

Controlo químico de bebidas adulteradas em crimes facilitados com drogas

Beverage Chemical control adulterated in drug facilitated crimes

Prior, J.A.V.¹, Ribeiro, D. S. M.¹, Santos, J. L. M.¹

ARTIGO ORIGINAL | ORIGINAL ARTICLE

RESUMO

Embora os fármacos sejam desenvolvidos com fins terapêuticos, às vezes algumas substâncias são utilizadas com objetivos diferentes daqueles que o farmacologista teve em mente. A palavra fármaco também contempla substâncias psicoativas que podem usar-se com objetivos medicinais ou não-medicinais nos quais são incluídas substâncias legais e ilegais (comumente designadas por “drogas”). O uso de algumas substâncias com intenções não terapêuticas tornou-se um problema de saúde pública crescente, muito importante do ponto de vista de estudos toxicológicos. Quando supostas vítimas informam que foram roubadas ou assaltadas enquanto incapacitadas por uma droga, a análise química toxicológica é imperativa para ajudar a fundamentar a denúncia da vítima. Este tipo de ofensas criminais denomina-se por crimes facilitados por drogas. O ramo da ciência dedicado a estudos de toxicologia envolve a toxicologia forense e analítica, que são interdisciplinares e que compreendem todos os factos científicos relacionados com crimes facilitados por drogas. Normalmente, os casos de crimes facilitados por drogas implicam substâncias com fortes efeitos depressores do sistema nervoso central, e que são usadas para transformar as pessoas em vítimas fáceis de roubos ou assaltos sexuais. Dado que novas drogas são continuamente sintetizadas e, também surgem novos métodos para drogar vítimas sem o seu consentimento ou conhecimento, é imperativo desenvolver novas metodologias de análise química e toxicológica, para auxiliar na investigação científica de todos os factos dos crimes cometidos com drogas, ou ainda possibilitar a implementação de medidas de prevenção. Por exemplo, um modo de drogar vítimas sem o seu conhecimento é através da colocação disfarçada de drogas em bebidas, nos locais de diversão social, em festas, em “raves”, etc.. Nestes casos, as bebidas adulteradas são as “armas do crime”.

Neste artigo, será abordado o enquadramento de crimes facilitados por drogas nas ciências de análise química toxicológica e também, será realizada uma revisão bibliográfica das metodologias analíticas disponíveis para o controlo químico toxicológico de bebidas adulteradas com drogas de abuso.

Palavras-chave: Crimes facilitados por drogas; Metodologias automáticas; Bebidas adulteradas; Drogas de abuso; Rastreamento de drogas

¹Requimte/Laboratório de Química Aplicada, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Porto, Portugal

Endereço para correspondência: João A.V. Prior E-mail: joaoavp@ff.up.pt

Submetido/ Submitted: 23 de outubro de 2013 | Aceite/Accepted: 20 de novembro de 2013

ABSTRACT

Although drugs are developed with therapeutics intentions, sometimes some substances are used for purposes other than those the pharmacologist had in mind. The word “drug” also involves psychoactive substances that can be used for medicinal or non-medicinal purposes in which it is included substances that are legal or illegal. The use of drugs for intentions other than their therapeutic purposes has become a growing public concern making their study very important from the toxicological standpoint. When alleged victims report that they were robbed or assaulted while incapacitated by a drug, toxicological chemical analysis is imperative to help substantiate the victim’s claim. These criminal offenses are known as drug facilitated crimes. The branch of science dedicated to toxicology studies has two application fields, forensic and analytical toxicology, that are interdisciplinary and that comprise all the scientific facts related with crimes committed through the use of drugs. Most often, the cases of crimes facilitated by drugs involve substances that have strong central nervous system depressant effects that are availed to easily render victims to robberies or sexual assaults. As new drugs are continuously being synthesized and new methods are used for drugging victims without their knowledge or consent it is important to develop new analytical methods that can assist in the investigation for figuring out all the details about this sort of crimes or enable ways of their prevention. For example, one way of drugging victims without being aware of is through drink spiking in social entertainment places, during parties, raves, etc. In these cases, the spiked beverages are the “crime weapons”.

In this paper, it will be presented the relation of drug facilitated crimes and the toxicology science and also a review focused on the available analytical methods for the detection of adulterated beverages with drugs.

Keywords: Drug facilitated crime; Automatic methodology; Spiked drinks; Drugs of abuse; Drug screening

INTRODUÇÃO

Enquadramento toxicológico

A toxicologia é uma área da ciência dedicada ao estudo dos efeitos adversos de compostos estranhos (xenobióticos e agentes químicos, físicos ou biológicos) em organismos vivos e no ecossistema.

Inserida nesta área de conhecimento científico, a toxicologia analítica lida com a deteção, identificação e quantificação de substâncias tóxicas ou venenos em diversos tipos de amostras, como por exemplo, biológicas (urina, sangue, etc.), ambientais (terra, água e ar) e alimentares (líquidos e sólidos). Desempenha assim um papel importante no prognóstico, diagnóstico, tratamento e, em alguns casos, na prevenção de envenenamento, dado que os seus estudos incidem na obtenção objetiva de evidências da natureza e magnitude da exposição a um composto tóxico específico¹. As análises toxicológicas solicitam-se em várias situações, tais como, (i) exames tóxicos hospitalares de foro geral e de emergência, incluindo o rastreio de venenos e (ii) em casos mais específicos como de toxicologia forense e rastreio de drogas de abuso². De facto, o estudo dos métodos analíticos usados na análise toxicológica de diferentes amostras não pode dissociar-se de outro campo da toxicologia, nomeadamente a toxicologia clínica e forense.

A toxicologia forense é um híbrido de química analítica e os princípios toxicológicos fundamentais. Essencialmente, preocupa-se com a deteção e quantificação de agentes tóxicos possivelmente presentes em situações criminais e por isso é uma ferramenta importante para auxiliar nas investigações médicas ou legais de casos de morte, envenenamento e abuso de droga. De facto, o objetivo principal do toxicólogo forense é encontrar as respostas às perguntas que surgem durante a investigação criminal, como:

(i) “Esta pessoa foi envenenada?”; (ii) “Qual é a natureza do veneno?”; (iii) “Como foi administrado o veneno?”; (iv) “Quais são os seus efeitos?”; e (v) “Foi uma quantidade perigosa ou letal?”³. Assim, a realização de análises químicas desempenha um papel muito importante para esclarecer a presença de um veneno, quantificar a sua concentração e relacionar esta informação com a sua toxicidade conhecida ou efeitos sobre o organismo.

A toxicologia forense pode dividir-se em três áreas diferentes: toxicologia de investigação “post-mortem”, toxicologia forense de desempenho humano e toxicologia ocupacional⁴.

