação ao instrumento de trabalho e à finalidade aplicada [18]. Portanto, a validação deve ser aplicada quando se tem o desenvolvimento de um novo método ou adaptação a métodos que já são validados [18]. Este procedimento garante que, para se obter

uma boa medida, é essencial conhecer os pontos fortes e fracos do método que está sendo aplicado. Por exemplo, determinar a quantidade mínima necessária de uma amostra para se obter um resultado adequado (limite de detecção e de quantificação) ^[19].

Para que isto seja aplicado, é necessário seguir uma lista de parâmetros que estão descritos na literatura, tendo como referência as normas ISO/IEC da ABNT e os documentos disponibilizados pelo INMETRO. O laboratório de análise, deve estar a par e seguindo a ISO/IEC 17025, que relata os requisitos gerais para laboratórios de calibração e ensaio, determinados pela ABNT ^[18]. Nesta documentação, estão descritos os parâmetros, ou também conhecidos como figuras de mérito, que contêm as informações importantes sobre as análises, além de sugestões para o planejamento para uma validação completa ^[20].

Resumidamente, os parâmetros básicos para tornar-se um método adequado para uso são a seletividade, especificidade, linearidade, sensibilidade, faixa de trabalho e limite de detecção, precisão e incerteza, limite de quantificação, robustez e exatidão ^{[18][19]}. Definir as figuras de mérito a serem validadas é, portanto, parte do processo para validação. Deste modo, é preciso o conhecimento de quais são os parâmetros (citados acima) que serão avaliados, quais destes vão alcançar os objetivos almejados, ou seja, quais destes serão responsáveis por comprovar a adequação do método da análise e como deve ser realizada ^[14].

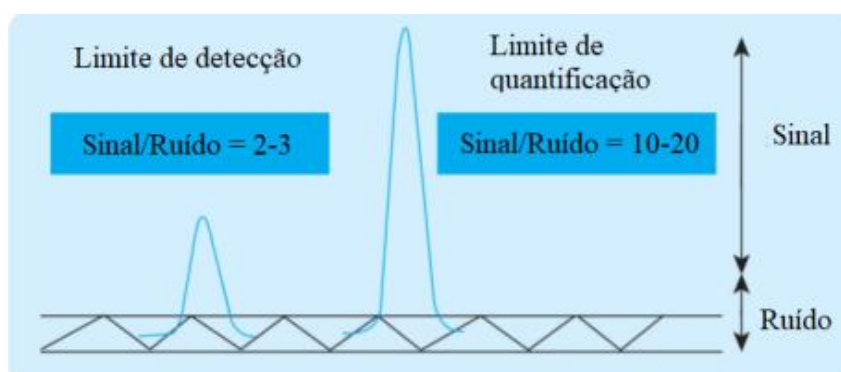
Falando de cada parâmetro de uma maneira mais detalhada, a linearidade está atrelada a capacidade do método em gerar sinais instrumentais que estão linearmente proporcionais à concentração do analito para um intervalo delimitado de concentração ^{[18][19][21]}. A especificidade e seletividade, comumente são tratadas como sinônimos, entretanto são conceitos diferentes. A seletividade, está associada à medida capaz de diferenciar o analito dentro de uma mistura complexa, em ausência de outros interferentes. A especificidade, se trata da capacidade do método em identificar o analito em meio a matriz ^[22]. No geral, uma solução em teste que contém o analito e todos os contaminantes, adulterantes etc., é preparada e o resultado obtido é analisado em comparação com o já obtido do analito ^[21]. A faixa de trabalho determina o intervalo entre a menor e maior concentração do analito em amostra, garantindo que a exatidão e precisão sejam adequadas ao objetivo do método ^{[18][21]}.

Esses parâmetros podem ou não estar associada à linearidade. Os termos exatidão e precisão são comumente confundidos. A exatidão corresponde à concordância entre o resultado obtido experimentalmente e o valor de referência, podendo ser influenciada por erros aleatórios e sistemáticos ^{[18][19]}. Já a precisão, é a concordância na proximidade dos valores que foram medidos para uma série de repetições para uma mesma amostra ^[18] logo, se trata de uma medida

de espalhamento dos resultados, avaliando quão próximo estão entre si ^[19]. A robustez está associada à avaliação dos parâmetros e ao impacto que eles exercem sobre os resultados, determinando a estabilidade do método diante de pequenas variações nas condições experimentais. A identificação desse parâmetro permite monitorá-lo e controlá-lo, evitando que afete o experimento ^{[18][19]}. No caso do RMNq, é possível realizar um planejamento fatorial que envolve os parâmetros como o número de varreduras, tempo de relaxação (T_1) e variá-los em níveis de interesse e realizar análises estatísticas que apresentarão as influências ^[23].

O limite de detecção (LD) é definido como a menor concentração possível do analito na amostra que é capaz de ser detectado, mas que não necessariamente para ser quantificada ^{[18][21]}. O limite de quantificação (LQ) corresponde à menor concentração do analito na amostra que pode ser detectada e quantificada, garantindo resultados exatos, precisos e com incertezas aceitáveis. Deste modo, o LQ determina qual a concentração mínima necessária para realizar um experimento de quantificação, abaixo desse valor determinado o experimento torna-se inapropriado e não confiável. Na figura 8, é apresentado o gráfico com os limites de LQ e LD e pode-se observar que eles não são necessariamente iguais. Para o RMNq, o LQ e o LD podem ser obtidos através da relação S/R. Onde, uma boa relação S/R para quantificação é maior que 10 e para detecção próximo a 3 ^[18].

Figura 8. Relação Sinal/Ruído para limite de detecção e quantificação por RMN.



Fonte. Elaborado a partir de HUBER, L. Validation of Analytical Methods. Agilent Technologies, v. 2, p. 1–65, 2010

Todo tipo de medida possui um parâmetro de incerteza associada, por exemplo, os padrões de referência possuem incerteza quanto à pureza. Qualquer medida que possui uma incerteza, é relatado por meio de uma relação matemática, de modo a fornecer um valor final que acompanha o resultado ^[19]. As incertezas mais comuns incluem interferências indesejadas,

variações nas condições experimentais, erro na amostragem e incerteza instrumental, entre outras ^[15].

Após o período do processo de validação, e estando em posse dos resultados comprobatórios de que o método está aprovado para análise de amostras analíticas quantitativas, ele pode ser aplicado para a quantificação de amostras reais ^[15].

3.2. Química forense

A química forense consiste na aplicação de conhecimentos químicos para auxiliar na resolução de casos criminais, empregando técnicas e análises químicas no contexto da investigação forense para atender a interesses jurídicos ^[24].

A aplicação de conhecimentos das ciências naturais para auxiliar na solução de crimes remonta ao início da civilização. No período da Roma Antiga, era comum o envenenamento de políticos importantes, o que levou ao início das investigações sobre o tema. A aplicação oficial de análises químicas para esclarecimentos judiciais remonta ao fim do século XVII, com Bernardino Ramazzini (1633-1714), que registrou os conhecimentos da época sobre os efeitos das substâncias químicas no corpo humano em sua obra 'As Doenças dos Trabalhadores' ^[24].

Dentro da química forense, a investigação policial é o aspecto mais amplamente divulgado, especialmente devido ao impacto do entretenimento. Séries famosas, como CSI (*Crime Scene Investigation*), e produções nacionais, como Aeroporto: Área Restrita, apresentam de forma atrativa o trabalho dos peritos na resolução de crimes e no combate ao tráfico de substâncias ilícitas entre países. Essas representações tornaram a área altamente chamativa para a sociedade e para estudantes que desejam seguir essa carreira. Entretanto, a química forense não se restringe à investigação criminal. O trabalho dos químicos forenses também se aplica à indústria alimentícia, ao setor médico, ao controle de doping esportivo e à área ambiental, entre outras aplicações ^[25].

