

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

LARISSA CAMPOS MOTTA

**DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE DISPARO DE ARMA DE
FOGO EM LARVAS CADAVERÍCAS POR ICP OES**
DETECTION GUNSHOT RESUDUE ON CADAVEROUS LARVAE BY ICP OES

VITÓRIA

2018

LARISSA CAMPOS MOTTA

**DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE DISPARO DE ARMA DE
FOGO EM LARVAS CADAVÉRICAS POR ICP OES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química, na área de concentração de Química Forense.

Orientador: Wanderson Romão

Coorientadora: Maria Tereza W. D. C. Lima

VITÓRIA

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

M921d Motta, Larissa Campos, 1991-
Detecção de resíduos de disparo de arma de fogo em larvas
cadavéricas por ICP OES / Larissa Campos Motta. – 2018.
70 f. : il.

Orientador: Wanderson Romão.
Coorientador: Maria Tereza Weitzel Dias Carneiro Lima.
Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal
do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas.

1. Balística forense. 2. Entomologia forense. 3. Armas de
fogo. I. Romão, Wanderson. II. Carneiro, Maria Tereza Weitzel
Dias. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de
Ciências Exatas. IV. Título.

CDU: 54

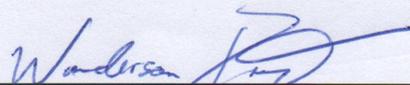
Elaborado por Perla Rodrigues Lôbo – CRB-6 ES-527/O

“Detecção de resíduos de disparo de arma de fogo em larvas
cadavéricas por ICP OES.”

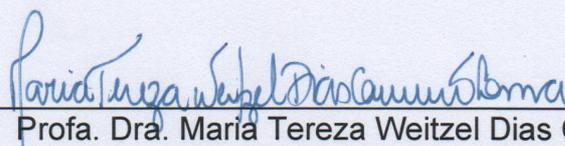
Larissa Campos Motta

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de
Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial
para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

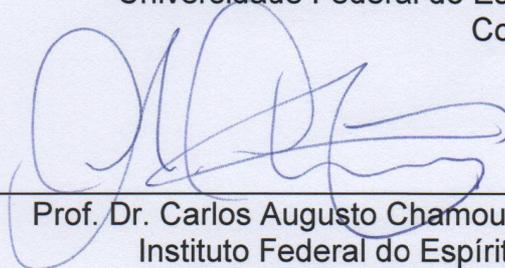
Aprovada em 29/03/2018 por:



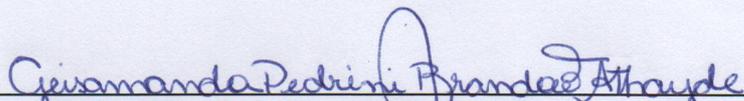
Prof. Dr. Wanderson Romão
Instituto Federal do Espírito Santo/UFES
Orientador



Profa. Dra. Maria Tereza Weitzel Dias Carneiro Lima
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientadora



Prof. Dr. Carlos Augusto Chamoun do Carmo
Instituto Federal do Espírito Santo/PC
Examinador Externo



Profa. Dra. Geisamanda Pedrini Brandão Athayde
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinadora Interna

*Aos meus queridos pais Edimar, Ana
Cláudia e minha irmã Rafaella.*

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por sua infinita misericórdia! Obrigada por todas as vitórias conquistadas nesses dois anos, e foram muitas!! Cada luta, cada dificuldade, cada choro, tudo valeu a pena, porque o Senhor esteve comigo, obrigada pela sua maravilhosa graça, e seu grande amor!!! EBENÉZER!!

Aos meus queridos pais, **Edimar** e **Ana Claudia**, sem vocês não seria nada, obrigada por cada palavra de força, por não me deixarem desistir, por ouvirem minhas angustias, por vibrarem em cada pequena vitória, por me apoiarem em cada decisão, por todas as orações, são elas que me fortalecem a cada dia, por acreditarem em mim e mesmo parecendo clichê... vocês são os melhores pais do mundo!!! Amo muito vocês dois!!!!

À minha irmã **Rafaella**, minha companheira para todas as horas, minha amiga, obrigada por todas as palavras de incentivo, palavras certas nos momentos certos, pelas orações, puxões de orelha, por me ouvir incansavelmente, e por sempre me apoiar!! É moça te amo muito!

Aos meus familiares por me apoiarem sempre!!

Ao meu orientador **Dr. Wanderson Romão**, pela oportunidade de ingressar em seu grupo em 2013; são 5 anos de convivência e muito trabalho, obrigada por cada palavra de apoio, e claro pelos puxões de orelha rs! Tudo isso tem colaborado a aperfeiçoar a pessoa que sou hoje!

À minha coorientadora **Dra. Maria Tereza W. D. C. Lima** por toda a oportunidade dada, pelo conhecimento e por me ajudar em cada etapa!

À minha discipuladora **Rosemeri**, que tem me acompanhado a mais de 10 anos, e pelas orações, pelo cuidado, pelas conversas e apoio!

Ao trio parada dura, **Rayana** (minha outra pessoa) e **Kamila** pela amizade, irmandade, carinho, cuidado, apoio, pelas orações, suporte, pelas noites que passaram me ajudando a corrigir texto e mais texto, pelas nossas crises das 15h (sinto falta delas), por todas as conversas e conselhos, saibam que tenho vocês com parte da minha família, são anos de amizade e que seja assim para sempre até estarmos bem velhinhas rs. Amo vocês!

Ao meu amigo **Maycon**, mesmo de longe se faz presente, mesmo com pouco tempo que nos conhecemos parece que nossa amizade é desde sempre, obrigada por suas orações, por me suportar, pelo apoio, pelo cuidado, pelas exortações!!

Ao professor e perito **Dr. Carlos Augusto Chamoun do Carmo** pelo apoio na pesquisa, por ter concedido as amostras e por aceitar participar da minha banca de defesa.

À professora **Dra. Geisamanda Pedrini Brandão Athayde** por aceitar participar da banca de avaliação da qualificação e dissertação. Meu muito obrigada por todo ensinamento.

Às minhas grandes amigas **Camila, Crisse, Rafaela, Renata e Violetha**, por todo apoio, por me ouvirem dizer “Não” por muitas vezes ao me convidarem para sair, mas que me sustentaram em oração por todo esse tempo, amo a cada uma de vocês, sem a amizade de vocês teria sido muito difícil!

À minha amiga, **Thábita**, por todo o apoio, toda a ajuda, por sua amizade, pelo cuidado!

Aos amigos feitos ao longo de todos esses anos do laboratório de Petroleômica e Forense **Adriel, Bruno, Caline, Dani, Eliane, Eloilson, Fernanda, Flávia, Gabriela Vanini, Gabriela Marinho, Heloá, Heloísa, Jandira, Lilian, Linda, Mariana, Nayara Radigya, e Rayana.**

Aos amigos e colegas do laboratório de Espectrometria de Absorção Atômica **Bruna, Bruna Guasti, Eldis, Fernandinha, Julia, Larissa, Luiza, Maiara, Robertinha, Tiago e Thábita.**

Aos amigos que fiz no Ifes e vou levar para o resto da vida, **Dany, Guilherme, Raíza e Rayana**, amo vocês!

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (**FAPES**) pelo apoio ao desenvolvimento desta pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (**CAPES**) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPq**) pela ajuda financeira para o desenvolvimento da pesquisa.

Academia de Polícia Militar do Espírito Santo, por conceder o espaço para realizar os experimentos.

“A persistência é o menor caminho do êxito”. (Charles Chaplin)

*“Aqueles que com lágrimas semeiam, com cantos de alegria colherão.”
(Salmos 126:5)*

“Courage, dear heart.” (C. S. Lewis)

“Ora, a fé é o firme fundamento das coisas que se esperam, e a prova das coisas que se não veem”. (Hebreus 11:1)

RESUMO

Considerando o grande aumento das mortes violentas, principalmente no Brasil, e a crescente utilização de armas de fogo para cometer tais crimes, a balística forense associada a entomologia forense se tornam grandes aliadas nas investigações criminais. As concentrações de chumbo (Pb), bário (Ba) e antimônio (Sb), característicos de resíduos de disparo de arma de fogo (GSR – *GunShot Residue*), foram monitoradas em larvas de moscas (imaturos de *Chrysomya albiceps*). As coletas sucederam em um cadáver de porco, do sexo feminino, morto com três disparos realizados com pistola Taurus®, calibre .40 a curta distância (entre 25 e 40 cm), sendo dois disparos na região cefálica e um na região abdominal, em um período de 2 a 12 dias após a morte, durante o inverno, sob a influência da chuva e alta umidade relativa do ar. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicabilidade da técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) para a quantificação de Pb, Ba e Sb proveniente de GSR em larvas cadavéricas num ambiente não controlado, simulando um caso real de homicídio. Foi possível detectar e quantificar os três elementos traço de interesse pela técnica proposta, onde as concentrações mantiveram-se praticamente constante durante o estágio de putrefação. Concentrações mínimas (Pb = 382,26 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; Ba = 140,50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; Sb = 39,18 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) e as concentrações máximas (Pb = 522,66 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; Ba = 190,30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; Sb = 56,14 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) foram encontradas durante o terceiro e quinto dia *post mortem*, respectivamente. As amostras também foram analisadas pelo teste colorimétrico usando rodizonato de sódio (reação Feigl-Suter) apresentando resultado negativo para todas as soluções obtidas a partir dos imaturos de *Chrysomya albiceps*. Uma hipótese para a constância nas concentrações dos três elementos, é que de acordo com a literatura, as larvas da espécie *Chrysomya albiceps* podem exercer papel como predadora intraguilada de larvas de outras espécies de Dípteras, além de realizar canibalismo. Sendo assim, a técnica de ICP OES apresenta maior sensibilidade na quantificação frente ao convencional teste colorimétrico, mostrando ser uma técnica aplicável a esse tipo de matriz. É importante notar que o desenvolvimento tal pesquisa é de grande importância forense e é uma técnica que apresenta potencial para aplicação futura em casos de morte violenta, em que a vítima se encontra em decomposição inicial, moderada e avançada. Nesse aspecto, o desenvolvimento e aperfeiçoamento de metodologias eficientes são de grande relevância para a elucidação de crimes.

Palavras-chave: Balística Forense; Entomologia Forense; GunShot Residue; ICP OES.

ABSTRACT

The large increase in violent deaths, mainly in Brazil, and the increasing use of firearms to commit such crimes, makes forensic ballistics associated with forensic entomology major allies in criminal investigations. The concentrations of lead (Pb), barium (Ba) and antimony (Sb), characteristic firearm residues (GSR - GunShot Residue), were monitored in fly larvae (immature *Chrysomya albiceps*). The samples were collected in a female pig corpse killed with three shots fired by a Taurus®, 40-caliber pistol at a short distance (25 to 40 cm), two in the cephalic region and one in the abdominal region, in a period of 2 to 12 days after death, during the winter, under the influence of rainfall and high relative humidity of the air. Thus, the aim of this work was to evaluate the applicability of the inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) technique for the quantification of Pb, Ba and Sb from GSR in cadaveric larvae in an uncontrolled environment, simulating a real case of homicide. The ICP OES detect and quantify three trace elements of interest, where the concentrations remained practically constant during the putrefaction stage. The lowest concentrations (Pb = 382.26 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, Ba = 140.50 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, Sb = 39.18 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) and highest concentrations (Pb = 522.66 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, Ba = 190.30 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; Sb = 56.14 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) were found during the third and fifth postmortem days, respectively. The samples were also analyzed by colorimetric test using sodium rhodizonate (Feigl-Suter reaction) presenting negative result for all the solutions obtained from the immatures of *Chrysomya albiceps*. One hypothesis for the concentrations uniformity of the three elements is that according to the literature, *Chrysomya albiceps* larvae species may play a role as an intraguild predator of larvae of other species of Diptera, in addition to performing cannibalism. Thus, the ICP OES technique presents greater sensitivity in the quantification of the elements of interest compared to the conventional colorimetric test, showing to be a technique applicable to this type of matrix. The development of such research is of great forensic importance and ICP OES is a technique that presents potential for future application in cases of violent death, where the victim is in initial, moderate and advanced decomposition. In this regard, the development and improvement of efficient methodologies are of great relevance for the elucidation of crimes.

Keywords: Forensic Ballistics; Forensic Entomology; GunShot Residue; ICP OES.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo de homicídio, por região (2012 ou último ano).....	18
Figura 2 – Participação (%) dos homicídios por AF no total de óbitos por AF, Brasil (1980 - 2014*)	19
Figura 3 – Quantidade de homicídios por armas de fogo no Estado do Espírito Santo, no período de 1996 a 2016.	20
Figura 4 – Principais componentes de uma Pistola .40.....	23
Figura 5 – Esquema de um cartucho de arma de fogo	23
Figura 6 – Estrutura química – (a) trinitrocelulose e (b) nitroglicerina	25
Figura 7 – Larva <i>Chrysomya albiceps</i> , (a) vista dorsal, (b) vista ventral, (c) vista lateral. Escala = 2 mm.	28
Figura 8 – Reação química com rodizonato de sódio	29
Figura 9 – Esquema da montagem da tocha e espiral de indução.....	31
Figura 10 – Nebulizador Meinhard	32
Figura 11 – Esquema de uma câmara de nebulização ciclônica a) secção transversal b) vista superior	32
Figura 12 – Esquema dos processos e espécies químicas no equilíbrio da fase gasosa no ICP	34
Figura 13 – <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) (a) Larva (b) Adulto.....	41
Figura 14 – <i>Sus scrofa</i> abatido com disparos de arma de fogo	42
Figura 15 – Dípteros adultos na carcaça, poucos minutos após a morte do animal .42	
Figura 16 – Jaula de metal sobre a carcaça.....	43
Figura 17 – Coleta dos imaturos e armazenagem em álcool 70%	43
Figura 18 – Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado - ICP OES.....	45
Figura 19 – As concentrações de Pb, Ba, Sb e de GSR produzidos em digestões de larvas durante o período de 2 a 12 dias após a morte de um porco fêmea em decomposição.	51
Figura 20 – Teste colorimétrico realizado em tecido de algodão branco para amostras de 1 disparo de pistola .40 em a) 0cm e b) 50 cm; e em tecido de algodão branco molhado com as soluções dos imaturos coletados no período de 2-12 dias (c-l).	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais condições de operação do microondas	44
Tabela 2 – Principais parâmetros operacionais do ICP OES	45
Tabela 3 – Curva analítica de Pb, Ba e Sb	47
Tabela 4 – Limites de detecção e quantificação dos elementos Pb, Ba e Sb	47
Tabela 5 – Temperaturas mínimas e máximas (°C) e umidades relativa durante o período de 2 a 12 dias após a morte do porco fêmea em decomposição	49
Tabela 6 – Concentração média e desvio padrão relativo (RSD) de Pb, Ba e Sb em soluções decompostas de larvas.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF – Arma de fogo

CBC – Companhia Brasileira de Cartuchos

GRS – *GunShot Residue* (Resíduos de disparo de armas de fogo)

ICP OES – *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy*
(Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado)

ICP-MS – *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* (Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado)

IPM – Intervalo post mortem

IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry* (União Internacional de Química Pura e Aplicada)

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

UNODOC – *United Nations Office on Drugs and Crime* (Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime)

LISTA DE SÍMBOLOS

cm – Centímetro

g – Grama

°C – Grau Celsius

h – Hora

L – Litro

MHz – Megahertz

MΩ - Megaohm

μg – Micrograma

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mm – Milímetro

min – Minuto

nm – Nanômetro

% – Porcentagem

kHz – Quilohertz

V – Volume

W – Wats

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 VIOLÊNCIA E HOMICÍDIOS POR ARMAS DE FOGO	17
1.2 CIÊNCIA FORENSE	21
1.2.1 Balística Forense	21
1.2.2 Entomologia Forense	26
1.3 TÉCNICAS.....	29
1.3.1 Teste colorimétrico reação Feigl-Suter	29
1.3.2 Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES)	30
2 ESTADO DA ARTE	35
3 OBJETIVOS	39
3.1 OBJETIVO GERAL	39
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	40
4.1 MATERIAIS E REAGENTES	40
4.2 AMOSTRAS.....	41
4.3 INSTRUMENTAÇÃO	44
4.3.1 ICP OES	44
4.3.2 Teste colorimétrico	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1 ANÁLISE DE Pb, Ba E Sb POR ICP OES	47
5.2 TESTE COLORIMÉTRICO	53
6 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56
ANEXO	64