A toxicologia “post-mortem” é a área da toxicologia forense onde o toxicólogo ajuda na investigação da possibilidade de relacionamento do abuso de álcool, drogas ou outras substâncias tóxicas com a causa de morte.

A toxicologia ocupacional determina a ausência ou a presença de substâncias proibidas e dos seus metabolitos em urina, sendo utilizada para controlo dos trabalhadores nos locais de trabalho.

A toxicologia de desempenho humano trata de avaliar a influência de álcool e determinadas drogas no comportamento humano e no seu desempenho normal. Deste modo, além das investigações relacionadas com atos de condução perigosa ou acidentes de viação, a toxicologia de desempenho humano envolve as investigações relacionadas com o conceito de uso de drogas para cometer crimes – Crimes Facilitados por Drogas (DFC).

Crimes facilitados por drogas

O fenómeno de Crimes Facilitados por Drogas (DFC, do inglês “Drug Facilitated Crime”) e de Assaltos Sexuais Facilitados por Drogas (DFSA, do inglês “Drug Facilitated Sexual Assault”) envolve o uso de substâncias químicas para modificar o comportamento de um ser humano com o intuito da realização de ações criminais, como por exemplo, violações, roubos e homicídios, sem o consentimento da vítima, ou até mesmo, a sua percepção dos acontecimentos.

O crescente número de ocorrências registadas (e muitas outras ocorrerão sem denúncia) de crimes facilitados com o uso de drogas é um problema sério de saúde e segurança pública, originado pelo frequente aparecimento de novas drogas depressoras do sistema nervoso central e também pelo acesso fácil às mesmas, dada a dificuldade do seu controlo por parte das autoridades competentes. O aparecimento de novas drogas faz também com que não existam métodos analíticos para a sua deteção rápida.

Um cenário típico de DFC pode envolver a adulteração dissimulada de bebidas ou de outros alimentos com drogas psicotrópicas de modo a tornar a vítima passiva, submissa e

incapaz de resistir ao atacante. Nos casos de DFC, a maioria das vítimas normalmente sofre de perda de memória do que aconteceu durante e de imediato após a ocorrência. De facto, na mente do agressor, uma droga ideal deve ser aquela que está prontamente disponível, é fácil de administrar, atua rapidamente na perda da consciência e faz com que a vítima tenha amnésia anterógrada de todos os eventos que ocorrem durante a influência da droga utilizada. Além disso, também deve originar na vítima desinibição, relaxamento de músculos voluntários e perda do controlo⁵.

Neste artigo, além do enquadramento do fenómeno de crimes facilitados por drogas na área das análises químicas e toxicológicas, é feita uma revisão das metodologias analíticas disponíveis para o controlo toxicológico de bebidas adulteradas com drogas associadas a DFC.

Substâncias comumente utilizadas

O maior desafio encontrado na investigação de um caso de DFC é a dificuldade na descoberta do tipo de droga que se usou para cometer o crime. De facto, segundo a Sociedade dos Toxicólogos Forenses (SOFT, do inglês "Society of Forensic Toxicologists") existem mais de 50 drogas reconhecidas ou suspeitas de terem sido usadas para cometer DFC⁶. As substâncias mais comumente encontradas nos alegados crimes do tipo DFC (Tabela 1) podem ser drogas de abuso recreativas, medicamentos sujeitos a receita médica obrigatória, medicamentos não sujeitos a receita médica e etanol. Entre os fármacos normalmente implicados nestes casos podem destacar-se as benzodiazepinas (flunitrazepam, diazepam, etc.), análogos de benzodiazepinas (zopiclone, zolpidem, etc.), barbitúricos, anti-histamínicos e inclusive, um antidiabético oral (glibenclamida) com pelo menos um caso registado⁷. As substâncias mencionadas acima têm todas em comum algumas propriedades ansiolíticas, calmantes ou hipnóticas e são depressores do sistema nervoso central. Adicionalmente, os seus efeitos são perigosamente potenciados quando as drogas são ingeridas com álcool⁸.

Nos casos de DFC, a identificação da droga utilizada para cometer o crime (e que constitui uma evidência de crime) é extremamente importante para estabelecer uma queixa criminal contra o perpetrador, desde que a droga usada

seja a "arma" do crime. Contudo, a avaliação dos efeitos farmacológicos nas vítimas é de pouca ajuda para traçar um perfil toxicológico numa situação em que se desconfia de ter ocorrido um crime do tipo DFC. De facto, os efeitos depressores do sistema nervoso central da maioria das substâncias implicadas em DFC são muito semelhantes, o que torna difícil identificar a droga específica usada só pela avaliação dos sintomas das vítimas⁹. Além disso, os efeitos farmacológicos das drogas comumente usadas em crimes do tipo DFC são característicos de uma intoxicação com etanol, levando em muitas investigações legais a supor que a vítima estaria sob o efeito de etanol em vez de ter sido drogada e conseqüentemente, não é efetuada uma investigação minuciosa para determinar o que realmente aconteceu¹⁰. Por isso, é imperativo a recolha de matrizes de amostras adequadas e analisá-las recorrendo a metodologias analíticas de elevado desempenho para permitir a identificação da substância utilizada no crime.

Tabela 1. Lista de drogas reconhecidas ou suspeitas de terem sido usadas em DFC. (Adaptado de (SOFT) SoFT 6)

Etanol	Análogos de benzodiazepinas
	Zolpidem
GHB e análogos	Zopiclone
Ácido gama-hidroxi-butírico 1,4-Butanodiol	Zaleplon
Gama-butirolactona	Anti-histamínicos
	Bromfeniramina
Benzodiazepinas	Clorofeniramina
Alprazolam	Difenidramina
Clonazepam	Doxilamina
Clordiazepóxido	Barbitúricos
Diazepam	Amobarbital
Flunitrazepam	Butalbital
Lorazepam	Pentobarbital
Oxazepam	Fenobarbital Secobarbital
Triazolam	Drogas diversas
Estimulantes	Cetamina
Anfetaminas	Escopolamina
Cocaína	Ácido valpróico
Metanfetamina	
MDMA	

