

FUNCIONAMENTO DO LUMINOL E SUA UTILIZAÇÃO PARA A IDENTIFICAÇÃO DE SANGUE LATENTE

LUMINOL OPERATION AND ITS USE FOR THE IDENTIFICATION OF LATENT BLOOD

Beatriz Salgueiro de SOUZA¹; Julieta Adriana FERREIRA².

¹Graduanda do Curso de Bacharelado em Química do Centro Universitário Hermínio Ometto.

²Bacharel em Química pelo Instituto de Química de São Carlos (1995) e obteve o título de Mestre (1998) e Doutora em Físico-Química (2002) pelo Instituto de Química de São Carlos, USP. Entre 2003 e 2004, foi pesquisadora visitante na Universidade de Limerick, Irlanda (University of Limerick, Ireland), participando de projetos entre esta Universidade e a Universidade do Estado de Iowa, USA (Iowa State University).

Autora responsável: Beatriz Salgueiro de SOUZA: Av. Maximiliano Baruto, n. 500, Jardim Universitário, Araras – SP. CEP. 13.607-339, e-mail: <bia_salgueiro19@hotmail.com>.

RESUMO

Popularmente conhecido por apresentar certa peculiaridade em sua reação, o luminol apresenta-se como um composto sólido que possui um mecanismo de reação extremamente complexo. Ao reagir mediante suas condições requeridas, o luminol apresenta quimiluminescência, ou seja, emissão de uma dada quantidade de energia em forma de luz, na coloração azul. Esta emissão ocorre devido à formação do composto 3-amino-ftalato em seu estado excitado. Contudo, há duas maneiras de se obter o 3-amino-ftalato, podendo ocorrer por meio da decomposição do endo-peróxido ou do α -hidroxi-hidroperóxido. Entretanto, constatou-se que a reação do luminol necessita de um catalisador para ocorrer de forma imediata, podendo-se utilizar metais de transição para essa finalidade. Consequentemente, a partir de estudos realizados, observou-se que o sangue pode agir como catalisador desta reação, por possuir ferro em sua composição. A partir dessa descoberta, a Polícia Forense adotou a utilização do luminol para detectar sangue latente em locais de crime, visto que esse composto possui extrema sensibilidade e eficiência para tal finalidade. Dessa maneira, o propósito desta revisão bibliográfica é compreender os diversos mecanismos de reação do luminol, bem como sua sensibilidade de reagir na presença de sangue latente.

Palavras-chave: Luminol; Quimiluminescência; Sangue latente.

ABSTRACT

Popularly known to have a certain peculiarity in its reaction, luminol presents itself as a solid compound that has an extremely complex reaction mechanism. Upon reacting through its required conditions, luminol presents chemiluminescence, that is, emission of a given amount of energy in the form of light, in the blue coloration. This emission occurs due to the formation of the 3-amino-phthalate compound in its excited state. However, there are two ways of obtaining 3-amino-phthalate, which may occur through the decomposition of the endo-peroxide or the α -hydroxyhydroperoxide. However, it was found that the luminol reaction requires a catalyst to occur immediately, and transition metals can be used for this purpose. Consequently, from studies conducted, it was observed that blood can act as a catalyst for this reaction, as it has iron in its composition. From this discovery, the Forensic Police adopted the use of luminol to detect latent blood in crime sites, since this compound has extreme sensitivity and efficiency for this purpose. Thus, the purpose of this literature review is to understand the various mechanisms of luminol reaction, as well as its sensitivity to react in the presence of latent blood.

Keywords: Luminol; Chemiluminescence; latent blood.

INTRODUÇÃO

O luminol tem despertado grande interesse devido às suas características quimiluminescentes durante uma reação química. Sob determinadas condições de reação, este composto emite certa quantidade de energia na forma de luz, cuja coloração é azul. Dentre essas condições de reação requeridas, encontra-se a necessidade da utilização de um determinado catalisador, podendo ser diversos metais de transição. Mediante esta descoberta, bastou alguns estudos para correlacionar o luminol com o sangue, visto que este último apresenta grande quantidade de ferro em sua composição. Por conseguinte, esse composto facilitou largamente o trabalho da Polícia Forense, posto que, ao aplicá-lo sobre uma mancha de sangue latente, o luminol reage instantaneamente, possibilitando a sua identificação do sangue, mesmo que ele esteja exposto no local há muito tempo (BARNI, 2007; JAMES, 1998).

Dessa forma, o presente estudo tem por objetivo compreender as propriedades e as características quimiluminescentes do luminol. Será estudada, também, a causa da quimiluminescência do luminol a partir da compreensão dos mecanismos de reação envolvidos, bem como a sua utilização na constatação de sangue e sua respectiva sensibilidade e limitação. A metodologia científica utilizada para o desenvolvimento deste trabalho foi explorar a literatura em busca de artigos científicos, livros, teses e monografias que relatem o funcionamento do luminol e sua utilização na Polícia Forense.

