



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS**

MARCELA ALBINO DE CARVALHO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES LUMINESCENTES A BASE DE REDES
METALORGÂNICAS**

Recife

2019

MARCELA ALBINO DE CARVALHO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES LUMINESCENTES A BASE DE REDES
METALORGÂNICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Materiais, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos parciais para a obtenção do título de doutor em ciência de materiais.

Área de concentração: Materiais não metálicos

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Ingrid Távora Weber

Coorientador (a) externa: Prof^a. Dr^a. Maria Fernanda Pimentel Avelar e Dr^a. Carolina Silva Santos

Recife

2019

Catálogo na fonte
Bibliotecária Nataly Soares Leite Moro, CRB4-1722

C331d Carvalho, Marcela Albino de
Desenvolvimento de métodos analíticos para identificação de marcadores luminescentes a base de redes metalorgânicas / Marcela Albino de Carvalho. – 2019.
168 f.: il., fig.

Orientadora: Ingrid Távora Weber.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Ciência de Materiais, Recife, 2019.
Inclui referências e apêndice.

1. Materiais não metálicos. 2. Marcador luminescente. 3. GSR. 4. Raman. 5. Imagem hiperespectral. I. Weber, Ingrid Távora (orientadora). II. Título.

620.19 CDD (23. ed.) UFPE- CCEN 2023 - 18

MARCELA ALBINO DE CARVALHO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES LUMINESCENTES A BASE DE REDES
METALORGÂNICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 16 /12 / 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Ingrid Távora Weber (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Ricardo Luiz Longo (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Severino Alves Júnior (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Lívia Rodrigues e Brito (Examinadora Externa)

Instituto de Criminalística Professor Armando Samico

Prof^a. Dra. Marcella Auxiliadora de Melo Lucena (Examinadora Externa)

Universidade de Brasília

O meu eterno amigo Claudio José (In Memoriam) e as minhas avós Maria Madalena e Maria Evangelista.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por sua Graça e Misericórdia em todos os momentos da minha vida. A minha família pela força, conselho, apoio e por sempre está ao meu lado, em especial as minhas avós Maria Madalena e Maria Evangelista (In Memoriam) por tudo que sou hoje, serei grata eternamente. Agradeço a minha mãe Patricia, aos meus irmãos Clara e Lucas, amo vocês.

Gostaria de agradecer as minhas orientadoras Prof.^a Dr.^a. Ingrid Távora Weber, Prof.^a Dr.^a M.^a Fernanda Pimentel e Dr.^a Carolina Santos Silva pela paciência, confiança, ensinamentos e discussões durante todo o doutorado.

Aos peritos criminais do Instituto Nacional de Criminalística de Brasília (INC – DF) Dr. Márcio Talhavini e Dr. Eduardo Sato e ao Prof^o Dr. Célio Pasquini do Instituto de Química da UNICAMP pelo apoio para realização deste trabalho. Ao Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Pernambuco (IC – PE) por ter aberto as portas para realizar as análises, como também à CAPES, PROPESQ e INCTAA pelo apoio financeiro.

Agradeço também aos amigos mais chegados que irmãos no qual sempre me apoiaram e me fazem tão bem, Pezinho (Jefferson), Helder, Glayce, João, Danilo e Josélia, em especial há um amigo que sinto muita falta, mas que sempre estará na minha mente e no meu coração Claudio José (In Memoriam).

A minha companheira, Thaynan Carvalho pela ajuda nas correções e por sempre me apoiar e estar comigo em todas as horas. Te amo pra sempre.

Ao professor Dr^o Severino Junior, em nome do laboratório BSTR, pelo espaço, orientações, café e conversas.

Aos meus amigos lindos que tive o prazer de conhecer durante essa jornada Rodrigo, Rodolfo vulgo Macarrão, Raquel, Fauston, Audrey pelas discussões científicas, pelas dicas experimentais, como também pelos cafés superprodutivos, festas, brincadeiras, etc. Em especial a Leandro pelo companheirismo de sempre.

A todos que fazem parte do LAC pela ajuda nas análises, em especial a Francielson e Carol pela disponibilidade de sempre poder me ajudar.

Aos meus amigos do EREM – GP Aurora, por nossas lutas diárias por melhores condições de trabalho e qualidade de ensino. Em especial ao grupo besta fera que faz meus dias semanais mais alegre.

Por fim, a todos que contribuíram para que este trabalho pudesse ser realizado.

RESUMO

Os resíduos gerados pelo disparo de uma arma de fogo são evidências importantes para ciência forense. A maioria das metodologias para caracterização desses resíduos são baseadas na identificação de Sb, Ba e Pb, contudo, com a utilização de munições livres de metais pesados, existe uma carência por metodologias para caracterização dos resíduos desse tipo de munição. Além disso, o tamanho micrométrico das partículas geradas após o disparo dificulta a coleta. O trabalho desenvolvido tem como objetivo propor metodologias para identificação e caracterização dos resíduos de munições marcados por materiais luminescentes, e investigar a possibilidade de utilizar esses materiais como marcadores luminescentes com o objetivo de codificar as munições. Nesse trabalho foram utilizados marcadores luminescentes a base de redes metalorgânica com estruturas descritas como ∞ [Eu(DPA)-(HDPA)], ∞ [Eu₂(BDC)₃], e ∞ [Eu(BTC)(H₂O)], que apresentam estabilidade térmica e química após o disparo. Estas estruturas serão chamadas de EuBDC, EuBTC e EuDPA, respectivamente. Para a análise dos resíduos foram avaliadas duas técnicas não destrutivas: imagens hiperespectrais na região do infravermelho próximo e espectroscopia Raman – ambas associadas a ferramentas quimiométricas. As análises por imagens feitas com MCR - ALS, utilizou dois conjuntos de amostras contendo marcadores (A e B), o primeiro, com 19 amostras, foi utilizado para otimização dos parâmetros e o segundo, com 17 amostras, foi utilizado para validação do método. Foi possível identificar corretamente 72,2 % das amostras. Para as amostras não identificadas observou-se que o modelo confundiu com o marcador EuBTC. Contudo, o método desenvolvido mostrou ter potencial para a identificação de resíduos de tiro de forma rápida e não destrutiva. Entretanto, se o objetivo for a codificação, é recomendável não utilizar o marcador com EuBTC pois pode provocar resultados equivocados na análise por imagem. Na segunda etapa, foi realizada a análise dos resíduos luminescentes por espectroscopia Raman nas configurações convencionais (Raman normal) e ressonante. Esta análise foi feita através da análise por componentes principais (PCA), análise discriminante pelos mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternados (MCR-ALS). Além

dessas, com os espectros Raman ressonante foi feita análise visual, previamente, com quatro analistas. Através da análise por Raman normal e as técnicas quimiométricas observou-se uma mistura de classes o que dificultou a diferenciação das amostras por tipo de marcador. Essa mistura foi observada devido a bandas vibracionais dos ligantes serem próximas devido a semelhança da estrutura molecular dos ligantes. Para o Raman ressonante, os analistas conseguiram diferenciar as amostras de EuBDC e EuBTC, sem mistura de classes, mas encontraram dificuldade na classificação das amostras de EuDPA. Essa dificuldade foi observada também na análise por PCA, PLS-DA e MCR-ALS. Com esses resultados observa-se que a utilização do Raman Ressonante, na caracterização dos marcadores, para fins de codificação é recomendada a não utilização do marcador EuDPA. E para o Raman normal, é recomendado que utilize ligantes com estruturas químicas diferentes. Assim, tanto a imagem hiperespectral como o Raman mostrou-se eficaz na identificação dos marcadores luminescentes, porém a utilização das técnicas estudadas dependerá do tipo de marcador utilizado nas munições.

Palavras-chave: marcador luminescente; GSR; Raman; imagem hiperespectral; PLS-DA; MCR-ALS.

ABSTRACT

The residues generated by firearms are important evidences to forensic science. Most residue characterization methods are based in Sb, Ba and Pb identification, however, with use of heavy metal free ammunition, residue characterization methods for this ammunition type are scarce. Beyond that, micrometer-sized particles are generated after shots and make the collection difficult. In this context, the developed work aims at proposing methodologies for the identification and characterization of ammunition residues marked by luminescent materials, and at investigating the possibility of using these materials as luminescent markers in order to encode the ammunition. In this work, luminescent markers were used based on metalorganic networks with structures described as [Eu(DPA)-(HDPA)], ∞ [Eu₂(BDC)₃], and ∞ [Eu(BTC)(H₂O)], that have thermal and chemical stability after firing. These structures are respectively called EuBDC, EuBTC and EuDPA, respectively. Regarding residue analysis, two non-destructive techniques were evaluated: hyperspectral images in the near infrared region and Raman spectroscopy – both associated with chemometric tools. Image analysis, using multivariate resolution curves with alternating least squares, use two sample sets containing markers (A and B), the first with 19 samples, used for method validation and the second, with 17 samples, used for validation method. It was possible to correctly classify 72.2% samples. It was possible to correctly identify 72.2% of the samples. For the unidentified samples, it was observed that the model was confused with the EuBTC marker. However, the developed method showed potential for identification of gunshot residue quickly and non-destructively. Meantime, if the purpose is encoding, it is recommended not to use marker with EuBTC, because it can cause equivocal results in image analysis. In the second stage, the analysis of luminescent residue was performed by Raman spectroscopy in conventional (normal Raman) and resonance configurations. This analysis was performed through principal component analysis (PCA), discriminant analysis by partial least squares (PLS-DA) and multivariate resolution curves with alternating least squares (MCR-ALS). In addition, with Raman spectra resonated, visual analysis was performed in advance with four analysts. Through normal Raman analysis and chemometric techniques, a mixture of

classes was observed, which made it difficult to differentiate samples by marker type. This mixture was observed due to the vibrational bands of ligands being close due to similarity of ligands molecular structure. For resonant Raman, analysts were able to differentiate EuBDC and EuBTC samples, without mixing classes, but they found it difficult to classify EuDPA samples. This difficulty was also observed in PCA, PLS-DA e MCR-ALS analysis. With these results, it is observed that the use of Raman resonant, in the characterization of markers, for coding purposes, it is recommended not to use EuDPA marker. And for normal Raman, it is recommended to use ligands with different chemical structures. So, both the hyperspectral image and the Raman proved to be effective in luminescent markers identification, however the use of the studied techniques will depend on the marker type used in the ammunition.