3.3. Toxicologia forense

A toxicologia forense é um dos ramos da toxicologia que atua em conformidade com a legislação. Nesse contexto, estuda-se a presença de substâncias lícitas e ilícitas em seres vivos. As análises químicas são aplicadas em conjunto aos conhecimentos toxicológicos para resolução de processos criminais. Dentro dos testes aplicados, há uma série de processos analíticos que têm como objetivo determinar a quantidade e a identidade das substâncias tóxicas encontradas, com o intuito de esclarecer intoxicações e auxiliar na resolução de casos ^[26].

A toxicologia forense, é subdividida em três áreas, sendo elas: toxicologia ambiental, toxicologia *post mortem* e toxicologia *ante mortem*. A toxicologia ambiental, como o próprio nome sugere, trata-se da investigação de contaminações ambientais e suas causas, incluindo a presença e a interação de substâncias químicas no solo, na água e nos organismos de animais. A toxicologia *post mortem* é aplicada em investigações de óbito, nas quais as amostras biológicas são coletadas no local do crime. Muitas vezes, as matrizes disponíveis e as interpretações baseadas em evidências científicas tornam-se desafiadoras devido a processos pós-morte, como a autólise e a putrefação. A autólise refere-se ao estágio inicial da decomposição, no qual as enzimas corporais começam a degradar células e tecidos, alterando sua estrutura. Já a putrefação representa um estágio avançado da decomposição, caracterizado pela formação de gases e fluidos que promovem a distensão do corpo e odores fortes e específicos. Por fim, a toxicologia *ante mortem* está associada a crimes sem morte e baseia-se na suspeita de que os indivíduos envolvidos estavam sob efeito de substâncias ilícitas [27].

Dentro dos serviços prestados pela toxicologia forense, realizam-se exames laboratoriais e perícias, incluindo a determinação da composição de fármacos, pesticidas, agrotóxicos, presença de álcool etílico no organismo e envenenamento por monóxido de carbono, entre outros. Uma ampla variedade de matrizes biológicas pode ser analisada, incluindo órgãos, cabelos e fluidos corporais, independentemente de o indivíduo estar vivo ou não. A escolha da matriz biológica a ser analisada depende das circunstâncias do caso, sendo selecionada aquela que melhor se adequa às evidências disponíveis [28].

3.4. Drogas

Droga é um termo utilizado para se referir a substâncias que impactam aspectos psicológicos e físicos de um indivíduo, sendo que a maioria desses compostos leva o usuário a um estado de inconsciência. Uma parcela dessas substâncias é utilizada na medicina para garantir segurança em procedimentos cirúrgicos invasivos, como transplantes de órgãos, ou para alívio e conforto, como no caso de partos. No entanto, a maioria das drogas está vinculada ao tráfico e ao uso ilícito. Atualmente, o tráfico de drogas e o uso indiscriminado dessas substâncias representam um dos maiores problemas globais, resultando em um cenário caótico e palco de problemas sociais, governamentais e econômicos [29]. Em território nacional, o caso mais conhecido dessa problemática está concentrado na região do bairro da República, no Estado de São Paulo, caracterizada por uma alta concentração de pessoas em situação de vulnerabilidade social e uso aberto de substâncias ilícitas [30].

Atualmente, há uma grande variedade de drogas, que podem ser classificadas como lícitas, como cigarros, tabaco, álcool e fármacos, ou ilícitas, como maconha, cocaína e heroína. Podendo estas serem de origem natural, sintética e semissintéticas. Cada uma dessas drogas possui diferentes mecanismos de ação do sistema nervoso central (SNC), podendo ser estimuladoras, perturbadoras e depressivas ^[31].

As drogas estimulantes são as mais consumidas por jovens em eventos festivos. Essas substâncias aumentam a atividade cerebral e mantêm o indivíduo em estado de alerta constante. As principais pertencem à classe das anfetaminas, incluindo nicotina e cocaína. Geralmente, esses compostos suprimem a necessidade de alimentação e sono, reduzem o cansaço e promovem uma sensação de prazer e ansiedade elevada. As drogas perturbadoras ou mais popularmente conhecidas como alucinógenas, alteram a qualidade da atividade cerebral, levando a um funcionamento anormal do mesmo, de modo a alterar a percepção, o pensamento e provendo situações de alucinação e delírios, estando entre categoria a maconha, ecstasy e LSD. As drogas depressoras como o álcool, soníferos (barbitúricos), ansiolíticos e a morfina, reduzem a tensão emocional do indivíduo, a memória e habilidade intelectual ^[32].

O tráfico e o uso de drogas ilícitas estão diretamente ligados à criminalidade, pois o vício nessas substâncias pode levar os usuários a comportamentos criminosos. Além do crime de tráfico, que fomenta a criação de organizações criminosas e disputas territoriais, há um aumento da violência, furtos e roubos, impulsionados pela necessidade dos usuários de sustentar o vício. Ainda deve-se lembrar que a criminalização do tráfico de entorpecentes leva à detenção, causando uma superlotação carcerária ^[33].

No Brasil, dentro das comunidades, jovens e crianças são convencidos de que ingressar no tráfico lhes proporcionará uma vida mais fácil e melhores condições financeiras. A falta de oportunidades de emprego, agravada pelo preconceito e pelo acesso limitado à educação, empurra essa parcela da população para um ciclo de violência, vício e morte. Realidade essa do nosso País que pode ser fielmente assistida na obra “Cidade de Deus” do autor Paulo Lins ^[34]. O combate ao tráfico de drogas em nosso território é uma batalha árdua e contínua para as autoridades policiais. Entre as substâncias mais apreendidas estão maconha, cocaína, crack, LSD e outras drogas sintéticas. Essas apreensões evidenciam não apenas a gravidade do problema, mas também a diversidade de substâncias que são produzidas diariamente e circulam nesse comércio ilegal ^[35].

3.4.1. Canabinoides

A planta *Cannabis Sativa* (Figura 9) é a principal fonte natural de compostos psicoativos conhecidos como canabinoides. Seus derivados mais comuns incluem a maconha, o haxixe (proveniente da resina) e o skunk (das flores). Esses produtos são amplamente consumidos devido à sua capacidade de induzir alterações no humor, sensação de relaxamento e, em alguns casos, alucinações. O consumo se dá predominantemente por inalação, mas também por ingestão, em produtos como manteigas, bolos e doces [36].

Figura 9. Planta *Cannabis Sativa*.



Fonte. TUA SAÚDE. Maconha: benefícios e efeitos da planta medicinal. Atualizado em jul. 2024. Disponível em: <https://www.tuasaude.com/maconha-medicinal/>. Acesso em: 15 fev. 2025.

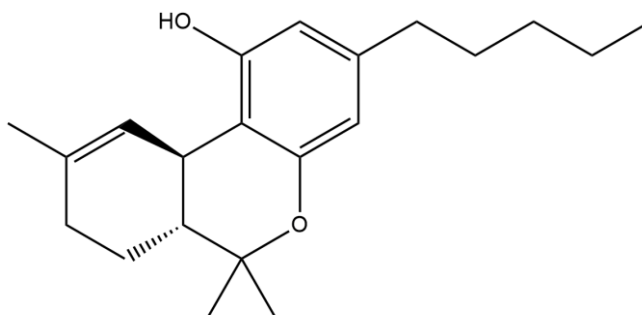
No Brasil, a maconha é a droga mais consumida, o que representa uma problemática crescente entre adolescentes. Estudos do *National Institute on Drug Abuse* [37] indicam que um em cada seis usuários adolescentes desenvolve dependência, especialmente quando há consumo frequente.