ESTRUTURA E MECANISMO DE REAÇÃO DO LUMINOL

O 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona, atualmente conhecido como luminol, é um composto sólido cristalino, de coloração amarela, que sob determinadas condições, apresenta propriedades quimiluminescentes (CHEMELLO, 2007). Destaca-se que o nome “Luminol” foi utilizado pela primeira vez por Huntress, em 1934, e significa “Produtor de luz” (BARNI, 2007). Para melhor familiarização com esse composto, na Tabela I estão descritos a sua fórmula estrutural, massa molecular, ponto de fusão, solubilidade em água, e propriedades físicas (BARNI, 2007).

Há uma grande polêmica na comunidade científica sobre a data correta da primeira síntese da molécula 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalaziadiona. Cedrón (2011) faz referência ao ano de 1853, já James (1999) referencia o ano de 1902 em que Schmitz, um cientista alemão, sintetizou o luminol. Nessa época, ainda não eram conhecidas as propriedades luminescentes deste composto (JAMES, 1999).

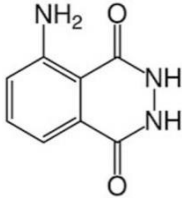
Nome	5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona
Fórmula molecular	C ₈ H ₇ N ₃ O ₂
Fórmula estrutural	
Massa molecular	177,16 g/ mol
Ponto de fusão	319 – 320 °C
Solubilidade em água	< 0,1 g/ 100 mL à temperatura ambiente
Propriedades físicas	Sólido cristalino amarelo (cristais granulados)

Tabela I: Fórmula molecular e estrutural e propriedades físicas e químicas do Luminol.

Fonte: BARNI, 2007.

Apenas em 1928 o cientista alemão Albrecht, em suas pesquisas envolvendo o luminol, observou que em determinadas condições, e sob a irradiação de luz negra, essa molécula apresentava quimiluminescência. Em seu experimento, após a adição de peróxido de hidrogênio ao luminol, na presença de ferro e em meio alcalino, observou-se emissão de luz (FERREIRA, 2002). Entretanto, foi Albertin e seus colaboradores (1998) que propuseram um mecanismo para esta transformação, o qual está descrito na Figura 1. O mecanismo foi proposto mediante as mesmas condições reacionais utilizadas por Albrecht.

Segundo o mecanismo de reação proposto, em uma primeira etapa, o M²⁺ (catalisador da reação) sofre oxidação ao entrar em contato com o agente oxidante (H₂O₂) presente inicialmente na reação, tornando-se M³⁺. Em seguida, o M³⁺ reage com o luminol, que é oxidado e o M³⁺ reduz à M²⁺

novamente. Ao sofrer oxidação, o luminol (1) é desprovido de dois hidrogênios, dando formação à diazoquinona (*composto 2*) (FERREIRA, 2002; JAMES, 1999).

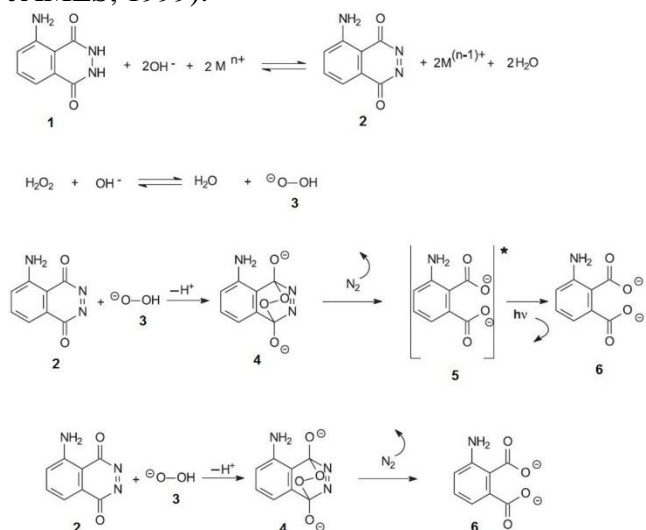


Figura 1: Mecanismo de reação quimiluminescente do luminol com H₂O₂ em meio alcalino, proposto por Albertin e seus colaboradores. Fonte: ALBERTIN, 1998; FERREIRA, 2002 adaptado.

Em um segundo momento, o peróxido de hidrogênio sofre uma reação de oxirredução com o meio alcalino. Por conseguinte, o H₂O₂ é reduzido e a hidroxila do meio alcalino, oxida, formando o ânion hidroperoxila (*composto 3*). Nesta etapa, a diazoquinona (*composto 2*) sofre oxidação na presença do ânion hidroperoxila (*composto 3*), formando o endo-peróxido (*composto 4*). A decomposição desse composto (*composto 4*) produzirá o 3-amino-ftalato, o qual é responsável pela emissão da quimiluminescência. Se o 3-amino-ftalato for produzido em seu estado excitado (*composto 5*), este causará a quimiluminescência. Entretanto, se formado em seu estado fundamental (*composto 6*), não ocorrerá a emissão desta energia.

O estado de formação desse composto é regido pelas condições reacionais do meio, visto que será considerado o pH, as concentrações dos reagentes, bem como a composição tampão do meio em que se encontram (ALBERTIN, 1998; FERREIRA, 2002).