Legenda: MDMA, 3,4-metilenodioximetamfetamina; GHB, ácido gama-hidroxi-butírico

MATRIZES DE AMOSTRAS

A seleção da amostra correta para uma análise toxicológica é outra questão muito importante a considerar numa investigação de suspeita de DFC. As amostras normalmente escolhidas para a análise toxicológica são

espécimes biológicos, nomeadamente urina e sangue, incluindo, plasma e soro. Contudo, os resultados da análise toxicológica nestas matrizes de amostras podem fornecer um resultado negativo apesar de uma droga ter sido de fato ingerida. Esta situação pode ocorrer porque as amostras biológicas impõem procedimentos de colheita especiais. Um dos problemas mais evidentes é o atraso na denúncia do crime por diversas razões, como por exemplo, devido à amnésia anterógrada da vítima, confusão mental que origina dúvidas sobre o que pode ter acontecido e, possivelmente outras razões de foro psicológico incluindo vergonha, medo e negação da ocorrência. Assim, pode decorrer tempo suficiente durante o qual a droga sofre metabolização no organismo e eliminação pelas vias biológicas normais. Consequentemente, as substâncias ingeridas podem atingir níveis de concentração no organismo abaixo dos limites de deteção dos métodos de análise disponíveis. De facto, a maioria das drogas de DFC têm um tempo de semivida muito curto, sendo rapidamente biotransformadas em vários metabolitos inativos e sofrer imediata eliminação. Como consequência dos rápidos processos de metabolização das drogas, é muito importante para o analista assegurar que as amostras biológicas são obtidas rapidamente, embora nem sempre seja possível. A utilização de amostras biológicas de sangue para análises toxicológicas é muito útil mas apenas quando o crime de DFC ocorreu no espaço de 24 horas anteriores à colheita. Em alternativa, as análises de urina têm algumas vantagens porque estas amostras têm um intervalo de tempo maior para a deteção das drogas frequentemente usadas em DFC, e seus metabolitos. Contudo, recomenda-se que a colheita de amostra de urina ocorra até 96 horas após a suposta ingestão da droga pela vítima¹¹. Quando excedido o prazo final para reunir amostras de urina e sangue, a análise toxicológica para identificar drogas DFC nestas amostras tem pouco interesse, porque o risco de não se detetar a droga aumenta consideravelmente embora na realidade possa ter ocorrido um crime facilitado com o uso de drogas.

Nos últimos anos, o uso de outras matrizes de amostras para análises toxicológicas complementares tem assumido especial relevância na

investigação de crimes DFC. As amostras mais comumente usadas na análise toxicológica complementar são o cabelo e fluidos orais (saliva)¹².

O cabelo constitui uma amostra importante para executar uma análise toxicológica. De facto, a análise de cabelo possibilita aumentar o intervalo de tempo para deteção de drogas, de semanas a meses dependendo do comprimento do cabelo, e também distinguir uma exposição única do uso crónico de uma droga, conhecimento esse de extrema importância. Adicionalmente, a estabilidade da droga dentro da matriz de cabelo é alta por longos períodos de tempo, desde que as amostras recolhidas sejam armazenadas ao abrigo da luz e humidade. Adicionalmente, as análises do cabelo envolvem procedimentos de recolha não-invasivos e fáceis de executar. Contudo, algumas desvantagens foram identificadas no uso de amostras de cabelo para análise toxicológica. Um problema importante é a possibilidade de obter falsos resultados positivos devido à contaminação ambiental do cabelo. Além disso, considerando que o cabelo é uma matriz complexa, a sua análise implica procedimentos de pré-tratamento laboriosos para evitar a possibilidade de existência de interferentes nas análises toxicológicas. Finalmente, é importante referir que para obter informações de um abuso crónico de drogas a análise de cabelo assume uma importância elevada, mas para obter dados sobre o uso de drogas num curto prazo após a ingestão, as amostras de urina ou sangue são as mais indicadas não se podendo depender apenas da análise ao cabelo¹².

As amostras de saliva já se usaram em investigações de crimes DFC apresentando algumas vantagens. Uma das vantagens é que a colheita de amostra pode executar-se sob a supervisão direta das autoridades, sem necessitar de técnicas invasivas (como na colheita de amostra de sangue) ou a perda da privacidade (como na colheita de amostra de urina). No entanto, estas amostras têm algumas desvantagens entre as quais, pode destacar-se a quantidade insuficiente da amostra colhida da vítima. De facto, há algumas drogas que podem inibir a secreção de saliva e provocar secura na boca. Outra desvantagem é o curto tempo de deteção, porque a concentração de drogas na saliva depende da concentração plasmática das

mesmas. Assim, drogas que têm curtos tempos de semivida e que são rapidamente eliminadas do organismo são detetadas na saliva apenas por um curto período de tempo. Tal constitui uma desvantagem das amostras de saliva comparativamente às amostras de cabelo ou urina¹².

Concluindo, apesar da deteção da droga de abuso nos fluidos biológicos da vítima ser de extrema importância para estabelecer uma acusação eficaz, os resultados da análise toxicológica nestes casos são geralmente negativos devido a problemas, tais como o atraso na comunicação da ocorrência, a administração de uma dose única e o curto tempo de semivida de algumas destas substâncias. Estes factos originam concentrações dessas substâncias abaixo dos limites de deteção das metodologias analíticas de controlo toxicológico, ou a total eliminação das drogas do corpo das vítimas. Substâncias como o ácido gama-hidroxi-butírico (GHB) podem ser eliminadas do organismo num período de 12 horas.

Além das análises toxicológicas executadas em amostras biológicas da vítima (sangue, urina, saliva ou cabelo) para descobrir a substância usada no crime, as autoridades competentes foram aconselhadas por investigadores de crimes do tipo DFC a procurar qualquer outro item de possível relevância nos locais do crime, como bebidas ou resíduos de bebida com suspeita de adulteração.

ADULTERAÇÃO DE BEBIDAS

No decorrer de uma investigação de suspeita de crime perpetrado com o auxílio de drogas colocadas clandestinamente em bebidas, estas devem ser analisadas para a presença de drogas como parte da investigação. As pretensas bebidas adulteradas no local do crime devem ser recolhidas pelas autoridades para serem submetidas a análises toxicológicas em laboratório ou, alternativamente, se as autoridades tiverem meios suficientes, pode executar-se uma análise de rastreio no local.

Como já se mencionou, quando se realizam análises toxicológicas em amostras biológicas, numa investigação de crime do tipo DFC, os principais problemas encontrados relacionam-se com os limites de deteção das metodologias analíticas, a colheita e conservação de amostras biológicas e o tempo decorrido entre a ingestão

da droga e a análise das amostras. Assim, a combinação destes fatores indica que a análise das bebidas adulteradas nestes crimes é muito importante, dado que pode ser o único modo de contornar alguns problemas inerentes na análise de amostras biológicas da vítima. De facto, os níveis de concentração das drogas nas bebidas adulteradas são muito mais altos do que os encontrados em amostras biológicas, por causa da maior estabilidade das drogas nas bebidas, onde o biometabolismo das substâncias não ocorre. Considerando o aumento dos casos de crimes executados com o auxílio de drogas, são comercializados no Reino Unido, por exemplo, alguns kits que afirmam detetar no local a presença de drogas em bebidas. Contudo, um estudo efetuado por Beynon et al¹³ demonstrou que dois kits bem conhecidos para detetar em bebidas algumas drogas usadas em crimes DFC têm uma acentuada falta de seletividade e sensibilidade. De facto, o uso de tais kits pode fornecer falsos resultados negativos na deteção de drogas de abuso, aumentando a preocupação relativa à verdadeira dimensão de crimes perpetrados com o auxílio de bebidas adulteradas com drogas no Reino Unido.