Do ponto de vista químico e farmacológico, os canabinoides são substâncias que se ligam aos receptores do sistema endocanabinoide humano – CB1 (principalmente no sistema nervoso) e CB2 (no sistema imune). Eles se dividem em dois grandes grupos [38]:

- *Fitocanabinoides*: são os compostos naturais presentes na Cannabis Sativa. Sendo o mais representativo o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) (Figura 10) substância responsável pelos efeitos psicoativos e encontrada em alta concentração nas flores e folhas da planta. Outros compostos importantes, são o canabidiol (CBD) e o canabinol

(CBN), que se destacam na literatura devido suas propriedades terapêuticas, como anticonvulsivante e ansiolítico, entretanto representa pouca ação psicoativa [38].

Figura 10. Fitocanabinoide Δ^9 -tetrahydrocannabinol.

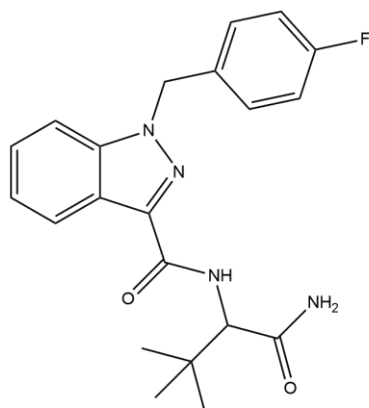


Fonte: Autoria Própria

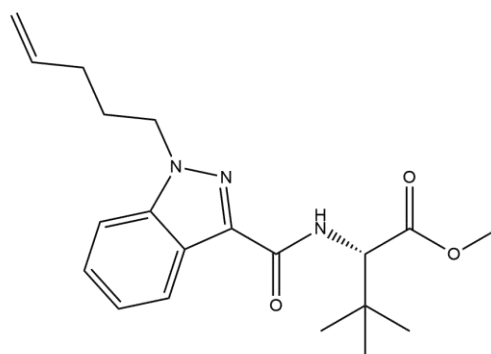
- *Canabinoides Sintéticos (SCs)*: desenvolvidos inicialmente para pesquisa do sistema endocanabinoide e aplicações médicas, os SCs passaram a ser produzidos clandestinamente com o objetivo de burlar legislações e aumentar o potencial psicoativo. Embora interajam com os mesmos receptores CB1 e CB2, os SCs atuam como agonistas completos, diferentemente do THC, que é apenas um agonista parcial [39].

A ação mais intensa dos SCs está associada a efeitos adversos severos, como agitação, taquicardia, alucinações e confusão mental, sendo frequentemente relacionados a casos de intoxicação aguda e hospitalização. Segundo o *Texas Poison Control* [40] os SCs estão entre os principais responsáveis por internações ligadas a drogas sintéticas.

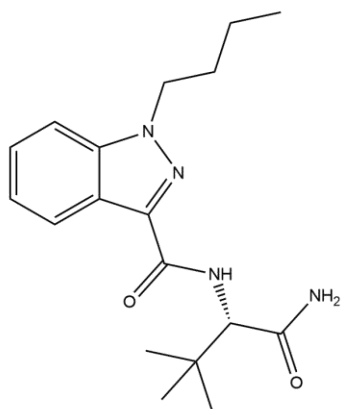
Os canabinoides sintéticos possuem uma estrutura molecular altamente variável, mas frequentemente composta por um núcleo aromático, como os anéis de dibenzofuranos ou indóis, que servem como base estrutural da molécula. Essa estrutura principal pode ser funcionalizada com diferentes grupos químicos, como cadeias alquila ou grupos cetona que modulam a afinidade pelos receptores. Estas pequenas variações estruturais influenciam diretamente a potência e a toxicidade do composto [38]. A figura 11 ilustra algumas destas variações.

Figura 11. Estruturas química dos Canabinoides Sintéticos.

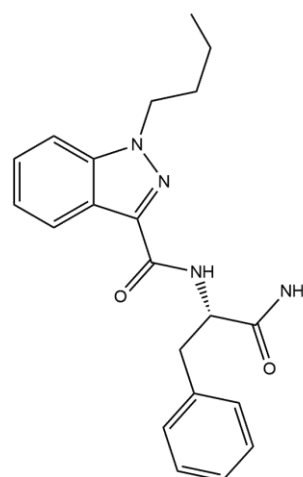
ADB-FUBINACA



MDMB-4en-PINACA



ADB-BUTINACA



APP-BUTINACA

Fonte: Autoria Própria

A produção clandestina dessas substâncias envolve a dissolução do princípio ativo sintético em solventes como acetona ou etanol, seguido da pulverização sobre ervas frescas. Após a secagem, o material vegetal permanece impregnado com o canabinoide, simulando visualmente a maconha comum. Essa prática dificulta a detecção por métodos convencionais e representam um desafio adicional para a toxicologia forense ^[41].

Portanto, a análise precisa de canabinoides – naturais e sintéticos – é essencial tanto para a saúde pública quanto para a atuação forense. A constante modificação estrutural dos SCs impõe uma demanda por técnicas analíticas robustas e adaptáveis, como a Ressonância Magnética Nuclear.

3.5. Identificação dos entorpecentes

Como discutido anteriormente, a identificação dessas substâncias é essencial tanto para a compreensão de suas propriedades químicas quanto para a avaliação dos riscos associados ao seu uso. Além disso, esse processo fornece informações valiosas sobre a composição das drogas ilícitas, permitindo a detecção de adulterantes e impurezas. Métodos quimiométricos possibilitam rastrear a origem das substâncias e identificar padrões no tráfico de entorpecentes. Para a caracterização de uma substância suspeita, dois tipos de testes são comumente empregados: o teste presuntivo, que fornece uma indicação preliminar da identidade da amostra, e o teste confirmatório, que determina com precisão sua composição.

Apesar da possibilidade de resultados falsos-positivos, os testes presuntivos desempenham um papel crucial na investigação criminal. A legislação brasileira, por meio da Lei nº 11.343/2006, permite que a materialidade do crime seja configurada com base no laudo preliminar de constatação, mesmo antes da análise confirmatória, o que evidencia a importância da atuação imediata de peritos ou autoridades treinadas ^[42].

Art. 50. Ocorrendo prisão em flagrante, a autoridade de polícia judiciária fará, imediatamente, comunicação ao juiz competente, remetendo-lhe cópia do auto lavrado, do qual será dada vista ao órgão do Ministério Público, em 24 (vinte e quatro) horas.

§ 1º Para efeito da lavratura do auto de prisão em flagrante e estabelecimento da materialidade do delito, é suficiente o laudo de constatação da natureza e quantidade da droga, firmado por perito oficial ou, na falta deste, por pessoa idônea.

Nos últimos anos, novas tecnologias foram desenvolvidas para tornar as análises presuntivas mais rápidas e confiáveis. Dispositivos baseados em espectroscopia no infravermelho e Raman permitem a identificação rápida dessas substâncias sem a necessidade de preparo da amostra. No entanto, esses equipamentos possuem custo elevado, o que restringe seu uso a poucas instituições brasileiras ^[43].

O material apreendido é posteriormente submetido a análises confirmatórias utilizando equipamentos laboratoriais de alta precisão. De acordo com as diretrizes do SWGDRUG (*Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs*), as técnicas analíticas são classificadas em três categorias, conforme sua seletividade ^[44]. Essas categorias são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Categorias das Técnicas Analíticas

Categoria	Seletividade	Técnicas
A	Informação estrutural	Espectroscopia IV
		Espectroscopia de Massas
		Espectroscopia Raman
		RMN
		DRX
B	Propriedades físico-químicas	Cromatografia Gasosa
		Cromatografia Líquida
		CCD
		Espectrometria de mobilidade iônica
C	Informações gerais e classe	Ponto de Fusão
		Teste Colorimétrico
		Espectroscopia de fluorescência
		Espectroscopia UV-Vis

Fonte: Adaptado de SWGDRUG (Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs)

Para garantir um resultado confiável, é recomendado que ao menos uma das técnicas da categoria A seja utilizada em conjunto com as demais categorias. A seja realizada de maneira conjunta as demais categorias. Caso não seja possível utilizar um método de alta seletividade, é necessário empregar três técnicas distintas, sendo ao menos duas pertencentes à categoria B e a terceira podendo ser da categoria B ou C. Essa abordagem minimiza erros e aumenta a precisão na identificação das drogas apreendidas ^[44].