Ainda na tentativa de conhecer totalmente a reação do luminol, Merényi e seus colaboradores, na década de 80, realizaram inúmeros estudos e análises sobre o composto 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona. Observaram a presença de diversos intermediários no mecanismo de reação do luminol com agentes oxidantes, os quais são

observados na Figura 2. Dentre esses, confirmou-se a presença de alguns intermediários apresentados por Albertin e colaboradores (1998), como a diazoquinona (*composto 2*) e o 3-amino-ftalato (*composto 5*). Outros intermediários também foram observados nas etapas da decomposição do endo-peróxido (*composto 4*), sendo estes: o radical do luminol (*composto 7*) e o α -hidroxi-hidroperoxido (*composto 8*) (FERREIRA, 2002).

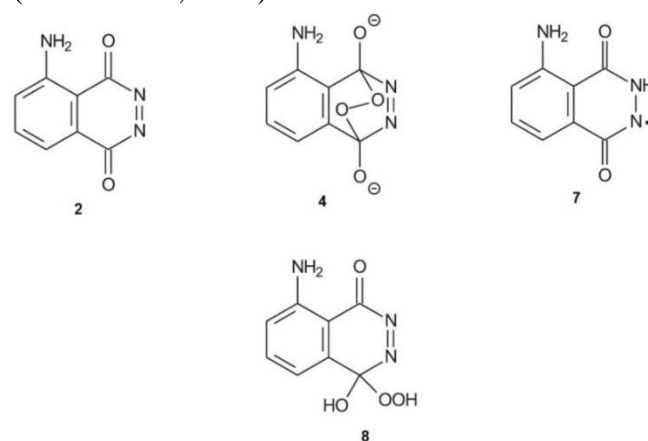


Figura 2: Estrutura dos intermediários da reação do luminol: *composto 2* diazoquinona, *composto 4* endo-peróxido, *composto 7* radical do luminol e *composto 8* α -hidroxi-hidroperoxido. Fonte: FERREIRA, 2002 adaptado.

Conseqüentemente, Merényi e seus colaboradores se aprofundaram nos estudos em relação ao luminol e propuseram um novo mecanismo de reação, onde foi destacado o intermediário α -hidroxi-hidroperoxido (*composto 8*). Segundo eles, a reação com enfoque nesse intermediário pode ser dividida em duas etapas: a primeira, envolvendo a obtenção desse composto e a segunda envolvendo sua decomposição. Este mecanismo está descrito na Figura 3.

QUIMILUMINESCÊNCIA DO LUMINOL

A quimiluminescência ocorre devido à dispersão de radiação eletromagnética correspondente ao excesso de energia de uma molécula. Esse fenômeno acontece em razão do rompimento de ligações dotadas de ampla energia, as quais sempre estiveram existentes na molécula ou surgiram devido aos rearranjos decorrentes da formação de intermediários (com ligações de alta energia). No caso do 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona, essas ligações não existem inicialmente, mas aparecem em virtude do rearranjo molecular, promovendo a formação do 3-

amino-ftalato (*composto 5*) excitado (SANTOS, 1993).

Vale ressaltar que toda reação quimiluminescente é exotérmica, uma vez que parte da energia liberada é em forma de calor. Nesse tipo de reação (quimiluminescente), o reagente (R) possui energia suficiente, devido ao choque entre as moléculas ou na forma de tensão estrutural, para levá-lo ao estado de transição (\ddagger), que possui energia superior ao estado eletrônico excitado do produto (P^*). Logo, o produto formado no estado excitado perderá esta energia excedente, retornando ao seu estado fundamental pela liberação da energia excedente em forma de quimiluminescência. É possível observar estas mudanças de energias a partir do diagrama apresentado na Figura 6 (BARTOLONI, 2011).

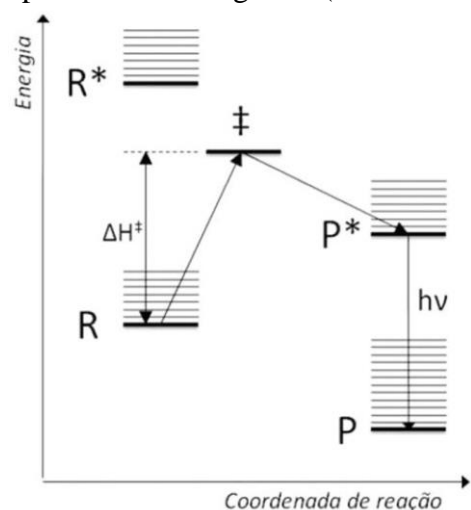


Figura 6: Diagrama de nível de energia potencial para uma reação quimiluminescente $R \rightarrow P^*$. Fonte: BARTOLONI, 2011.

Embora esse processo, aparentemente, este possa ser simples de ocorrer, há um forte requisito que deve ser levado em consideração: a geometria da molécula (BARTOLONI, 2011). Para que a quimiluminescência ocorra de forma eficiente, é necessário que a estrutura molecular do reagente que se encontra no estado de transição, esteja extremamente próxima do produto que está no estado eletrônico excitado, ao mesmo tempo em que esteja longe do produto no estado eletrônico fundamental. Segundo a teoria proposta por Marcus em 1954, a energia de ativação ($\Delta H^{\ddagger*}$) utilizada para a formação de um produto no estado excitado (P^*) é inferior à energia de ativação (ΔH^\ddagger) para a formação do produto em seu estado

fundamental (P), conforme ilustra o diagrama apresentado na Figura 7 (BARTOLONI, 2011).