O rastreio rápido e a análise toxicológica de drogas colocadas intencionalmente em bebidas representa um desafio para os laboratórios forenses e uma necessidade de desenvolvimento científico de novas técnicas analíticas ou a melhoria de metodologias já existentes.

METODOLOGIAS ANALÍTICAS TOXICOLÓGICAS

Um dos problemas mais importante numa investigação de DFC é a limitação da sensibilidade das metodologias analíticas de rastreio e das utilizadas como métodos confirmatórios, dado que algumas substâncias, como por exemplo, as benzodiazepinas, são utilizadas frequentemente numa dose baixa e única. Assim, a necessidade de desenvolver novas metodologias analíticas é evidente, podendo encontrar-se na literatura científica diversos trabalhos de investigação realizados nos últimos anos para rastreio e quantificação de drogas geralmente utilizadas em DFC, em diferentes amostras¹⁴.

Os métodos de rastreio de drogas utilizadas em crimes DFC incluem imunoenaios com marcador enzimático (EMIT, do inglês "enzyme multiplied immunoassay"), imunoenaios de

fluorescência polarizada (FPIA, do inglês “fluorescence polarisation immunoassay”) e kits de “Abuscreen OnTrak” ou “OnLine immunoassays” (Roche Diagnostics)¹⁵.

Para a confirmação da presença e identificação de drogas utilizadas em DFC foram desenvolvidas algumas metodologias de separação envolvendo cromatografia gasosa, cromatografia líquida e eletroforese capilar (incluindo cromatografia eletrocinética micelar (MEKC, do inglês “micellar electrokinetic chromatography”) e eletroforese capilar de zona (CZE, do inglês “capillary zone electrophoresis”)) que podem ser acopladas com diversas técnicas de deteção, como por exemplo, espectrometria de massa, espectrofotometria na região do ultravioleta, matriz de fotodíodos, fluorescência, ionização em chama (FID, do inglês “flame ionization”), captura de eletrões (ECD, do inglês “electron capture”) e detetor de azoto e fósforo (NPD, do inglês “nitrogen phosphorous”)¹⁴.

A generalidade das metodologias analíticas desenvolvidas para o controlo químico toxicológico, usadas como métodos confirmatórios, destina-se à análise de amostras biológicas, encontrando-se apenas um número muito reduzido de metodologias para a deteção de drogas de abuso em bebidas.

METODOLOGIAS ANALÍTICAS PARA ANÁLISE DE BEBIDAS

Um estudo de revisão realizado por Brown e Melton¹⁴, sobre métodos analíticos de determinação e quantificação de drogas publicados entre 2000 e 2010, revelou que a maioria de técnicas de análise de flunitrazepam, GHB e cetamina, implica a deteção em amostras biológicas, enquanto só 4%, 5% e 2% das técnicas de análise, respetivamente, se destinaram a ser realizadas em bebidas.

Métodos instrumentais de elevado desempenho analítico

Uma avaliação da literatura científica permitiu compilar os trabalhos científicos que envolvem o desenvolvimento de metodologias analíticas para identificação e/ou quantificação de drogas de abuso em bebidas, potencialmente utilizadas em crimes do tipo DFC. Esses trabalhos encontram-se compilados na Tabela 2 e são descritos resumidamente.

Em 1998, Sarin et al.¹⁶ desenvolveram uma metodologia baseada em cromatografia de alta eficiência em camada fina para deteção e determinação de diazepam em bebidas, implicando uma extração líquido-líquido com clorofórmio e éter dietílico para pré-tratamento da amostra.

Em seguida, Chen e Hu¹⁷, em 1999, aplicaram um método de deteção por eletronebulização direta/espectrometria de massa para análise qualitativa de nove benzodiazepinas em várias bebidas. Também neste estudo, as amostras foram sujeitas a um pré-tratamento por extração líquido-líquido com clorofórmio antes da análise. Na opinião dos autores, o método é uma alternativa eficiente para identificar drogas em amostras de bebidas encontradas nos locais de crime.

Depois, em 2004, Rao et al.¹⁸ propuseram uma metodologia baseada em HPLC de fase reversa com deteção por matriz de fotodíodos para a separação, identificação e determinação simultânea de hidrato de cloral, diazepam e alprazolam em bebidas alcoólicas fermentadas. Neste trabalho, o único pré-tratamento de amostra necessário foi uma filtração por membranas de nylon com malha de 0,45µm. No mesmo ano, Bishop et al.¹⁹ descreveram um método baseado em cromatografia eletrocinética micelar, com recurso ao tensoativo aniónico sulfato dodecil de sódio (SDS), para a separação e deteção de benzodiazepinas e ácido gama-hidroxibutírico (GHB) em várias bebidas, e em que se realizou uma extração líquido-líquido com acetato de etilo para as bebidas que continham benzodiazepinas.

Em 2005, Olsen et al.²⁰ empregaram uma cromatografia líquida com eletronebulização e deteção por espectrometria de massa para a determinação de drogas em diferentes bebidas. Também avaliaram se nove fármacos com efeitos sedativos e obtidos comercialmente, quando acrescentados a bebidas diferentes causavam a incapacitação de vítimas e também, se os comprimidos causavam a modificação da aparência e gosto das bebidas. Concluíram que quando adicionado numa determinada quantidade a uma bebida, os fármacos testados podem causar a diminuição das capacidades motoras e de perceção ou, mesmo a incapacitação. Adicionalmente, as drogas testadas causaram a alteração da aparência das bebidas

e a maioria dos fármacos modificou o gosto da bebida original.

Também em 2005, Elliott et al.²¹ analisaram as substâncias ácido gama-hidroxibutírico e ga-

ma-butirolactona em 50 bebidas. Neste trabalho, as amostras foram analisadas inicialmente usando cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama (GC-FID) e de seguida usou-se