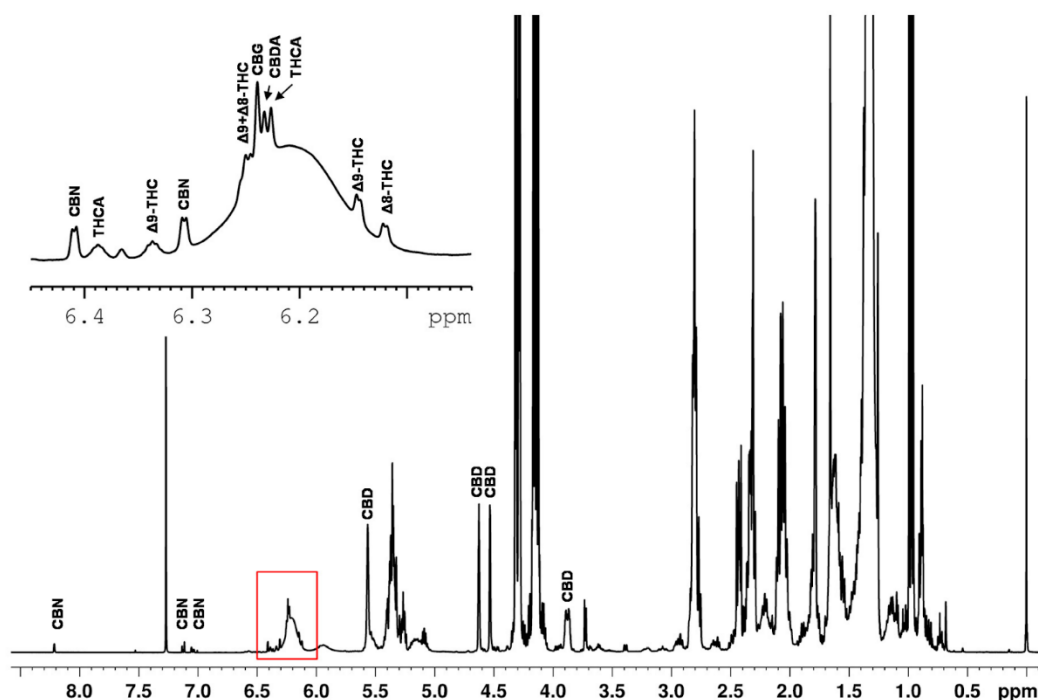
3.6. Aplicação de RMNq na identificação de canabinoides

A Ressonância Magnética Nuclear Quantitativa (RMNq) tem se consolidado como uma das metodologias analíticas mais eficazes para a caracterização de compostos derivados da Cannabis sativa, abrangendo tanto os fitocanabinoides quanto os canabinoides sintéticos. Sua aplicação em contextos forenses se destaca pela capacidade de fornecer simultaneamente dados estruturais e quantitativos, com preparação mínima da amostra e sem a necessidade de derivatização. Tais características tornam a técnica especialmente útil na análise de substâncias ilícitas, cuja composição é frequentemente complexa e adulterada, bem como na avaliação da

qualidade de produtos terapêuticos à base de cannabis. Outro diferencial da RMNq é o fato de ser não destrutiva, permitindo a preservação da amostra original para reanálises — um aspecto essencial em perícias criminais e processos judiciais.

No estudo conduzido por Barthlott et al. (2021), foi desenvolvido um método baseado em RMN¹H utilizando o protocolo PULCON para a quantificação de canabinoides em óleos comerciais de CBD. Com diluição simples em CDCl₃ e supressão seletiva de sinais da matriz oleosa, foi possível identificar e quantificar compostos como CBD, Δ^9 -THC, Δ^8 -THC e CBN (Figura 12). Ainda que a sensibilidade da técnica seja inferior à de métodos cromatográficos, os autores destacam sua eficácia como ferramenta de triagem laboratorial [45].

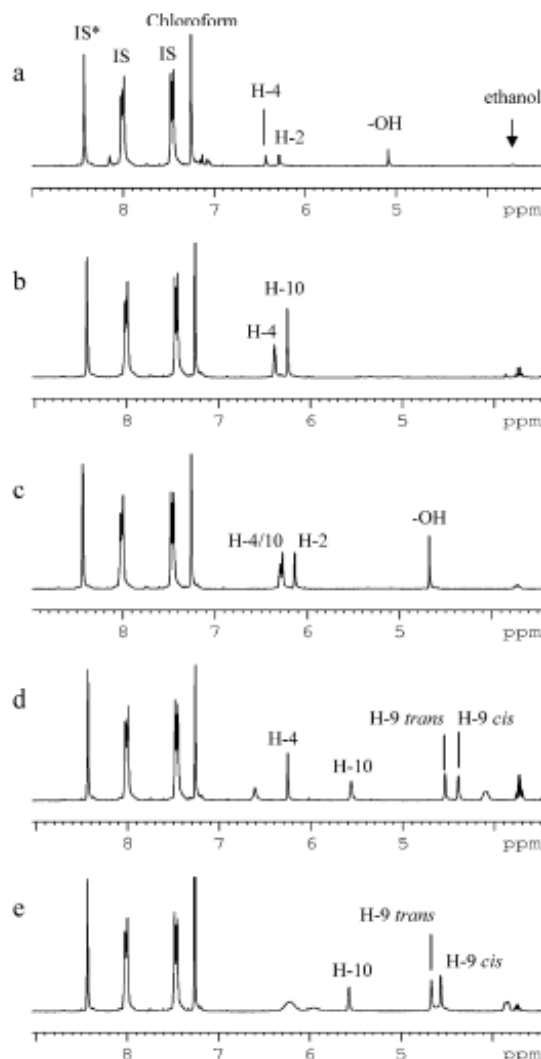
Figura 12: Espectro de RMN de ¹H de óleo de semente de cânhamo enriquecido com CBD, CBDA, Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, THCA, CBG e CBN, obtido em equipamento Bruker Avance 400MHz.



Fonte: BARTHLOTT, I. et al., 2021, *Toxics*

Hazekamp, Choi e Verpoorte (2004) foram pioneiros na aplicação da RMNq diretamente em materiais vegetais de *Cannabis sativa*. Utilizando antraceno como padrão interno, os pesquisadores quantificaram canabinoides como THCA, CBDA, CBG e seus derivados descarboxilados. O método destaca-se por sua eficiência, com tempo de análise inferior a 5 minutos por amostra, dispensando a necessidade de etapas complexas de purificação ou uso de padrões de referência específicos. A região espectral entre δ 4,0–7,0 ppm (Figura 13) foi suficiente para distinção dos canabinoides presentes, sendo ideal para aplicações em controle de qualidade [46].