Keywords: luminescent marker; GSR; Raman; hyperspectral image; PLS-DA; MCR-ALS.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Estão representados, na primeira coluna, os difratogramas de raio x assim como a imagem da mof irradiada por uma lâmpada uv de comprimento de onda de 254 nm. Na segunda coluna estão representados os espectros de excitação e de emissão das mofs eubdc (a), eubtc (b) e eudpa (c), respectivamente. O * em cima do pico na figura do difratograma do composto eubdc, informa que este pico não está presente no difratograma do eubdc calculado..... 26
- Figura 2 -** Esquema demonstrando o processo realizado para obtenção da amostra com LGSR..... 27
- Figura 3 -** Na figura estão representados os diferentes substratos utilizados na coleta dos lgsr, irradiados por uma lâmpada uv (254nm). Na figura b os espectros médios obtidos por imagem de cada substrato sem a presença de LGSR..... 29
- Figura 4 -** Na primeira coluna, imagem gerada por irradiação com a lâmpada uv (254 nm) sobre as amostras contendo eubdc, eubtc e eudpa coletadas no cartucho e a região selecionada para ser analisada por pls-da. Na segunda coluna, mapas de distribuição especiais geradas pelo modelo pls-da das mesmas amostras da primeira coluna..... 35
- Figura 5 -** Imagem da nuvem formada após o disparo de uma arma de fogo..... 35
- Figura 6 -** Componentes da munição..... 36
- Figura 7 -** Resumo dos diferentes tipos de projéteis desenvolvidos pela CBC..... 36
- Figura 8 -** Possíveis formatos dos estojos..... 37
- Figura 9 -** Imagens geradas pelo vsc dos lgsr com os íons eu³⁺ e tb³⁺ sobre a

	pele de porco à uma distância de 15cm e usando a estrutura [ln(dpa)(hdpa)] (a e b), sobre mãos e armas utilizando as estruturas co-dopadas [y _{1-x} ln _x (btc)] com diferentes porcentagens (c-f) e seus respectivos espectros de emissão (g e h).....	43
Figura 10 -	Representação gráfica das estruturas em uma, duas e três dimensões.....	44
Figura 11 -	Diagrama simplificado representando o efeito antena em complexos com lantanídeos (S1 = Singleto e T1 = Tripleto).....	47
Figura 12 -	Representação estrutural dos ligantes utilizados.....	48
Figura 13 -	Ilustração dos tipos de vibrações de uma molécula.....	49
Figura 14 -	Representação dos movimentos vibracionais através da modelo mola elástica. K é a constante da força da ligação, m ₁ e m ₂ são as massas dos respectivos átomos e Δx ₁ e Δx ₂ são os deslocamentos dos átomos na vibração.....	51
Figura 15 -	Diagrama de energia potencial para osciladores (a) harmônico e (b) anarmônico.....	52
Figura 16 -	Principais formas de medidas empregadas na espectroscopia NIR. Transmitância (A), transreflectância (B) e reflectância difusa (C).....	54
Figura 17 -	Representação das imagens (a) RGB, (b) escala de cinza e (c) Hiperespectrais.....	56
Figura 18 -	Desdobramento do hiper cubo em uma matriz 2D.....	57
Figura 19 -	Visualização de um camarão em diferentes períodos de desidratação. Em (a) a imagem do camarão e em (b) mapas de concentração do camarão em um mesmo período.....	58
Figura 20 -	Formas de espalhamentos da radiação que ocorrem quando uma radiação monocromática interage com uma amostra.....	63
Figura 21 -	Esquema dos espalhamentos Rayleigh e Raman stokes e anti – stokes.....	65
Figura 22 -	Ilustração de um espectro Raman com as regiões stokes e anti – stokes.....	66

Figura 23 -	Mecanismo de espalhamento da luz em uma molécula. A) Espalhamento elástico, B) espalhamento inelástico Raman Stokes, C) espalhamento inelástico Raman anti-Stokes e D) espalhamento Raman Ressonante.....	68
Figura 24 -	Explicação esquemática da ressonância induzida por espalhamento Raman, onde um laser de frequência 532 nm está em ressonância com a transição eletrônica $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ do íon Eu^{3+}	69
Figura 25 -	Decomposição da matriz de dados X, em uma matriz de escores T, uma matriz de pesos P e uma matriz de resíduo E.....	70
Figura 26 -	Dispersão de amostras no sistema de eixos originais (linha preta) e as duas primeiras componentes principais (linha azul).....	71
Figura 27 -	Esquema para escolha das variáveis latentes na validação cruzada por leave-one-out.....	73
Figura 28 -	Ilustração do PLS1-DA e PLS2-DA.....	74
Figura 29 -	Esquema do MCR-ALS.....	76
Figura 30 -	Esquema das restrições que podem ser utilizadas no MCR-ALS.....	77
Figura 31 -	MCR com matriz aumentada na direção (a) das linhas, (b) das colunas e (c) das linhas e colunas.....	78
Figura 32 -	Esquema para produção das amostras do teste cego.....	82
Figura 33 -	À esquerda, a imagem adquirida pelo VSC para uma amostra LGSR e à direita, a imagem falsa (soma do sinal em cada comprimento de onda sem pré-processamento - intensidade / imagem que não representa a cor real dos componentes presentes), obtida a partir da HSI-NIR.....	83
Figura 34 -	Ilustração do processo de seleção da ROI utilizando PCA. Em a) tem-se uma imagem falsa com mapa de concentração relativa, b) valores de PC1 para imagem falsa e em c) imagens de cores falsas obtidas após à aplicação de um treshold escolhido (cor verde para pixels selecionados e azul para pixels não selecionados).....	84
Figura 35 -	Imagem ilustrativa das matrizes construídas para serem utilizadas no modelo MCR-ALS. Em a) a matriz construída pelos valores dos espectros da imagem aumentada com os valores dos espectros de cada componente, em b) a matriz de igualdade de concentração com os valores de NaN (com o tamanho igual a imagem analisada) e, 1 e 0 referente ou não a cada	

	componente.....	85
Figura 36 -	Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBDC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.....	88
Figura 37-	Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBTC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.....	89
Figura 38 -	Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuDPA coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.....	89
Figura 39 -	Espectros da do EuBDC (azul), EuBTC (vermelho), EuDPA (amarelo) e a fita crepe (violeta).....	92
Figura 40 -	Fluxograma com o resumo dos conjuntos de dados utilizados tanto no Raman normal quanto no Raman ressonante.....	103
Figura 41 -	Espectros Raman do EuBDC obtidos pela média das amostras da MOF (marcador puro) e do LGSR contendo este marcador (após o disparo) e a estrutura molecular do ligante utilizado para produzir o marcador EuBDC.....	106
Figura 42 -	Espectros Raman do EuBTC obtidos pela média das amostras da MOF (marcador puro) e do LGSR contendo este marcador (após o disparo) e a estrutura molecular do ligante utilizado para produzir o marcador EuBTC.....	106
Figura 43 -	Espectros Raman do EuDPA obtidos pela média das amostras da MOF (marcador puro) e do LGSR contendo este marcador (após o disparo) e a estrutura molecular do ligante utilizado para produzir o marcador EuDPA.....	107
Figura 44 -	Espectros pré processados das MOFs, LGSRs e o substrato fita crepe.....	109
Figura 45 -	Gráfico de variância acumulada.....	110
Figura 46 -	a) gráfico de escores PC1 x PC2, b) gráfico de loadings na PC1 e c) gráfico de loadings na PC2.....	111
Figura 47 -	a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuBDC.....	113
Figura 48 -	a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuBTC.....	114
Figura 49 -	a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP	

	escores para as amostras de marcador com EuDPA.....	115
Figura 50 -	a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuBDC e b) o espectro de EuBDC recuperado pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e o espectro da MOF pura (linha azul).....	118
Figura 51 -	a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuBTC e b) o espectro de EuBTC recuperado pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e o espectro da MOF pura (linha azul).....	119
Figura 52 -	a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuDPA e b) o espectro de EuDPA recuperado pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e o espectro da MOF pura (linha azul).....	119
Figura 53 -	Espectro recuperado por MCR-ALS do quatro componente.....	120
Figura 54 -	Esquema representativo das transições observadas no espectro de Raman Ressonante para as amostras contendo Eu^{3+} após excitação com um laser de comprimento de onda 532 nm.....	121
Figura 55 -	Espectros normalizados a partir do Raman Ressonante para as amostras de GSR NTA (linha preta) e LGSR do marcador EuBDC (linha vermelha), EuBTC (linha verde) e EuDPA (linha azul).....	122
Figura 56 -	Espectros Raman Ressonante adquiridos de três amostras contendo EuBDC, EuBTC e EuDPA puros e seus respectivos LGSR. Espectros pré-processados com normalização e correção de linha de base.....	123
Figura 57 -	Espectros de emissão obtido por espectroscopia Raman ressonante (preto), e por espectroscopia emissão “convencional” (vermelho) da amostra EuBDC.....	125
Figura 58 -	Espectros de emissão obtido por espectroscopia Raman ressonante (preto), e por espectroscopia emissão “convencional” (vermelho) da amostra EuBTC.....	126
Figura 59 -	Espectros de emissão obtido por espectroscopia Raman ressonante (preto), e por espectroscopia emissão “convencional” (vermelho) da amostra EuDPA.....	127
Figura 60 -	Espectro Raman ressonante dos marcadores EuBDC (linha preta), EuBTC (linha vermelha) e EuDPA (linha azul).....	128
Figura 61 -	Espectros Raman Ressonante da amostra M1 (vermelha) e	

	espectro do EuBDC puro (azul).....	131
Figura 62 -	Espectros de LGSR EuDPA das amostras analisadas no teste cego (preto e azul) e espectro da MOF pura (vermelho).....	132
Figura 63 -	Gráfico de variância acumulada.....	133
Figura 64 -	gráfico de escores PC1 x PC3.....	134
Figura 65 -	a) gráfico de loadings na PC1 e b) gráfico de loadings na PC3.....	135
Figura 66 -	Transição eletrônica $^5D_0 - ^7F_2$ dos espectros de emissão adquiridos por Raman ressonante dos marcadores puros, sem pré-processamento, de a) EuBDC, b) EuBTC e c) EuDPA, nas 21 sínteses analisadas.....	137
Figura 67 -	a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuBDC.....	139
Figura 68 -	a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuBTC.....	140
Figura 69 -	a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuDPA.....	141
Figura 70 -	a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuBDC e b) espectro recuperado, de EuBDC, pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e espectro da MOF pura (linha azul).....	144
Figura 71 -	a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuBTC e b) espectro recuperado, de EuBTC, pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e espectro da MOF pura (linha azul).....	144
Figura 72 -	a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuDPA e b) espectro recuperado, de EuDPA, pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e espectro da MOF pura (linha azul).....	145