1 INTRODUÇÃO

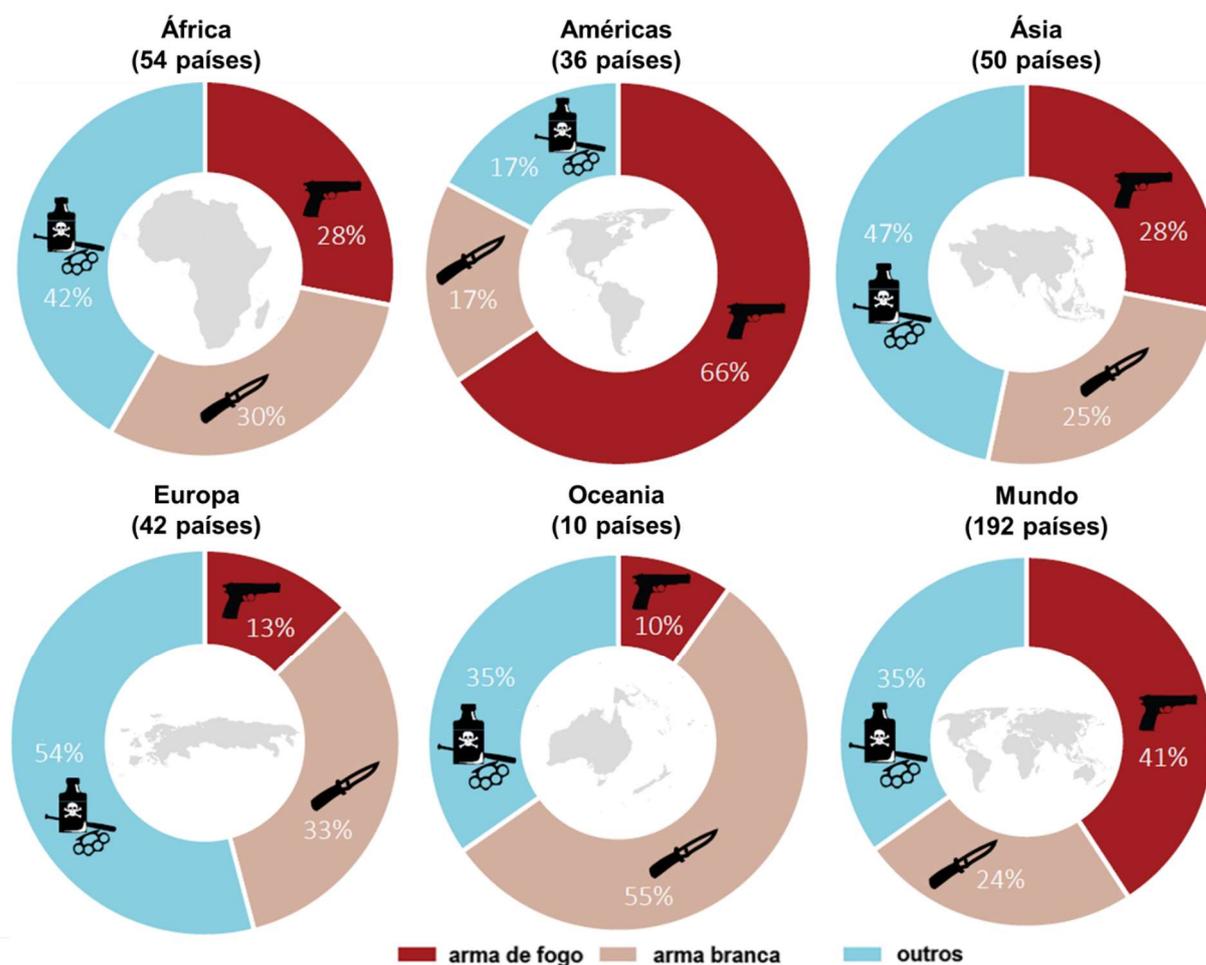
1.1 VIOLÊNCIA E HOMICÍDIOS POR ARMAS DE FOGO

De acordo com a *United Nations Office on Drugs and Crime* (UNODOC), no ano de 2012 os homicídios dolosos foram a causa de 438 mil mortes registradas em todo o mundo. Quando feito um estudo nos continentes foi apontado que nas Américas ocorreu mais de um terço dos homicídios, contabilizando 157.320, nos outros continentes as taxas foram: 31% na África (135.470 mortes), 28% na Ásia (122.360 mortes), 5% na Europa (21.850 mortes) e 0,3% na Oceania 0,3% (1.311 mortes) (UNODOC, 2013).

A taxa média de homicídios global é de 6,2 por 100 mil habitantes. O sul da África e a América Central têm taxas mais de quatro vezes maior que a média global (acima de 24 vítimas por 100 mil habitantes), tornando-as as sub-regiões com os mais altos índices de homicídios registrados, seguidas pela América do Sul, África Central e o Caribe (entre 16 e 23 homicídios por 100 mil habitantes). Enquanto isso, com taxas cinco vezes menores que a média global, a Ásia Oriental, o sul da Europa e a Europa Ocidental são as sub-regiões com os índices mais baixos de homicídio (UNODOC, 2013).

As armas de fogo (AF) não são responsáveis por todos os homicídios registrados, mas possuem um papel significativo nestes crimes. Com alto nível de mortalidade, as AF são os mecanismos de homicídio mais amplamente usados, que corresponde 40% dos homicídios em nível global, enquanto que “outros tipos”, como força física, objetos não cortantes, entre outros, matam um terço das vítimas e armas brancas matam um quarto (UNODOC, 2013) como mostrado na figura 1.

Figura 1 – Mecanismo de homicídio, por região (2012 ou último ano)



Fonte: UNODOC, 2013

Nota: Adaptado pelo autor

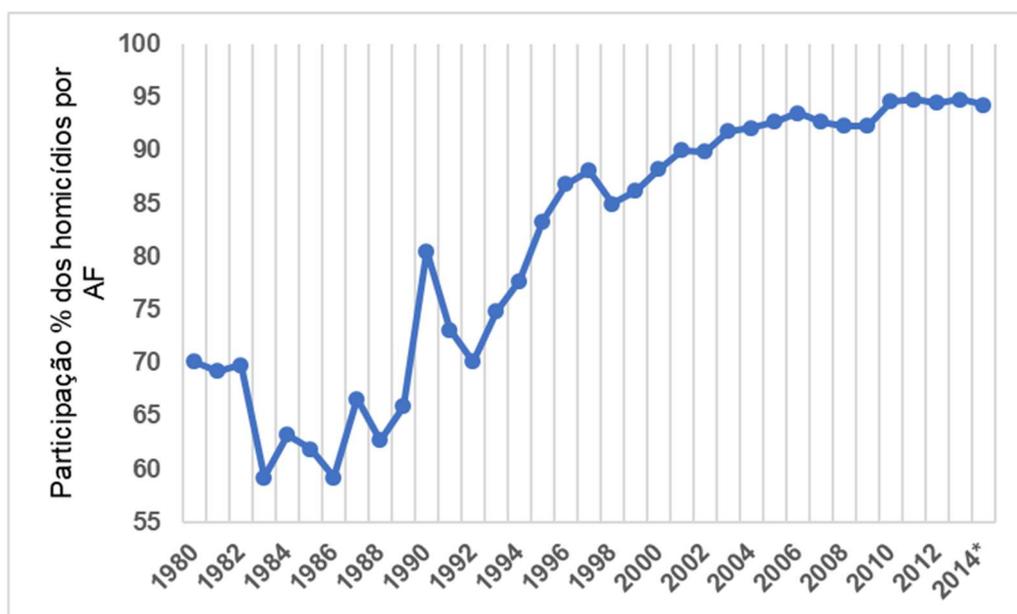
O uso de AF é predominante nas Américas, onde dois terços dos homicídios são cometidos com armas de fogo, enquanto objetos pontiagudos são usados mais frequentemente na Oceania e na Europa, como ilustrado na figura 1. Porém, nem todas as áreas com altas taxas de homicídio são associadas à alta incidência de homicídios com AF. Por exemplo, algumas sub-regiões com altas taxas de homicídio, como o Leste Europeu e o sul da África, possuem taxas reduzidas de homicídio por AF, enquanto outras sub-regiões, como o sul da Europa e o norte da África, possuem baixos níveis de homicídio, porém, altos níveis deste crime cometido com AF (UNODOC, 2013).

No Brasil, o uso da arma de fogo como instrumento para perpetrar homicídios atingiu uma dimensão observada em poucos países da América Latina. Somente em 2015, 41.817 pessoas foram vítimas de homicídio em decorrência do uso das

armas de fogo, o que correspondeu a 71,9% do total de casos (CERQUEIRA; LIMA; VALENCIA, 2017).

Júlio Jacobo Waiselfisz elaborou o “Mapa da Violência 2016: Homicídios por armas de fogo no Brasil”, que mostra um histórico da evolução dos homicídios por AF, dos anos de 1980 a 2014, a figura 2 resume os dados coletados. Ao observar a figura 2, é notável que entre os primeiros anos da década de 80, aproximadamente 70% do total de mortes por armas de fogo eram homicídios, a partir de 1992 começa uma abrupta ascensão até 1997. A partir de então, a participação continua crescendo, mas em ritmo bem menor. Já em 2014, os homicídios representam quase a totalidade das mortes por armas de fogo: 94,3%. Vale salientar, que para o cálculo total de óbitos por armas de fogo é levado em consideração mortes acidentais, suicídios e causas indeterminadas (WAISELSZ, 2016).

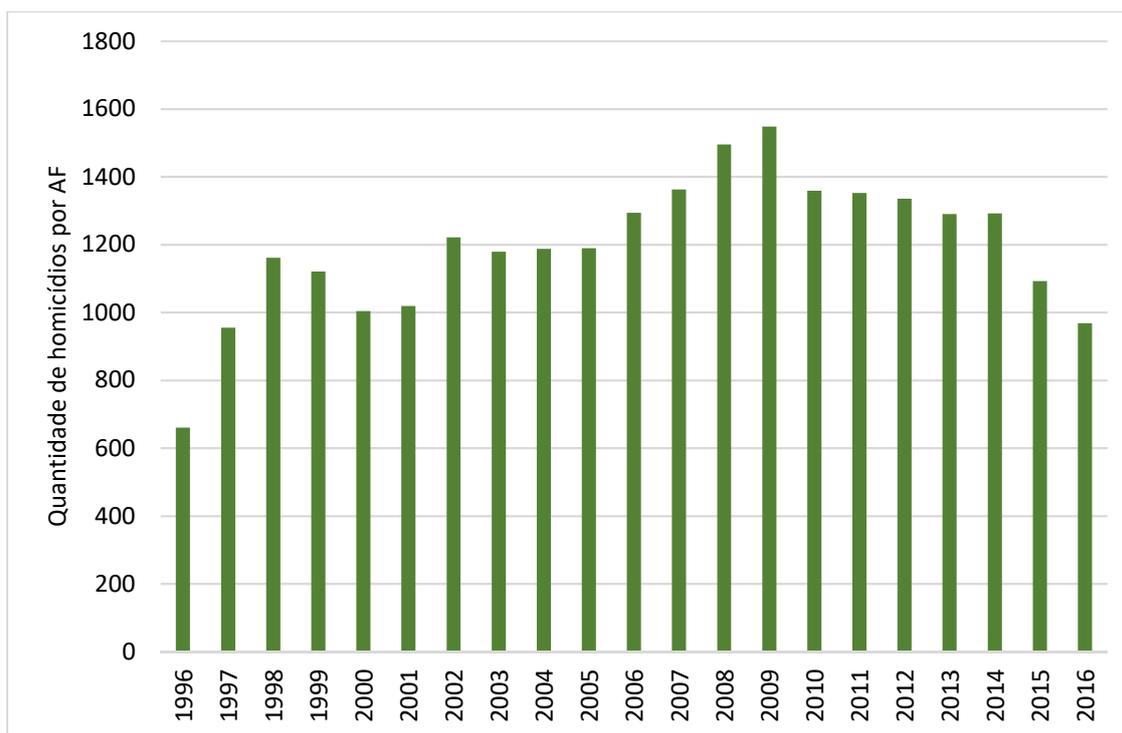
Figura 2 – Participação (%) dos homicídios por AF no total de óbitos por AF, Brasil (1980 - 2014*)



Fonte: WAISELSZ, 2016

Nota: Adaptado pelo autor. * dados preliminares

Figura 3 – Quantidade de homicídios por armas de fogo no Estado do Espírito Santo, no período de 1996 a 2016.



Fonte: IBGE/Diretoria de Pesquisas.

Coordenação de População e Indicadores Sociais.

Gerência de Estudos e Análises da Dinâmica Demográfica e MS/SVS/CGIAE - Sistema de Informações sobre Mortalidade - SIM.

A figura 3 é a representação da quantidade de homicídios por armas de fogo no estado do Espírito Santo, em um período de dez anos (1996 a 2016). Outra observação da figura 3, se refere ao fato de que a partir de 2013 o Espírito Santo saiu da lista dos cinco estados mais violentos do país (pela primeira vez desde 1980), ocupando em 2015 a 15ª posição nacional (CERQUEIRA; LIMA; VALENCIA, 2017). Trata-se de um movimento de queda de homicídio que começou a ocorrer em 2010 e que ganhou força nos anos subsequentes com a implantação do Programa “Estado Presente”, lançado em 2011 (CASAGRANDE, 2015).

1.2 CIÊNCIA FORENSE

Ciência forense tem por finalidade elucidar questões relativas ao âmbito do sistema de segurança pública e justiça criminal (FACHONE; VELHO, 2007). É dividida em subáreas: Balística forense, entomologia forense, grafoscopia e documentoscopia, fonética forense, papiloscopia forense, química forense, toxicologia forense, genética forense, computação forense, meio ambiente forense, engenharia legal, contabilidade forense, medicina legal, psiquiatria forense, odontologia forense, e antropologia forense.

Nesse aspecto, o desenvolvimento e aperfeiçoamento de metodologias eficientes são de grande relevância para a elucidação de crimes. As pesquisas na área forense estimulam a interação ciência e tecnologia com a rotina policial, por meio da utilização de conhecimentos interdisciplinares. Neste trabalho serão abordadas as áreas da Balística e Entomologia Forense, subárea das ciências forense.

1.2.1 Balística Forense

A Balística Forense é uma subárea da ciência forense, que estuda as armas de fogo, a munição e os efeitos dos tiros produzidos, sempre que tiverem relacionadas direta ou indiretamente com infrações penais, com o intuito de elucidar e provar a sua ocorrência (TOCCHETTO, 2013).

A Balística forense é dividida em três subáreas sendo elas: balística interna, balística externa e balística dos efeitos. São descritas como:

- A balística interna estuda a estrutura, os mecanismos, o funcionamento das armas de fogo, a técnica do tiro, bem como os efeitos da detonação da espoleta e deflagração da pólvora dos seus cartuchos no interior, até que o projétil saia da boca do cano da arma.
- A balística externa estuda a trajetória do projétil, do momento que este sai do cano da arma até atingir o alvo, onde serão analisadas as condições

do movimento, velocidade inicial do projétil, sua forma, resistência ao ar, atuação da gravidade e os seus movimentos característicos.

- A balística dos efeitos estuda a trajetória do projétil, desde a saída da boca do cano da arma até sua parada final, incluindo os impactos, lesões e danos sofridos pelos corpos atingidos, sejam eles animados ou inanimados.

As armas de fogo são definidas pela balística forense como artefatos de dimensões e formas diversas utilizadas para arremessar projéteis por meio da força expansiva de gases resultantes da combustão da pólvora. Tocchetto e colaboradores, consideram que a AF, para ser considerada como tal, deve ser composta de três componentes, o aparelho arremessador ou a arma propriamente dita (quando sem munição é considerada um engenho mecânico), a carga de projeção (pólvora) e o projétil, onde estes dois últimos são constituintes do cartucho (BRUNI; VELHO; OLIVEIRA, 2012; TOCCHETTO, 2013).

Já para a legislação brasileira, Decreto Nº 3.665, de 20 de novembro de 2000, as armas de fogo são definidas como:

Art. 3º XIII - arma que arremessa projéteis empregando a força expansiva dos gases gerados pela combustão de um propelente confinado em uma câmara que, normalmente, está solidária a um cano que tem a função de propiciar continuidade à combustão do propelente, além de direção e estabilidade ao projétil (BRASIL, 2000).

A pistola é classificada como arma portátil, de cano curto, leve e possui vários calibres. No Brasil, a pistola .40 é de uso restrito da polícia. Geralmente as pistolas são semiautomáticas, ou seja, dispara um projétil por vez, pois comprime o gatilho, recoloca outro cartucho na câmara, para que outro disparo seja efetuado. A figura 4 exemplifica as principais partes de um pistola calibre .40 modelo 940 marca Taurus®.

Figura 4 – Principais componentes de uma Pistola .40



Fonte: adaptada de TAURUS, 2012

Nota: Adaptado pelo autor

O cartucho é a unidade de munição das armas de fogo. Sua estrutura é formada pelo estojo, a espoleta e o projétil, como mostrado na Figura 5.

Figura 5 – Esquema de um cartucho de arma de fogo



Fonte: CBC, 2013

Nota: Adaptado pelo autor

O estojo constitui o componente externo e inerte do cartucho, possibilitando que todos os componentes necessários ao disparo fiquem unidos em uma peça e contribuindo para a sua padronização como unidade de munição. A maioria dos estojos são constituídos de latão 70:30 (70% de cobre e 30% de zinco), dada a facilidade de ser trabalhado, ou seja, pelas características de se expandir, não

permitir o escape de gases pelas paredes da câmara e de recuperar em parte a forma original após cessar a pressão (TOCCHETTO, 2013).