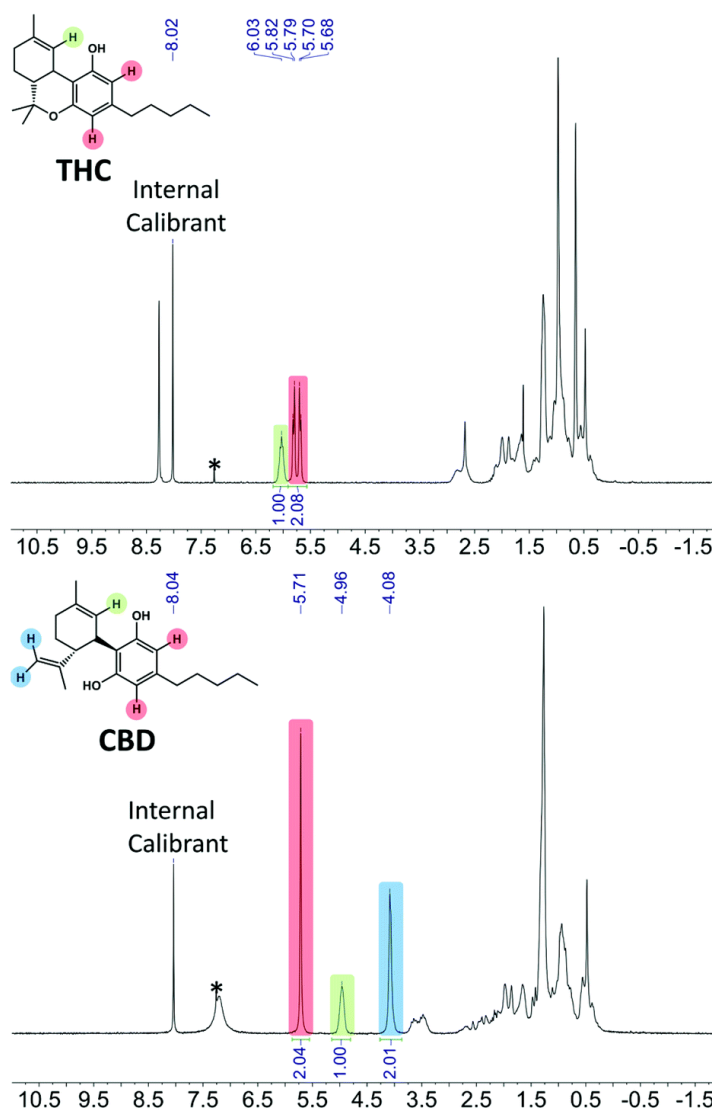
Figura 13: Espectros de RMN de ^1H de 0,5 mg (em peso) de cada canabinoide, com 1 mg de antraceno como padrão interno, obtido em espectrômetro de alta resolução 400MHz.



Fonte: HAZEKAMP, A.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R., 2004, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*.

Complementando essas abordagens, Araneda et al. (2020) testaram a aplicação da RMNq em espectrômetros de bancada (benchtop) para a quantificação de Δ^9 -THC e CBD em extratos comerciais de cannabis (Figura 14). O estudo comparou os resultados obtidos por RMN com os de HPLC-UV e observou diferenças significativas entre os laboratórios que utilizam apenas cromatografia. A RMNq mostrou-se um método ortogonal eficiente, capaz de fornecer resultados confiáveis com rapidez e menor dependência de padrões caros ou de alto grau de pureza. Isso a torna uma opção robusta para verificação de rotulagem em produtos regulamentados [47].

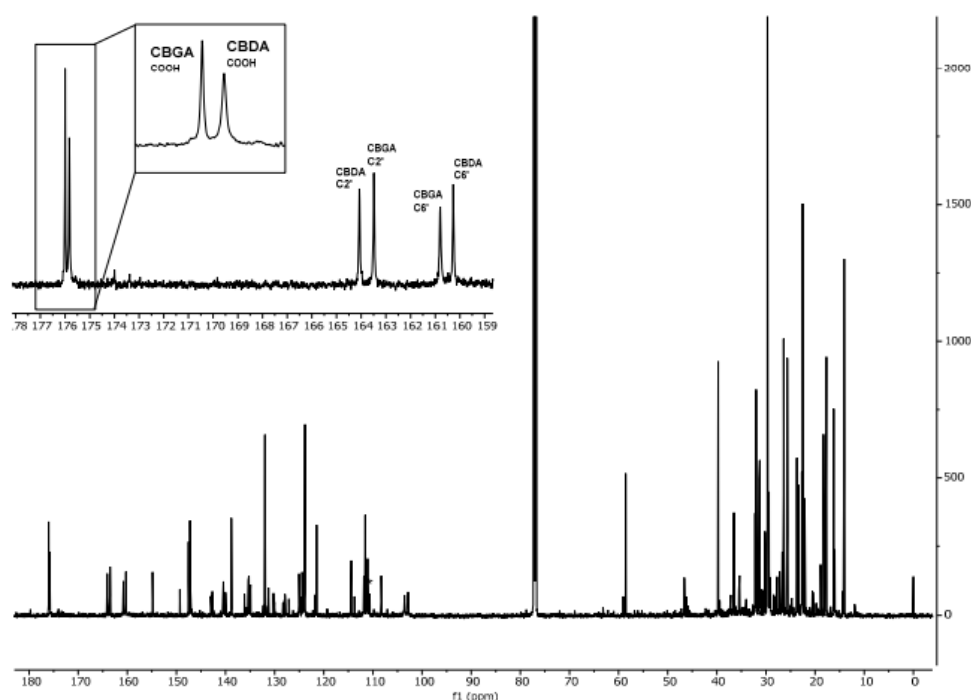
Figura 14: Espectros de RMN de ^1H obtidos no Magritek 60 MHz de THC (acima) e CBD (abaixo), com padrão interno e regiões de interesse destacadas para análise por RMN quantitativa (RMNq). O asterisco indica o pico residual do solvente CDCl_3 .



Fonte: ARANEDA, J. F. et al., 2020, *Analytical Methods*.

No trabalho de Marchetti et al. (2019), a técnica foi ampliada por meio da aplicação da RMN quantitativa de ^{13}C , voltada à análise de canabinoides não psicoativos como CBDA, CBD e CBG. Os espectros obtidos apresentaram excelente resolução e permitiram quantificação direta com limites inferiores a $750\text{ }\mu\text{g/mL}$ (Figura 15), evidenciando sua utilidade como alternativa à HPLC no controle de qualidade de cânhamo industrial [48].

Figura 15: Espectro típico de RMN de ^{13}C de extrato etanólico de cânhamo da variedade Santhica, obtido em equipamento Bruker Avance 600MHz.



Fonte: MARCHETTI, L. et al., 2019, *Molecules*.

Portanto, a RMNq revela-se uma técnica versátil e poderosa na análise de canabinoides, podendo ser aplicada tanto em laboratórios forenses quanto na indústria farmacêutica e de fitoterápicos. As abordagens discutidas demonstram como diferentes configurações da RMN (^1H , ^{13}C e bancada) podem ser adaptadas às necessidades analíticas específicas, garantindo precisão, rapidez e menor dependência de insumos dispendiosos.

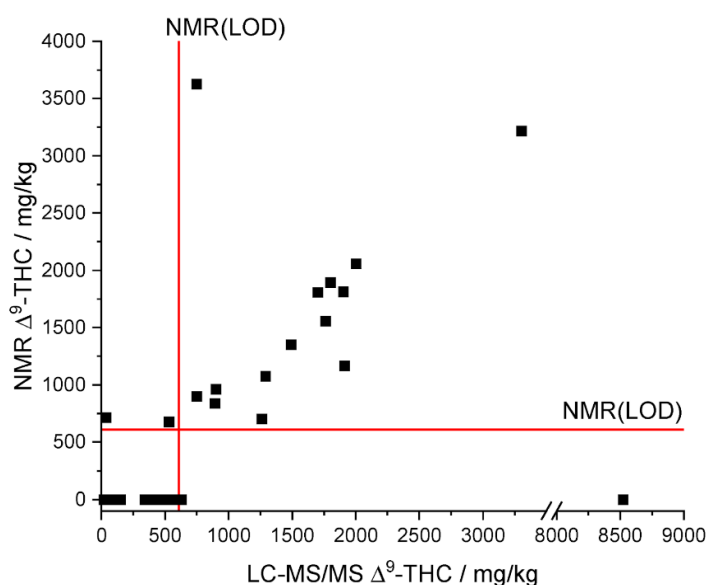
3.7. A RMN dentre as demais técnicas

A análise de compostos canabinoides em amostras de *Cannabis sativa* é um desafio analítico que exige técnicas sensíveis, seletivas e reprodutíveis. Nesse contexto, a Ressonância Magnética Nuclear Quantitativa (RMNq), a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e a Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (LC-MS/MS) são as principais metodologias utilizadas para fins de controle de qualidade, estudos farmacêuticos e aplicações forenses. Cada técnica possui características particulares quanto à sensibilidade, preparação de amostra, custo e capacidade de identificação estrutural.