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Regiões do infravermelho.....	50
Tabela 2 - Resumo dos resultados do grupo A.....	91
Tabela 3 - Resumo dos resultados dos testes cegos (Grupo B).....	93
Tabela 4 - Parâmetros utilizados para aquisição dos espectros no Raman normal e no Raman ressonante.....	100
Tabela 5 - Resultados obtidos na PLS-DA para os espectros de Raman Normal.....	116
Tabela 6 - Resultado das respostas de cada analista para cada amostra de LGSR através do espectro de emissão por Raman Ressonante. Na última coluna a resposta do marcador verdadeiro.....	130
Tabela 7 - Resultados obtidos na PLS-DA para os espectros de Raman Ressonante.....	142

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

ATR – IR	ATTENUATED TOTAL REFLECTANCE – INFRARED (REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA - INFRAVERMELHO)
CBC	COMPANHIA BRASILEIRA DE CARTUCHOS
DMCL	DISPOSITIVOS MOLECULARES CONVERSORES DE LUZ
EFA	<i>ENVOLVING FACTOR ANALYSIS</i> (ANÁLISE DE FATORES EVOLUCIONÁRIOS)
GIA	GRUPO DE INSTRUMENTAO E AUTOMAO
GSR	<i>GUNSHOT RESIDUES</i> (RESÍDUO DE TIRO)
GSR-NTA	<i>GUNS SHOT – NON TOXIC AMMUNITION</i> (RESÍDUO DE TIRO – MUNIO NÃO TÓXICA)
HSI-NIR	<i>HYPERSPECTRAL IMAGE – NEAR INFRARED</i> (IMAGEM HIPERESPECTRAL – INFRAVERMELHO)
IGSR	<i>INORGANIC GUNSHOT RESIDUE</i> (RESÍDUO DE TIRO INORGÂNICO)
INC – DF	INSTITUTO NACIONAL DE CRIMINALISTICA – DISTRITO FEDERAL
LGSR	<i>LUMINESCENT GUNSHOT RESIDUES</i> (RESÍDUO DE TIRO LUMINESCENTE)
LIBS	<i>LASER – INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY</i> (ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUZIDO POR LASER)
LN	LANTANÍDEO
LOF	<i>LACK OF FIT</i> (FALTA DE AJUSTE)
MCR – ALS	<i>MULTIVARIATE CURVE RESOLUTION – WITH ALTERNATING LEAST SQUARES</i> (RESOLUO MULTIVARIADA DE CURVAS COM MÍNIMOS QUADRADOS ALTERNADOS)
MEV-EDS	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E

ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA - DISPERSIVA DE RAIOS X

MIR	<i>MIDDLE INFRARED</i> (INFRAVERMELHO MÉDIO)
MOF	<i>METAL-ORGANIC FRAMEWORK</i> (ESTRUTURA METALORGÂNICA)
MSC	<i>MULTIPLICATIVE SCATTERING CORRECTION</i> (CORREÇÃO DE ESPALHAMENTO MULTIPLICATIVO)
NIR	<i>NEAR INFRARED</i> (INFRAVERMELHO PRÓXIMO)
NTA	<i>NON TOXIC AMMUNITION</i> (MUNIÇÃO NÃO TÓXICA)
OGSR	<i>ORGANIC GUNS SHOT RESIDUE</i> (RESÍDUO DE TIRO ORGÂNICO)
OLED	<i>ORGANIC LIGHT-EMITTING DIODE</i> (DIODOS ORGÂNICOS EMISSORES DE LUZ)
PCA	<i>PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS</i> (ANÁLISE POR COMPONENTES PRINCIPAIS)
PLS-DA	<i>PARTIAL LEAST SQUARES – DISCRIMINANT ANALYSIS</i> (ANÁLISE DISCRIMINANTE POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS)
RGB	<i>RED, GREEN, BLUE</i> (VERMELHO, VERDE, AZUL)
ROI	<i>REGION OF INTEREST</i> (REGIÃO DE INTERESSE)
SBU	<i>SECONDARY BUILDING UNITS</i> (UNIDADE DE LIGAÇÃO SECUNDÁRIA)
SNV	<i>STANDARD NORMAL VARIANTE</i> (VARIAÇÃO NORMAL PADRÃO)
UV	ULTRAVIOLETA
VIS	REGIÃO ESPECTRAL VISÍVEL
VSC	<i>VIDEO SPECTRAL COMPARATOR</i> (COMPARADOR DE DIGITALIZAÇÃO DE VÍDEO)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
1.1	CONTEXTUALIZAÇÃO.....	23
1.2	MOTIVAÇÃO.....	31
2	OBJETIVOS.....	33
2.1	OBJETIVOS GERAIS.....	33
2.1.1	Objetivos – HSI-NIR.....	33
2.1.2	Objetivos – Raman.....	33
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	34
3.1	QUÍMICA FORENSE.....	34
3.2	RESÍDUOS DE TIRO.....	34
3.3	MARCADORES LUMINESCENTES DE RESÍDUOS DE TIRO (LGSR).....	40
3.3.1	Redes metalorgânica (MOF).....	38
3.4	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (IV).....	43
3.4.1	Espectroscopia no infravermelho próximo (NIR).....	52
3.4.2	Imagem hiperespectral (HSI).....	45
3.4.2.1	<i>Técnicas de pré-processamento de imagens.....</i>	59
3.5	ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	63
3.5.1	Raman ressonante (RR).....	67
3.6	ANÁLISE MULTIVARIADA.....	69
3.6.1	Análise por componentes principais (PCA).....	69
3.6.2	Análise Discriminante por Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais.....	71
3.6.3	Resolução Multivariada de Curvas por Mínimos Quadrados Alternativos.....	75
4	INTRODUÇÃO.....	80
4.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	80
4.1.1	Amostras.....	80

4.1.1.1	<i>Grupo a – construção do modelo</i>	80
4.1.1.2	<i>Grupo b – validação do modelo (teste cego)</i>	81
4.1.2	Aquisição das Imagens Hiperespectrais.....	82
4.1.2.1	<i>Tratamento de dados</i>	83
4.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	86
4.3	CONCLUSÃO.....	94
5	INTRODUÇÃO	96
5.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	99
5.1.1	Produção de amostras.....	99
5.1.2	Aquisição dos espectros.....	99
5.1.2.1	<i>Espectros Raman</i>	99
5.1.2.2	<i>Luminescencia</i>	100
5.1.3	Análise quimiométrica.....	100
5.1.3.1	<i>Raman normal</i>	101
<u>5.1.3.1.1</u>	<u><i>Seleção de amostras</i></u>	101
<u>5.1.3.1.2</u>	<u><i>Análise de dados</i></u>	101
5.1.3.2	<i>Raman Ressonante</i>	103
<u>5.1.3.2.1</u>	<u><i>Seleção de amostras</i></u>	103
<u>5.1.3.2.2</u>	<u><i>Análise de dados</i></u>	104
5.1.4	Teste cego.....	105
5.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	105
5.2.1	Espectroscopia Raman Normal.....	105
5.2.1.1	<i>Análise por Componentes Principais</i>	108
5.2.1.2	<i>PLS-DA</i>	112
5.2.1.3	<i>MCR-ALS</i>	116
5.2.2	Espectroscopia Raman Ressonante.....	120
5.2.2.1	<i>Teste cego</i>	128
5.2.2.2	<i>Análise por Componentes Principais</i>	133
5.2.2.3	<i>PLS-DA</i>	138
5.2.2.4	<i>MCR-ALS</i>	143
5.3	CONCLUSÃO.....	146
6	CONCLUSÕES GERAIS	149
6.1	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	151

REFERÊNCIAS.....	152
APENDICE A – RESULTADO DAS AMOSTRAS DO CONJUNTO B COM MCR- ALS.....	162

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A presente tese é a continuação do trabalho iniciado no mestrado. Nesse trabalho foi analisado o potencial da técnica de imagem hiperespectral na região do infravermelho próximo para identificação de resíduos de tiro luminescentes, com o auxílio de diferentes métodos quimiométricos. Por isso, neste tópico, serão resumidos os principais resultados alcançados no mestrado, assim como os principais motivos para continuação do mesmo.

A identificação e caracterização de partículas produzidas após o disparo de uma arma de fogo são de grande importância na investigação de crimes com uso de armas de fogo (TUCKER, W.; LUCAS, N.; SEYFANG, K. E.; KIRKBRIDE, K. P.; POPELKA-FILCOFF, 2017). Contudo, as partículas são pequenas e, assim sendo, é difícil a sua localização no local do crime. A fim de facilitar o processo de visualização e coleta desses resíduos, nosso grupo tem trabalhado com desenvolvimento de marcadores luminescentes para resíduos de tiro os quais são adicionados às munições antes do disparo e produzem resíduos de tiro luminescentes (LGSR) (AROUCA, A.M.; LUCENA, M.A.M.; ROSSITER, R.J.; TALHAVINI; WEBER, 2017; LUCENA, M. A. M.; DE SÁ; RODRIGUES, M. O.; JÚNIOR; TALHAVINI, M.; WEBER, 2013; LUCENA, M. A. M.; OLIVEIRA, M. F. L.; AROUCA, A. M.; TALHAVINI, M.; FERREIRA, E. A.; JUNIOR, S. A.; VEIGA-SOUZA, F. H.; WEBER, 2017; LUCENA, M. A.M.; ORDOÑEZ, C.; WEBER, I. T.; TORRE, M.; GARCÍA-RUIZ, C.; LÓPEZ-LÓPEZ, 2017; LUCENA, M.A.M.; AROUCA; TALHAVINI, M.; JÚNIOR; WEBER, 2019; SERWY, I. B. ; AMARAL, K. W. ; MELO, M.A. ; MALDANER, A.O. ; TALHAVINI, M. ; RODRIGUES, M. O. ; WEBER, 2016; SERWY, I. B.; WANDERLEY, K. A.; LUCENA, M. A.M.; MALDANER, A. O.; TALHAVINI, M.; RODRIGUES; WEBER, 2018; WEBER, I.T.; DE MELO; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; JUNIOR, 2011). Dentre os diversos marcadores usados, alguns baseados em redes metalorgânica (MOFs) demonstraram grande potencial para a marcação de munição.