Com base nesses estudos, observa-se que a reação quimiluminescente pode ser dividida em três etapas, sendo estas: a formação de um intermediário de alta energia; a decomposição desse intermediário ou sua interação com outros reagentes, formando estados eletrônicos excitados (quimiexcitação); e o decaimento desse estado eletrônico excitado para o estado eletrônico fundamental, provocando a produção de fluorescência (BAADER, 2006; BARTOLONI, 2011).

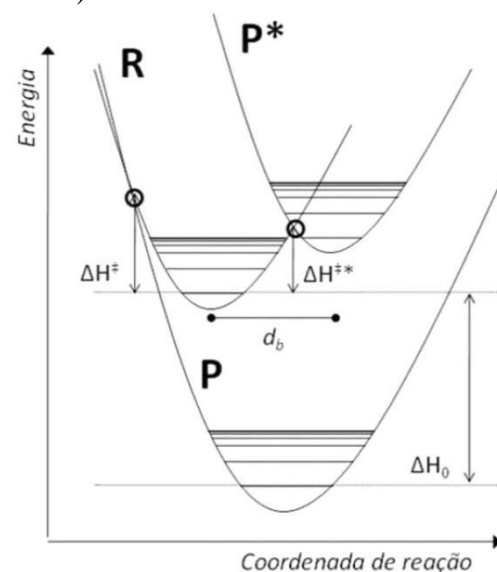


Figura 7: Diagrama de coordenadas de reação quimiluminescente segundo a Teoria de Marcus. A distância da geometria de equilíbrio entre R e P^* está representada por d_b . Fonte: BARTOLONI, 2011.

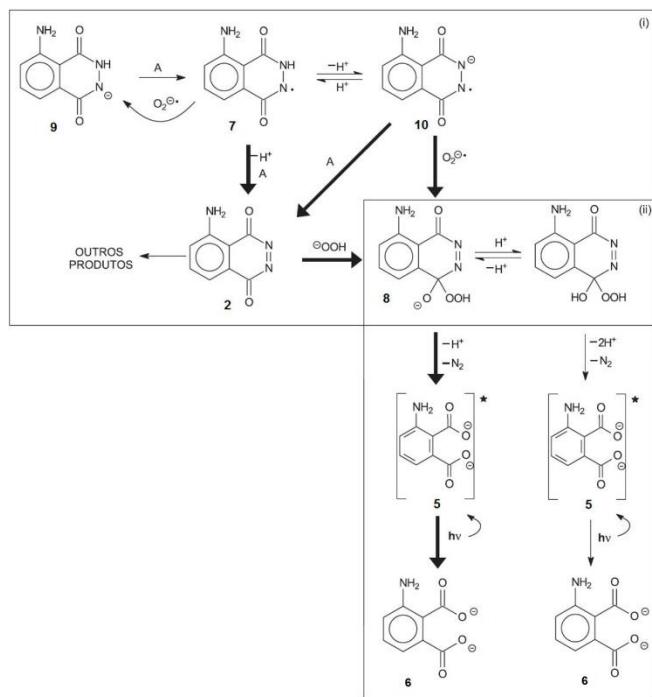


Figura 3: Esquema do mecanismo de oxidação do luminol com enfoque no intermediário α -hidroxi-hidroperóxido (composto 8). Fonte: FERREIRA, 2002 adaptado.

Inicialmente, a oxidação do luminol (composto 1) por um agente oxidante A produz o radical do 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona (composto 7). Esse intermediário está em equilíbrio com o radical luminol desprotonado (composto 10). Observou-se ainda que o α -hidroxi-hidroperóxido (composto 8) será formado em razão da concentração de O_2 ou H_2O_2 presente no meio. A presença de O_2 favorece a formação do $\cdot O_2^{-1}$, o qual provocará a formação da diazoquinona (composto 2). Enquanto isso, o H_2O_2 aumentará a velocidade da reação entre a diazoquinona (composto 2) e o HO_2^- , a produzindo o α -hidroxi-hidroperóxido. Uma vez formado, o α -hidroxi-hidroperóxido (composto 8) sofrerá decomposição, dando origem ao 3-amino-ftalato (composto 5), o qual emite energia em forma de quimiluminescência, e decai para ser estado fundamental (composto 6) (FERREIRA, 2002).

Michl (químico, nascido na República Checa), em 1997, propôs a causa da decomposição do endo-peróxido (composto 4). Segundo ele, o endo-peróxido (composto 4) sofre decomposição devido à quebra da ligação σ entre os oxigênios presentes, podendo ou não, gerar o produto (3-amino-ftalato) em seu estado excitado. A formação deste produto excitado ocorre em razão do orbital LUMO (orbital molecular de mais baixa energia,

não ocupado por elétrons) ainda permanecer ocupado após a reação. Isso ocorre por não ter havido tempo suficiente para que os elétrons se deslocassem para outros orbitais, como ilustra a Figura 4 (MICHL, 1997; FERREIRA, 2002).