A pólvora pode ser classificada como: a pólvora preta (com fumaça) e a pólvora química (sem fumaça).

A pólvora preta é classificada como a mais antiga e é raramente utilizada nos dias atuais. Ela é composta de $\cong 75\%$ de salitre (sais de nitrato de sódio ou nitrato de potássio), 13% de carvão vegetal e 12% de enxofre (TOCCHETTO, 2013).

A pólvora química ou pólvora sem fumaça surgiu como um substituto moderno da pólvora negra, pois produz pouca fumaça e menos resíduos, proporcionando maior pressão em pequenas quantidades. Ela apresenta alguns aditivos com funções específicas que contribuem diretamente para a vida útil da munição, sendo eles: nitrocelulose (oxidante); nitroglicerina, ftalato de dimetila ou butila, glicerina (plastificantes); difenilamina, 2-ou 4-nitrofenilamina, *n*-nitrosodifenilamina, dinitrotolueno, *n*-metil-*p*-nitroanilina, metil ou etil centralina, resorcinol (estabilizantes); sulfato de potássio, nitrato de potássio, grafite (aditivos orgânicos).

Alguns desses compostos orgânicos são considerados irrelevantes para identificação de *GunShot Residue* (GSR) orgânicos por possuírem outras fontes, como é o caso da nitrocelulose, nitroglicerina e difenilamina. Já os estabilizantes à base de centralina são aplicados unicamente na fabricação de munições, sendo atualmente usados como marcadores na análise de GSR orgânicos presentes após a combustão da pólvora, podendo ser encontrados no estojo ou nas mãos do atirador (BRUNI; VELHO; OLIVEIRA, 2012).

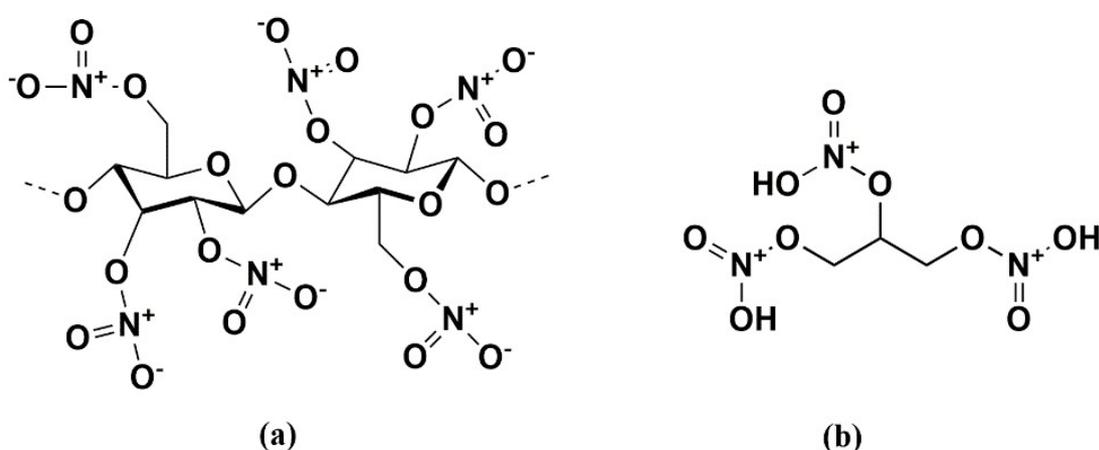
Existem dois tipos de pólvora química: de base simples e de base dupla simples.

- Pólvora de base simples: possui ingrediente ativo à base de nitrocelulose, que produz menos calor na queima, favorecendo a durabilidade da arma, figura 6 (a).
- Pólvora de base dupla: possui dois ingredientes ativos, a nitrocelulose e a nitroglicerina, apresentando maior conteúdo energético e maior

resistência à umidade, como representado na figura 6 (a) e (b) (BRUNI; VELHO; OLIVEIRA, 2012).

Além disso, as pólvoras possuem estabilizadores com função de retardar a decomposição da nitrocelulose e da nitroglicerina. No decorrer do tempo esses estabilizadores vão sendo consumidos, preservando a pólvora. Devido a sua propriedade higroscópica, a pólvora de bases simples é mais estável que a pólvora de base dupla (BRUNI; VELHO; OLIVEIRA, 2012).

Figura 6 – Estrutura química – (a) trinitrocelulose e (b) nitroglicerina



Fonte: COSTA, R. A., 2016

O projétil é a parte do cartucho que será expelido através do cano, sob a ação dos gases resultantes da queima da pólvora. Além das pressões elevadas, a temperatura interna do cano da arma pode atingir valores de 2500°C devido à geração dos gases provenientes da combustão, contribuindo assim para o lançamento do projétil (BRUNI; VELHO; OLIVEIRA, 2012)

A espoleta é um pequeno recipiente metálico, em forma de cápsula, que contém a mistura iniciadora (carga de inflamação) e encontra-se montada no alojamento localizado no centro do culote do estojo. Sua função é iniciar a queima da pólvora contida no estojo e, assim, gerar a expulsão do projétil através do cano da arma (TOCCHETTO, 2013).

As composições da mistura iniciadora para munições de armas de fogo são misturas que, quando submetidas a percussão, proporcionam uma explosão brusca gerando uma chama que serve para inflamar o propulsor dentro da

espoleta. Uma composição da mistura iniciadora deve fornecer um volume relativamente grande de gases quentes e partículas sólidas quentes sem o desenvolvimento de uma onda de detonação.

A composição da mistura iniciadora utilizada na munição varia de acordo com o fabricante. A mistura iniciadora empregada pela Companhia Brasileira de Cartuchos (CBC), para munições convencionais, tem como principais componentes o estifinato de chumbo ($C_6H_9N_3O_8Pb$ – composto explosivo), nitrato de bário ($Ba(NO_3)_2$ – oxidante), trissulfeto de antimônio (Sb_2S_3 – combustível), tetrazeno (sensibilizante) e alumínio atomizado (gera maior vivacidade na chama). Dessa forma, os elementos chumbo (Pb), bário (Ba), e antimônio (Sb), estão sempre presentes nos GSR, configurando-se como os principais marcadores químicos presentes nos resíduos inorgânicos produzidos por disparo de armas de fogo (TOCCHETTO, 2013)

Os produtos resultantes da queima da mistura iniciadora são basicamente os óxidos de carbono, água e óxidos de chumbo, de bário e de antimônio. Eventualmente poderão ser encontrados óxidos de outros metais, quando a mistura iniciadora tiver composição diferente da atualmente usada na espoleta dos cartuchos da marca CBC (BRUNI; VELHO; OLIVEIRA, 2012)

1.2.2 Entomologia Forense

A Entomologia Forense é o uso dos conhecimentos acerca de insetos e outros artrópodes associados, aplicados a diversas questões criminais e pode ser utilizada como um instrumento auxiliar, por exemplo, na investigação de crimes contra pessoas vítimas de morte violenta (PUJOL-LUZ; ARANTES; CONSTANTINO, 2008).

O primeiro caso documentado de Entomologia Forense está relatado em um manual de Medicina Legal Chinês do século XIII. Foi um caso de homicídio em que um lavrador apareceu degolado por uma foice. Para resolver o caso, todos os lavradores da região foram obrigados a depositar suas foices no solo, ao ar

livre. As moscas pousaram em apenas uma delas, atraídas pelos restos de sangue que ainda estavam aderidos à lâmina. A conclusão foi de que aquela era a foice do assassino (BENECKE, 2001; PUJOL-LUZ; ARANTES; CONSTANTINO, 2008).

O médico francês Bergeret, foi o pioneiro em estimativa do intervalo *post-mortem* baseado em estudos entomológicos, realizada em 1855, mas apenas em 1894, foi publicado o primeiro livro sobre o tema, intitulado “*La faune de cadavres*”, pelo pesquisador francês Mégnin e sugeriu que os insetos frequentam ambiente cadavérico de uma forma padronizada que pode ser utilizada para estimativa do intervalo pós-morte – IPM (OLIVEIRA-COSTA, 2011; PUJOL-LUZ; ARANTES; CONSTANTINO, 2008).

No Brasil, o início das pesquisas sobre entomologia forense se deu com as pesquisas de Oscar Freire, em 1908, apenas 14 anos após os trabalhos de Mégnin terem vindo à tona na França. No mesmo ano, Roquete-Pinto publicou um estudo de caso, denominado “Nota sobre a fauna cadavérica no Rio de Janeiro” (PUJOL-LUZ; ARANTES; CONSTANTINO, 2008). Freire também publicou “Algumas notas para o estudo da fauna cadavérica da Bahia” (FREIRE, 1914a, 1914b).

As principais categorias de insetos relacionados à decomposição do corpo pertencem, em sequência de importância, às ordens Díptera, Coleóptera, Lepidoptera e Hymenoptera. A ordem Díptera tem representantes e são encontrados em diversos locais do globo terrestre, com notável diversidade nos climas tropicais e subtropicais (CHAMOUN, 2014; OLIVEIRA-COSTA, 2011). As espécies mais comuns de Calliphoridae são necrófagas e tem se mostrado como a mais representativa dentre todas as que apresentam moscas decompositoras conhecidas atualmente e, conseqüentemente, aquela com maior importância forense (CHAMOUN, 2014; MORETTI, 2006).

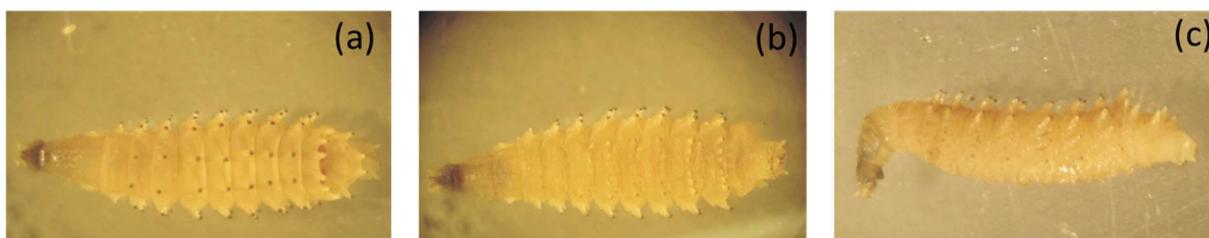
Considera-se que 60% da fauna decompositora seja constituída por dípteros e coleópteros, sendo que dentre os dípteros, os Calliphoridae dos gêneros *Lucilia*, *Chrysomya*, *Cochliomyia*, e *Calliphora*, bem como vários gêneros de

Sarcophagidae, destacam-se pela abundância relativa e pela definida sucessão durante o processo de decomposição (MORETTI, 2006).

Dito isto, para selecionar a espécie de díptero para este estudo, foram selecionadas algumas características, muitas pesquisas têm mostrado que *C. albiceps* pode ser usado como indicador forense no Brasil e em outras partes do mundo, pois colonizam o cadáver exposto a diferentes condições ambientais (GOMES; ZUBEN, 2005).

Vários trabalhos científicos no mundo sustentam a escolha de *C. albiceps* em estudos com entomologia forense por sua presença e/ou prevalência constantes nos corpos (CHAMOUN, 2014; GOMES; ZUBEN, 2005; KOSMANN, 2013). Além disso, as larvas de *C. albiceps* se destacam das outras espécies, por possuir, estrutura morfológica diferente, pois possui o tórax com três seguimentos (T1 – T3) e nos segmentos T1 e T2 apresentam banda de espinhos torácicos, o seguimento T3 não possui bandas de espinhos, apresenta pequenas protuberâncias mas que não formação de espinhos verdadeiros (CARVALHO, 2006) como representado na figura 7.

Figura 7 – Larva *Chrysomya albiceps*, (a) vista dorsal, (b) vista ventral, (c) vista lateral. Escala = 2 mm.



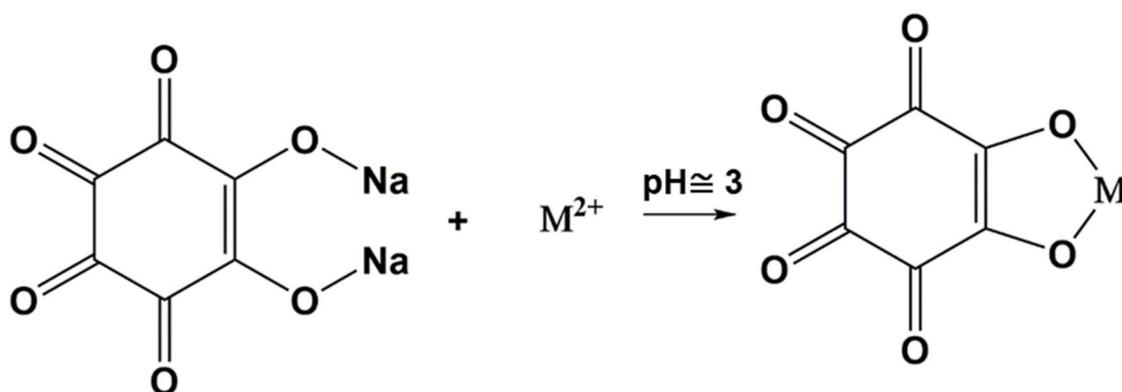
Fonte: (CARVALHO, 2006)

1.3 TÉCNICAS

1.3.1 Teste colorimétrico reação Feigl-Suter

O teste colorimétrico utilizando o rodizonato de sódio como reagente, foi empregado em 1942, por Feigl e Suter, que descreveram o uso do rodizonato de sódio (FEIGL; SUTER, 1942) para a identificação de vários elementos, mas atualmente sua principal utilização é para detectar a presença de Pb e Ba provenientes de GSR. Esse teste por via úmida é o mais utilizado pelas Polícias Técnico Científicas no Brasil, por ser um teste rápido e simples. A figura 8 descreve, de modo geral, como ocorre a complexação do íon M^{2+} pelo rodizonato de sódio em meio ácido com solução tampão (bitartarato de sódio/ácido tartárico) $\text{pH} = 2,8$.

Figura 8 – Reação química com rodizonato de sódio



Onde $M^{2+} = \text{Pb}^{2+}$ ou Ba^{2+}

Fonte: COSTA, 2016

Todavia, não é isento de questionamento devido à instabilidade do rodizonato de sódio tanto em solução quanto no estado sólido e a baixa sensibilidade dos resíduos encontrado (COSTA, 2016). Essa instabilidade pode provocar resultados falso negativo comprometendo assim a investigação (VANINI, 2014).

Outro fato questionável no teste com rodizonato de sódio é a origem do Pb ao qual é identificado, uma vez que muitas profissões estão em contato direto com esse metal como mecânico, pintor, técnico de laboratório, soldador dentre

outras. Assim, um resultado positivo ou negativo não pode ser prova única para a elucidação de crime (GAROFANO et al., 1999). Visto a deficiência apresentada pelo teste, o emprego de técnicas mais sensíveis e instrumentais com maior sensibilidade tornaram-se indispensáveis aos centros de criminalística (COSTA, 2016).

1.3.2 Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES)

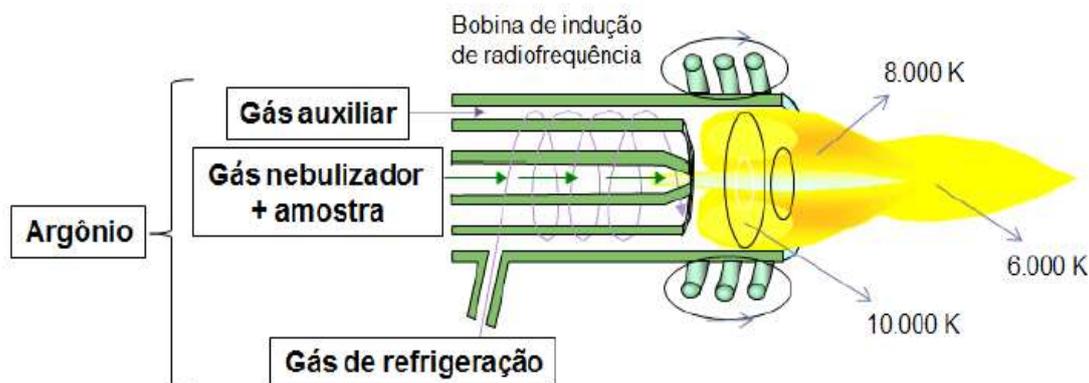
O plasma é definido como um gás parcialmente ionizado onde coexistem elétrons livres e íons positivos em movimento, em um processo no qual ocorre transferência de energia por radiação, condução e aquecimento Joule entre outros. Para que inicie a formação do plasma é necessária uma fonte Tesla para proporcionar a descarga elétrica na região de entrada do Argônio (Ar) no plasma, assim provocando as primeiras ionizações do Ar. Com o aumento da energia na bobina de indução de radiofrequência (RF) que trabalha em uma frequência de 27 a 40 MHz, é formado um campo magnético oscilante, onde os elétrons produzidos são acelerados, atingindo uma energia cinética elevada.

Esta energia é transferida para os outros átomos por meio de colisões, produzindo mais íons e elétrons, iniciando, assim, um processo em cascata até a formação do plasma. Neste momento, até atingir o ajuste entre a RF e a energia utilizada pelo plasma ocorre o processo do acoplamento, que é denominado “plasma com acoplamento indutivo”, o ajuste deve ser de tal forma que a energia refletida seja a menor possível (<5 W) indicando a estabilidade do acoplamento (GINÉ, 1998).