A luminescência observada nos marcadores é devido à presença de íons lantanídeos na sua estrutura. Esta luminescência auxilia na visualização desses resíduos no local do disparo. Com ajuda de uma lâmpada UV ($\lambda = 254$ nm), avalia-se a luminescência das partículas após o disparo, o que facilita a coleta das amostras de GSR como também ajuda a reconstruir a cena do crime que foi simulada, através da estimativa da posição do tiro e da trajetória da bala. Vários trabalhos já foram publicados utilizando a MOF como LGSR (LUCENA, M. A. M.; DE SÁ; RODRIGUES, M. O.; JÚNIOR; TALHAVINI, M.; WEBER, 2013; LUCENA, M. A. M.; OLIVEIRA, M. F. L.; AROUCA, A. M.; TALHAVINI, M.; FERREIRA, E. A.; JUNIOR, S. A.; VEIGA-SOUZA, F. H.; WEBER, 2017; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; GATTO, C. C.; TALHAVINI; MALDANER, A. O.; JUNIOR; WEBER, 2016; LUCENA, M. A. M.; WEBER; RODRIGUES, M. O.; JÚNIOR, S. A.; WANDERLEY, K. A.; TALHAVINI, 2014; LUCENA, M. A.M.; ORDOÑEZ, C.; WEBER, I. T.; TORRE, M.; GARCÍA-RUIZ, C.; LÓPEZ-LÓPEZ, 2017; SERWY, I. B. ; AMARAL, K. W. ; MELO, M.A. ; MALDANER, A.O. ; TALHAVINI, M. ; RODRIGUES, M. O. ; WEBER, 2016; WEBER, I. T.; TERRA, I. A. A.; MELO, A. J. G.; LUCENA; WANDERLEY, K. A.; PAIVA-SANTOS, C. O.; ANTÔNIO, S. G.; NUNES, L. A. O.; PAZ, FILIPE A. A.; SÁ, GILBERTO F.; JÚNIOR; RODRIGUES, 2012; WEBER, I.T.; DE MELO; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; JUNIOR, 2011). Neles, foram estudados tanto a estabilidade térmica, observando se a MOF não se degrada durante o disparo quanto a estabilidade química, notando se não ocorre uma reação química durante o disparo. Além disso, observou-se que não há alteração da propriedade luminescente, mostrando assim a potencialidade das MOFs como marcadores luminescentes de resíduos de tiro. A presença dos íons terra rara também permite que a MOF atue como marcador químico, facilitando a caracterização do GSR, especialmente nas munições livres de metais pesados – as quais não tem uma composição química específica que possa ser usada para caracterizar o GSR.

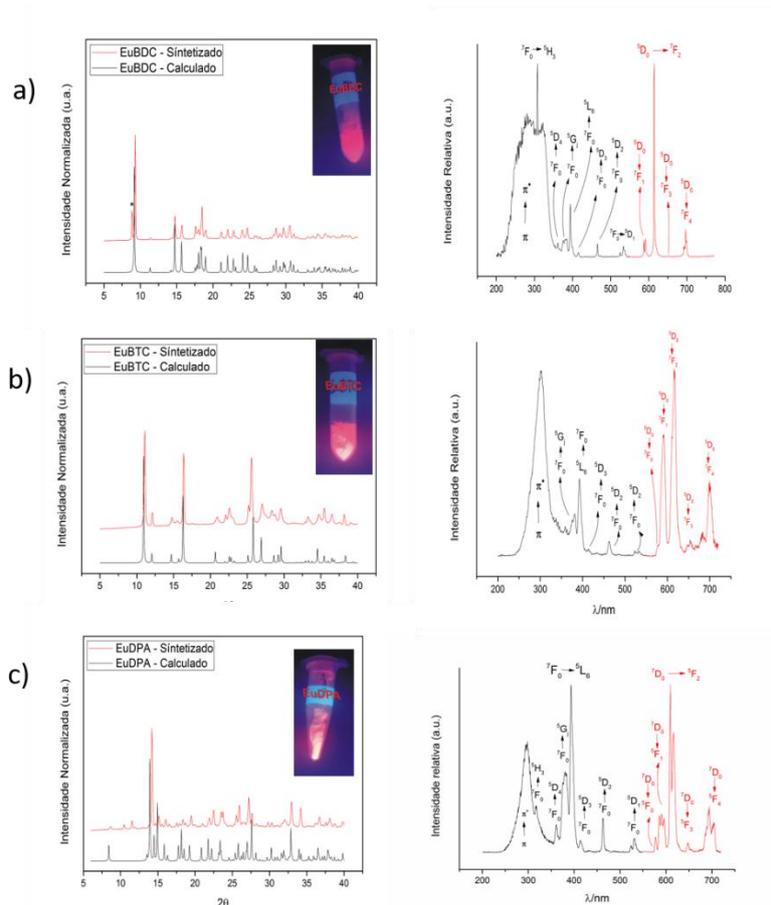
Além disso, ao modificar a composição química dos marcadores é possível realizar uma codificação e rastreamento da munição, e assim abrir novas percepções na análise de GSR (WEBER, I. T.; TERRA, I. A. A.; MELO, A. J. G.; LUCENA; WANDERLEY, K. A.; PAIVA-SANTOS, C. O.; ANTÔNIO, S.

G.; NUNES, L. A. O.; PAZ, FILIPE A. A.; SÁ, GILBERTO F.; JÚNIOR; RODRIGUES, 2012). Neste contexto, alguns trabalhos do grupo já avaliaram a possibilidade de fazer a codificação de munições, mudando apenas o componente metálico. Esses resultados mostram o potencial dos marcadores para codificação de munições, como também a possibilidade de utilizar esses marcadores luminescentes para relacionar o local do disparo e a arma com um atirador. Este tipo de rotulagem abre perspectivas para que os peritos forenses possam correlacionar um determinado evento supostamente ocorrido em uma cena de crime a um suspeito, a uma arma ou a um tipo específico de munição. Apesar dos resultados positivos obtidos até o momento, a codificação, considerando apenas os metais presentes nos marcadores, é bastante limitada. Por outro lado, se a fração orgânica da MOF for levada em consideração, o número de possibilidades aumenta e isso produz maior probabilidades de combinações.

Dentro dessa perspectiva, a pesquisa realizada no mestrado (CARVALHO, 2015) teve como objetivo distinguir três MOFs (EuBDC, EuBTC e EuDPA) usadas como marcadores de munição para a geração de resíduo luminescente de tiro (LGSR). Procurou-se fazer a diferenciação dos marcadores por meio da parte orgânica de sua estrutura, usando sempre o Eu^{3+} como centro metálico. Para isso, utilizou-se a técnica de imagens hiperespectrais na região do infravermelho próximo (HSI-NIR) associada a métodos quimiométricos. Estudou-se tanto a possibilidade de codificação das munições como também a potencialidade da técnica HSI-NIR como uma alternativa na caracterização dos LGSR. Essas MOFs foram escolhidas por já terem sido estudadas anteriormente como marcadores luminescentes de resíduos de tiro (LUCENA, M. A. M.; OLIVEIRA, M. F. L.; AROUCA, A. M.; TALHAVINI, M.; FERREIRA, E. A.; JUNIOR, S. A.; VEIGA-SOUZA, F. H.; WEBER, 2017; SERWY, I. B.; WANDERLEY, K. A.; LUCENA, M. A.M.; MALDANER, A. O.; TALHAVINI, M.; RODRIGUES; WEBER, 2018; WEBER, I. T.; TERRA, I. A. A.; MELO, A. J. G.; LUCENA; WANDERLEY, K. A.; PAIVA-SANTOS, C. O.; ANTÔNIO, S. G.; NUNES, L. A. O.; PAZ, FILIPE A. A.; SÁ, GILBERTO F.; JÚNIOR; RODRIGUES, 2012; WEBER, I.T.; DE MELO; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; JUNIOR, 2011).

O trabalho foi dividido em três partes. Na primeira, foi realizada a síntese e caracterização dos compostos, a fim de observar se as amostras sintetizadas apresentam a luminescência característica do íon Eu^{3+} assim como a estrutura química correspondente àquelas descritas na literatura. Para isso, as amostras foram caracterizadas por meio de espectros de emissão, difratogramas de raios X, observação visual sob comprimento de onda 254 nm, etc. Verificou-se que todas as amostras sintetizadas apresentavam as características desejadas, principalmente no diz respeito a luminescência na região do vermelho pela presença do íon Eu^{3+} (Figura 1).

Figura 1 - Estão representados, na primeira coluna, os difratogramas de raio X assim como a imagem da MOF irradiada por uma lâmpada UV de comprimento de onda de 254 nm. Na segunda coluna estão representados os espectros de excitação e de emissão das MOFs EuBDC (a), EuBTC (b) e EuDPA (c), respectivamente. O * em cima do pico na figura do difratograma do composto EuBDC, informa que este pico não está presente no difratograma do EuBDC calculado.

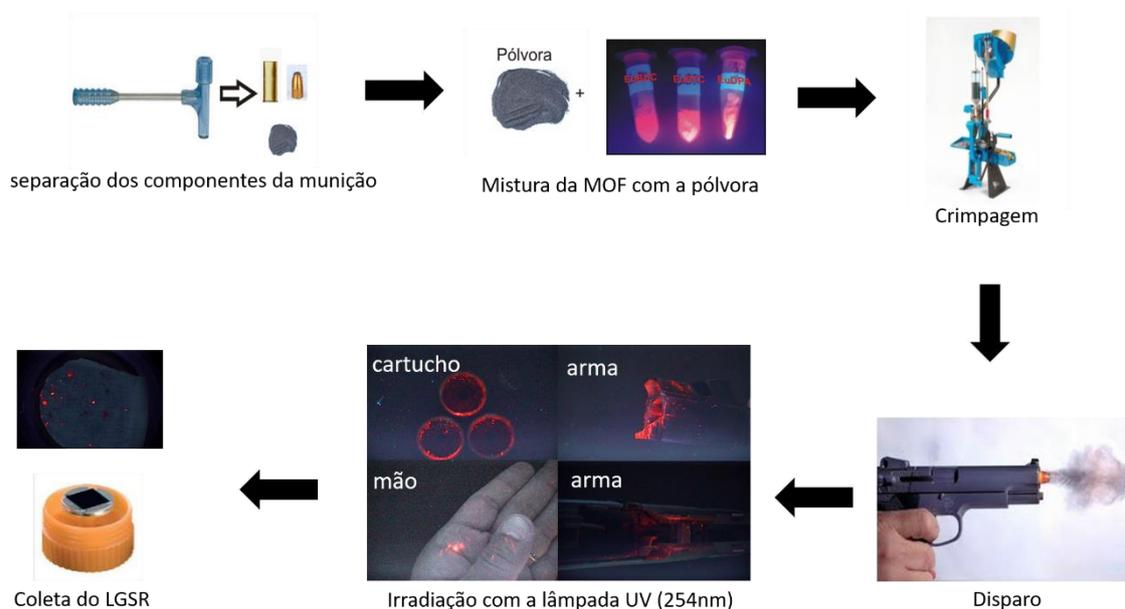


Fonte: A autora (2019).