Tabela 2. Métodos para determinação e quantificação de drogas DFC em bebidas

Substância	Matriz	Preparação de amostra	Separação e deteção	Recuperação	LOD µg mL ⁻¹	LOQ µg mL ⁻¹	Refer.
DIA	Refrigerantes, sumos de frutas	LLE com clorofórmio e éter dietílico	HPTLC - UV	74 – 84	-	-	(16)
BZDs	Bebidas alcoólicas, chás e sumos	LLE com clorofórmio e isopropanol	DEP-MS	-	-	-	(17)
DIA, ALP e CHL	Bebida alcoólica "Toddy"	-	RP-HPLC-DAD	-	0,4 – 4,5	-	(18)
GHB e BZDs	Refrigerantes, água, bebidas alcoólicas, sumos	LLE com acetato de etilo (BZDs) e diluição (GHB)	MECK	-	31,8 GHB 0,722-4,37BZDs	-	(19)
BZDs e outros sedativos	Água, refrigerantes e cerveja	-	LC-ESI-MS	-	-	-	(20)
GHB e GBL	Bebidas alcoólicas, sumos e água	LLE com clorofórmio e derivatização com TMS	GC-FID GC-MS	-	3GHB 5GBL	-	(21)
GHB	Água, cerveja e refrigerantes	SPME com derivatização direta na fibra	GC-MS	-	-	1,5	(22)
GHB	Cerveja	-	NMR	-	-	-	(23)
CLO, FLU e NIT	Bebidas	LLE com acetato de etilo	MECK-LIF	79 – 88	13	-	(24)
BZDs	Refrigerantes, bebidas alcoólicas e sumos	-	CZE-DAD	49,8 – 135,8	2,7-41,5	9,0 – 138,2	(25)
FLU e NIT	Refrigerantes	LLE com diclorometano	LC-DED	78 – 95,5	0,02	-	(26)
BZDs e KET	Sumos e cerveja	LLE com clorofórmio e isopropanol	GC – MS	73 – 112,6	1,3 – 34,2	3,9 – 103,8	(27)
GHB e GBL	Bebidas alcoólicas, refrigerantes, sumos e água	-	NMR – PURGE	-	0,03 – 0,1	1,1 – 9,8	(28)
FLU	Bebidas alcoólicas, refrigerantes e sumos	-	DESI – MS	-	-	3	(29)
SCO	Bebidas alcoólicas e creme hidratante	LLE com metanol (creme) e diluição (bebidas)	P-CE-C4D	-	2,6 (bebidas) 0,6 (creme)	-	(30)

Legenda: DIA, diazepam; BZDs, benzodiazepinas; ALP, alprazolam; CHL, hidrato de cloral; GHB, ácido γ-hidroxibutírico ; GBL, γ-butirolactona; CLO, clonazepam; FLU, flunitrazepam; NIT, nitrazepam; KET, cetamina; SCO, escopolamina; TMS, trimetilsilano; LLE, extração líquido-líquido; SPME, microextração em fase sólida; HPTLC, cromatografia de alta eficiência em camada fina; DEP, sonda por eletronebulização direta; RP-HPLC, cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa; MECK, cromatografia eletrocínica micelar; LC, cromatografia líquida; ESI, ionização por eletronebulização; MS, espectrometria de massa; GC, cromatografia gasosa; FID, deteção por ionização com chama; NMR, ressonância magnética nuclear; LIF, fluorescência induzida por laser; CZE, eletroforese capilar por zona; P-CE, eletroforese capilar portátil; DAD, deteção por matriz de fotodíodos; DED, deteção eletroquímica; DESI, desorção/ionização por eletronebulização; C4D, deteção condutimétrica; LOD, limite de deteção; LOQ, limite de quantificação

cromatografia gasosa com espectrometria de massa para a confirmação dos resultados positivos obtidos previamente por GC-FID. Os autores extraíram as drogas de várias bebidas usando clorofórmio.

Nesse mesmo ano, Meyers et al.²² desenvolveram um método de análise de GHB em várias bebidas alcoólicas e não alcoólicas. O método desenvolvido envolveu inicialmente a extração de GHB de amostras aquosas por microextração em fase sólida (SPME) seguido de derivatização direta na fibra seguido de análise por GC-MS.

Em 2006, Grootveld et al.²³ exploraram uma metodologia baseada em espectroscopia de ressonância magnética nuclear ^1H de alta resolução para a deteção e quantificação de GHB em saliva humana e em cerveja não alcoólica.

Bishop et al.²⁴ em 2007 desenvolveram um método rápido de análise microfluídico para a deteção de benzodiazepinas em bebidas adulteradas. Neste trabalho, utilizou-se cromatografia eletrocínica micelar com um corante de cianina (Cy5) para a deteção indireta por fluorescência. Ainda, usou-se uma extração líquido-líquido com acetato de etilo para concentrar as amostras.

Ainda em 2007, Webb et al.²⁵ desenvolveram uma metodologia baseada em eletroforese capilar de zona (CZE) com deteção por matriz de fotodíodos (DAD) para a separação e determinação de seis benzodiazepinas em várias bebidas frequentemente consumidas em bares e festas. Este método empregou um tubo capilar duplamente revestido com cloreto de poli (dialildimetilamónio) e sulfato de dextrano. Neste trabalho, nenhum pré-tratamento de amostra foi necessário para quantificar cinco benzodiazepinas nas bebidas testadas, com a exceção do vinho, cuja complexidade da matriz para análise não permitiu a quantificação exata de nitrazepam.

Honeychurch e Hart²⁶, em 2008, descreveram uma técnica por cromatografia líquida (LC) com deteção eletroquímica para determinar flunitrazepam e nitrazepam em bebidas adulteradas. As bebidas testadas foram submetidas a um procedimento de pré-tratamento de amostra antes da análise, através de uma extração líquido-líquido com diclorometano.

Em 2009, Acikkol et al.²⁷ desenvolveram uma

metodologia baseada em cromatografia gasosa com espectrometria de massa para a determinação simultânea de algumas benzodiazepinas e cetamina em diversas bebidas. As drogas foram extraídas das bebidas adulteradas por extração líquido-líquido com uma mistura 1:1 de clorofórmio e isopropanol.

Mais recentemente, em 2011, Lesar et al.²⁸ analisaram algumas bebidas adulteradas com GHB e GBL através de ^1H -NMR com um método de supressão de água denominado PURGE. O método de PURGE em combinação com a técnica de ^1H -NMR permitiu a identificação direta e a quantificação de GHB e GBL em todas as bebidas exceto o vinho no qual a quantificação exata não foi alcançada devido a interferências da matriz da amostra.

Também em 2011, D'Aloise e Chen²⁹ usaram uma nova técnica de desadsorção/ionização por eletronebulização acoplado a espectrometria de massa para a determinação de flunitrazepam em várias bebidas. A bebida adulterada com flunitrazepam analisou-se sem necessidade de qualquer pré-tratamento.

Em 2013, Sáiz et al.³⁰ desenvolveram um método de determinação de escopolamina em seis bebidas alcoólicas e num creme hidratante utilizando um equipamento portátil de eletroforese capilar, modificado pelos autores. A análise do creme foi realizada após um procedimento de pré-tratamento da amostra por extração com metanol, enquanto as amostras de bebidas implicaram unicamente como tratamento a diluição das mesmas.