A tocha, como representada na figura 9 é constituída por três tubos concêntricos de quartzo, nos quais fluem Ar em uma vazão entre 11 e 17 L·min⁻¹. Na parte externa, o Ar é inserido tangencialmente na parede do tubo com a finalidade de resfriar as paredes internas da tocha e centralizar o plasma radiante, com isso é denominado de gás de refrigeração; já o tubo intermediário, é introduzido o gás auxiliar, tem fluxo de vazão entre 0,1 e 1,5 L·min⁻¹, que tem por função evitar a

fusão da tocha; e na parte central o gás de nebulização tem por objetivo transportar o aerossol da amostra por araste e a vazão é de aproximadamente $1,0 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ (GINÉ, 1998; VANINI, 2014).

Figura 9 – Esquema da montagem da tocha e espiral de indução



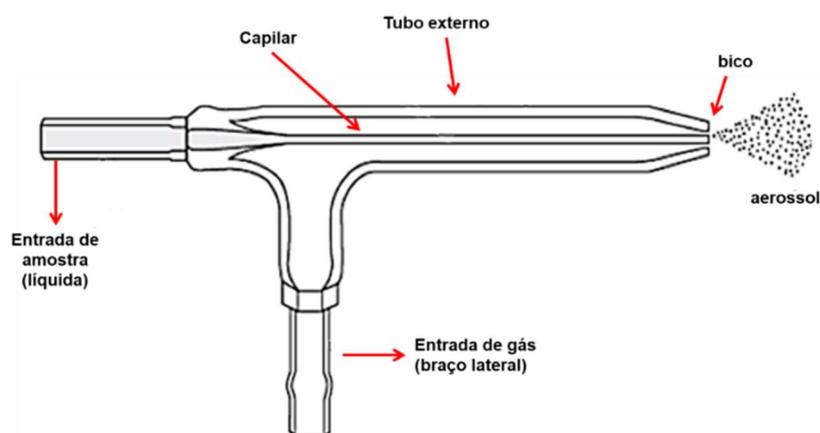
Fonte: TREVELIN, 2014

O processo de introdução de amostras é de grande importância para as análises por ICP OES, já que nesta etapa é avaliada a exatidão, precisão, Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) das leituras. Com o plasma formado, ocorre a introdução da amostra em forma de aerossol, pelo tubo central da tocha. O sistema de introdução mais utilizado é constituído por uma bomba peristáltica, o nebulizador e uma câmara de nebulização.

Para a introdução de amostras líquidas é mais comum utilizar os nebulizadores do tipo pneumático, e possuem três tipos: concêntrico (tipo Meinhard), o *cross flow* (fluxo cruzado) e o Babington (PETRY, 2005).

O nebulizador tipo Meinhard (Figura 10) é formado por dois tubos concêntricos, o canal interno por onde a amostra é conduzida através de um gás de araste, geralmente Ar, que passa em alta velocidade pelo tubo externo e transforma o líquido em aerossol, em geral o fluxo de amostra é até $1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$

Figura 10 – Nebulizador Meinhard

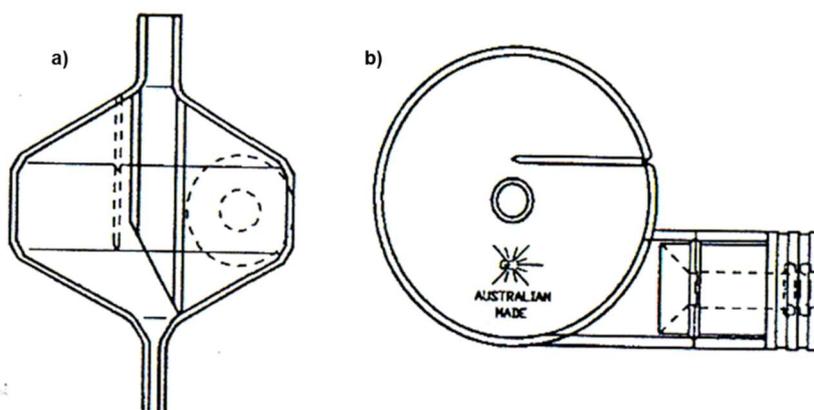


Fonte: VANINI, 2014

Nota: Adaptado pelo autor

O aerossol formado no nebulizador, entra tangencialmente na câmara ciclônica (figura 11) em movimentos espirais, esses movimentos geram uma força centrífuga que seleciona e separa as gotículas de aerossol, as maiores são condensadas e descartadas e as menores formam uma nuvem homogênea e são transferidas até o plasma.

Figura 11 – Esquema de uma câmara de nebulização ciclônica a) seção transversal b) vista superior



Fonte: PETRY, 2005

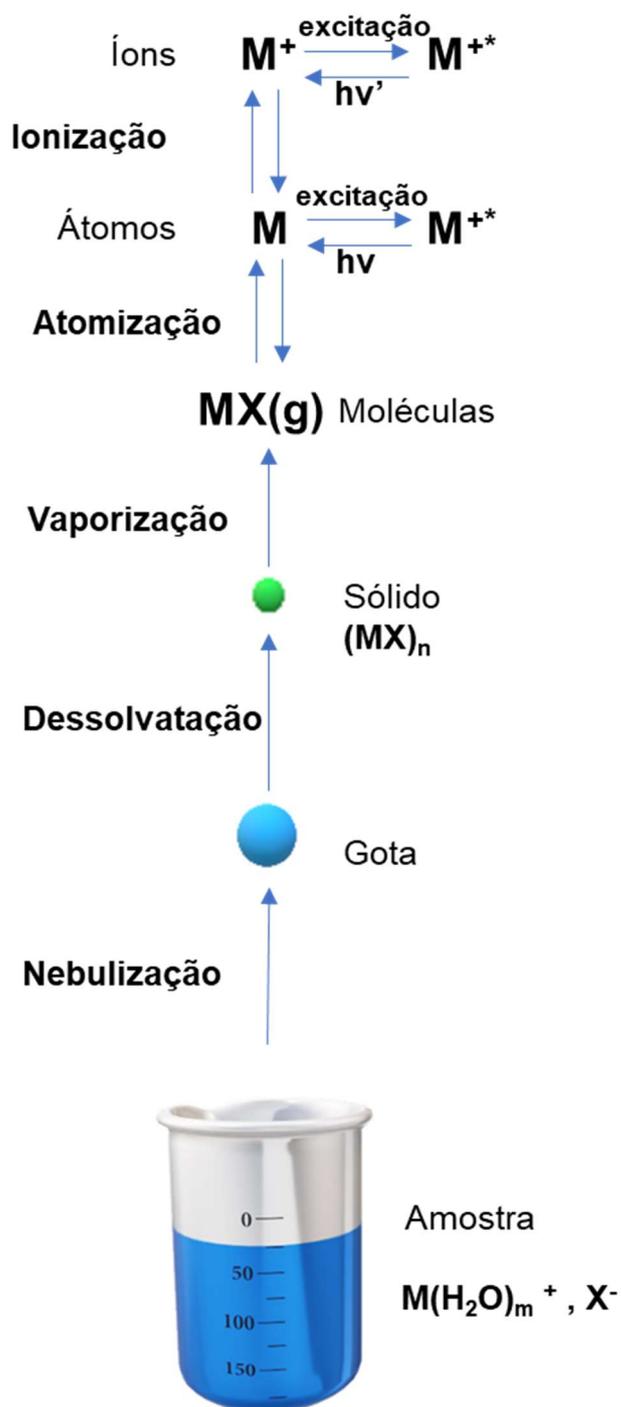
Nota: Adaptado pelo autor

No caminho do aerossol até o plasma, uma sequência de eventos físicos irá ocorrer, como descrito na figura 12. O aerossol formado será dessolvado no plasma em alta temperatura, removendo todo o solvente, resultando em partículas sólidas $((MX)_n)$ microscópicas; em seguida ocorre a vaporização formando as moléculas gasosas $(MX_{(g)})$, logo após esta etapa há a dissociação

das moléculas em átomos livres no estado fundamental (M), nessa etapa os átomos estão aptos para absorver radiação de um determinado comprimento de onda, após todos esses processos ocorre a excitação e ionização (PETRY, 2005).

O equilíbrio da fase gasosa no plasma é muito complexo, mas se acredita que a maioria das excitações e ionizações no ICP são resultado de colisões de átomos do analito com elétrons enérgicos (PETRY, 2005).

Figura 12 – Esquema dos processos e espécies químicas no equilíbrio da fase gasosa no ICP



Fonte: PETRY, 2005; VANINI, 2014
 Nota: Adaptado pelo autor

2 ESTADO DA ARTE

Esclarecer a causa da morte é o objetivo de toda investigação de homicídio. Isso se torna extremamente difícil com cadáveres no primeiro estágio de decomposição ou em um nível mais avançado. Neste sentido, a associação de insetos necrófagos com corpos em decomposição geralmente pode fornecer informações úteis sobre a causa provável da morte (AMENDT et al., 2011; GOFF et al., 1994).

Para casos em que o cadáver é encontrado já em decomposição, os métodos clássicos para determinar a causa da morte por análise química podem ser complicados se os tecidos sólidos não estiverem disponíveis ou não adequados para análise (BEYER, J.C.; ENOS, W.F.; STAJIC, 1980; CAMPOBASSO, C. P.; INTRONA, 2001; GOFF, M. L.; BROWN, W. A.; OMORI, 1992; GOFF, 2000; GOFF et al., 1994)

Como consequência, houve um maior interesse no uso de fontes alternativas ou amostras para análises químicas. Durante a década passada algumas destas fontes envolveram a aplicação de análises toxicológicas para insetos que se alimentam de carniça, a fim de identificar toxinas, drogas ou produtos químicos presentes no interior do cadáver (INTRONA, F.; CAMPOBASSO; GOFF, 2001).

A identificação precisa de feridas em corpos em decomposição é uma tarefa muito difícil e a análise, por meio de meios visuais, é repleta de dificuldades que podem levar a uma má interpretação, especialmente porque a atividade larval dentro de uma ferida geralmente leva à destruição de características diagnósticas. Durante o período pós-morte, as lesões causadas por ataques de animais e insetos podem ser avaliadas e mal interpretadas como lesões antes da morte como ferida de arma de fogo ou ferida de facada (ERKOL, Z.; HÖSÜKLER, 2018; POLLAK, S.; REITER, 1988), dificultando ainda mais a interpretação. Normalmente, são tiradas raios-x de restos descobertos, o que pode levar à detecção de projéteis ou partes de projéteis fragmentados, que podem ser utilizadas como evidências da presença de lesões de tiro (RAINIO, J.; HEDMAN, M.; KARKOLA, K.; LALU et al., 2001).

As características das feridas produzidas por um projétil podem variar muito com base no tipo de arma de fogo, na distância de disparo, no tipo de munição e na localização da ferida. Essas variáveis são ainda mais influenciada por muitos fatores pós-morte, incluindo a decomposição corporal, o local e a atividade dos insetos em e ao redor do trato da ferida. A decomposição e a influência dos insetos podem obscurecer a zona de tatuagem ou GSR, enquanto a atividade dos insetos pode criar novos folhetos, obscurecer os caminhos existentes e posteriormente alterar a morfologia da ferida. Assim, a identificação de feridas produzidas pelo projétil, particularmente na decomposição de cadáveres, é complicada, e a capacidade de detectar quimicamente e identificar GSR em torno de uma suspeita de projétil seria uma valiosa ferramenta (LAGOO et al., 2010).

No entanto, com cadáveres em decomposição e na ausência dessas marcas de identificação dentro do cadáver, outras técnicas precisam ser utilizadas para determinar se uma arma de fogo estava envolvida na morte.

Muitos estudos têm sido desenvolvidos para a detecção e quantificação de GSR de munição convencional. O teste residuográfico é um teste rápido utilizado pela Polícia Técnico-Científica que utiliza o reagente rodizonato de sódio por meio da reação de Feigl-Suter (CHALMERS; TELLING, 1966; FEIGL; SUTER, 1942; VANINI, 2014), porém para comprovação dos resultados deste utiliza-se o MEV-EDS reconhecido como o método mais específico para a análise de GSR inorgânico, devido à sua capacidade de identificar partículas GSR com base na sua morfologia característica e composição elementar (BROZEK-MUCHA, 2009) (BARTH et al., 2012; COSTA et al., 2016a; MARTINY; PINTO, 2008; ROMÃO et al., 2011).

Outras técnicas mais sensíveis e com maior exatidão são propostas como ICP OES (VANINI et al., 2014, 2015a), ICP-MS (COSTA et al., 2016b; KOONS, 2016; SARKIS et al., 2007; TOCAIA DOS REIS et al., 2004), MEV-EDX (MARTINY; PINTO, 2008; MARTINY et al., 2008; ZADORA; BROŽEK-MUCHA, 2003) e espectrometria de massas (CORREA et al., 2016; DESTEFANI et al., 2014; TAUDTE et al., 2014), para análise de GSR.

Em 2012, Taborelli e colaboradores realizaram um estudo que examinou nove ferimentos por arma de fogo produzidos em cabeças de porco que foram submetidos a esqueletização por 4 anos, e quatro entradas de tiro em cabeças humanas de casos judiciais que foram então macerados até o osso na água; as amostras foram submetidas à microscopia eletrônica de varredura acoplada à análise de energia dispersiva de raios X (MEV-EDX). Resultados positivos para GSR foram observados apenas em quatro das nove amostras de animais e em todas as quatro amostras humanas. Entre as amostras humanas, duas lesões apresentaram Pb e Sb, uma lesão apenas Pb e uma Pb, Ba e Sb. Este estudo piloto mostrou a conservação de GSR em material esquelético e, portanto, a importância crucial de análises de SEM-EDX em material esqueletizado. Mais estudos são necessários para verificar o papel das modificações ambientais do GSR (TABORELLI et al., 2012).

Ao invés de determinar GSR em superfícies ou em amostras de tecido, Roeterdink et al. 2004, larvas *Calliphora dubia* (Diptera: Calliphoridae) removida de um pedaço de carne e contaminada com resíduo de arma de fogo e comparada com concentrações de chumbo (Pb), bário (Ba) e antimônio (Sb) foram determinadas em larvas de varejeiras alimentadas com um pedaço de carne de controle. Larvas inteiras foram coletadas em solução e analisadas por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Concentrações significativamente mais altas de Pb, Ba e Sb foram detectadas dentro das larvas que se alimentavam da carne bovina comparada às larvas que foram alimentadas com a carne de controle. Os resultados iniciais indicam que as concentrações de Pb e Sb dentro das larvas diminuem à medida que a duração da alimentação aumenta, enquanto as concentrações de Ba parecem aumentar, sugerindo uma bioacumulação de Ba dentro das larvas. A segunda parte desta experiência investigou a depuração de Pb, Ba e Sb das larvas após a remoção da fonte de resíduos de tiro. Uma redução significativa nas concentrações de Pb, Ba e Sb dentro das larvas foi observada após a transferência das larvas do tiro de carne bovina para o pedaço de carne de controle (ROETERDINK, E. M.; DADOUR, I. R.; WATLING, 2004).

Em 2010, LaGoo e colaboradores, Larvas de varejeira e tecido suíno contaminado com resíduo de arma de fogo (GSR) foram coletadas durante os

meses de verão e inverno, durante um período de amostragem de 37 dias e 60 dias, respectivamente. As amostras de feridas foram digeridas por microondas e analisadas por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) para detecção de antimônio, bário e chumbo. Durante o verão, o período de amostragem de 37 dias englobou todos os estágios de decomposição, exceto a esqueletização. Os três elementos foram detectados em larvas apenas nos dias 3 e 4 após a morte, mas foram detectados em níveis significativos em amostras de tecido durante todo o período de amostragem. No inverno, nenhuma decomposição significativa foi observada durante a amostragem de 60 dias. Embora as temperaturas fossem muito baixas para a atividade das moscas varejeiras, os três elementos foram detectados nas amostras de tecido em níveis relativamente constantes e significativos. Assim, a determinação do GSR no tecido era mais dependente do estágio de decomposição do que do tempo desde a morte.(LAGOO et al., 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a aplicabilidade da técnica de ICP OES para a quantificação Pb, Ba e Sb proveniente de GSR em larvas cadavéricas em ambiente não controlado simulando um caso real de homicídio com arma de fogo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar Pb, Ba e Sb em imaturos da mosca *Chrysomya albiceps* por ICP OES.
- Aplicar teste residuográfico pela reação de Feigl-Suter para identificar Pb, Ba, e Sb na solução após decomposição assistida por microondas.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS E REAGENTES

Ácido nítrico (HNO_3) de qualidade supra pura (65%, Merck Química Brasil, Brasil), água ultrapura ($18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$), preparada por um sistema de osmose reversa (PURELAB Mk2 Ultra, Reino Unido), peróxido de hidrogênio (Cromoline Química Fina, Brasil), e álcool etílico (95%, Vetec Química Fina, Brasil) foram utilizados para a preparação da amostra.