Foram, então, produzidas amostras de LGSR para serem analisadas por HSI-NIR, de acordo com os seguintes passos:

- Abrir as munições;
- Colocar as MOFs na munição junto a pólvora;
- Fechar as munições com prensa de recarga (crimpagem);
- Realizar o disparo;
- Coletar os LGSR na mão, arma e cartucho com auxílio de uma fita adesiva sobre o *stub*;
- Realizar a aquisição das imagens de cada *stub* (Figura 2).

Figura 2 - Esquema demonstrando o processo realizado para obtenção da amostra com LGSR.



Fonte: A autora (2019).

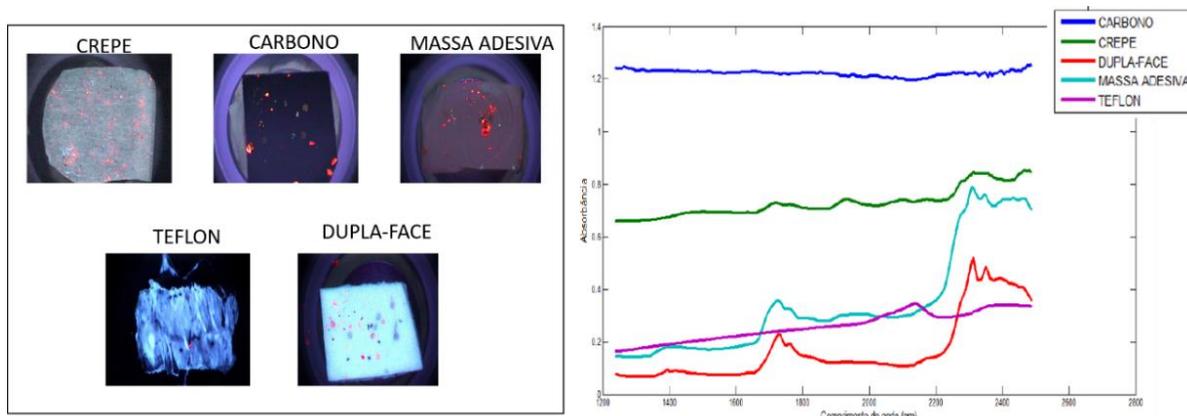
A quantidade de MOF necessária para que se tenha a menor interferência possível no mecanismo de disparo da arma foi estudada em trabalhos anteriores pelo próprio grupo (WEBER, I.T.; MELO, A.J.G.; LUCENA, M.A.M.; CONSOLI, E.F.; RODRIGUES, M.O.; DE SÁ, G.F.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; JÚNIOR, 2014). Sendo assim, a porcentagem de 6% de MOF em relação a massa da pólvora foi utilizada neste trabalho, a fim de que se obtenha uma quantidade de LSGR suficiente para coleta, após o disparo.

Na segunda etapa, foi avaliada a potencialidade do HSI-NIR na identificação de partículas de LGSR. Esses marcadores, como já foi visto, apresentam em comum o íon Eu^{3+} o que produz LGSR, visualmente, materiais com a mesma cor. No entanto eles apresentam ligantes orgânicos diferentes o que foi a base para diferenciação destes compostos nesta etapa do trabalho. Essa técnica tem se mostrado interessante no estudo de casos na ciência forense, por ser uma análise rápida e não destrutiva. Além disso, tem-se a vantagem de adquirir informações espaciais e espectrais ao mesmo tempo em uma mesma amostra.

A fita adesiva condutora de carbono é utilizada usualmente no processo de coleta de GSR para análise por MEV/EDS, portanto, seria uma candidata natural para ser usada no recolhimento de partículas de LGSR. Contudo, foi observado que o espectro dessa fita na região do infravermelho próximo, apresenta altos valores de absorbância e prejudica a análise por HSI-NIR, devido a sobreposição de sinais da fita com os LGSR. A partir disto, foram testadas quatro fitas adesivas de cor branca como substratos de coleta (fita crepe, dupla face, massa adesiva e teflon) para possível substituição da fita de carbono na análise por HSI-NIR.

Foi avaliada a aderência das fitas no processo de coleta e os espectros de cada substrato para identificar se havia sobreposição dos sinais. Na análise dos substratos, foi observado que a fita de teflon não apresentou uma aderência efetiva das partículas de LGSR e, portanto, foi excluída; a fita dupla face exibiu alta aderência, o que resultou na coleta de muitas partículas contaminantes (advindas da arma, cartucho e mão) e, com isso, dificultou as análises devido à complexidade das amostras, sendo esta fita também excluída; a massa adesiva tem superfície rugosa e não homogênea, o que desfavoreceu a realização das medidas. Sendo assim, apenas a fita crepe apresentou pouca interferência espectral na classificação assim como uma superfície homogênea e aderência adequada, sendo escolhida como substrato para análise de LGSR por HSI-NIR (Figura 3).

Figura 3 - Na Figura estão representados os diferentes substratos utilizados na coleta dos LGSR, irradiados por uma lâmpada UV (254nm). Na Figura b os espectros médios obtidos por imagem de cada substrato sem a presença de LGSR.

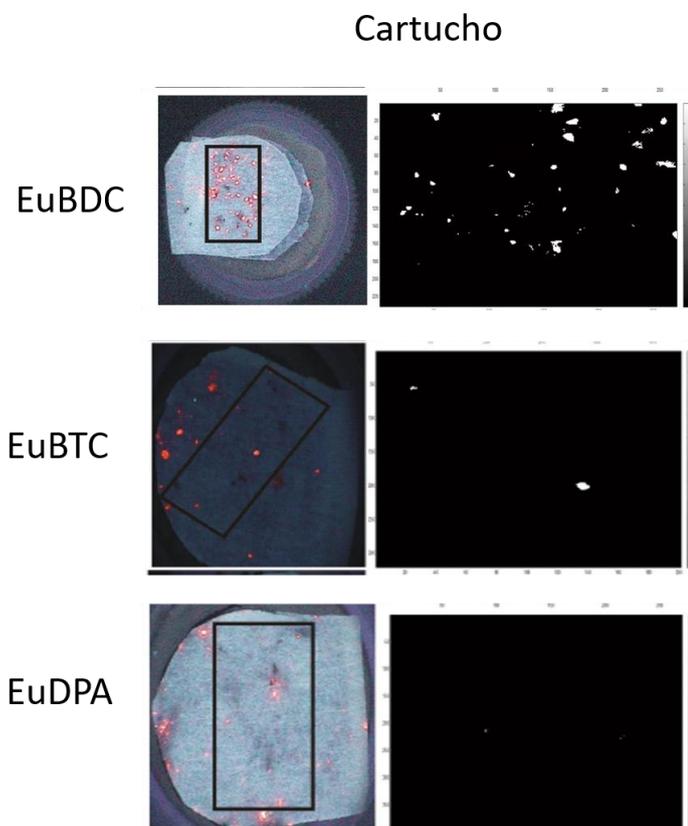


Fonte: A autora (2019).

Após a escolha do substrato de coleta adequado, foram construídos modelos de classificação utilizando o método quimométrico Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA, do inglês, *Partial Least Squares and Discriminant Analysis*). Este modelo foi desenvolvido através das imagens dos LGSR, adquiridas apenas com o substrato fita crepe e coletadas da mão de um atirador, da arma e do cartucho. Foram avaliadas 45 amostras, sendo 15 de EuBDC, 15 de EuBTC e 15 de EuDPA. Das quais 30 foram utilizadas como conjunto de calibração e 15 como conjunto de previsão

Através dos resultados obtidos na classificação pelo modelo PLS-DA, observou-se que foi possível diferenciar os três tipos de marcadores luminescentes através da reconstrução de um mapa de distribuição espacial, com a identificação dos pontos de maior concentração para cada tipo de LGSR. A Figura 4 mostra, como exemplo, os mapas de reconstrução obtidos pelo modelo PLS-DA para as amostras de LGSR coletadas no cartucho.

Figura 4 - Na primeira coluna, imagem gerada por irradiação com a lâmpada UV (254 nm) sobre as amostras contendo EuBDC, EuBTC e EuDPA coletadas no cartucho e a região selecionada para ser analisada por PLS-DA. Na segunda coluna, mapas de distribuição especiais geradas pelo modelo PLS-DA das mesmas amostras da primeira coluna.



Fonte: A autora (2019).

A região do *stub* analisada foi escolhida através das imagens obtidas pelo VSC. Assim, antes de aplicar os modelos quimiométricos, as imagens foram cortadas em regiões onde há presença de LGSR, conforme mostra a Figura 4.

Para testar a eficiência do modelo construído, foi realizado um teste de previsão em um conjunto de 15 amostras. Esse teste teve como objetivo observar se o modelo consegue diferenciar os três marcadores corretamente. Para isso, na construção do modelo coloca-se as informações espectrais de uma MOF que não está presente na amostra. Como exemplo, foi analisada uma amostra que continha EuDPA, contudo, na construção do modelo foi dada informação espectral do EuBDC.

Os testes realizados mostraram que o PLS-DA não identifica os *pixels* como pertencentes a classe da matriz dos espectros puros do marcador

utilizados na construção do modelo. Assim o PLS-DA consegue, com sucesso, identificar e diferenciar os três LGSRs, sendo um método promissor para a caracterização de marcadores. Porém, para fins de codificação, esse método mostrou-se incompleto, pois ele apenas indica se a amostra pertence ou não a uma classe. Portanto, para saber qual substância está presente na amostra analisada, seria necessário testar várias substâncias, o que tornaria o processo mais lento.

De forma exploratória, outro método chamado de MCR-ALS, foi testado para tentar sanar o problema encontrado pelo PLS-DA. Os resultados obtidos com MCR-ALS foram similares aos obtidos com PLS-DA. Porém, a vantagem de utilizar o MCR-ALS é que se tem como resultado a recuperação espectral, além da recuperação espacial, o que possibilita o estudo de amostras desconhecidas de LGSR, ou seja, amostras que contém outros marcadores luminescentes, através de um banco de dados.

1.2 MOTIVAÇÃO

A busca por métodos de análise que sejam não destrutivos, com pouco ou nenhum preparo de amostras e que permitam obter o máximo de informações utilizando apenas uma única análise tem sido o interesse de vários campos da pesquisa. Dentro desta perspectiva, as técnicas de Imagem hiperespectral e a espectroscopia Raman tem sido bastante utilizadas, principalmente na química forense.