As metodologias descritas para a análise toxicológica de bebidas com drogas usadas em crimes do tipo DFC são muito exatas e algumas apresentam elevada sensibilidade e seletividade, contudo a maioria dos procedimentos mencionados necessitam de equipamento dispendioso, analistas altamente especializados e exigem um tratamento de amostras laborioso e específico usando reagentes de elevado risco ambiental. Adicionalmente, estas técnicas só se executam em condições de laboratório muito especiais com a intervenção rigorosa dos técnicos especializados. Também, é importante considerar que nem todos os laboratórios dispõem de orçamento para a aquisição e manutenção de muitos dos equipamentos necessários nas metodologias de análise referidas. Os métodos acima mencionados constituem, sem

qualquer dúvida, alternativas robustas para análises químicas toxicológicas, sobretudo como metodologias confirmatórias com alta confiabilidade nos resultados fornecidos. No entanto, a maioria das metodologias já desenvolvidas, para controlo químico toxicológico de bebidas adulteradas com drogas de abuso, são completamente impróprias para rastreios rápidos das bebidas nos locais de consumo ou do crime, dado que exigem equipamentos científicos de elevada dimensão e requerem tempos de preparação de amostra e análise elevados.

O desenvolvimento de novas metodologias analíticas para rápido rastreio "in situ" de drogas de abuso em bebidas é muito importante do ponto de vista forense e toxicológico. Assim, para uma rápida deteção de drogas de abuso nos locais de consumo, o objetivo principal é utilizar metodologias simples, rápidas, fiáveis e ainda com outras especificações que permitam a execução de análises fora do ambiente de um laboratório, nomeadamente: automáticas, pequenas dimensões, portáteis, reduzido consumo energético, versatilidade e facilidade de operação.

Para este fim, o recurso a métodos automáticos de análise e mais precisamente as metodologias baseadas na análise em fluxo podem assumir um papel importante.

Metodologias automáticas em fluxo

A automação dos procedimentos analíticos em análises químicas permite efetuar rapidamente a análise de um grande número de amostras, com a diminuição da intervenção humana, e redução considerável do volume dos reagentes e amostras necessários à análise.

Os métodos automáticos de análise têm aplicação em variados campos, inclusive análises clínicas e toxicológicas; controlo de processos industriais, de matéria-prima e produto acabado; análise regular do ar, água e solo; e controlo de qualidade de alimentos, produtos farmacêuticos e agrícolas³¹.

O conceito de multi-impulsão³² através da utilização de micro-bombas solenóides apareceu em 2002, e constituiu uma nova estratégia de fluxo com características hidrodinâmicas distintas (fluxo pulsado) das outras metodologias de fluxo e com outras diferenças importantes, nomeadamente, a conceção e montagem

do sistema de fluxo, dado que as etapas sucessivas de um procedimento típico na análise em fluxo incluindo a inserção de amostra, a adição de reagentes e a propulsão das soluções são efetuadas pelo mesmo componente do sistema de fluxo e não por equipamentos diversos, separados e de controlo individual. Deste ponto de vista, é de referir ainda o avanço evidente na miniaturização dos sistemas de análise.

A análise em fluxo por multi-impulsão é baseada na utilização de várias micro-bombas solenóides, uma por cada solução de reagente envolvida na análise, que podem funcionar individualmente ou em combinação na impulsão de líquidos podendo atuar ao mesmo tempo como dispositivos de inserção de amostra/reagente e unidades de comutação entre as soluções.

As características e as potencialidades dos sistemas de fluxo baseados no conceito de multi-impulsão tornam esta estratégia de fluxo uma ferramenta útil na implementação de procedimentos analíticos, que podem usar-se com vantagens significativas relativamente às estratégias convencionais de análise. De facto, a natureza do fluxo pulsado em combinação com múltiplas tarefas executadas pela micro-bomba e o seu controlo individual por meio de um computador permite implementar sistemas analíticos em fluxo mais compactos e que integram menos componentes, controlados com uma grande simplicidade operacional. A portabilidade destes sistemas, em virtude da sua miniaturização e exigências reduzidas de energia para funcionar, permite o transporte para fora do ambiente de laboratório e assim, possibilita executar análise de campo.

Outra característica essencial dos sistemas de multi-impulsão é a versatilidade na implementação de uma grande variedade de métodos analíticos. Na literatura científica encontram-se diversos trabalhos que descrevem várias metodologias explorando o conceito de multi-impulsão com diferentes técnicas de deteção, como por exemplo, espectrofotometria, fluorescência e quimioluminescência.

Considerando as vantagens da análise em fluxo por multi-impulsão, este conceito foi também aplicado no desenvolvimento de sistemas automáticos para o controlo químico e toxicológico de bebidas adulteradas com subs-

tâncias de abuso potencialmente utilizadas em crimes do tipo DFC.

Em 2010, Ribeiro et al.³³ desenvolveram um sistema miniaturizado e automático de análise em fluxo por multi-impulsão para o controlo químico de diazepam em bebidas alcoólicas adulteradas, com deteção fluorométrica (Figura 1). A metodologia explorada neste trabalho envolveu apenas a foto-degradação de diazepam com radiação ultravioleta e monitorização dos produtos de degradação fluorescentes. A interferência na análise de compostos fluorescentes das bebidas constituiu uma desvantagem, pelo que restringiu a aplicação a bebidas alcoólicas brancas.

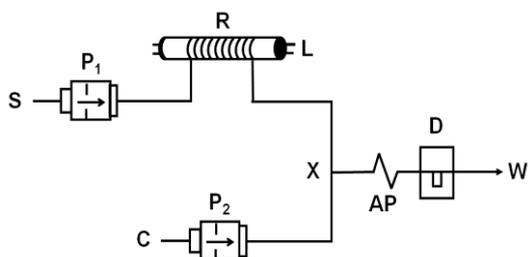


Figura 1. Sistema de fluxo por multi-impulsão (MPFS). P1, P2—micro-bombas solenoides (volume interno de 10 μ L); X—ponto confluência; R—reator de 2 m; D—detector de fluorescência (ex = 272 e em = 450 nm); L—lâmpada de ultravioleta da Philips; AP—percurso analítico de 10 cm; S—amostra; C—solução transportadora (0,2 mol L⁻¹ NaOH); W—dreno. (Adaptado de Ribeiro et al.³³).

Também Ribeiro et al.³⁴, em 2011, implementaram uma nova metodologia química para a determinação de glibenclamida em bebidas alcoólicas adulteradas com o fármaco antidiabético. Neste trabalho, o conceito de química supramolecular foi explorado através da utilização de um tensoativo aniónico, o dodecil sulfato de sódio, para promover um meio micelar organizado que se verificou otimizar a emissão de radiação fluorescente do fármaco em meio ácido (Figura 2). A portabilidade e o controlo simples do sistema de fluxo verificaram-se devido à sua simples configuração e, também se demonstrou o potencial da metodologia proposta como um instrumento analítico valioso para a determinação de glibenclamida em bebidas alcoólicas intencionalmente adulteradas. O funcionamento do sistema de análise desenvolvido e os resultados com ele obtidos permitiram verificar a importância da sua possível aplicação em investigações laboratoriais de controlo toxicológico.