Uma solução multielementar ($1000\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) contendo os padrões Ba, Sb e Pb (Sigma-Aldrich, Suíça) foi diluída em série (100, 200, 300 a $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) para a construção da curva analítica. Todas as soluções padrão foram acidificadas com 2% v/v de HNO_3 .

Rodizonato de sódio P.A. ($\text{C}_6\text{Na}_2\text{O}_6$) (Vetec Química Fina, Brasil), para a solução tampão foram utilizados o ácido tartárico P.A. ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$) (Cromoline Química fina, Brasil), bitartarato de sódio P.A. ($\text{NaC}_4\text{H}_5\text{O}_6$) (Cromoline Química fina, Brasil), água ultrapura e tecido de algodão foram empregados na análise do teste colorimétrico.

4.2 AMOSTRAS

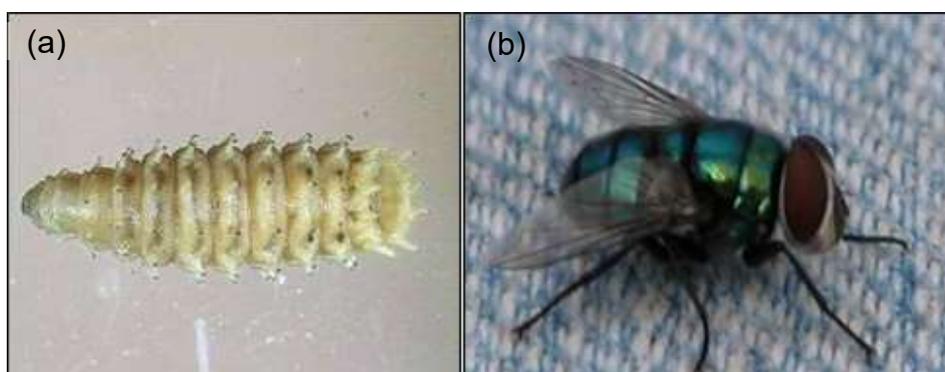
A etapa entomológica *in situ* foi realizada em uma área de floresta, com solo argiloso, no Centro de Formação e Aperfeiçoamento (CFA) da Polícia Militar do Estado do Espírito Santo (PM-ES). Esta etapa do trabalho foi realizado em parceria com o Perito Criminal e professor Dr. Carlos Augusto Chamoun, que realizou os disparos e as coletas.

Adultos e imaturos da mosca *C. albiceps* (figura 13) foram atraídos por carcaça em decomposição (figura 15) de uma fêmea do porco doméstico da espécie *Sus scrofa*, pesando 15,0 kg. O animal foi selecionado para tal estudo, porque além de possui semelhança anatômica interna com o ser humano, quando comparado com o tamanho da cavidade torácica e a quantidade de pêlos, também apresenta decomposição semelhante a observada na espécie humana (OLIVEIRA-COSTA, 2011).

Esse animal foi sacrificado numa área de floresta do CFA, com três disparos de arma de fogo, a curta distância (entre 25 e 40 cm), efetuados com pistola da marca Taurus, calibre .40, modelo 940 (figura 4), sendo dois disparos na região cefálica e um na região abdominal (figura 14).

Larvas da mosca *Chrysomya albiceps* (figura 13 (a)) foram coletados na porca em decomposição.

Figura 13 – *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) (a) Larva (b) Adulto



Fonte: (CHAMOUN, 2014)

Figura 14 – *Sus scrofa* abatido com disparos de arma de fogo



Fonte: (CHAMOUN, 2014)

Figura 15 – Dípteros adultos na carcaça, poucos minutos após a morte do animal



Fonte: (CHAMOUN, 2014)

Colocou-se sobre o animal uma jaula de metal (Figura 16), de formato retangular, medindo 90 cm de comprimento, 70,0 cm de largura e 50,0 cm de altura, com fundo cortado, forrada com tela de pinteiro, fixando-a no solo com 8 (oito) pinos de metal, para evitar o ataque de outros animais.

Figura 16 – Jaula de metal sobre a carcaça.



Fonte: (CHAMOUN, 2014)

A partir do 2º dia de decomposição, foram coletados imaturos (figura 17) nas regiões corporais e proximidades onde houve os disparos, até o 14º dia de decomposição (15 dias após a morte do animal), perfazendo as etapas inicial, moderada e avançada de decomposição cadavérica.

Figura 17 – Coleta dos imaturos e armazenagem em álcool 70%



Fonte: (CHAMOUN, 2014)

Em seguida as amostras foram maceradas e 50 mg foram transferidas para tubos de perfluoroalcoxi (PFA) para serem submetidas a decomposição assistida por radiação microondas. Em cada tubo foram adicionados 6 mL de HNO₃ concentrado e 4 mL de H₂O₂ 30% (v/v). O programa de aquecimento do microondas é descrito na tabela 1.

Tabela 1 – Principais condições de operação do microondas

Parâmetros	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
Temperatura (°C)	100	100	
Potência (W)	800	800	Resfriamento
Tempo (min)	10	5	

As amostras foram transferidas para tubos de polipropileno, adicionaram-se 5 mL de água ultrapura e posteriormente analisadas por ICP OES e qualitativamente por um teste colorimétrico da reação de Feigl-Suter.

4.3 INSTRUMENTAÇÃO

4.3.1 ICP OES

Um Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado - ICP OES (Perkin Elmer, Modelo Optima 7000, EUA), figura 18, foi usado para quantificação de Pb, Ba e Sb. Um nebulizador pneumático Meinhard e uma câmara de nebulização ciclônica com bomba peristáltica foram usados para introduzir as amostras para o plasma. Para as análises foi utilizada a vista axial e as seguintes linhas espectrais: Pb 220,353 nm, Ba 233,527 nm e Sb 206,826 nm. As condições operacionais do ICP OES estão apresentadas na Tabela 2.

Figura 18 – Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado - ICP OES



Fonte: próprio autor

Tabela 2 – Principais parâmetros operacionais do ICP OES

Vazão do gás do plasma (L·min⁻¹)	15
Vazão do gás auxiliar (L·min⁻¹)	0,2
Vazão do gás de nebulização (L·min⁻¹)	1,2
Taxa de aspiração (mL·min⁻¹)	1,0
Posição da tocha	- 3
Vista	Axial
Linhas espectrais (nm)	Pb 220,353
	Ba 233,527
	Sb 206,826

4.3.2 Teste colorimétrico

O teste colorimétrico foi realizado de acordo com a reação Feigl-Suter (FEIGL; SUTER, 1942). Inicialmente, um pequeno volume de cada solução decomposta da larvas, foram adicionadas no tecido de algodão, em seguida uma solução tampão contendo bitartarato de sódio e ácido tartárico (sendo preparada com aproximadamente 1,9 g de bitartarato de sódio e 1,5 g de ácido tartárico dissolvido em 100 mL de água ultrapura) de pH = 2,8 foi pulverizada na superfície do tecido de algodão, e por fim, uma solução de 0,2% m/v de reagente de rodizonato de sódio também foi adicionada. Os resultados positivos são obtidos para Pb a partir da detecção visual de uma cor vermelho-rosa.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DE Pb, Ba E Sb POR ICP OES

Para as análises por ICP OES foram utilizadas os parâmetros estabelecidos na tabela 2. A curva analítica foi estruturada com cinco pontos para Pb, Ba e Sb com as seguintes concentrações 0, 100, 200, 300 e 500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. A tabela 3 apresenta as equações da reta e o coeficiente de determinação (R^2), para cada elemento analisado.

Tabela 3 – Curva analítica de Pb, Ba e Sb

Elemento	Equação da reta	R^2
Pb	$y = 2,116x + 21,408$	0,9981
Ba	$y = 3,489x + 9,118$	0,9998
Sb	$y = 3,752x + 13,503$	0,9997

O Limite de Detecção (LD) e o Limite de Quantificação (LQ) foram determinados a partir das equações estabelecidas pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), conforme as equações 1 e 2.

$$LD = \frac{3 \times Sd}{a} \text{ (equação 1)}$$

$$LQ = \frac{10 \times Sd}{a} \text{ (equação 2)}$$

Onde: Sd: desvio padrão; a: coeficiente angular.

Como resultado da aplicação das fórmulas temos o LD e LQ na tabela 4.

Tabela 4 – Limites de detecção e quantificação dos elementos Pb, Ba e Sb

	Pb	Ba	Sb
Limite de detecção ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	1,49	0,15	4,79
Limite de quantificação ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	4,97	0,50	15,97

Assim, foram coletadas amostras de imaturos no intervalo de 2 a 12 dias após a morte do porco. Foi realizada uma decomposição assistida por radiação microondas dos imaturos coletados, e logo após foram analisadas por ICP OES.

Estes ao entrarem em contato com as regiões da carcaça onde ocorreram os disparos, acabam ingerindo também o GSR provenientes da mistura iniciadora contida na espoleta da munição. A mistura iniciadora é composta principalmente por estifinato de chumbo ($C_6H_9N_3O_8Pb$), nitrato de bário ($BaNO_3$) e trissulfeto de antimônio (SbS_3), sendo possível, portanto encontrar os três elementos, Pb, Ba e Sb após o disparo.

Os analitos encontrados no branco da amostra estão em concentrações abaixo do LD, demonstrando que as concentrações de Pb, Ba e Sb encontrados foram provenientes dos resíduos de tiro. Este branco foi medido analisando uma amostra de imaturo cultivada em laboratório, sendo realizado o mesmo procedimento de preparo das amostras.

A tabela 5 apresenta os valores de temperatura e umidade durante os dias de coleta, realizado durante o inverno (no mês de agosto), e a temperatura (em graus Celsius), durante os doze dias de decomposição, variou de 19,2°C até 30,6°C. A umidade relativa do ar nesse período variou de 46,0% até 89,0%.

A Tabela 6, apresenta as concentrações e desvios padrões relativos de Pb, Ba e Sb encontrados nos imaturos da mosca *Chrysomya albiceps*, pode ser melhor visualizada através do gráfico em barras, figura 19.

No 2º dia ($Pb = 458,20 \mu g \cdot L^{-1}$; $Ba = 165,56 \mu g \cdot L^{-1}$ e $Sb = 46,50 \mu g \cdot L^{-1}$) e 12º dia ($Pb = 458,50 \mu g \cdot L^{-1}$, $Ba = 132,43 \mu g \cdot L^{-1}$ e $Sb = 44,14 \mu g \cdot L^{-1}$) as concentrações de Pb e Ba se apresentaram similares.

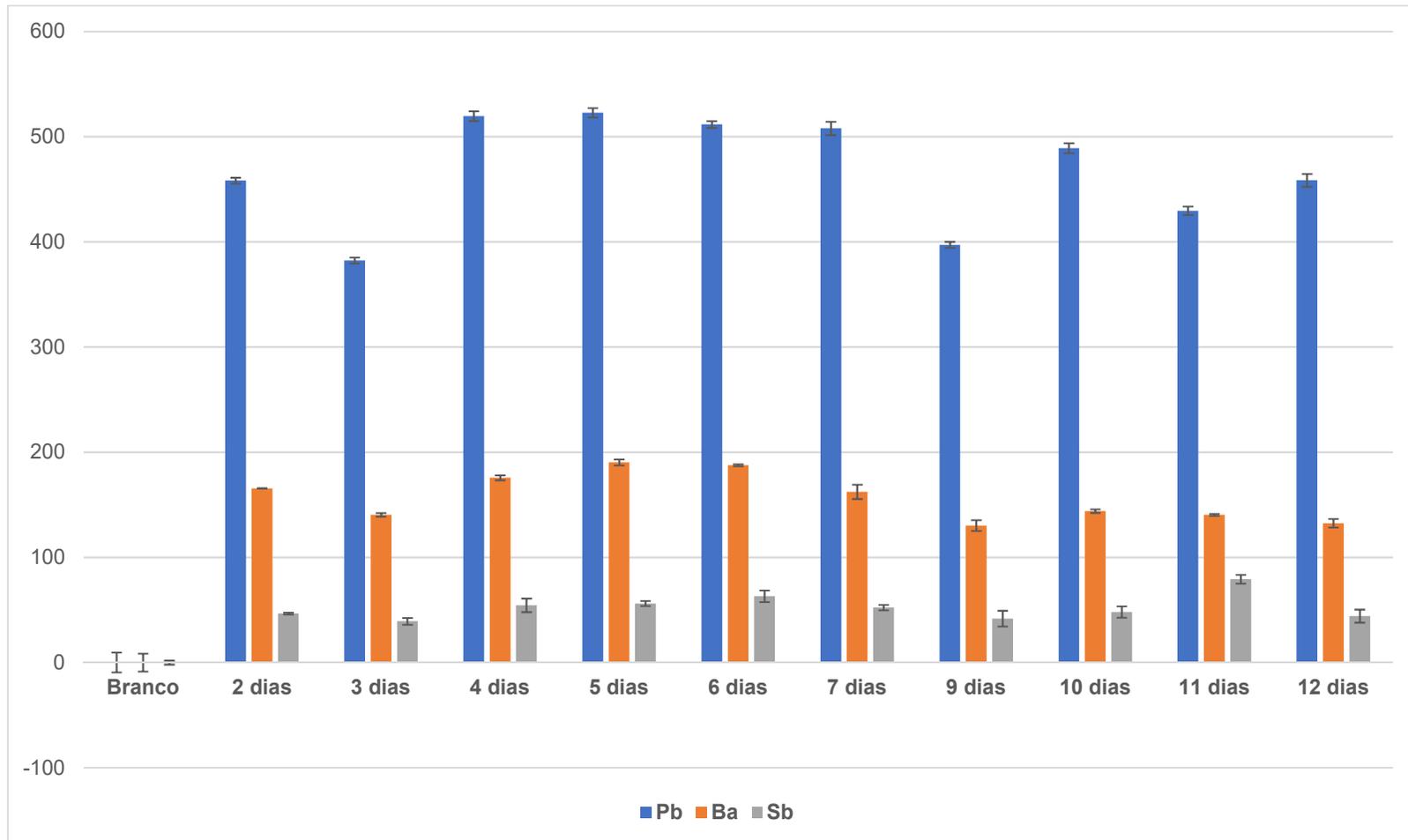
Tabela 5 – Temperaturas mínimas e máximas (°C) e umidades relativa durante o período de 2 a 12 dias após a morte do porco fêmea em decomposição

Tempo de decomposição	Temperatura		Umidade relativa	
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
48 horas (2º dia)	23,4°C	30,2°C	46,0%	77,0%
72 horas (3º dia)	23,8°C	29,8°C	47,0%	87,0%
96 horas (4º dia)	24,2°C	30,6°C	52,0%	80,0%
120 horas (5º dia)	23,9°C	29,6°C	63,0%	82,0%
144 horas (6º dia)	24,2°C	26,3°C	69,0%	83,0%
168 horas (7º dia)	21,2°C	21,8°C	72,0%	89,0%
192 horas (8º dia)	19,4°C	21,6°C	78,0%	91,0%
216 horas (9º dia)	19,2°C	22,4°C	74,0%	89,0%
240 horas (10º dia)	20,6°C	22,6°C	69,0%	82,0%
264 horas (11º dia)	20,4°C	23,2°C	69,0%	86,0%
288 horas (12º dia)	21,2°C	22,6°C	78,0%	82,0%

Tabela 6 – Concentração média e desvio padrão relativo (RSD) de Pb, Ba e Sb em soluções decompostas de larvas.

	Pb		Ba		Sb	
	Concentração média ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD (%)	Concentração média ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD (%)	Concentração média ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD (%)
Branco	<LD	9,45	<LD	8,50	<LD	1,97
2 dias	458,20	2,77	165,56	0,26	46,50	0,94
3 dias	382,26	2,90	140,50	1,72	39,18	3,18
4 dias	519,56	4,66	175,66	2,37	54,37	6,46
5 dias	522,66	4,48	190,30	2,78	56,14	2,51
6 dias	511,56	3,15	187,56	1,00	63,05	5,52
7 dias	507,83	6,40	162,33	6,83	52,28	2,55
9 dias	397,13	2,91	130,20	5,11	41,80	7,47
10 dias	489,03	4,73	143,96	1,65	48,04	5,31
11 dias	429,53	3,99	140,36	0,93	79,15	4,16
12 dias	458,50	6,21	132,43	3,97	44,14	6,22

Figura 19 – As concentrações de Pb, Ba, Sb e de GSR produzidos em digestões de larvas durante o período de 2 a 12 dias após a morte de um porco fêmea em decomposição.



Fonte: MOTTA et al., 2015

Ao observarmos os resultados, podemos constatar uma relação entre as concentrações dos três analitos, onde o Pb foi o elemento encontrado em maior concentração, seguido do Ba e Sb, corroborando com dados da literatura (DALBY; BUTLER; BIRKETT, 2010; LÓPEZ-LÓPEZ; DELGADO; GARCÍA-RUIZ, 2012). Vanini e colaboradores desenvolveram um método analítico para quantificar Pb, Ba e Sb provenientes de GSR, nas mãos de atiradores, concluíram que o Pb é o elemento em maior abundância, e em sequência Ba e em menor concentração o Sb (VANINI et al., 2014, 2015b). Esses dados corroboram com os resultados apresentados neste trabalho, pois seguem a mesma relação de concentrações para os três elementos traço de interesse.