Assumindo a ocupação do orbital LUMO, Michl propôs que em algum momento, quantidades de energia semelhantes podem coexistir tanto para os produtos de reação excitados quanto para os desprovidos desta excitação. Conseqüentemente pode haver uma “intersecção” entre estes compostos, gerando, por fim, produtos excitados, como demonstra a Figura 5 (MICHL, 1997; FERREIRA, 2002).

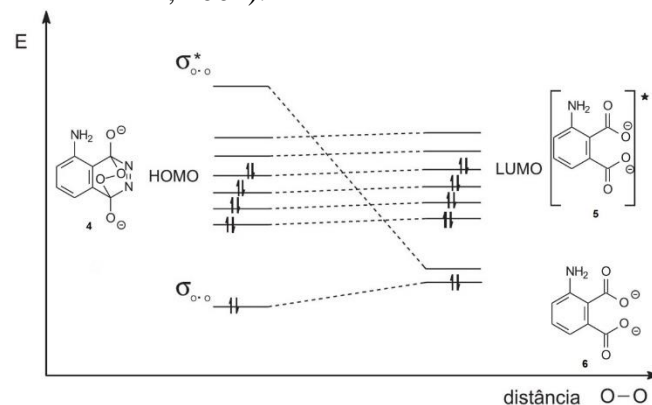


Figura 4: Diagrama esquemático dos orbitais moleculares do endo-peróxido (composto 4), produzindo o 3-amino-ftalato em seu estado excitado (compostos 5) e sem excitação (composto 6). Fonte: FERREIRA, 2002 adaptado.

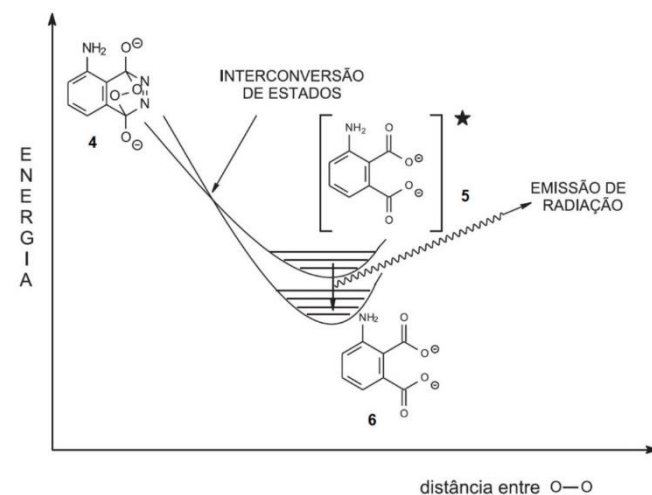


Figura 5: Diagrama da energia do composto endo-peróxido (composto 4) e 3-amino-ftalato não excitado (composto 6), o qual relaciona a energia do sistema com a quebra da ligação σ entre os dois oxigênios do 3-amino-ftalato em seu estado excitado (composto 5). Fonte: FERREIRA, 2002 adaptado.

Embora tenha-se desenvolvido diversos estudos em relação ao endo-peróxido (composto 4), ressalta-se que este composto é existente apenas

teoricamente, dado que não foi possível sua detecção experimental. Isto é explicado pelo fato dele possuir uma velocidade altíssima de decomposição, impossibilitando, assim, sua detecção (FERREIRA, 2002).

UTILIZAÇÃO DO LUMINOL NA PERÍCIA

O sangue é um líquido alcalino que apresenta coloração vermelha devido à presença dos eritrócitos. De importância vital para os seres humanos, no organismo o sangue é responsável por: (I) efetuar troca gasosa; (II) regular pressão osmótica; (III) transportar hormônios e nutrientes; (IV) garantir defesa patogênica e coagulação; (V) proporcionar a homeóstase, onde é fornecido o equilíbrio do organismo, como a regulação da temperatura corporal e balanço ácido-base (SILVA, 2012; CHEMELLO, 2007).

O sangue pode ser dividido em duas partes, sendo elas: elementos sólidos (hematócito, que corresponde principalmente aos glóbulos vermelhos (eritrócitos) e aos brancos (leucócitos), bem como às plaquetas); e a porção líquida (nomeada como plasma com cerca de 90% de água em sua composição) (SILVA, 2012; CHEMELLO, 2007).

O eritrócito é constituído, principalmente, por uma proteína denominada hemoglobina, portadora do grupo heme. Este grupo é composto por um anel de protoporfirina IX, que possui quatro átomos de nitrogênio que se ligam ao íon Fe^{2+} central, a partir de ligações covalentes e coordenadas. Foi Max Perutz, juntamente com seus colaboradores, que propuseram a estrutura do grupo heme, no ano de 1959, a qual pode ser observada na Figura 8 (SILVA, 2012).

No ano de 1937, Walter Specht (cientista forense do Instituto Universitário para Medicina Legal e Ciências Criminalísticas de Jena, Alemanha), a partir de inúmeras pesquisas, observou que a identificação de sangue latente poderia ser realizada pelo uso do luminol. Desde então, este composto tornou-se grande aliado da Polícia Forense (BARNI, 2007).