O uso dessas técnicas na química analítica está atrelado ao emprego de ferramentas quimiométricas. A quimiometria é uma área que utiliza ferramentas matemáticas e estatísticas para interpretação de dados químicos multivariados (BRERETON, 2003). O aumento da importância, nos últimos anos, da quimiometria está relacionado ao aumento da capacidade da instrumentação analítica, do processamento dos computadores e no aumento da habilidade de aquisição dos dados. Com a utilização das ferramentas quimiométricas, é possível analisar dados de maior complexidade, dados com baixa resolução do sinal analítico, além de analisar simultaneamente vários compostos (MOROS;

GARRIGUES; GUARDIA, 2010). A união entre a quimiometria e as técnicas espectroscópicas permite a criação de metodologias mais rápidas, reduz o uso de reagentes e o custo das análises, além de facilitar o preparo das amostras. Os dados extraídos dessas técnicas podem ser utilizados para construção de modelos de classificação, modelos de regressão e separação matemática de sinais.

Em especial, o uso dessas ferramentas na análise de resíduos de tiro (GSR) tem aumentado nos últimos anos. Isso se dá principalmente pela necessidade de métodos mais rápidos e menos destrutivos. Nesse sentido, a presente tese almeja desenvolver um estudo sobre metodologias para identificação e caracterização de resíduo de tiro proveniente de munição não tóxica marcados por materiais luminescentes (LGSR-NTA), além de avaliar a possibilidade de codificação de munições por diferentes marcadores. Para isso, foram utilizadas as técnicas de Imagem hiperespectral na região do infravermelho próximo (HSI-NIR) e a espectroscopia Raman.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Este trabalho teve como objetivo analisar a possibilidade de codificação de munições por três diferentes marcadores luminescentes (EuBDC, EuBTC e EuDPA). Para isso foram testados diferentes métodos quimiométricos utilizando as técnicas de HSI-NIR e a espectroscopia Raman.

2.1.1 Objetivos – HSI-NIR

Na primeira parte do trabalho o objetivo foi avaliar a repetibilidade da metodologia já estudada no mestrado e aumentar a variabilidade de codificação das munições, para isso é necessário:

- Aumentar o conjunto de amostras contendo LGSR;
- Otimizar da metodologia para a análise dos três LGSRs com HSI-NIR com auxílio do método quimiométrico MCR-ALS.

2.1.2 Objetivos – Raman

A segunda parte do trabalho teve como objetivo estudar a possibilidade de identificação e diferenciação dos marcadores EuBDC, EuBTC e EuDPA para fins de codificação de munição, através dos espectros Raman normal e ressonante em conjunto com auxílio de métodos quimiométricos. Para tal, é necessário:

- Obter espectros de emissão dos marcadores através da técnica de espectroscopia Raman ressonante.
- Obter espectros vibracionais dos marcadores através da técnica de espectroscopia Raman normal.
- Realizar análise dos espectros Raman normal e ressonante por PCA.
- Utilizar os métodos quimiométricos PLS-DA e MCR-ALS para construir modelos que diferenciem os diferentes tipos de marcadores utilizando os espectros Raman normal e ressonante.
- Avaliar a melhor metodologia dentre os modelos construídos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 QUÍMICA FORENSE

As ciências forenses reúnem conhecimentos de várias áreas com o objetivo de dar suporte às investigações referentes à justiça civil e criminal. Dentre as áreas que compõe as ciências forenses, a química forense está encarregada, em resumo, da análise, classificação e determinação de elementos encontrados nos locais de crime. Pela própria definição de química forense é fácil perceber a necessidade do desenvolvimento constante de novos métodos e técnicas a fim de contribuir da melhor maneira para o bom andamento das investigações criminais (ROSA; SILVA; GALVAN, 2015).

O estudo sobre os resíduos de tiro e sua caracterização, tem uma grande importância na química forense, pois pode ajudar a responder questões como: Quem atirou? Foi suicídio ou homicídio? Qual o tipo de munição utilizada no disparo? Porém, a detecção e análise desses resíduos é complexa necessitando sempre de melhoria ou criação de novos métodos (BLAKEY, L. S.; SHARPLES, G. P.; CHANA, K.; BIRKETT, 2018; REBOLEIRA, 2013; SCHWOEBLE; EXLINE, 2000).

3.2 RESÍDUOS DE TIRO

No momento do disparo são expelidos, além do projétil, produtos gasosos que são formados em função da detonação do *primer* (massa iniciadora) e da queima da pólvora, como mostrado na Figura 5 (ROMOLO, F. S.; MARGOT, 2001). Após a condensação desses gases, forma-se um material particulado que se deposita em diversas partes da cena do crime, assim como no atirador. Essas partículas são denominadas de resíduo de tiro (*Gunshot Residue* – GSR, em inglês) e são compostas por compostos orgânicos (*Organic Gunshot Residue*, OGSR) e compostos tipicamente inorgânicos (*Inorganic Gunshot Residue*, IGSR). O OGSR é composto, principalmente, por substâncias orgânicas provenientes do propelente, massa iniciadora e lubrificantes. Já os IGSR são formados por uma mistura de óxidos, nitratos, nitritos e partículas metálicas (TAUDTE, R. V.; BEAVIS, A.; BLANES, L.; COLE, N.; DOBLE, P.; ROUX, 2014). Apesar de apresentar uma composição variada, para fins forenses, considera-se tradicionalmente que uma partícula é

inequivocamente GSR, quando tem na sua composição, simultaneamente, os elementos antimônio (Sb), bário (Ba) e chumbo (Pb) e apresentam uma morfologia esferoide (ASTM., 2008; TUCKER, W.; LUCAS, N.; SEYFANG, K. E.; KIRKBRIDE, K. P.; POPELKA-FILCOFF, 2017).

Figura 5 - Imagem da nuvem formada após o disparo de uma arma de fogo.



Fonte: “Armas online” (2012).

O estudo do GSR é importante na química forense, pois pode ajudar a fazer uma ligação entre o suspeito, o local do crime e a arma utilizada. Assim, pode-se inferir se o suspeito usou ou não uma arma, se foi um suicídio ou homicídio ou, até mesmo determinar a distância em que a arma foi disparada (MORALES; VÁZQUEZ, 2004).

Uma arma de fogo é um dispositivo que impele um ou vários projéteis através de um cano, pela pressão de gases em expansão, produzidos por uma carga propelente em combustão (URBANACUTESKI, 1964). Ela pode ser classificada quanto a alma do cano (alma raiada e alma lisa), tamanho (curtas: Pistolas e Revólveres longas: Rifles, Fússil de Assalto, Carabina, Submetralhadora, Metralhadora e Espingardas), sistema de carregamento (anticarga e retrocarga), sistema de funcionamento (repetição, semi-Automática

e automática) e sistema de acionamento (ação Simples, ação dupla, dupla ação e ação híbrida) (REBOLEIRA, 2013).

Quanto à munição, ela é composta de projétil, estojo, propelente e espoleta, como mostrado na Figura 6.

Figura 6 - Componentes da munição.



Fonte: Freitas (2010).

O projétil (item 1 da Figura 6) é qualquer sólido que pode ser ou foi arremessado através do cano. Eles tem diferentes formas de acordo com a arma ou o objetivo do tiro. Na Figura 7, estão dispostos alguns tipos de projéteis produzidos pela CBC® (Companhia Brasileira de Cartuchos) para pistolas.

Figura 7 - Resumo dos diferentes tipos de projéteis desenvolvidos pela CBC.



Fonte: Adaptado de “Armas online”(2012).

O Propelente (item 2 da Figura 6), também chamado de carga de projeção, é a fonte de energia química que faz com que o projétil seja arremessado para frente, dando-lhe uma grande velocidade. Geralmente, é composto de pólvora química ou a pólvora sem fumaça, que substituiu a

pólvora negra pois produz pouca fumaça e menos resíduos, além de poder ser capaz de gerar mais pressão com pequenas quantidades. A energia é produzida pelos gases resultantes da queima do propelente, no qual há um rápido aumento de volume de matéria no interior do estojo, gerando uma grande pressão que impulsiona o projétil. A pólvora pode ser classificada como:

Pólvora de base simples: À base de nitrocelulose, gera pouco calor e em consequência, aumenta a durabilidade da arma (DALBY; BUTLER; BIRKETT, 2010).

Pólvora de base dupla: À base de nitrocelulose e nitroglicerina, com maior conteúdo enegético (DALBY; BUTLER; BIRKETT, 2010).

Pólvora de base tripla: Constituída, basicamente, por nitrocelulose, nitroglicerina e nitroguanidina . Esse tipo de pólvora é utilizado, normalmente, em canhões de calibre elevado, como artilharia e armamento de combate (REBOLEIRA, 2013).

O estojo (item 3 da Figura 6) ou cartucho, tem a função de juntar o projétil com o propelente e a massa iniciadora. Geralmente são feitos de latão, mas também podem ser feitos de outros materiais. Seu corpo tem formato cilíndrico, cônico ou garrafa (Figura 8).

Figura 8 - Possíveis formatos dos estojos.



Fonte: "Armas online" (2012).

A espoleta (item 4 da Figura 6) é um recipiente que contém a mistura iniciadora (também chamada de *primer*), o qual é responsável por provocar a queima da pólvora. O impacto do pino percutor na mistura iniciadora gera a combustão que fornece energia para a pólvora. O *primer* é composto, basicamente, de explosivos, agente oxidantes, combustível, sensibilizadores e

ligantes. Em particular, os agente oxidantes, por apresentar em sua composição sais de nitrato de bário [$\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$], dióxido de chumbo [PbO_2], nitrato de chumbo [$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$], estifinato de chumbo [$\text{C}_6\text{HN}_3\text{O}_8\text{Pb}$] e trissulfeto de antimônio [Sb_2S_3], são responsáveis pela caracterização dos GSR (ROMOLO, F. S.; MARGOT, 2001).

No início dos anos 2000, foram introduzidas no mercado munições livres de metais pesados. O desenvolvimento destas munições foi motivado pela necessidade de diminuir o contado de atiradores frequentes como , por exemplo, policiais, militares e esportistas com metais pesados provenientes da munição (MARTINY, A.; CAMPOS, A. P.C.; SADER, M. S.; PINTO, 2008). Estas munições são conhecidas como munições livre de chumbo (*lead free*), ambientais (*environmental*), munição não tóxica(NTA - (*non toxic ammunition*) ou ainda *clean range*, quando produzidas pela *Companhia Brasileira de Cartuchos (CBC)*. Como não contém os metais característicos (Sb, Ba e Pb), houve a necessidade de explorar outras maneiras de identificar o GSR.