No estudo de Barthlott foi realizado uma comparação direta entre RMNq e LC-MS/MS na análise de 46 amostras de óleo de CBD [45]. A correlação entre os resultados obtidos por ambas as técnicas foi elevada ($R \approx 0,93$), demonstrando boa concordância entre os métodos. A

Figura 16 ilustra essa relação, evidenciando que a RMNq foi eficaz nas amostras com teores de Δ^9 -THC acima de 608 mg/kg — limite de detecção da técnica. Já a LC-MS/MS apresentou desempenho superior na detecção de traços, conseguindo identificar o canabinoide em 23 amostras onde a RMN¹H não detectou o composto.

Figura 16: Comparação entre os resultados obtidos por RMN e LC-MS/MS nas amostras de óleo de CBD analisadas. LOD (NMR): limite de detecção do método de RMN quantitativa; Δ^9 -THC: Δ^9 -tetraidrocannabinol.



Fonte: BARTHLOTT, I. et al., 2021, *Toxics*, Figura 7.

No estudo de Marchetti et al. (2019), a espectroscopia de ^{13}C -RMNq foi aplicada à quantificação de canabinoides não psicoativos em amostras de cânhamo, sendo os resultados comparados à HPLC-DAD. Os autores observaram que os valores obtidos por ambas as técnicas foram similares, embora a RMNq tenda a subestimar levemente os teores de CBD e CBG (Figura 17). A vantagem da ^{13}C -RMNq está na reprodutibilidade, na quantificação absoluta e na baixa interferência de fatores como relaxação nuclear^[48].

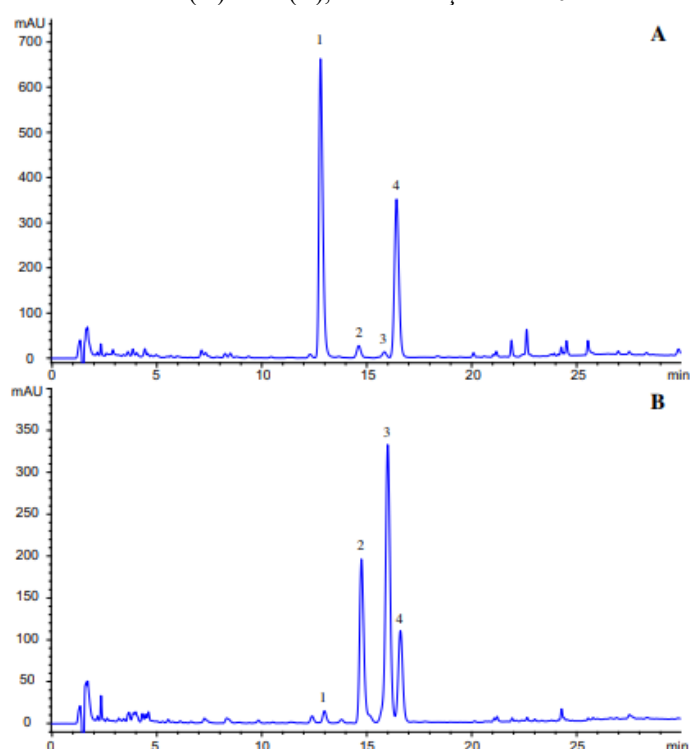
Tabela 2. Comparação dos teores de canabinoides (mg/g) em inflorescências de cânhamo determinados por RMNq e HPLC.

	CBD		CBDA		CBG		CBGA	
	qNMR	HPLC *	qNMR	HPLC *	qNMR	HPLC	qNMR	HPLC
Antal	2.2 ± 0.2	2.4 ± 0.1	15.7 ± 0.5	15.5 ± 0.7	<LOQ ^b	0.3 ^a	1.2 ± 0.2	0.6 ^a
Carma	5.8 ± 0.4	6.0 ± 0.3	<LOQ ^b	2.2 ± 0.1	<LOQ ^b	0.5 ± 0.1	<LOQ ^b	0.4 ^a
Carmagnola	3.0 ± 0.4	3.3 ± 0.3	17.3 ± 0.6	16.7 ± 1.2	<LOQ ^b	0.1 ^a	1.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1
China	8.0 ± 0.5	8.4 ± 0.1	18.3 ± 0.7	17.2 ± 0.8	<LOQ ^b	0.2 ± 0.1	<LOQ ^b	0.5 ± 0.1
Codimono	9.3 ± 0.6	9.8 ± 0.3	1.1 ± 0.2	2.9 ± 0.3	<LOQ ^b	0.1 ^a	<LOQ ^b	<LOQ ^d
Fibrante	6.6 ± 0.5	7.9 ± 0.5	14.7 ± 0.3	14.5 ± 1.1	<LOQ ^b	0.2 ^a	<LOQ ^b	0.4 ^a
Futura	2.8 ± 0.2	3.3 ± 0.1	34.0 ± 0.6	33.8 ± 0.3	<LOQ ^b	<LOQ ^c	1.7 ± 0.3	1.3 ± 0.1
Santhica	2.1 ± 0.1	2.3 ± 0.2	18.7 ± 0.8	17.3 ± 2.4	1.2 ± 0.1	1.4 ^a	9.4 ± 0.4	9.9 ± 0.2

Fonte: MARCHETTI, L. et al., 2019, *Molecules*.

Apesar da técnica de RMNq se mostrar extremamente útil para a caracterização estrutural dos canabinoides, conforme discutido ao longo deste trabalho, a análise por HPLC desenvolvida por Brighente et al. (2018) evidencia o quanto essa técnica cromatográfica também é essencial na identificação e quantificação de canabinoides não psicoativos, especialmente em baixos níveis de concentração. No estudo, foi empregada uma coluna de partículas fused-core, que proporcionou maior eficiência na separação dos compostos e redução no tempo de análise, tornando o método mais robusto e adequado para aplicações em controle de qualidade. A sensibilidade do HPLC, embora dependa do detector utilizado, permite a detecção de pequenas quantidades de analitos com alta precisão, o que complementa os dados obtidos por RMN, que por sua vez é superior na elucidação estrutural. Os resultados demonstrados pelos autores reforçam essa relevância, como observado no cromatograma apresentado na Figura 17, onde os picos dos diferentes canabinoides foram bem resolvidos e identificados com clareza, demonstrando a eficácia do método proposto [49].

Figura 17: Cromatogramas obtidos por HPLC-UV/DAD da análise dos extratos etanólicos de cânhamo das amostras C1 (A) e C4 (B), com detecção em 210 nm.



Fonte: BRIGHENTE, I. M. C., et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018.

Araneda et al. (2020) também realizaram uma comparação entre dados obtidos por espectrômetro de bancada (RMNq) e por HPLC-UV. O espectro resultante da RMN (Figura 18) foi contrastado com o cromatograma gerado por LC (Figura 19), destacando diferenças nos níveis detectados e nas condições analíticas envolvidas. Apesar das discrepâncias, a RMNq apresentou maior simplicidade e rapidez na execução ^[47].

Tabela 3. Conteúdo de THC e CBD calculado (% p/p) obtido por RMN quantitativa (RMNq).

	% w/w THC					% w/w CBD				
	1	2	3	Average	RSD	1	2	3	Average	RSD
Sample 1	82.3	80.7	80.8	81.3	0.7	Below limit of quantification				
Sample 2	Below limit of quantification					53.1	60.6	55.5	56.4	3.2
Sample 3	27.9	25.0	23.2	25.4	2.0	60.4	57.6	54.8	57.6	2.0
Sample 4	52.9	45.3	45.0	47.7	3.7	40.7	40.0	39.3	40.0	0.6
Sample 5	63.9	59.3	61.5	61.6	1.9	28.2	27.8	26.7	27.6	0.6

Fonte: ARANEDA, J. F. et al., 2020, *Analytical Methods*.