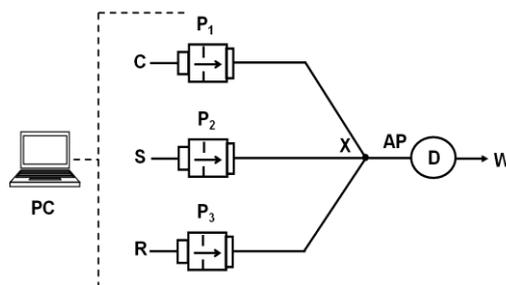


Figura 2. Sistema de fluxo por multi-impulsão (MPFS). PC—micro-computador; P1, P2, P3—micro-bombas solenoides (volume interno de 10 μ L); X, ponto confluência; D—detector de fluorescência (ex=301 nm e em=404 nm); AP—percurso analítico de 10 cm; S—amostra: glibenclamida em 50% etanol/0,2 mol L⁻¹ H₂SO₄; C—solução transportadora: 0,2 mol L⁻¹ H₂SO₄; R, 0,03 mol L⁻¹ SDS; W—dreno. (Adaptado de Ribeiro et al.³⁴)

Em 2012, Ribeiro et al.³⁵ desenvolveram uma metodologia analítica para o controlo toxicológico de chás adulterados com glibenclamida (Figura 3). Dada a complexidade das amostras de chás, bebidas ricas em diversos compostos que interferem em muitas metodologias de análise, foi implementado num sistema de fluxo miniaturizado um processo de separação baseado numa unidade de pré-separação constituída por uma mini-coluna com carvão vegetal ativado, para a extração em linha de glibenclamida em amostras de chás adulterados. O processo de separação (adsorção e desadsorção) foi auto-matizado. A natureza de fluxo pulsado característico da metodologia em fluxo de multi-impulsão foi muito importante na eficiência do processo de separação em linha, principalmente, no fenómeno de desadsorção do fármaco do carvão vegetal ativado. A monitorização foi realizada por fluorescência.

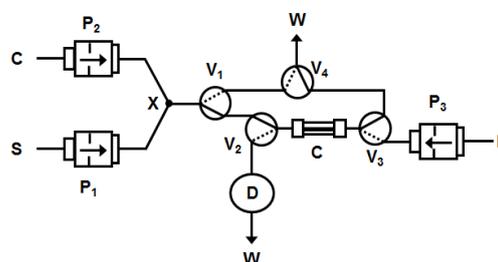


Figura 3. Sistema de fluxo por multi-impulsão (MPFS). P1, P2, P3—micro-bombas solenoides; X, ponto confluência; V1, V2, V3, V4—válvulas solenoides (linha—solenóide desligado; tracejado—solenóide ligado); D—detector de fluorescência (ex=300 nm e em=404 nm); CL—coluna de separação contendo carvão ativado (5,0 cm e d.i. 0,2 cm); S—amostra: glibenclamida em 0,01 mol L⁻¹ NaOH; C—solução de lavagem e condicionadora: 0,01 mol L⁻¹ NaOH; E—solução eluente: 0,01 mol L⁻¹ CTAB, 70 % etanol e 1,0 mol L⁻¹ HCl; W—dreno. (Adaptado de Ribeiro et al.³⁵)

CONCLUSÕES

As metodologias automáticas desenvolvidas para o controlo toxicológico de bebidas constituíram uma notável contribuição para os métodos de rastreio rápido de drogas usadas em DFC, colocadas discretamente em bebidas alcoólicas e não alcoólicas, com o intuito de cometer crimes. As novas metodologias analíticas possibilitam atuar na prevenção de abusos por drogas e auxiliam no apuramento das responsabilidades legais dos crimes que envolvem as drogas de abuso. Considerando as características especiais dos sistemas de análise em fluxo por multi-impulsão, incluindo o tipo de componentes e a sua configuração, modo operacional e particularidades da hidrodinâmica de fluxo, os sistemas de fluxo desenvolvidos possibilitam portabilidade e um baixo consumo de energia, o que os torna ferramentas promissoras para análises toxicológicas de campo. Os métodos automáticos desenvolvidos para o rápido rastreio de drogas em bebidas adulteradas podem usar-se não como alternativa, mas sim como complemento à análise toxicológica convencional de amostras biológicas (sangue e urina). Adicionalmente, permitem identificar rapidamente e quantificar a droga responsável usada em casos de crimes do tipo DFC quando as bebidas adulteradas são identificadas e recolhidas, dado que o controle químico destas amostras não necessita normalmente de métodos de quantificação com limites de deteção baixos. Sem dúvida as metodologias como a cromatografia gasosa ou eletroforese capilar são de excelência em termos de desempenho analítico, mas tais métodos tornam-se excessivos na análise de bebidas adulteradas que não requerem limites de deteção e quantificação baixos. Contudo, a matriz das amostras de bebidas constitui ainda uma grande dificuldade na aplicação de métodos de análise baseados apenas em derivatização química, exigindo por isso, métodos de análise com elevada seletividade e sensibilidade. De modo a possibilitar a aplicação com sucesso das metodologias automáticas de análise em fluxo na análise de bebidas contaminadas com drogas de abuso é necessário desenvolver sistemas com hifenização de técnicas de micro-separação e outros métodos de deteção.

No futuro, o desenvolvimento de sistemas

analíticos mais miniaturizados baseados em análise em fluxo, com inferiores consumos energéticos e de reagentes, deve ser explorado para obter-se métodos alternativos de análise passíveis de utilização em análises de campo, para o rastreio rápido e em tempo-real de drogas em bebidas adulteradas em locais de entretenimento social. No entanto, é importante não esquecer que os resultados de uma análise toxicológica podem ter sérias consequências forenses e legais, pelo que a qualidade dos métodos analíticos precisa de um controlo constante e rigoroso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Flanagan RJ, Taylor AA, Watson ID, Whelpton R. *Fundamentals of Analytical Toxicology*. England: John Wiley & Sons Ltd; 2008.
2. Couchman L, Morgan PE. LC-MS in analytical toxicology: some practical considerations. *Biomed Chromatogr*. 2011; 25(1-2):100-23.
3. Moffat A, Osselton M, Widdop B, Jickells S, Negrusz A. *Introduction to forensic toxicology*. In: Jickells S, Negrusz A, editors. *Clarke's Analytical Forensic Toxicology*. 1st ed: Pharmaceutical Press; 2008. p. 1-11.
4. Goldberger BA, Poletini A. *Forensic toxicology: web resources*. *Toxicology*. 2002; 173(1-2):97-102.
5. Kintz P. Bioanalytical procedures for detection of chemical agents in hair in the case of drug-facilitated crimes. *Anal Bioanal Chem*. 2007; 388(7):1467-74.
6. (SOFT) SoFT. Drug-Facilitated Sexual Assault Committee. Recommended Maximum Detection Limits for Common DFSA Drugs and Metabolites in Urine Samples 2005 [updated 26/09/2013]. Available from: <http://www.soft-tox.org/files/SOFT-DFSA-List.pdf>.
7. Fernando R. Homicidal poisoning with glibenclamide. *Med Sci Law*. 1999; 39(4):354-8.
8. LeBeau M, Andollo W, Hearn WL, Baselt R, Cone E, Finkle B, et al. Recommendations for toxicological investigations of drug-facilitated sexual assaults. *J Forensic Sci*. 1999; 44(1):227-30.
9. LeBeau MA. Guidance for improved detection of drugs used to facilitate crimes. *Ther Drug Monit*. 2008; 30(2):229-33.
10. Dorandeu AH, Pages CA, Sordino M-C, Pepin G, Baccino E, Kintz P. A case in south-eastern France: a review of drug facilitated sexual assault in European and English-speaking countries. *J Clin Forensic Med*. 2006; 13(5):253-61.