Nos 2º e 3º dia de coleta, os imaturos estavam ainda no primeiro estágio larval, estas provavelmente estavam mais propensas a se alimentar do tecido na superfície do corpo. No intervalo do 4º ao 7º dia foi observada uma tendência de máximo nas concentrações determinadas, no qual o 5º dia detectou maiores valores para chumbo e bário ($Pb = 522,66 \mu g \cdot L^{-1}$, $Ba = 190,30 \mu g \cdot L^{-1}$), e valor máximo de antimônio foi encontrado no 11º dia ($Sb = 79,15 \mu g \cdot L^{-1}$), o período em que ocorre a maior limitação de recursos alimentares é durante o estágio larval, com indivíduos competindo intensamente pelos recursos na tentativa de ingerir a maior quantidade de alimento antes que os recursos se esgotem por completo (SILVA, 2013).

Vale ressaltar que a espécie *Chrysomya albiceps* no estágio imaturo pode exercer papel como predadora intraguildda de larvas de outras espécies de Dípteras, além de realizar canibalismo (FARIA; TRINCA; GODOY, 2004; FARIA et al., 2007), o que corrobora para a constância das concentrações, indicadas na figura 19.

No entanto, o passar do tempo e a superfície sendo consumida a probabilidade das larvas se alimentarem no interior das feridas onde há um menor acúmulo de GRS é maior, o que pode explicar a diminuição, mesmo que pequena, das concentrações dos três elementos.

No 4º, 5º e 6º dias choveu no local em que se encontrava o animal em estudo, o que gerou um ambiente mais úmido e, portanto, mais favorável a proliferação de

imaturos, o que justifica também o maior valor de umidade encontrado no 8º dia, logo após o período chuvoso.

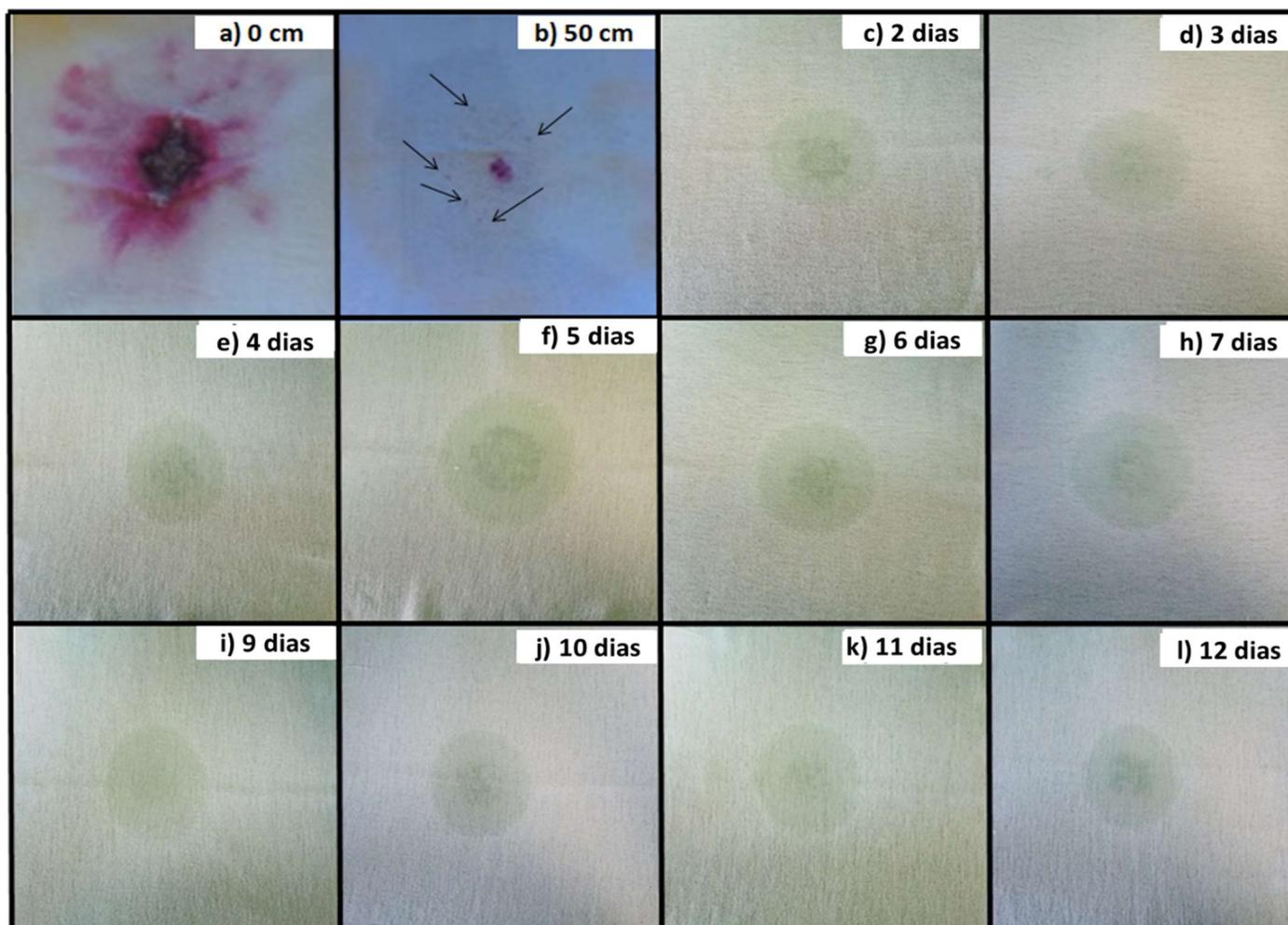
5.2 TESTE COLORIMÉTRICO

A Figura 20 mostra os ensaios de testes colorimétricos realizados para 1 disparo direto no tecido de algodão (usado como base para o teste colorimétrico) a 0 cm e 50 cm, Figuras 19a e 19b, respectivamente, e os ensaios realizados com as soluções de amostras de imaturos decompostas (Figuras 19 c-l).

No caso das amostras de imaturos, o tecido de algodão foi molhado com as soluções pré-tratadas correspondente a cada dia de coleta (2-12 dias). Pode-se observar que a cor rosa avermelhada é evidenciada somente nos tecidos de algodão que receberam o disparo de tiro diretamente, sendo que a 50 cm os resíduos de tiro liberados ocuparam um raio menor e em menor proporção (pontos de cor vermelho-rosa são indicados por setas) quando comparado com o disparo a 0 cm (simulando um disparo a queima roupa). A presença de cor vermelho-rosa é um indicador da formação do complexo de rodizonato de chumbo, $[PbC_6O_6]$, em meio ácido a partir de solução de rodizonato de sódio (cor amarela) e os íons Pb^{2+} (TOCCHETTO, 2013).

Nos casos em que foram testados a presença de Pb na solução de imaturos, foi observado um resultado negativo para todas as análises, evidenciando que o teste colorimétrico não apresenta sensibilidade suficiente para casos em que os resíduos de tiro são coletados em estágios de decomposição da vítima, seja inicial ou de putrefação.

Figura 20 – Teste colorimétrico realizado em tecido de algodão branco para amostras de 1 disparo de pistola .40 em a) 0cm e b) 50 cm; e em tecido de algodão branco molhado com as soluções dos imaturos coletados no período de 2-12 dias (c-l).



Fonte:(MOTTA et al., 2015)

6 CONCLUSÃO

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) é uma ferramenta poderosa para a análise GSR, fornecendo quantificação multielementar de chumbo (Pb), bário (Ba) e antimônio (Sb) com valores de limite de detecção e limite de quantificação 1,49 e 4,97 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para Pb, 0,15 e 0,50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para Ba, e 4,79 e 15,97 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para Sb.

Foi possível determinar as concentrações de Pb, Ba e Sb durante todo o período de coleta (2-12 dias), com um valor máximo no 5º dia (Pb = 522,66 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; Ba = 190,30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; e Sb = 56,14 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) e um valor mínimo não 3º dia (Pb = 382,26 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; Ba = 140,50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; e Sb = 39,18 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). O Pb foi o marcador inorgânico encontrado em maior abundância, seguido do Ba e Sb.

Quando comparado com os resultados colorimétricos, a técnica de ICP OES se mostrou mais sensível e eficaz na identificação de Pb, Ba e Sb em estudos entomológicos durante todo período de coleta (2-12 dias) no inverno brasileiro, sendo possível identificar os marcadores inorgânicos mesmo após o início do estágio de putrefação e alterações climáticas, como a presença de chuva.

Uma hipótese para a constância nas concentrações dos três elementos, é que de acordo com a literatura, as larvas da espécie *Chrysomya albiceps* podem exercer papel como predadora intraguilida de larvas de outras espécies de Dípteras, além de realizar canibalismo.

É notável que tal pesquisa é de grande importância forense e uma técnica que apresenta potencial para aplicação futura em casos de morte violenta, em que a vítima se encontra em decomposição inicial, moderada e avançada.

REFERÊNCIAS

AMENDT, J. et al. Forensic entomology: applications and limitations. **Forensic Science, Medicine, and Pathology**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 379–392, 2011. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12024-010-9209-2>>

BARTH, M. et al. Shooting distance determination by m-XRF — Examples on spectra interpretation and range estimation. [s. l.], v. 223, p. 273–278, 2012.

BENECKE, M. A brief history of forensic entomology. **Forensic science international**, [s. l.], v. 120, n. 1–2, p. 2–14, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11457602>>

BEYER, J.C.; ENOS, W.F.; STAJIC, M. Drug Identification Through Analysis of Maggots. **J Forensic Sci**, [s. l.], p. 411–412, 1980.

BRASIL. Decreto Nº 3.665, 20 de novembro de 2000. Dá nova redação ao Regulamento para a Fiscalização de Produtos Controlados (R-105). . 2000.

BROZEK-MUCHA, Z. Distribution and properties of gunshot residue originating from a Luger 9 mm ammunition in the vicinity of the shooting gun. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 183, n. 1–3, p. 33–44, 2009.

BRUNI, A. T. ...; VELHO, J. A. ...; OLIVEIRA, M. F; **Fundamentos da Química Forense: uma análise prática da química que soluciona crimes**. 1. ed. Campinas/SP.

CAMPOBASSO, C. P.; INTRONA, F. .. The forensic entomologist in the context of the forensic pathologist's role. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 120, n. 1–2, p. 132–139, 2001.

CARVALHO, Luciana de Souza. **Redescrição das larvas de terceiro ínstar de cinco espécies de dípteros califorídeos (insecta, diptera) de importância para a entomologia forense**. 2006. Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

CASAGRANDE, Renato. **Estado presente em defesa da vida: um novo modelo para a segurança pública**. Brasília. Disponível em:

<<http://fjmangabeira.org.br/wp-content/uploads/2016/06/estado-presente-em-defesa-da-vida-1.pdf>>

CBC, Companhia Brasileira de Cartuchos. **Nº 61 – MUNIÇÕES NTA - NON TOXIC AMMUNITION**. Ribeirão Pires - SP. Disponível em: <<http://www.cbc.com.br/upload/informativos/23.pdf>>.

CERQUEIRA, Daniel; LIMA, Renato Sergio De; VALENCIA, Luis Iván. **Atlas da Violência 2017 Fórum Brasileiro de Segurança Pública** Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <https://www.ipea.gov.br/portal/images/170602_atlas_da_violencia_2017.pdf>

CHALMERS, R. A.; TELLING, G. M. A Reassessment of rhodizonic acid as a qualitative reagent. **Mikrochim. Acta**, [s. l.], p. 1127–1135, 1966.

CHAMOUN, C. A. .. **Recuperação e identificação de dna humano y-str, in vitro e in situ, a partir de imaturos de duas espécies de calliphoridae (insecta: diptera) de importância forense**. 2014. Universidade Federal do Rio de Janeiro, [s. l.], 2014.

CORREA, Deleon N. et al. Forensic Chemistry and Ambient Mass Spectrometry: A Perfect Couple Destined for a Happy Marriage? [s. l.], 2016.

COSTA, R. A. **Análise de resíduo de disparo de armas de fogo utilizando ICP-MS : caracterização de munições limpas**. 2016. Universidade Federal do Espírito Santo, [s. l.], 2016.

COSTA, R. A. et al. Gunshot residues (GSR) analysis of clean range ammunition using SEM/EDX, colorimetric test and ICP-MS: A comparative approach between the analytical techniques. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 129, 2016. a.

COSTA, Rayana A. et al. Gunshot residues (GSR) analysis of clean range ammunition using SEM/EDX, colorimetric test and ICP-MS: A comparative approach between the analytical techniques. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 129, p. 339–347, 2016. b. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X16301941>>

DALBY, O.; BUTLER, D.; BIRKETT, J. W. Analysis of gunshot residue and associated materials - A review. **Journal of Forensic Sciences**, [s. l.], v. 55, n. 4, p. 924–943, 2010.

DESTEFANI, Caline A. et al. Europium-organic complex as luminescent marker for the visual identification of gunshot residue and characterization by electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 116, p. 216–224, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2014.05.009>>

ERKOL, Z.; HÖSÜKLER, E. .. Postmortem Animal Attacks on Human Corpses. In: DOGAN, K. H. .. (Ed.). **Post Mortem Examination and Autopsy - Current Issues From Death to Laboratory Analysis**. [s.l.] : InTech, 2018. p. 35–56.

FACHONE, Patrícia; VELHO, Léa. Ciência Forense: Interseção Justiça , Ciência e Tecnologia. **Revista Tecnologia e Sociedade**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 139–161, 2007.

FARIA, L. D. B.; TRINCA, L. A.; GODOY, W. A. C. cannibalistic behavior and functional response in *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Insect Behavior**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 251–261, 2004.

FARIA, Lucas D. B. et al. Foraging behaviour by an intraguild predator blowfly, *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Ethology**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 287–294, 2007.

FEIGL, F.; SUTER, H. A. Analytical Use of Sodium Rhodizonate. **Industrial and Engineering chemistry**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. 840–842, 1942.

FREIRE, Oscar. Algumas notas para o estudo da fauna cadaverica na Bahia. **A gazeta medica**, Bahia, v. XLVI, n. 4, p. 149–162, 1914. a.

FREIRE, Oscar. Aalgumas notas para o estudo da fauna cadaverica na Bahia. **A gazeta medica**, Bahia, v. XLVI, n. 3, p. 110–125, 1914. b.

GAROFANO, L. et al. Gunshot residue Further studies on particles of environmental and occupational origin. [s. l.], v. 103, p. 1–21, 1999.

GINÉ, M. F. **Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente ICP-AES**. Piracicaba.

GOFF, M. L.; BROWN, W. A.; OMORI, A. I. .. Preliminary observations of the effect of methamphetamine in decomposing tissues on the development rate of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect on the estimations of postmortem intervals. **Journal of forensic sciences**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 867–872, 1992. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1629680>

GOFF, M. L. et al. Preliminary observations of the effects of phencyclidine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae). **Journal of forensic sciences**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 123–128, 1994. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8113694>>

GOFF, M. L. .. **A Fly for the Prosecution – How Insect Evidence Helps Solve Crimes**. [s.l: s.n.].

GOMES, Leonardo; ZUBEN, Claudio José Von. Postfeeding radial dispersal in larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae): implications for forensic entomology. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 155, n. 1, p. 61–64, 2005. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073804008254>>

INTRONA, F.; CAMPOBASSO, C. P. ..; GOFF, M. L. .. Entomotoxicology. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 120, p. 42–47, 2001. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073801004182>>

KOONS, Robert D. Analysis of Gunshot Primer Residue Collection Swabs by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry *. [s. l.], p. 748–754, 2016.

KOSMANN, CECÍLIA. **CALLIPHORIDAE (DIPTERA): IDENTIFICAÇÃO, SINANTROPIA E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA**. 2013. Universidade de Brasília, [s. l.], 2013.

LAGOO, Lisa et al. Detection of gunshot residue in blowfly larvae and

decomposing porcine tissue using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). **Journal of Forensic Sciences**, [s. l.], v. 55, n. 3, p. 624–632, 2010.

LÓPEZ-LÓPEZ, María; DELGADO, Juan José; GARCÍA-RUIZ, Carmen. Ammunition identification by means of the organic analysis of gunshot residues using Raman spectroscopy. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 84, n. 8, p. 3581–3585, 2012.

MARTINY, A.; PINTO, A. L. Aplicação da Microscopia Eletrônica de Varredura à Análise de Resíduos de Tiro. [s. l.], p. 24–35, 2008.

MARTINY, Andrea et al. SEM/EDS analysis and characterization of gunshot residues from Brazilian lead-free ammunition. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 177, n. 1, 2008.

MORETTI, Thiago D. E. Carvalho. **Universidade estadual de campinas**. 2006. Universidade Estadual de Campinas, [s. l.], 2006.

MOTTA, Larissa C. et al. Detection of Pb, Ba, and Sb in Blowfly Larvae of Porcine Tissue Contaminated with Gunshot Residue by ICP OES. **Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 2015, p. 1–6, 2015. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/jchem/2015/737913/>>

OLIVEIRA-COSTA, J. **Entomologia Forense. Quando os Insetos São Vestígios**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Millenium, 2011.