Tabela 4. Comparando resultados obtidos por RMN de bancada e HPLC

	% w/w THC			% w/w CBD		
	Benchtop NMR	HPLC	% diff	Benchtop NMR	HPLC ^a	% diff
Sample 1	81.3 (0.7)	81.8 (1.4)	0.6	— ^b	<1	n/a
Sample 2	— ^b	3.0 (0.1)	n/a	56.4 (3.7)	57 (1.1)	1.1
Sample 3	25.4 (2.0)	22.6 (0.8)	11.0 ^c	57.6 (2.3)	58.3 (1.8)	1.2
Sample 4	47.7 (3.7)	46.4 (0.6)	2.7	40.0 (0.6)	41.1 (0.8)	2.7
Sample 5	61.6 (1.9)	61.1 (1.5)	0.8	27.6 (0.6)	25.1 (0.9)	9.1

Fonte: ARANEDA, J. F. et al., 2020, *Analytical Methods*.

Do ponto de vista técnico, a LC-MS/MS oferece a maior sensibilidade entre as técnicas discutidas, sendo a preferida para detecção de traços e análise de compostos instáveis. A HPLC-DAD é amplamente adotada na indústria para quantificações de rotina, por permitir detecção de formas ácidas e neutras dos canabinoides sem necessidade de derivatização. Em contrapartida, a RMNq não requer padrões idênticos aos analitos, não depende de curvas de calibração extensas e apresenta excelente reprodutibilidade. Sua maior limitação é a sensibilidade, o que a torna mais adequada para triagens ou análises em concentrações moderadas a altas.

Conclui-se que a RMNq pode substituir ou complementar técnicas cromatográficas em muitas situações, sobretudo onde a rapidez, economia de insumos e quantificação absoluta são prioridades. Contudo, para análises em nível traço ou em matrizes muito complexas, HPLC-DAD e LC-MS/MS ainda são indispensáveis. A integração entre as técnicas abordadas quando

aplicadas de forma complementar, amplia significativamente a robustez das análises de canabinoides, especialmente em amostras complexas ou com compostos sintéticos de difícil caracterização.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cenário atual do tráfico e uso de canabinoides, marcado por constante diversificação química, exige técnicas analíticas com alta acurácia, sensibilidade e reprodutibilidade para dar suporte às investigações forenses. Diante disso, a Ressonância Magnética Nuclear Quantitativa (RMNq) vem se consolidando como uma técnica poderosa dentro da Química Forense, não apenas por sua capacidade de elucidação estrutural, mas também pela quantificação absoluta de compostos, sem a necessidade de padrões externos.

Ao longo deste trabalho, foi possível demonstrar que a RMNq se destaca na identificação e quantificação de Δ^9 -THC, CBD e outros canabinoides, oferecendo uma alternativa viável às técnicas cromatográficas e espectrométricas convencionais, especialmente nos casos em que é desejável manter a integridade da amostra ou quando não se dispõe de padrões de referência. Ainda que possua limitações — como menor sensibilidade em comparação à HPLC-MS/MS — sua aplicação combinada com técnicas complementares, como a espectrometria de massas ou a cromatografia líquida, permite uma abordagem analítica robusta e abrangente, ideal para contextos forenses.

O uso da RMNq também se mostrou eficaz na distinção entre compostos naturais e versões sintéticas potencialmente mais tóxicas, bem como na detecção de adulterantes como colofônia e solventes industriais. Tais contribuições são essenciais para a atuação de laboratórios periciais, que necessitam de respostas rápidas e confiáveis para subsidiar processos legais e investigações criminais.

Além disso, a técnica tem sido amplamente empregada em estudos que buscam mapear o perfil químico de amostras apreendidas, contribuindo para o rastreamento de rotas de tráfico e redes de produção de drogas sintéticas. Ao considerar o cenário nacional, marcado por elevadas taxas de apreensões de maconha e seus derivados, torna-se evidente a importância de incorporar metodologias como a RMNq à rotina dos laboratórios forenses brasileiros.

Portanto, conclui-se que a RMNq, embora ainda subutilizada em alguns setores, representa uma ferramenta valiosa para a Química Forense, com potencial de ampliar significativamente a qualidade das análises e a compreensão da composição química das substâncias ilícitas. Estudos futuros podem aprofundar a padronização de protocolos que

integrem a RMNq a outras metodologias de alta sensibilidade, promovendo um avanço no diagnóstico, controle de modo a auxiliar o combate ao tráfico de drogas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. HUANG, T. et al. Advanced approaches and applications of qNMR. *Metrologia*, v. 57, n. 1, p. 14004, 2020. DOI: 10.1088/1681-7575/ab336b. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1681-7575/ab336b>. Acesso em: 22 dez. 2024.
2. DIEHL, B. et al. Quo Vadis qNMR? *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 177, p. 112147, 2020. DOI: 10.1016/j.jpba.2019.112847. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708519316280>. Acesso em: 22 dez. 2024.
3. NIXON, C.; ORMEROD, I. E. C.; JOHNSON, G. Nuclear magnetic resonance. *Anaesthesia*, v. 41, n. 2, p. 131–137, 1986.
4. PFEIFER, H. A short history of nuclear magnetic resonance spectroscopy and of its early years in Germany. *Magnetic Resonance in Chemistry*, v. 37, n. 13, p. S154–S159, 1999.
5. CLARIDGE, T. D. W. *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2016.
6. RUTGERS UNIVERSITY. Case Group: NMR Spectroscopy, Applications. 2019. Disponível em: http://casegroup.rutgers.edu/lnotes/NMR_lecture.pdf. Acesso em: 10 jan. 2025.
7. MURALI, N. *NMR Spectroscopy: Principles and Applications*. 2010. Lecture 1. Disponível em: https://chem.rutgers.edu/images/murali/coursematerials/Chem_542_Spring2010_Lecture_1.pdf. Acesso em: 10 jan. 2025.
8. RINALDI, P. L.; MONWAR, M. Two-Dimensional NMR. In: LINDON, J. C.; TRANTER, G. E.; KOPPENAAL, D. W. (Ed.). *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. 3. ed. Oxford: Academic Press, 2016. p. 475–487. DOI: 10.1016/B978-0-12-803224-4.00087-X.

9. SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 7. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005. p. 127–315.
10. PAVIA, D. L. et al. Introduction to Spectroscopy. 3. ed. Washington: Thomson Learning, 2001.
11. MICHIGAN STATE UNIVERSITY. Departamento de Química. 2013. Disponível em: <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/nmr/nmr1.htm>. Acesso em: 12 de jan. 2025.
12. MALZ, F.; JANCKE, H. Validation of quantitative NMR. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 38, n. 5, p. 813–823, ago. 2005.
13. SANTOS, A. C. Forensic NMR spectroscopy: Just a beginning of a promising partnership. Trends in Analytical Chemistry, p. 31–42, out. 2018.
14. SIGMA-ALDRICH. Quantitative NMR – Technical Details and TraceCERT® Certified Reference Materials. [s.d.].
15. ELLISON, S. L. R. et al. EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Journal of Analytical Chemistry, v. 58, n. 2, p. 191, 2003.
16. PRATES SERRANO, Júlia Neves. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para quantificação de canabinoides em amostras vegetais por RMN quantitativa. 2019. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de Brasília, Brasília, 2019. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/35620/1/2019_J%C3%BAliaNevesPratesSerrano. Acesso em: 23 jan. 2025.
17. SINGH, Suruchi; ROY, Raja. The Application of Absolute Quantitative ¹H NMR Spectroscopy in Drug Discovery and Development. Expert Opinion on Drug Discovery, p. 695–706, jul. 2016.

18. BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 13, p. 129–146, 2003.
19. BIOSEARCH. Introduction to method validation. Valid Analytical Measurement, United Kingdom, 2006. Disponível em: <https://biosearch-cdn.azureedge.net/assetsv6/Introduction-to-method-validation.pdf>. Acesso em: 26 jan. 2025.
20. INMETRO. Coordenação-Geral de Acreditação (Cgcre). Orientação sobre validação de métodos analíticos: documento de caráter orientativo – DOQ-CGCRE-008, revisão 09, jun. 2020. Rio de Janeiro: Inmetro, 2020. Disponível em: https://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa/documento.asp?num_registro=00774&sequencia=008. Acesso em: 26 jan. 2025.
21. HUBER, L. Validation of Analytical Methods. Agilent Technologies, v. 2, p. 1–65, 2010.
22. VESSMAN, Jörgen et al. Selectivity in analytical chemistry: IUPAC Recommendations 2001. *Pure and Applied Chemistry*, v. 73, n. 8, p. 1381–1386, 2001.
23. ALMEIDA, Nathália Siqueira. Desenvolvimento e validação de metodologias para quantificação de 3,4 metilenodioximetanfetamina (MDMA) em comprimidos de ecstasy por cromatografia gasosa e ressonância magnética nuclear. 2016. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de Brasília, Brasília.
24. BRUNI, Aline Thaís; VELHO, Jesus Antonio; OLIVEIRA, Marcelo Firmino de. Fundamentos de Química Forense: uma análise prática da química que soluciona crimes. [S.l.]: Millennium, 2019. ISBN 8576253658.
25. FARIAS, Robson. Introdução à Química Forense. 1. ed. São Paulo: Átomo, 2017. ISBN 8576702797.
26. GEROSTAMOULOS, Dimitri; SCHUMANN, Jennifer. Forensic toxicology: overview and applications. In: HOUCK, Max M. (org.). *Encyclopedia of Forensic Sciences*. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2023. p. 712–719. DOI: 10.1016/B978-0-12-823677-2.00272-5.

27. FISHER, C. S. Fundamentals of Forensic Science. [S.l.]: Academic Press, 2015. ISBN 0128000376.
28. GOMES, Mirian Silva. Contributo da Química Forense na detecção de drogas de abuso. 2013. Dissertação – Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências – Departamento de Química e Bioquímica, Lisboa.
29. HANSON, G. R.; VENTURELLI, P. J.; FLECKENSTEIN, A. E. Drugs and Society. 13. ed. Jones & Bartlett Learning, 2017.
30. ARRUDA, Marcel Segalla Bueno. A Cracolândia muito além do crack. 2014. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, 06 jun. 2014. DOI: 10.11606/D.7.2014.tde-06112014-130632. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/7/7141/tde-06112014-130632/>. Acesso em: 15 fev. 2025.
31. DANTAS, Tiago. Drogas lícitas e ilícitas. Mundo Educação. Disponível em: <https://mundoeducacao.uol.com.br/drogas/drogas-licitas-ilicitas.htm>. Acesso em: 15 fev. 2025.
32. AGÊNCIA SENADO. Efeitos das substâncias no sistema nervoso. Disponível em: <https://www12.senado.leg.br/noticias/especiais/especial-cidadania/drogas/efeitos-das-substancias-no-sistema-nervoso>. Acesso em: 15 fev. 2025.
33. SOUZA, S. M.; CARVALHO, M. A relação entre as drogas e a criminalidade: do ponto de vista jurídico e criminológico. 2023. Disponível em: <https://revistaft.com.br/a-relacao-entre-as-drogas-e-a-criminalidade-do-ponto-de-vista-juridico-e-crimiologico/>. Acesso em: 15 fev. 2025.
34. OLIVEIRA, Maria de Fátima R. de; NICOLINO, Talita M. A Cidade de Deus, morada do estigma e do preconceito. Revista REGRAD, Marília-SP, v. 12, n. 1, p. 207–218, nov. 2019.
35. MINISTÉRIO DA JUSTIÇA E SEGURANÇA PÚBLICA. A polícia judiciária e o enfrentamento das drogas ilegais. 2024. Disponível em:

https://www.gov.br/mj/ptbr/assuntos/sua-seguranca/seguranca-publica/analise-e-pesquisa/download/pop/a_policia_judiciaria_enfrentamento_drogas_ilegais.pdf. Acesso em: 15 fev. 2025.

36. TUA SAÚDE. Maconha: benefícios e efeitos da planta medicinal. Atualizado em julho de 2024. Disponível em: <https://www.tuasaude.com/maconha-medicinal/>. Acesso em: 15 fev. 2025.

37. NATIONAL INSTITUTE ON DRUG ABUSE (NIDA). Cannabis (Marijuana) DrugFacts. 24 dez. 2019. Disponível em: <https://nida.nih.gov/publications/drugfacts/cannabis-marijuana>. Acesso em: 16 fev. 2025.

38. ARAÚJO, M.; ALMEIDA, M. B.; ARAÚJO, L. L. N. The cannabinoids mechanism of action: an overview. *Brazilian Journal of Pain*, v. 6, p. 109–113, 2023.

39. WALSH, K. B.; ANDERSEN, H. K. Molecular pharmacology of synthetic cannabinoids: delineating CB1 receptor-mediated cell signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, p. 6115, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/17/6115>. Acesso em: 21 fev. 2025.

40. FORRESTER, M. B. et al. Synthetic cannabinoid exposures reported to Texas poison centers. *Journal of Addictive Diseases*, v. 30, n. 4, p. 351–358, 2011. DOI: 10.1080/10550887.2011.609807.

41. MILLS, B.; YEPES, A.; NUGENT, K. Synthetic cannabinoids. *The American Journal of the Medical Sciences*, v. 350, n. 1, p. 59–62, 2015. DOI: 10.1097/MAJ.0000000000000466.

42. BRASIL. Lei nº 11.343, de 23 de agosto de 2006. Institui o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/111343.htm. Acesso em: 22 fev. 2025.

43. BRUNI, A. T. et al. Analytical challenges for identification of new psychoactive substances: A literature-based study for seized drugs. *Brazilian Journal of Analytical*

Chemistry, v. 9, n. 34, p. 52–78, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.rv-41-2021>.

44. SWGDRUG. Methods of analysis/drug identification. [S. l.], 2003. Disponível em: https://www.swgdrug.org/Archived/Methods%20of%20Analysis_Drug%20Identification%20102003.pdf. Acesso em: 22 fev. 2025.

45. BARTHLOTT, I. et al. A quantitative ^1H NMR method for screening cannabinoids in CBD oils. *Toxics, Basel*, v. 9, n. 6, p. 1–15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxics9060136>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2305-6304/9/6/136>. Acesso em: 11 jun. 2025.

46. HAZEKAMP, A.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. Quantitative analysis of cannabinoids from *Cannabis sativa* using ^1H -NMR. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin, Tokyo*, v. 52, n. 6, p. 718–721, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1248/cpb.52.718>. Disponível em: https://bedrocan.com/wp-content/uploads/quantitative-analysis-of-cannabinoids-hazekamp_2004a.pdf. Acesso em: 11 jun. 2025.

47. ARANEDA, J. F. et al. Quantitative analysis of cannabinoids using benchtop NMR instruments. *Analytical Methods, Cambridge*, v. 12, p. 4853–4857, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0AY01511C>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2020/ay/d0ay01511c>. Acesso em: 11 jun. 2025.

48. MARCHETTI, L. et al. Use of ^{13}C -qNMR spectroscopy for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type *Cannabis sativa* L. (hemp). *Molecules, Basel*, v. 24, n. 6, p. 1138, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24061138>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/6/1138>. Acesso em: 11 jun. 2025.

49. BRIGHENTI, V. et al. Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type *Cannabis sativa* L. (hemp). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Amsterdam*, v. 143, p. 228–236, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.049>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.049>. Acesso em: 11 jun. 2025.