11. Papadodima SA, Athanaselis SA, Spiliopoulou C. Toxicological investigation of drug-facilitated sexual assaults. *Int J Clin Practice*. 2007; 61(2): 259-64.
12. Gallardo E, Queiroz JA. The role of alternative specimens in toxicological analysis. *Biomed Chromatogr*. 2008; 22(8):795-821.
13. Beynon CM, Sumnall HR, McVeigh J, Cole JC, Bellis MA. The ability of two commercially available quick test kits to detect drug-facilitated sexual assault drugs in beverages. *Addiction*. 2006; 101(10):1413-20.
14. Brown SD, Melton TC. Trends in bioanalytical methods for the determination and quantification of club drugs: 2000-2010. *Biomed Chromatogr*. 2011; 25(1-2):300-21.
15. Uges D, Hallworth M, Moore C, Negrusz A. Clinical toxicology, therapeutic drug monitoring, in utero exposure to drugs of abuse. In: Jickells S, Negrusz A, editors. *Clarke's Analytical Forensic Toxicology*. 1st ed. England: Pharmaceutical Press; 2008. p. 219-60.
16. Sarin RK, Sharma GP, Varshney KM, Rasool SN. Determination of diazepam in cold drinks by high-performance thin-layer chromatography. *J Chromatogr A*. 1998; 822(2):332-5.
17. Chen Y-C, Hu A. Simultaneous determination of trace benzodiazepines from drinks by using direct electrospray probe/mass spectrometry (DEP/MS). *Forensic Sci Int*. 1999; 103(2):79-88.
18. Rao RN, Parimala P, Khalid S, Alvi SN. Detection of the adulteration of traditional alcoholic beverages by the separation and determination of alprazolam, chloralhydrate and diazepam using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Anal Sci*. 2004; 20(2):383-6.
19. Bishop SC, Lerch M, McCord BR. Micellar electrokinetic chromatographic screening method for common sexual assault drugs administered in beverages. *Forensic Sci Int*. 2004; 141(1):7-15.
20. Olsen V, Gustavsen I, Bramness JG, Hasvold I, Karinen R, Christophersen AS, et al. The concentrations, appearance and taste of nine sedating drugs dissolved in four different beverages. *Forensic Sci Int*. 2005; 151(2-3):171-5.
21. Elliott S, Burgess V. The presence of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) and gamma-butyrolactone (GBL) in alcoholic and non-alcoholic beverages. *Forensic Sci Int*. 2005; 151(2-3):289-92.
22. Meyers JE, Almirall JR. Analysis of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) in spiked water and beverage samples using solid phase micro-extraction (SPME) on fiber derivatization/gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). *J Forensic Sci*. 2005; 50(1):31-6.
23. Grootveld M, Algeo D, Silwood CJL, Blackburn JC, Clark AD. Determination of the illicit drug gamma-hydroxybutyrate (GHB) in human saliva and beverages by H-1 NMR analysis. *Biofactors*. 2006; 27(1-4):121-36.
24. Bishop SC, Lerch M, McCord BR. Detection of nitrated benzodiazepines by indirect laser-induced fluorescence detection on a microfluidic device. *J Chromatogr A*. 2007; 1154(1-2):481-4.
25. Webb R, Doble P, Dawson M. A rapid CZE method for the analysis of benzodiazepines in spiked beverages. *Electrophoresis*. 2007; 28(19): 3553-65.
26. Honeychurch KC, Hart JP. Determination of flunitrazepam and nitrazepam in beverage samples by liquid chromatography with dual electrode detection using a carbon fibre veil electrode. *J Solid State Electrochem* 2008; 12(10): 1317-24.
27. Acikkol M, Mercan S, Karadayi S. Simultaneous Determination of Benzodiazepines and Ketamine from Alcoholic and Nonalcoholic Beverages by GC-MS in Drug Facilitated Crimes. *Chromatographia*. 2009; 70(7-8):1295-8.
28. Lesar CT, Decatur J, Lukasiewicz E, Champeil E. Report on the analysis of common beverages spiked with gamma-hydroxybutyric acid (GHB) and gamma-butyrolactone (GBL) using NMR and the PURGE solvent-suppression technique. *Forensic Sci Int*. 2011; 212(1-3):E40-E5.
29. D'Aloise P, Chen H. Rapid determination of flunitrazepam in alcoholic beverages by desorption electrospray ionization-mass spectrometry. *Science & Justice*. 2012; 52(1):2-8.
30. Sáiz J, Mai TD, López ML, Bartolomé C, Hauser PC, García-Ruiz C. Rapid determination of scopolamine in evidence of recreational and predatory use. *Science & Justice*. 2013.
31. Calatayud JM. *Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals: Automation in the Laboratory*. 1st ed. London: Taylor & Francis in Pharmaceutical Sciences; 1996.
32. Lapa RAS, Lima J, Reis BF, Santos JLM, Zagatto EAG. Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities. *Anal Chim Acta*. 2002; 466(1):125-32.
33. Ribeiro DSM, Prior JAV, Santos JLM, Lima JLFC. Automated determination of diazepam in spiked

alcoholic beverages associated with drug-facilitated crimes. *Anal Chim Acta*. 2010; 668(1): 67-73.

34. Ribeiro DSM, Prior JAV, Taveira CJM, Mendes JMAFS, Santos JLM. Automatic miniaturized fluorometric flow system for chemical and toxicological control of glibenclamide. *Talanta*.

2011; 84(5): 1329-35.

35. Ribeiro DSM, Lopes JA, Santos JLM, Prior JAV. Exploiting adsorption and desorption at solid-liquid interface for the fluorometric monitoring of glibenclamide in adulterated drinks. *Anal Chim Acta*. 2012; 721:97-103.