PETRY, C. F. **Determinação de Elementos Traço em Amostras Ambientais por ICP OES**. 2005. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, [s. l.], 2005.

POLLAK, S.; REITER, C. ... Post mortem damage by maggots simulating gunshot wounds. **Arch Kriminol**, [s. l.], v. 181, n. 5–6, p. 146–173, 1988.

PUJOL-LUZ, José Roberto; ARANTES, Luciano Chaves; CONSTANTINO, Reginaldo. Cem anos da Entomologia Forense no Brasil (1908-2008). **Revista Brasileira de Entomologia**, [s. l.], v. 52, n. 4, p. 485–492, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0085-

56262008000400001&lng=pt&nrm=iso&tlng=en>

RAINIO, J.; HEDMAN, M.; KARKOLA, K.; LALU, K. .. et al. Forensic osteological investigations in Kosovo. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 121, n. 3, p. 166–173, 2001.

ROETERDINK, E. M.; DADOUR, I. R.; WATLING, R. J. .. Extraction of gunshot residues from the larvae of the forensically important blowfly *Calliphora dubia* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae). **International Journal of Legal Medicine**, [s. l.], v. 118, n. 2, p. 63–70, 2004.

ROMÃO, W. et al. Química forense: perspectivas sobre novos métodos analíticos aplicados à documentoscopia, balística e drogas de abuso. **Química Nova**, [s. l.], v. 34, n. 10, p. 1717–1728, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422011001000005&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 4 maio. 2016.

SARKIS, Jorge E. Souza et al. Measurements of gunshot residues by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry-Further studies with pistols. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 172, n. 1, p. 63–66, 2007.

SILVA, Eveline da Costa. **ASPECTOS DEMOGRÁFICOS DE *Chrysomya albiceps* (W.) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE): ANÁLISE DE SENSIBILIDADE DOS FATORES DE MORTALIDADE NO ESTÁGIO IMATURO E PARÂMETROS DEMOGRÁFICOS DE ADULTOS**. 2013. Universidade Estadual Paulista, [s. l.], 2013.

TABORELLI, Anna et al. Gunshot Residues on Dry Bone After Decomposition-A Pilot Study. **Journal of Forensic Sciences**, [s. l.], v. 57, n. 5, p. 1281–1284, 2012.

TAUDTE, Regina Verena et al. Detection of gunshot residues using mass spectrometry. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2014, 2014.

TAURUS. **Especificações técnicas pistola**. 2012. Disponível em: <www.taurusarmas.com.br/pt/produtos/pistolas/pistola-taurus-940>.

TOCAIA DOS REIS, Edson Luis et al. Identificação de resíduos de disparos de armas de fogo por meio da técnica de espectrometria de massas de alta resolução com fonte de plasma indutivo. **Química Nova**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 409–413, 2004.

TOCCHETTO, D. **Balística Forense: Aspectos Técnicos e Jurídicos**. 7. ed. Campinas.

TREVELIN, A. M. **Desenvolvimento de metodologia para determinação de Ba, Ca, Mg e Na em amostras de petróleo por ICP OES após extração induzida por quebra de emulsão**. 2014. Universidade Federal do Espírito Santo, [s. l.], 2014.

UNODOC. **Global Study on Homicide 2013**. Viena: UNITED NATIONS PUBLICATION, 2013. Disponível em: <https://www.unodc.org/documents/gsh/pdfs/2014_GLOBAL_HOMICIDE_BOOK_web.pdf>

VANINI, G. **Análise de Resíduos de Disparos de Armas de Fogo usando ICP OES: desenvolvimento de uma nova metodologia analítica**. 2014. Universidade Federal do Espírito Santo, [s. l.], 2014.

VANINI, G. et al. Analysis of gunshot residues produced by .38 caliber handguns using inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy (ICP OES). **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 115, p. 106–112, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2014.03.003>>

VANINI, G. et al. Forensic ballistics by inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy: Quantification of gunshot residues and prediction of the number of shots using different firearms. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 118, p. 19–25, 2015. a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2014.07.016>>

VANINI, Gabriela et al. Forensic ballistics by inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy: Quantification of gunshot residues and prediction of the number of shots using different firearms. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 118, p. 19–25, 2015. b. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2014.07.016>>

WASELFSZ, Julio Jacobo. Mapa da violência 2016. **Mapa da violência**, [s. l.], p. 71, 2016. Disponível em: <http://www.mapadaviolencia.org.br/pdf2016/Mapa2016_armas_web.pdf>

ZADORA, G.; BROŽEK-MUCHA, Z. SEM–EDX—a useful tool for forensic examinations. **Materials Chemistry and Physics**, [s. l.], v. 81, n. 2–3, p. 345–348, 2003. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S025405840300018X>>

ANEXO
Artigo publicado

Research Article

Detection of Pb, Ba, and Sb in Blowfly Larvae of Porcine Tissue Contaminated with Gunshot Residue by ICP OES

Larissa C. Motta,^{1,2} Gabriela Vanini,² Carlos A. Chamoun,^{1,3}
Rayana A. Costa,² Boniek G. Vaz,⁴ Helber B. Costa,² João F. P. Bassane,²
Maria Tereza W. D. Carneiro,² and Wanderson Romão^{1,2}

¹Federal Institute of Espírito Santo, 29106-010 Vila Velha, ES, Brazil

²Petroleomic and Forensic Laboratory, Department of Chemistry, Federal University of Espírito Santo, 29075-910 Vitória, ES, Brazil

³Department of Criminology, Superintendence of Technical and Scientific Police of Espírito Santo, 29045-402 Vitória, ES, Brazil

⁴Institute of Chemistry, Federal University of Goiás, 74001-970 Goiânia, GO, Brazil

Correspondence should be addressed to Gabriela Vanini; gabrielavanini@hotmail.com
and Wanderson Romão; wandersonromao@gmail.com

Received 20 September 2015; Accepted 21 October 2015

Academic Editor: Franco Tassi

Copyright © 2015 Larissa C. Motta et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Lead (Pb), barium (Ba), and antimony (Sb) concentrations were monitored in flies larvae (immature *Chrysomya albiceps*) contaminated with gunshot residue (GSR) from .40 caliber Taurus pistols during the period of 2 to 12 days after the death of a female pig in decomposition, during the winter, under the influence of rain and high relative humidity. The samples were also analyzed by the colorimetric test using sodium rhodizonate (Feigl-Suter reaction). It was possible to detect and quantify the three metals of interest by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP OES), where the concentrations of all three elements kept practically constant during the putrefaction stage. Minimum ([Pb] = 382.26 $\mu\text{g L}^{-1}$; [Ba] = 140.50 $\mu\text{g L}^{-1}$; [Sb] = 39.18 $\mu\text{g L}^{-1}$) and maximum ([Pb] = 522.66 $\mu\text{g L}^{-1}$; [Ba] = 190.30 $\mu\text{g L}^{-1}$; [Sb] = 56.14 $\mu\text{g L}^{-1}$) concentrations were found during the third and fifth days after death, respectively. ICP OES presented higher sensitivity in metals determination when compared to the conventional colorimetric test, which showed negative result for the GSR extracts obtained from the immature *Chrysomya albiceps*.

1. Introduction

Violence directly affects civil society. Firearms are used in 71% of all homicides in Brazil, corresponding to approximately 35000 homicides per year. In this context, Forensic Ballistic takes on a role of great legal and social relevance, acting as a legal instrument to elucidate the dynamics and authorship of crimes involving the use of firearms. Forensic Ballistics is a branch of criminology that studies firearms, ammunition, and the effects produced by them, whenever they are directly or indirectly related to criminal offenses, aiming to clarify and prove by a technical way its occurrence [1].

In Forensic Sciences, Entomology has been highlighted in studies of insects and arthropods associated with criminal matters [2, 3]. Entomological evidence in corpses has helped to elucidate murders, such as postmortem interval that contributes to the location and time of death in a homicide

or suicide. Thus, in many cases, Ballistic and Forensic Entomology may be associated, increasing crime solution.

In Forensic Ballistic, during the firing, a considerable amount of material in the gaseous or solid aerosol phase is produced and expelled along the projectile. Part of the gaseous material solidifies, producing gunshot residues (GSR). GSR is composed of lead, barium, and antimony elements [4], which can be found primarily deposited on the shooter's hands, face, and clothes; on people close to the firearm discharge; and even on the victim [5]. In this way, the elements Pb, Ba, and Sb are the major chemical markers present in inorganic GSR released after one shot and the identification of these metals is one of the practices carried out by forensic laboratories.

Characteristics of gunshot wounds can vary greatly based on the type of firearm, firing distance, type of ammunition, and location of the wound. This variability is further

influenced by many postmortem factors, including bodily decomposition, burial, and insect activity in and around the wound tract. Decomposition and burial can obscure obvious GSR tattooing or stippling while insect activity can create new tracts, obscure existing tracts, and subsequently change the morphology of the wound. Hence, identification of gunshot wounds, particularly in decomposing corpses, is complicated, and the ability to chemically detect and identify GSR around a suspected gunshot wounds would be a valuable tool [6].

In this context, the use of analytical techniques in forensic analysis to GSR identification is becoming increasingly important in the replacement of traditional qualitative methods as colorimetric assays [7–12]. The inductively coupled plasma-optical emission spectrometry technique (ICP OES) [13, 14] becomes promising in this sense because it has good sensitivity in the analysis of metals in addition to being multielemental, simple, quick, and cheap when compared with other techniques such as scanning electron microscopy with X-ray energy dispersive detector (MEV/EDX) [12, 15–17] and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [18–20].

In 2003, Roeterdink et al. [21] investigated the Pb, Ba, and Sb detection by ICP-MS in flies larvae from pieces of beef contaminated with GSR, using controlled conditions in a closed environment. In 2009, LaGoo et al. [6], based on the work of Roeterdink and collaborators, altered the analysis place and held the experiment outdoors and under the influence of seasonal variations (summer and winter). They have used pigs killed by firearm and roast beef contaminated with GSR. The detection of GSR was conducted by ICP-MS. In 2012, Taborelli et al. [22] used the technique of SEM/EDX for Pb, Ba, and Sb identification of GSR in a pilot study of nine samples of pig tissue wounded by firearm and skeletonized by four years. In this work, ICP OES technique is applied to evaluate the Pb, Ba, and Sb quantifications of GSR produced in immature flies of *Chrysomya albiceps* collected in a cadaver of an animal simulating a real case, in a period of 2 to 12 days after death, using a Taurus .40 caliber pistol.

2. Experimental

2.1. Materials and Reagents. GSR collection was performed in the Center for Development and Improvement of the Military Police of Espírito Santo State, Brazil. The firearm used was a Taurus .40 caliber pistol and a CBC .40 S&W.

Nitric acid (HNO_3) of suprapure quality (65%, Merck Química Brasil, Brazil), ultrapure water (18.2 M Ω -cm), prepared by a reverse osmosis system (PURELAB Mk2 Ultra, UK), hydrogen peroxide (Cromoline Fine Chemicals, Brazil), and ethyl alcohol (95%, Vetec Química Fina, Brazil) were used for sample preparation. All reagents and solvents were used as received. A stock multielemental solution containing 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ of the standards Ba, Sb, and Pb (Sigma-Aldrich, Switzerland) was serially diluted (100, 200, 300 to 500 $\mu\text{g L}^{-1}$) to form the calibration curve. All standard solutions were acidified with 2% HNO_3 [13, 14].

2.2. Instrumentation. An ICP OES (PerkinElmer, Model Optima 7000, USA) was used for the quantification of

TABLE 1: Main ICP OES parameters.

RF power (W)	1350		
Coolant gas (L min^{-1})	15		
Auxiliary gas (L min^{-1})	0.2		
Nebulizer gas (L min^{-1})	1.2		
Sample uptake (mL min^{-1})	1.0		
Viewing	Axial		
	Pb	Ba	Sb
Analyte wavelength (nm)	220.353	233.527	206.826
Limit of detection ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1.49	0.15	4.79
Limit of quantification ($\mu\text{g L}^{-1}$)	4.97	0.50	15.97

Pb, Ba, and Sb. A SeaSpray U-Series concentric nebulizer and cyclonic spray chamber with peristaltic pumping were used for introducing the samples into the plasma torch. The operating parameters were optimized using a central composite design [23]. The optimized operating parameters, as well as the values of the limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), and correlation factor of linear curve for the analytes Pb, Ba, and Sb, are shown in Table 1, as proposed by Vanini et al. (2013 and 2015) [13, 23]. After the collection step, the samples were digested in a microwave (CEM, Model Xpress, USA).

2.3. ICP OES Analysis of Larvae Samples. Entomological step was carried out “*in situ*” in a forest area with clay soil at the Center for Training and Improvement of Military Police of Espírito Santo State, Brazil.

The animal selected for study was a female pig of the species *Sus scrofa*, weighing approximately 15 kg, which shows internal anatomic similarity to humans, when compared to the size of the thoracic cavity and the amount of hair [24]. The animal was placed in a metal cage, a rectangular shape measuring 90 \times 70 \times 50 cm^3 .

Three shots were made in the animal within walking distance (25–40 cm, two in the head and one in the abdominal region) and immature flies of *Chrysomya albiceps* were collected in the pig in decomposition. For this step a .40 caliber pistol, by Taurus model 940, and ammunition .40 caliber S&W, by CBC, were used.

Larvae were collected, following the classification of Oliveira-Costa [24], who reported that there exist five decomposition stages: (i) initial, which occurs in the first two days; (ii) putrefaction (2nd to 12th day); (iii) black rot (12th to 20th day); (iv) butyric fermentation (20th to 40th day); and (v) dry (the 40th day onwards). In this work between 20 and 80 immature larvae from stages (i) (initial) and (ii) (putrefaction) were collected, which were stored in polypropylene tubes containing 10 mL of 70 v/v% ethanol organic matter preservation. Then the samples were macerated and 50 mg was transferred to perfluoroalkoxy (PFA) tubes to be subjected to pretreatment by microwaves. In each tube 6 mL of concentrated HNO_3 and 4 mL of H_2O_2 30% (w/w) were added. The microwave heating program is described in Table 2. Finally, the samples were transferred to

TABLE 2: Main microwave operating conditions.

Parameters	Stage 1	Stage 2	Stage 3
Temperature (°C)	100	100	
RF power (W)	800	800	Cooling
Time (min)	10	5	



FIGURE 1: Adult and immature *Chrysomya albiceps* flies are attracted to the animal carcass in decomposition nearby the regions where the perforation by caliber .40 S&W projectiles occurred.

polypropylene tubes, 5 mL of ultrapure water was added, and the samples were analyzed by ICP OES.

2.4. Colorimetric Test. The sensibility of ICP OES was compared to colorimetric assays, which were performed according to Feigl-Suter reaction [7]. Initially, a buffer solution containing a mixture of sodium bicarbonate and tartaric acid (being prepared with approximately ca. 1.9 g of sodium tartrate and 1.5 g of tartaric acid dissolved in 100 mL of ultrapure water) of $\text{pH} \cong 3$ was sprayed on the surface of the cotton containing GSR extract produced by the immature flies of *Chrysomya albiceps*. After that, a solution of 0.2% (w/v) of sodium rhodizonate reagent was also sprayed. Positive results are obtained only for Pb through a visual detection of a red-pink color [13, 14].

3. Results and Discussion

3.1. ICP OES Analysis of Larvae Samples. Figure 1 shows the shooting area over the female pig tissue (*Sus scrofa*) from a Taurus pistol. The image shows adult and immature *Chrysomya albiceps* flies, attracted to the animal carcass in decomposition nearby the regions where the perforation by caliber .40 S&W projectiles occurred. Adult and immature flies when in contact with the shooting area end up being contaminated, thereby ingesting the GSR from the initiator mixture contained in the weapon fuse.

Immature flies' samples in the interval of 2 to 12 days after the pig death were collected. After the 12th day no samples were collected because the animal was in an advanced decomposition stage, the black rot stage. Table 3 shows the temperature and humidity values during the collection days, and the sampling period was in the Brazilian winter (July to August) with minimum and maximum temperatures ranging from 19 to 30°C.

TABLE 3: Minimum and maximum temperature (°C) and relative humidity during the period of 2 to 12 days after the death of a female pig in decomposition, during the winter.