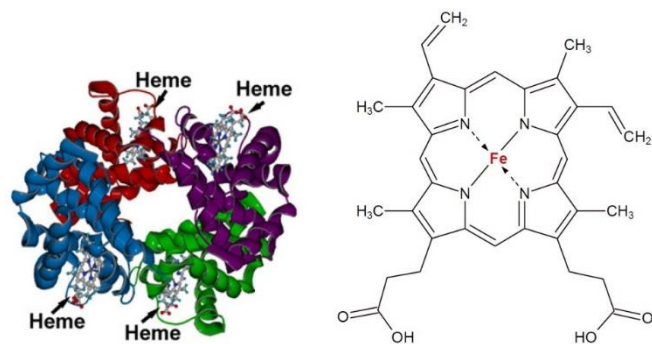


Figura 8: Representação da hemoglobina (esquerda) e a estrutura da molécula de ferro-protoporfirina IX, também conhecida como grupo heme (direita).

Fonte: CHEMELLO, 2007.

Esta identificação de sangue tornou-se possível devido à presença do Fe^{2+} (M^{n+}), contido no grupo heme da hemoglobina, o qual age como um catalisador na reação do luminol, como observado na Figura 1. Consequentemente, a quimiluminescência é imediata, indicando a presença do ferro (Fe^{2+}) contido no sangue (CRUZ, 2016).

Vale ressaltar que, mesmo após o envelhecimento do sangue, sua identificação ainda é possível. Conforme o tempo se passa, o Fe^{2+} contido no sangue sofre um processo de oxidação por consequência da presença do ar, tornando-se Fe^{3+} , o causador do escurecimento da mancha de sangue. Quando adicionado o peróxido de hidrogênio ao sangue (presente inicialmente na solução do luminol), o Fe^{3+} sofre nova oxidação, passando para o estado de transição do Fe^{4+} . No instante em que ocorre a oxidação do luminol, ocorre uma reação de oxirredução entre a reação do luminol e o Fe^{4+} , reduzindo este último à Fe^{3+} novamente. Esse fato explica o motivo das manchas de sangue que já possuem um determinado tempo também poderem ser identificadas pelo luminol e apresentarem luminescência ainda maior, visto que o Fe^{3+} possui maior capacidade catalítica do que Fe^{2+} para essa reação (JAMES, 1998).

Todavia, deve-se observar a existência de interferentes na reação com o luminol que podem intensificar, ou até mesmo produzir a emissão de quimiluminescência, mesmo na ausência de sangue, gerando resultados falso-positivos. Esses interferentes dividem-se em três categorias, sendo elas: compostos que possuem enzimas *peroxidases* capazes de catalisar uma reação mediante a

presença de um peróxido. Por exemplo, o rábano (*Armoracia rusticana*) que está localizado nas raízes utilizadas na dieta dos seres humanos (BARNI, 2007; GAFRIKOVA, 2014; ULIANA, 2008); compostos que possuem certa complexidade em sua composição química e que, de certa forma, catalisam a reação do luminol quase tão eficazmente quanto o ferro. Esses compostos incluem, por exemplo, óleos (Figuras 9 e 10) e colas (Figura 11).

Em razão das estruturas químicas complexas desses compostos, os mecanismos das catálises não foram totalmente compreendidos até o momento (BARNI, 2007; QUICKENDEN, 2001;); são também compostos altamente capazes de oxidar o luminol. Alguns exemplos são o permanganato de potássio (KMnO₄) e o iodo (I₂), presentes em desinfetantes ou anti-sépticos, e principalmente o hipoclorito (ClO⁻), encontrado na forma de hipoclorito de sódio (NaClO) na água sanitária (BARNI, 2007; QUICKENDEN, 2001).

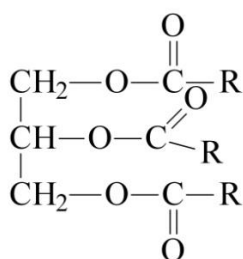


Figura 9: Fórmula estrutural do Triglicerídeo: principal constituinte dos óleos. Fonte: VOLLHARDT, 2013 adaptado.

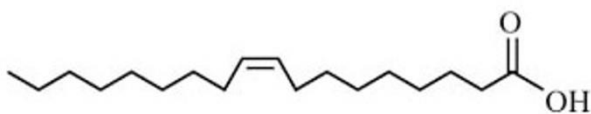


Figura 10: Fórmula condensada e estrutural do ácido oléico: substância presente em óleos vegetais. Fonte: MIDDLECAMP, 2016.

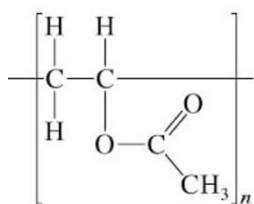


Figura 11: Fórmula estrutural do Acetato de Polivinila: principal constituinte das colas. Fonte: SMITH, 2012.

Na tentativa de evitar a identificação de sangue, muitos criminosos recorrem à água sanitária para limpar a cena no crime. Esse ato pode dificultar o trabalho da Polícia Forense, visto que este composto, como falado anteriormente, também provoca quimiluminescência no luminol. Quando em contato com a água (*composto 11*) presente na solução do luminol, o hipoclorito (*composto 12*) sofre redução, transformando-se em hidroxila (*composto 13*), como mostrado na Figura 12. Uma vez transformada em um composto com caráter básico (*composto 13*), a hidroxila reage rapidamente com o luminol, oxidando-o por meio da retirada de dois hidrogênios e produzindo a diazoquinona, dando andamento na reação do luminol, como já descrito anteriormente (Figura 1) (BARNI, 2007; FRANCIS, 2004).