Ao longo das décadas, a análise de GSR evoluiu de testes colorimétricos simples, tais como o teste com rodizonato de sódio, para análises instrumentais, tais como microscopia eletrônica de varredura acoplada a espectroscopia de dispersão de energia (MEV-EDS) (MAIO, 1999) à espectroscopia Raman (LÓPEZ-LÓPEZ; DELGADO; GARCÍA-RUIZ, 2012). As principais técnicas estão baseadas, principalmente, na análise de Sb, Ba e Pb, pois são os principais constituintes da munição convencional. Contudo, com a criação da munição livre de metais pesados, houve uma carência de novas metodologias para identificação de GSR provenientes dessa munição (MARTINY, A.; CAMPOS, A. P.C.; SADER, M. S.; PINTO, 2008; WEBER, I.T.; DE MELO; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; JUNIOR, 2011).

Com isso, para identificar os resíduos de tiro produzidos por munição NTA (GSR-NTA), duas estratégias são relatadas na literatura. Alguns autores têm se dedicado à identificação da fração orgânica do GSR, chamada de OGSR (BURLESON, G. L.; GONZALEZ, B.; SIMONS, K.; YU, 2009; LÓPEZ-LÓPEZ; DELGADO; GARCÍA-RUIZ, 2012; MACCREHAN, W. A.; LAYMAN, M. J.; SECL, 2003). Por outro lado, nosso grupo de pesquisa focou no desenvolvimento de marcadores luminescentes e nos seus resíduos, são

chamados de LGSR (GSR luminescentes). Estes marcadores quando adicionados à munição oferecem uma assinatura óptica e química que permite a identificação visual de partículas remanescentes do disparo de uma arma de fogo, facilitando a coleta de GSR no local do crime (LUCENA, M. A. M.; DE SÁ; RODRIGUES, M. O.; JÚNIOR; TALHAVINI, M.; WEBER, 2013; LUCENA, M. A. M.; OLIVEIRA, M. F. L.; AROUCA, A. M.; TALHAVINI, M.; FERREIRA, E. A.; JUNIOR, S. A.; VEIGA-SOUZA, F. H.; WEBER, 2017; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; GATTO, C. C.; TALHAVINI; MALDANER, A. O.; JUNIOR; WEBER, 2016; LUCENA, M. A. M.; WEBER; RODRIGUES, M. O.; JÚNIOR, S. A.; WANDERLEY, K. .A.; TALHAVINI, 2014; LUCENA, M. A.M.; ORDOÑEZ, C.; WEBER, I. T.; TORRE, M.; GARCÍA-RUIZ, C.; LÓPEZ-LÓPEZ, 2017; SERWY, I. B.; AMARAL, K. W.; MELO, M.A.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; RODRIGUES, M. O.; WEBER, 2016; SERWY, I. B.; WANDERLEY, K. A.; LUCENA, M. A.M.; MALDANER, A. O.; TALHAVINI, M.; RODRIGUES; WEBER, 2018; WEBER, I. T.; TERRA, I. A. A.; MELO, A. J. G.; LUCENA; WANDERLEY, K. A.; PAIVA-SANTOS, C. O.; ANTÔNIO, S. G.; NUNES, L. A. O.; PAZ, FILIPE A. A.; SÁ, GILBERTO F.; JÚNIOR; RODRIGUES, 2012; WEBER, I.T.; DE MELO; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; JUNIOR, 2011).

Esses marcadores produzem resíduos de tiro luminescentes os quais podem ser visualizados no local do disparo (ex: cena de crime) ou sobre o atirador. A visualização do LGSR direciona e facilita a coleta. Uma vez coletadas, estas partículas podem ser analisadas por métodos analíticos não destrutivos tais como MEV-EDS (método de referência), espectroscopia de emissão (incluindo análises feitas em *Video Spectral Comparator* – equipamento bastante comum em laboratórios de perícia) e espectroscopia Raman (LUCENA, M. A. M.; DE SÁ; RODRIGUES, M. O.; JÚNIOR; TALHAVINI, M.; WEBER, 2013; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; GATTO, C. C.; TALHAVINI; MALDANER, A. O.; JUNIOR; WEBER, 2016; LUCENA, M. A.M.; ORDOÑEZ, C.; WEBER, I. T.; TORRE, M.; GARCÍA-RUIZ, C.; LÓPEZ-LÓPEZ, 2017; SERWY, I. B.; AMARAL, K. W.; MELO, M.A.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; RODRIGUES, M. O.; WEBER, 2016; SERWY, I. B.; WANDERLEY, K. A.; LUCENA, M. A.M.; MALDANER, A. O.;

TALHAVINI, M.; RODRIGUES; WEBER, 2018; WEBER, I. T.; TERRA, I. A. A.; MELO, A. J. G.; LUCENA; WANDERLEY, K. A.; PAIVA-SANTOS, C. O.; ANTÔNIO, S. G.; NUNES, L. A. O.; PAZ, FILIPE A. A.; SÁ, GILBERTO F.; JÚNIOR; RODRIGUES, 2012; WEBER, I.T.; DE MELO; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; JUNIOR, 2011; WEBER, I.T.; MELO, A.J.G.; LUCENA, M.A.M.; CONSOLI, E.F.; RODRIGUES, M.O.; DE SÁ, G.F.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; JÚNIOR, 2014). Podem, também, ser utilizados em munições convencionais para melhorar a rotina de análise forense e, nesse caso, tem-se a possibilidade de analisar conjuntamente tanto o marcador presente no LGSR quanto as partículas de Pb, Ba e Sb (LUCENA, M. A.M.; ORDOÑEZ, C.; WEBER, I. T.; TORRE, M.; GARCÍA-RUIZ, C.; LÓPEZ-LÓPEZ, 2017). Além disso, ao modificar a composição química dos marcadores, é possível realizar uma codificação e rastreamento da munição e, assim, abrir novas perceptivas na análise de GSR (WEBER, I. T.; TERRA, I. A. A.; MELO, A. J. G.; LUCENA; WANDERLEY, K. A.; PAIVA-SANTOS, C. O.; ANTÔNIO, S. G.; NUNES, L. A. O.; PAZ, FILIPE A. A.; SÁ, GILBERTO F.; JÚNIOR; RODRIGUES, 2012).

3.3 MARCADORES LUMINESCENTES DE RESÍDUOS DE TIRO (LGSR)

A maioria dos métodos de caracterização de GSR têm como objetivo identificar, simultaneamente, os íons Pb, Ba e Sb, provenientes da munição, através de diferentes técnicas analíticas. Contudo, a presença destes íons e sua identificação não comprovam que houve disparo de uma arma de fogo. Assim, trabalhadores de diversas áreas poderiam apresentar estes íons metálicos nas suas mãos, o que dificultava a correlação da ocorrência do disparo com o atirador.

Em 1990 surgiu, um dos primeiros trabalhos, na perspectiva de utilizar um composto químico como marcador de pólvora, proposto por Brandone e colaboradores (BRANDONE, A.; DE FERRARI; PELIZZA, P.; SIGNORI, 1990). Esse trabalho consistiu em utilizar o óxido de samário como marcador químico de pólvora convencional para aumentar a confiabilidade dos métodos já utilizados, detectando o íon samário, além de bário, antimônio e chumbo nas

mãos de um atirador. O primeiro trabalho que sugeriu a inclusão de marcadores externos às munições, como forma de sanar problemas encontrados na identificação de GSR por MEV/EDS, foi proposto por Martiny et al. em 2008 (MARTINY, A.; CAMPOS, A. P.C.; SADER, M. S.; PINTO, 2008). Contudo os autores não sugerem um marcador específico, apenas apontam para a necessidade de se usar marcadores em munições do tipo NTA. Todos esses trabalhos buscam utilizar elementos que não são encontrados em atividades ocupacionais ou no meio ambiente para marcação química do GRS.

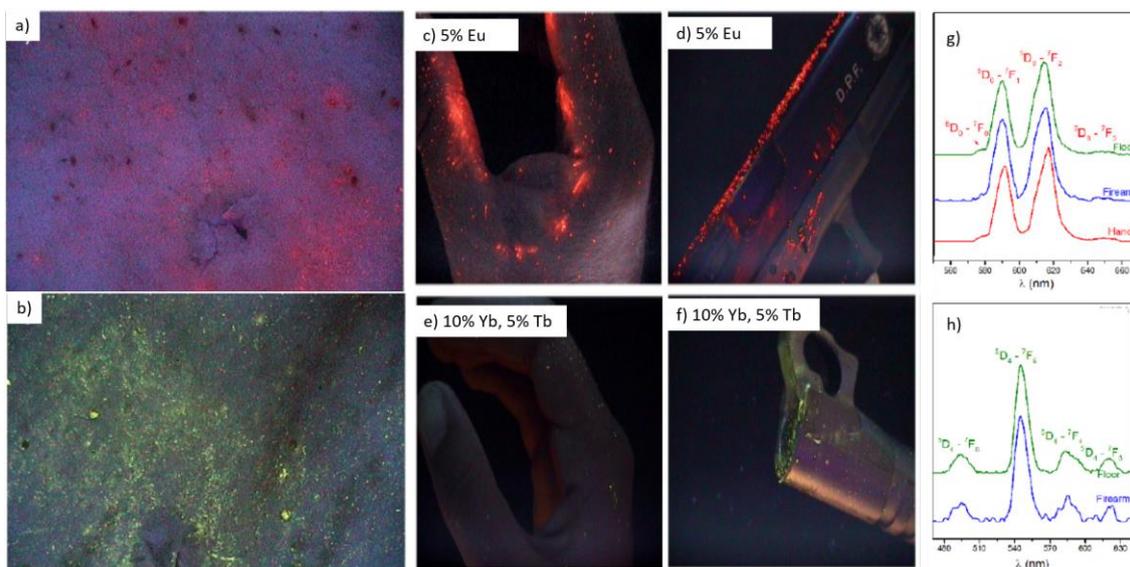
Os marcadores luminescentes propostos por nosso grupo foram desenvolvidos, originalmente, com o intuito de permitir a identificação inequívoca de GSR-NTA (WEBER, I. T.; MELO; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M.O.; JUNIOR, 2010; WEBER, I.T.; DE MELO; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; JUNIOR, 2011). Contudo, dentro da perspectiva forense, os marcadores luminescentes ajudam também na visualização e coleta de GSR em suspeitos e no local do crime (LUCENA, M. A.M.; ORDOÑEZ, C.; WEBER, I. T.; TORRE, M.; GARCÍA-RUIZ, C.; LÓPEZ-LÓPEZ, 2017; WEBER, I.T.; MELO, A.J.G.; LUCENA, M.A.M.; CONSOLI, E.F.; RODRIGUES, M.O.; DE SÁ, G.F.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; JÚNIOR, 2014). Podem também ser utilizados na previsão da distância que ocorreu o disparo, na identificação da posição do atirador e da trajetória do projétil, na correlação entre vítima e atirador, etc (LUCENA, M. A. M.; OLIVEIRA, M. F. L.; AROUCA, A. M.; TALHAVINI, M.; FERREIRA, E. A.; JUNIOR, S. A.; VEIGA-SOUZA, F. H.; WEBER, 2017; WEBER, I.T.; MELO, A.J.G.; LUCENA, M.A.M.; CONSOLI, E.F.; RODRIGUES, M.O.; DE SÁ, G.F.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; JÚNIOR, 2014). Uma outra possibilidade é a utilização dos marcadores para marcação seletiva de munições, visando diferenciar o tipo de munição usada por meio de diferentes tipos marcadores (LUCENA, M.A.M.; AROUCA; TALHAVINI, M.; JÚNIOR; WEBER, 2019).