Decomposition time	Temperature		Relative humidity	
	Minimum	Maximum	Minimum	Maximum
48 hours (2nd day)	23.4°C	30.2°C	46.0%	77.0%
72 hours (3rd day)	23.8°C	29.8°C	47.0%	87.0%
96 hours (4th day)	24.2°C	30.6°C	52.0%	80.0%
120 hours (5th day)	23.9°C	29.6°C	63.0%	82.0%
144 hours (6th day)	24.2°C	26.3°C	69.0%	83.0%
168 hours (7th day)	21.2°C	21.8°C	72.0%	89.0%
192 hours (8th day)	19.4°C	21.6°C	78.0%	91.0%
216 hours (9th day)	19.2°C	22.4°C	74.0%	89.0%
240 hours (10th day)	20.6°C	22.6°C	69.0%	82.0%
264 hours (11th day)	20.4°C	23.2°C	69.0%	86.0%
288 hours (12th day)	21.2°C	22.6°C	78.0%	82.0%

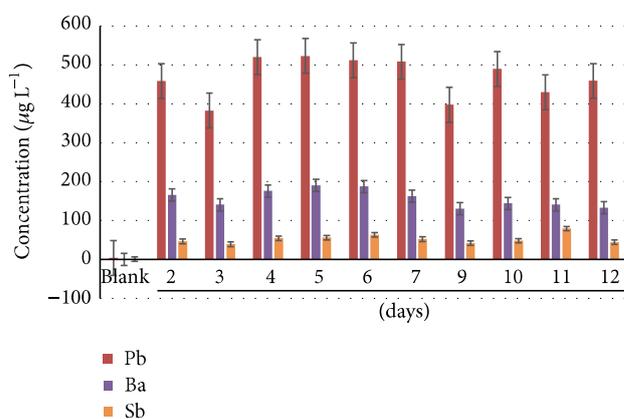


FIGURE 2: Concentrations of Pb, Ba, and Sb from GSR produced in larvae digests ($n = 3$) during the period of 2 to 12 days after the death of a female pig in decomposition.

Figure 2 shows the concentrations and standard deviations of Pb, Ba, and Sb found in immature *Chrysomya albiceps* flies. In general, a maximum variation of 36, 46, and 100% at concentrations of Pb, Ba, and Sb, respectively, was observed during the collection time (2 to 12 days). This variation is related to temperature and relative humidity in the collection environment, which helped preserve and not disperse the shot residue, allowing a constant metal accumulation in the immature flies. Temperature showed a minimum of 19.2°C on the 9th day and a maximum of 30.6°C on the 4th day. Relative humidity remained high, with a minimum of 77% on the 2nd day and a maximum of 91% on the 9th day. Pb was the metal found in highest concentration, followed by Ba and Sb, corroborating with the literature [6, 13, 14].

In the interval from the 4th to the 7th day a trend of maximum concentrations were observed at which the highest values were detected in the 5th day ($[\text{Pb}] = 522.66 \mu\text{g L}^{-1}$ or $156.80 \mu\text{g g}^{-1}$; $[\text{Ba}] = 190.30 \mu\text{g L}^{-1}$ or $57.09 \mu\text{g g}^{-1}$; and $[\text{Sb}] = 56.14 \mu\text{g L}^{-1}$ or $16.84 \mu\text{g g}^{-1}$). In the 4th, 5th, and 6th days, there was a rainy period in the experiment, which led to

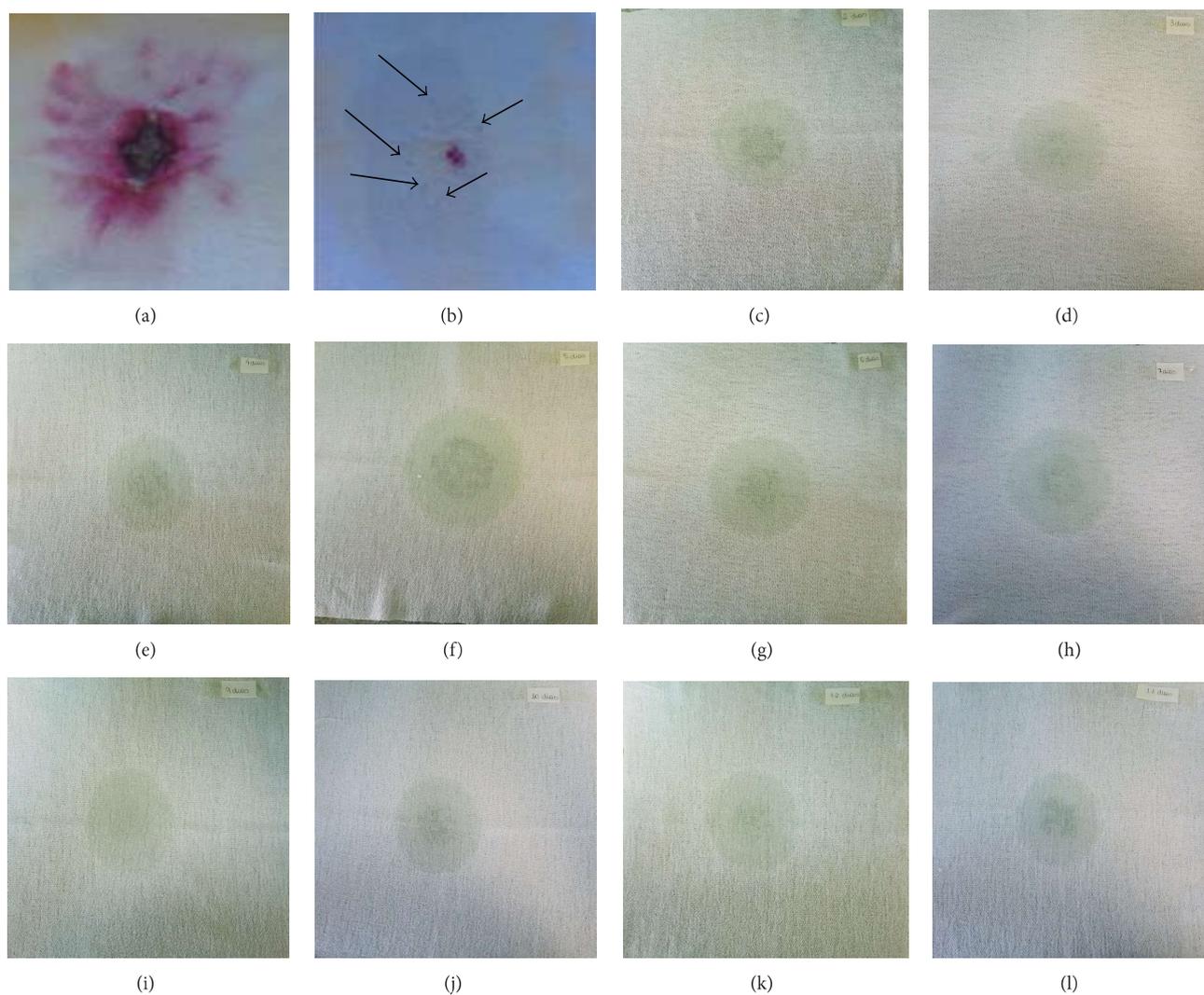


FIGURE 3: Colorimetric assay using sodium rhodizonate on white cotton containing GSR from one shot at (a) 0 cm and (b) 50 cm; and on solutions of the collected immature flies in the period of 2–12 days (c–l).

a more humid environment and therefore more favorable for the immature flies' proliferation, which also justifies the higher humidity value found on the 9th day soon after the rainy period. In addition, small accumulations of water in the shot perforations helped the accumulation of shot residue around the particle dispersion area, justifying a higher concentration of Pb, Ba, and Sb in these days. On the 2nd day ($[Pb] = 458.20 \mu\text{g L}^{-1}$; $[Ba] = 165.56 \mu\text{g L}^{-1}$; $[Sb] = 46.50 \mu\text{g L}^{-1}$) and 12th day ($[Pb] = 458.50 \mu\text{g L}^{-1}$; $[Ba] = 132.43 \mu\text{g L}^{-1}$; $[Sb] = 44.14 \mu\text{g L}^{-1}$) the concentrations of Pb and Sb were very similar. The presence of the analytes in the sample blank was not detected, proving that the detected concentrations of Pb, Ba, and Sb came from the GSR. The blank was measured by analyzing one immature flies' specimen grown in the laboratory.

In 2010, LaGoo et al. [6] used ICP-MS to monitor the concentrations of Pb, Ba, and Sb in GSR in periods of summer and winter, collected in pig larvae and over the animal's

wound. Similar to our work, during the winter, the three elements were detected in the tissue samples at relatively constant significant levels. LaGoo et al. found maximum and minimum concentrations, respectively, of $500 \mu\text{g g}^{-1}$ to $81.3 \mu\text{g g}^{-1}$ for Pb; $126 \mu\text{g g}^{-1}$ to $34.9 \mu\text{g g}^{-1}$ for Ba; and $35.6 \mu\text{g g}^{-1}$ to $5.23 \mu\text{g g}^{-1}$ for Sb in the GSR collected over the animal's wound. For the GSR collected from the larvae during the summer, the three elements were detected only on the 3rd and 4th days after death; however, they were detected at significant levels in tissue samples throughout the entire sampling period (60 days after death).

3.2. Colorimetric Tests. In order to evaluate and compare the sensitivity of the colorimetric test with the ICP OES technique in GSR detection in immature larvae, colorimetric tests were conducted with cotton fabric containing GSR from a firearm shot (blank) at 0 cm and 50 cm, Figures 3(a) and 3(b), respectively, and for the immature flies' samples

(Figures 3(c)–3(l)). In the case of immature flies' samples, the cotton fabric was wetted with the microwave pretreated solutions corresponding to each day of data collection (2–12 days). It can be seen that the red-pink color is evident only in cotton fabrics that have received the shot, wherein the GSR released at 50 cm occupied a smaller radius and a smaller proportion (red-pink color points are indicated by arrows) when compared to the shot at 0 cm. The presence of red-pink color is an indicator of the formation of the lead rhodizonate complex, $[\text{PbC}_6\text{O}_6]$, in acid medium from sodium rhodizonate solution (yellow color) and the Pb^{2+} ions [25]. The colorimetric assay was tested in the immature flies' solution, where negative results were observed for all analytes, showing that the colorimetric test does not show sufficient sensitivity to cases where the shot residue is collected in decomposition stages of the victim, either initial or putrefaction stage.

When compared with the colorimetric results (that provided positive result only for Pb containing $\approx 3000 \mu\text{g L}^{-1}$ on white cotton from one shot at 0 and 50 cm) [14], ICP OES technique proved to be more sensitive and effective in identifying Pb, Ba, and Sb in entomological researches throughout the collection period (2–12 days) in the Brazilian winter and was able to identify inorganic markers even after the beginning of putrefaction stage and climate change, as the presence of rain, reaching a minimum concentration of $382 \mu\text{g L}^{-1}$ for Pb.

4. Conclusion

Inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP OES) is a powerful tool for GSR analysis, providing multielemental quantification of lead (Pb), barium (Ba), and antimony (Sb) with limits of detection and quantification of 1.49 and $4.97 \mu\text{g L}^{-1}$ for Pb; 0.15 and $0.50 \mu\text{g L}^{-1}$ for Ba; and 4.79 and $15.97 \mu\text{g L}^{-1}$ for Sb. It was possible to determine the concentrations of Pb, Ba, and Sb throughout the collection period (2–12 days) with a maximum on the 5th day ($[\text{Pb}] = 522.66 \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{Ba}] = 190.30 \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{Sb}] = 56.14 \mu\text{g L}^{-1}$) and a minimum on the 3rd day ($[\text{Pb}] = 382.26 \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{Ba}] = 140.50 \mu\text{g L}^{-1}$; $[\text{Sb}] = 39.18 \mu\text{g L}^{-1}$). Pb was the inorganic marker found in higher abundance, followed by Ba and Sb. When the sensitivity of ICP OES is compared to conventional colorimetric test (Feigl-Suter reaction) to identify GSR as a function of decomposing time of porcine (immature flies) in Brazilian winter, a better sensitivity was observed for the ICP OES technique.

Conflict of Interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Acknowledgments

The authors thank the Civil Police and Military Police for their assistance with the gunshot residue collection experiments. The authors also acknowledge FAPES (65921380/2013

and 64099520/13), CNPq (445987/2014-6), and CAPES (23038.007083/2014-40) for financial support.

References

- [1] J. S. Wallace, *Chemical Analysis of Firearms, Ammunition, and Gunshot Residue*, CRC Press, London, UK, 1st edition, 2008.
- [2] K. G. V. Smith, *A Manual of Forensic Entomology*, Trustees of The British Museum (Natural History), London, UK, 1986.
- [3] J. H. Byrd and J. L. Castner, *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 2001.
- [4] O. Dalby, D. Butler, and J. W. Birkett, "Analysis of gunshot residue and associated materials—a review," *Journal of Forensic Sciences*, vol. 55, no. 4, pp. 924–943, 2010.
- [5] W. Romão, N. V. Schwab, M. I. Bueno et al., "Química forense: perspectivas sobre novos métodos analíticos aplicados à documentoscopia, balística e drogas de abuso," *Química Nova*, vol. 34, pp. 1717–1728, 2011.
- [6] L. LaGoo, L. S. Schaeffer, D. W. Szymanski, and R. W. Smith, "Detection of gunshot residue in blowfly larvae and decomposing porcine tissue using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)," *Journal of Forensic Sciences*, vol. 55, no. 3, pp. 624–632, 2010.
- [7] A. Zeichner and B. Glattstein, "Recent developments in the methods of estimating shooting distance," *The Scientific World Journal*, vol. 2, pp. 573–585, 2002.
- [8] Z. Brozek-Mucha, "Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis for chemical and morphological characterisation of the inorganic component of gunshot residue: selected problems," *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 428038, 11 pages, 2014.
- [9] K. H. Chang, P. T. Jayaprakash, C. H. Yew, and A. F. L. Abdullah, "Gunshot residue analysis and its evidential values: a review," *Australian Journal of Forensic Sciences*, vol. 45, no. 1, pp. 3–23, 2013.
- [10] R. V. Taudte, A. Beavis, L. Blanes, N. Cole, P. Doble, and C. Roux, "Detection of gunshot residues using mass spectrometry," *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 965403, 16 pages, 2014.
- [11] F. Feigl and H. A. Suter, "Analytical use of sodium rhodizonate," *Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 14, no. 10, pp. 840–842, 1942.
- [12] E. J. Vermeij, P. D. Zoon, S. B. C. G. Chang, I. Keereweer, R. Pieterman, and R. R. R. Gerretsen, "Analysis of microtraces in invasive traumas using SEM/EDS," *Forensic Science International*, vol. 214, no. 1–3, pp. 96–104, 2012.
- [13] G. Vanini, R. M. Souza, C. A. Destefani et al., "Analysis of gunshot residues produced by .38 caliber handguns using inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy (ICP OES)," *Microchemical Journal*, vol. 115, pp. 106–112, 2013.
- [14] G. Vanini, C. A. Destefani, B. B. Merlo et al., "Forensic ballistics by inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy: quantification of gunshot residues and prediction of the number of shots using different firearms," *Microchemical Journal*, vol. 118, pp. 19–25, 2015.
- [15] A. Zeichner and B. Eldar, "Recent developments in methods of chemical analysis in investigations of firearm-related events," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 376, no. 8, pp. 1178–1191, 2003.

- [16] R. E. Berk, "Automated SEM/EDS analysis of airbag residue. I: particle identification," *Journal of Forensic Sciences*, vol. 54, no. 1, pp. 60–68, 2009.
- [17] R. E. Berk, "Automated SEM/EDS analysis of airbag residue. II: airbag residue as a source of percussion primer residue particles," *Journal of Forensic Sciences*, vol. 54, no. 1, pp. 69–76, 2009.
- [18] E. L. Reis, J. E. Sarkis, C. Rodrigues, O. Negrini Neto, and S. Viebig, "Identificação de resíduos de disparos de armas de fogo por meio da técnica de espectrometria de massas de alta resolução com fonte de plasma indutivo," *Journal of Forensic Sciences*, vol. 27, no. 3, pp. 409–413, 2004.
- [19] R. D. Koons, D. G. Havekost, and C. A. Peters, "Determination of barium in gunshot residue collection swabs using inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry," *Journal of Forensic Sciences*, vol. 33, no. 1, pp. 35–41, 1988.
- [20] A. Ulrich, C. Moor, H. Vonmont, H.-R. Jordi, and M. Lory, "TCP-MS trace-element analysis as a forensic tool," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 378, no. 4, pp. 1059–1068, 2004.
- [21] E. M. Roeterdink, I. R. Dadour, and R. J. Watling, "Extraction of gunshot residues from the larvae of the forensically important blowfly *Calliphora dubia* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae)," *International Journal of Legal Medicine*, vol. 118, no. 2, pp. 63–70, 2004.
- [22] A. Taborrelli, D. Gibelli, A. Rizzi, S. Andreola, A. Brandone, and C. Cattaneo, "Gunshot residues on dry bone after decomposition—a pilot study," *Journal of Forensic Sciences*, vol. 57, no. 5, pp. 1281–1284, 2012.
- [23] G. Vanini, M. O. Souza, M. T. W. D. Carneiro, P. R. Filgueiras, R. E. Bruns, and W. Romão, "Multivariate optimisation of ICP OES instrumental parameters for Pb/Ba/Sb measurement in gunshot residues," *Microchemical Journal*, vol. 120, pp. 58–63, 2015.
- [24] J. Oliveira-Costa, *Entomologia Forense: Quando os insetos são vestígios*, Millennium Editora, 3th edition, 2011.
- [25] D. Tocchetto, *Balística Forense: Aspectos Técnicos e Jurídicos*, Millennium, São Paulo, Brazil, 5th edition, 2009.