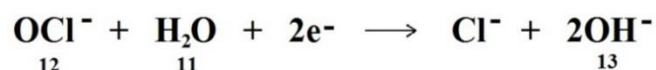


Figura 12: Reação de redução do hipoclorito (*composto 12*) na presença de água (*composto 11*), produzindo hidroxila (*composto 13*). Fonte: BARNI, 2007; FRANCIS, 2004 adaptado.

Ressalta-se que a reação do luminol com o envolvimento do hipoclorito, por possuir essa pequena diferença no início da reação, proporciona um pequeno aumento na quimiluminescência emitida a partir do 3-amino-ftalato. Com base nesse conhecimento, é necessário ter a certeza de que um perito criminal conseguirá diferenciar a quimiluminescência produzida por alvejantes (emitida em torno de 431 nm) da quimiluminescência produzida pelo sangue (emitida em torno de 425 nm) (BARNI, 2007). Tal diferença na energia emitida proporciona uma pequena discrepância em relação ao brilho da quimiluminescência, assim como em uma diferenciação mínima na coloração da emissão. A emissão em 425 nm apresenta uma tonalidade de azul levemente divergente da tonalidade emitida em 431 nm (BARNI, 2007; KENT, 2003).

SENSIBILIDADE E LIMITAÇÃO DO LUMINOL

Em virtude de sua grande eficiência e capacidade na detecção de sangue, ressalta-se a elevadíssima sensibilidade que o luminol possui na identificação de baixíssimas concentrações de

sangue latente. Segundo Vaz (2017), essa identificação é possível em uma proporção de diluição do sangue de até 1:10.000.000, independentemente da superfície em que ele se encontra (VAZ, 2017).

Além dessa sensibilidade formidável, o 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona permite a identificação do sangue mesmo após muito tempo exposto. Esse fato corrobora o interesse de estudiosos com diversas pesquisas realizadas sobre essa possibilidade (GABEL, 2011; WALDOCH 1996). Nesse intuito, em outubro de 2004, Gabel e seus colaboradores realizaram um experimento no topo da colina *Highlands Ranch*, situado no Colorado (EUA). No local, 500 mL de sangue puro de cavalo foi disposto em forma de um padrão "X" sobre solo. Ressalta-se que o solo estava totalmente exposto ao meio ambiente, sem qualquer tipo de proteção. Em seguida, realizaram, periodicamente, testes com luminol sobre o sangue para verificarem até quando seria possível sua detecção. Observaram que seria possível a constatação do sangue em até seis anos após o ocorrido (GABEL, 2011). Ainda não convencidos de que seria o tempo limite para a identificação do sangue usando o luminol, após os seis anos de exposição, Gabel e sua equipe retornaram ao local do experimento para darem continuidade à pesquisa. Após retirarem uma fina camada do solo, onde o sangue foi depositado, observaram que ainda seria possível identificá-lo com o luminol. O prazo limite para a constatação do sangue mediante o luminol foi considerada de oito anos (STENE, 2013).

Ainda como prova da sensibilidade do luminol, Miranda relatou em seu artigo um assassinato ocorrido no estado de Minas Gerais, no ano de 2011. Segundo ele, na tentativa de eliminar as provas do crime, o assassino recobriu as paredes do local do delito com uma nova camada de tinta, no intuito de encobrir o sangue contido na parede. Ao realizar seu trabalho, a Polícia Forense suspeitou da possibilidade da existência de sangue em alguns pontos da parede. Assim sendo, com o auxílio de uma espátula de metal, realizaram a retirada deste revestimento. Então, com a aplicação do luminol, identificaram-se as manchas de sangue latente, comprovando, mais uma vez, a extraordinária sensibilidade e eficácia desse composto (MIRANDA, 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O luminol é um composto que apresenta certa complexidade em seu mecanismo de reação, visto que ele pode produzir diversos intermediários, como o endo-peróxido e o α -hidroxi-hidroperóxido. De acordo com o intermediário produzido, a reação segue um caminho diferenciado, porém, sempre atingindo o mesmo produto final 3-amino-ftalato, causador da quimiluminescência, quando formado em seu estado excitado. Notou-se, ainda, que esse composto emite quimiluminescência em razão da dissipação da energia acumulada, ocasionada em virtude da mudança de nível energético dos elétrons, proporcionando fluorescência.

Observou-se ainda que o luminol é um forte aliado da Polícia Forense, uma vez que ele garante a identificação do sangue latente devido a presença do Fe^{2+} em sua composição, o qual catalisa a reação do luminol. Entretanto, deve-se atentar ao fato da existência de diversos interferentes, os quais também podem proporcionar a quimiluminescência na reação, estabelecendo resultados falso-positivos. Apesar da presença de interferentes, o luminol apresenta elevadíssima eficiência e extrema sensibilidade. Esse composto assegura a identificação de sangue latente, mesmo que este último apresente baixíssimas concentrações ou, até mesmo, quando o sangue esteja exposto no local há diversos anos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTIN, R. et al. Quimiluminescência Orgânica: Alguns Experimentos de Demonstração para a Sala de Aula. **Química Nova**, São Paulo, v.21, n.6, p.772-779. 1998.
- BAADER, W. J.; STEVANI, C. V.; BASTOS, E. L. The Chemistry of Peroxides. **Rapport, Z**, Chicester, v.2, p.1211-1278. 2006.
- BARNI, F. et al. Forensic application of the luminal reaction as a presumptive test for latent blood detection. **Journal Talanta**, Itália, v.72, p.896-913. 2007.
- BARTOLONI, F. H. et al. Luz: Um raro produto de reação. **Química Nova**, São Paulo, v.34, n.3, p.544-554. 2011.

CEDRÓN, J. C. El Luminol. **Revista de Química PUCP**, Peru, v.25, n.1-2, p.13-14. 2011.

CHEMELLO, Emiliano. **Ciência Forense: Manchas de Sangue**. Disponível em: <http://www.quimica.net/emiliano/artigos/2007jan_forense2.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2017.

CRUZ, A. A. C. et al. A Ciência Forense no Ensino de Química por Meio da Experimentação Investigativa e Lúdica. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v.38, n.2, p.167-172. 2016.

FERREIRA, E. C.; ROSSI, A. V. A quimiluminescência como ferramenta analítica: do mecanismo a aplicações da reação do luminol em métodos cinéticos de análise. **Química Nova**, São Paulo, v.25, n.6, p.1003-1011. 2002.

FRANCIS, P. S. et al. Hypohalites and Related Oxidants as Chemiluminescence Reagents: A Review. **Journal of Luminescence**, Amsterdã, v.19, p.94-115. 2004.

GABEL, R. et al. Detecting Blood in Soil after Six Years with Luminol. **Journal of the Association for Crime Scene Reconstruction**, EUA, v.17, n.1, p.1-4. 2011.

GAFRIKOVA, M. et al. Extract from *Armoracia rusticana* and Its Flavonoid Components Protect Human Lymphocytes against Oxidative Damage Induced by Hydrogen Peroxide. **Journal Molecules**, Suíça v.19, p.3160-3172. 2014.

JAMES, S. H.; ECKERT, W. G. **Interpretation of Bloodstain Evidence at Crime Scenes**. 2. ed. United States of America: CRC Press, 1999.

KENT, E. J. M.; ELLIOT, D. A.; MISKELLY, G. M. Inhibition of Bleach-Induced Luminol Chemiluminescence. **Journal of Forensic Sciences**, West Conshohocken, v.48, n.1, p.1-4. 2003.

MICHL, J. The role of biradicaloid Geometries in Organic Photochemistry. **Photochemistry and Photobiology**, Grã-Bretanha, v.25, p.141-154. 1977.

MIDDLECAMP, C. H. et al. **Química para um futuro sustentável**. 8ª ed. Porto Alegre: AMGH Editora LTDA. 2016.

MIRANDA, G. E. et al. Detecção de manchas de sangue pelo luminol onde houve entintamento de paredes – estudo de caso. **Revista Brasileira de Criminalística**, Brasília/DF, v.5, n.1, p.14-17. 2016.

QUICKENDEN, T. I.; COOPER, P. D. Increasing the Specificity of the Forensic Luminol Test for Blood. **Journal of Luminescence**, Amsterdã, v.16, p.251-253. 2001.

SANTOS, R. M. S.; SANTOS, M. F.; COSTA, M. F. D. Quimiluminescência e Bioluminescência. **Química Nova**, São Paulo, v.16, n.3, p.200-209. 1993.

SILVA, R. R. et al. Luminol in the Forensic Science. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Tocantins, v.3, n.4, p.172-177. 2012.

SMITH, W. S.; HASHEMI, J. **Fundamentos de Engenharia e Ciência dos Materiais**. 5ª ed. Porto Alegre: AMGH Editora LTDA. 2012.

STENE, I. et al. Using Luminol to Detect Blood in Soil Eight Years after Deposition. **Journal of the Association for Crime Scene Reconstruction**, EUA, v.19, n.1, p.1-4. 2013.

ULIANA, C. V.; RICCARDI, C. S.; YAMANAKA, H. Estudo do Comportamento Eletroquímico da Enzima Peroxidase na Presença de Peróxido de Hidrogênio e Ácido 5-aminossalicílico. **Eclética Química**, São Paulo, v.33, n.1, p.57-62. 2008.

VAZ, V. S.; KOBACHUCK, L. D. G. A Interferência da Solução de Luminol em Teste Imunocromatográfico para Pesquisa de Sangue Humano. **Revista Brasileira de Criminalística**, Brasília/DF, v.6, n.3, p.17-22. 2017.

VOLLHARDT, P.; SCHORE, N. **Química Orgânica: Estrutura e Função**. 6ª ed. Porto Alegre: Bookman. 2013.

WALDOCH, T. L. Chemical Detection of Blood After Dilution by Rain Over a 72 Day Period – Estudo de Caso. **Journal of Forensic Identification**, Clinton/ EUA, v.46, n.2, p.173-177. 1996.