No tocante a possibilidade de marcação seletiva, dois trabalhos foram realizados pelo grupo. Em 2014, Weber et al. (WEBER, I.T.; MELO, A.J.G.; LUCENA, M.A.M.; CONSOLI, E.F.; RODRIGUES, M.O.; DE SÁ, G.F.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; JÚNIOR, 2014) demonstraram, utilizando pele de porco, a possibilidade de correlacionar uma vítima a um evento ou

atirador por meio do uso de dois marcadores diferentes. Os dois marcadores utilizados apresentam emissão em diferentes regiões do espectro (vermelho e verde) e tais cores puderam ser facilmente observadas na vítima simulada (pele de porco) (Figura 9 a e b). Mostraram também que é possível encontrar partículas de cada marcador no atirador, mesmo quando a coleta foi feita em locais pouco usuais como narinas e orelha.

Recentemente, Lucena et al. (LUCENA, M.A.M.; AROUCA; TALHAVINI, M.; JÚNIOR; WEBER, 2019) mostraram a possibilidade de codificação de munição através da variação na composição do marcador usado. Para isso eles utilizaram estruturas $[Y_{1-x}Ln_x (BTC)]$ co-dopada com proporções de íons lantanídeos Eu^{3+} , Tb^{3+} , Sm^{3+} e Yb^{3+} variando entre 5 e 10%, gerando um conjunto de 8 diferentes marcadores. O trabalho mostrou que mesmo com baixas concentrações de íons lantanídeos houve uma boa visualização das partículas luminescentes (Figura 9 c a f). Além disso a análise dos espectros de emissão em conjunto com a análise por MEV/EDS foi eficiente na identificação dos resíduos gerados (Figura 9 g e h). Foi realizado também um teste cego com os oitos marcadores e os autores obtiveram a correta identificação do marcador usado em 100% dos disparos. Além disso, foi possível fazer a associação entre o atirador, arma e o local do disparo em 89% dos casos. Também se notou que diminuindo a quantidade de európio na síntese reduzia-se o custo para marcar uma da munição, o qual passou de U\$ 0,24 para U\$ 0,02 por munição, considerando uma escala laboratorial.

Figura 9 - Imagens geradas pelo VSC dos LGSR com os íons Eu^{3+} e Tb^{3+} sobre a pele de porco à uma distância de 15cm e usando a estrutura $[\text{Ln}(\text{DPA})(\text{HDPA})]$ (a e b), sobre mãos e armas utilizando as estruturas co-dopadas $[\text{Y}_{1-x}\text{Ln}_x(\text{BTC})]$ com diferentes porcentagens (c-f) e seus respectivos espectros de emissão (g e h).



Fonte: Adaptado de Lucena et al., (2019).

Os dois trabalhos citados mostram a potencialidade da marcação seletiva de munições. Contudo, o número de marcações diferentes é relativamente reduzido se considerarmos apenas a fração inorgânica (íons metálicos) das MOFs. Por outro lado, se considerarmos também a possibilidade de variar a fração orgânica (ligantes) o número de diferentes marcadores aumenta consideravelmente. (A exploração do uso de diferentes ligantes com objetivo de se obter marcação seletiva e será aprofundado neste trabalho).

3.3.1 Redes metalorgânica (MOF)

Redes metalorgânicas (MOFs – do inglês metal organic Framework) tem sido amplamente utilizadas em diversos campos tais como catálise, troca iônica, armazenamento e separação de gases (VAN DE VOORDE, B.; BUEKEN, B.; DENAYER, J.; DE VOS, 2014), polimerização, materiais luminescentes (BINNEMANS, 2009) e carreamento de fármaco (KANG, I. J.; KHAN, N. A.; HAQUE, E.; JHUNG, 2011; LEUS, K.; BOGAERTS, T.; DECKER, J.; DEPAUW, H.; HENDRICKX, K.; VRIELINCK, H.; VAN SPEYBROECK, V.;

D.; ZHAO, D.; ZHUANG, W.; ZHOU, 2009; ROWSELL; YAGHI, 2004). Suas aplicações têm se mostrado bastante interessantes em áreas como nanotermômetros, Diodos Orgânicos Emissores de Luz (OLED, do inglês *Organic Light Emitting Diodes*), Dispositivos Moleculares Conversores de Luz (DMCL), armazenamento óptico (BINNEMANS, 2009; BÜNZLI; PIGUET, 2005; ROCHA, J.; CARLOS, L. D.; PAZ, F. A. A.; ANANIAS, 2011), assim como marcadores luminescentes de resíduos de tiro (LUCENA, M. A. M.; DE SÁ; RODRIGUES, M. O.; JÚNIOR; TALHAVINI, M.; WEBER, 2013; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; GATTO, C. C.; TALHAVINI; MALDANER, A. O.; JUNIOR; WEBER, 2016; LUCENA, M. A.M.; ORDOÑEZ, C.; WEBER, I. T.; TORRE, M.; GARCÍA-RUIZ, C.; LÓPEZ-LÓPEZ, 2017; LUCENA, M.A.M.; AROUCA; TALHAVINI, M.; JÚNIOR; WEBER, 2019; SERWY, I. B. ; AMARAL, K. W. ; MELO, M.A. ; MALDANER, A.O. ; TALHAVINI, M. ; RODRIGUES, M. O. ; WEBER, 2016; SERWY, I. B.; WANDERLEY, K. A.; LUCENA, M. A.M.; MALDANER, A. O.; TALHAVINI, M.; RODRIGUES; WEBER, 2018; WEBER, I. T.; MELO; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M.O.; JUNIOR, 2010; WEBER, I. T.; TERRA, I. A. A.; MELO, A. J. G.; LUCENA; WANDERLEY, K. A.; PAIVA-SANTOS, C. O.; ANTÔNIO, S. G.; NUNES, L. A. O.; PAZ, FILIPE A. A.; SÁ, GILBERTO F.; JÚNIOR; RODRIGUES, 2012; WEBER, I.T.; MELO, A.J.G.; LUCENA, M.A.M.; CONSOLI, E.F.; RODRIGUES, M.O.; DE SÁ, G.F.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; JÚNIOR, 2014).

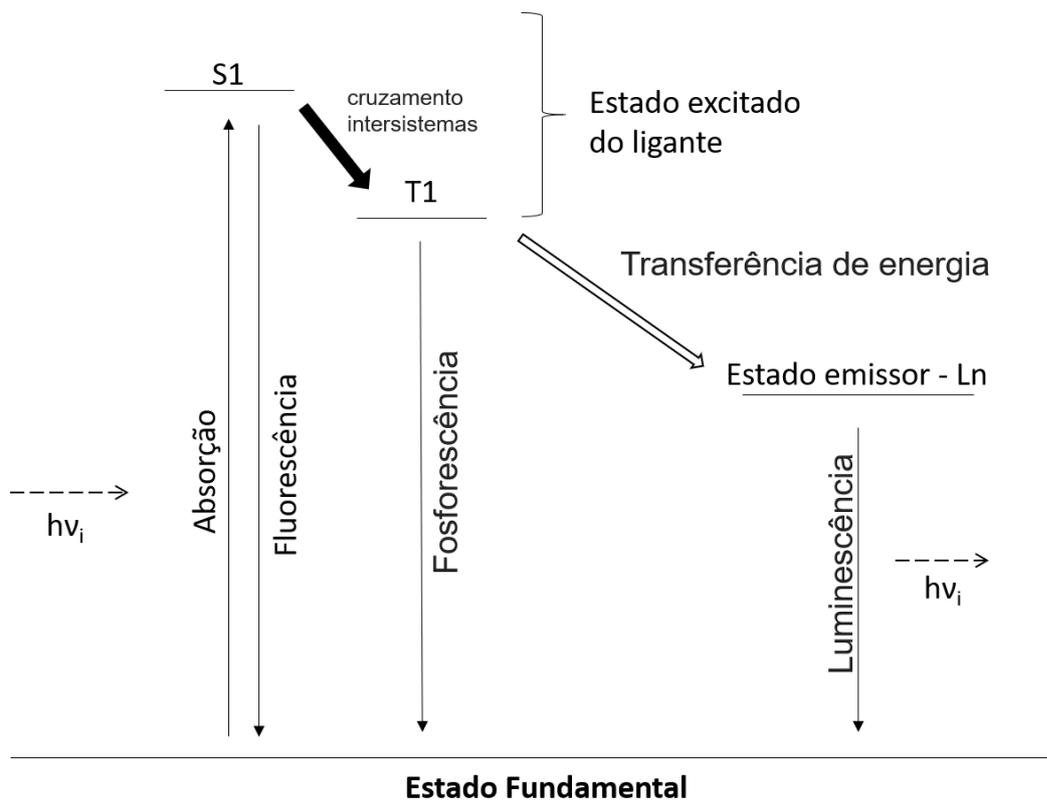
A luminescência é o fenômeno que algumas substâncias exibem pelo fato de converter a energia recebida (térmica, óptica, elétrica, etc.) em emissão de radiação eletromagnética. A radiação emitida pode ser observada em várias regiões do espectro eletromagnético. Um material fotoluminescente é basicamente composto de uma matriz inerte que recebe a radiação e um centro ativador que reemite a energia em comprimentos de onda específicos. Os centros ativadores mais comuns são os íons Terras Raras (TR), como por exemplo Eu^{3+} , Tb^{3+} ou Dy^{3+} (ALLENDORF, M. D.; BAUER, C. A.; BHAKTA, R. K.; HOUK, 2009; BINNEMANS, 2009; BÜNZLI, 2015).

Os íons lantanídeos (Ln^{+3}) possuem propriedades químicas semelhantes devido à sua configuração eletrônica ($[\text{Xe}] 4f^{0-14}$), na qual seus elétrons 4f estão blindados pelos orbitais $5p^6 6s^2$ e por isso sofrem pouca interferência do

ambiente químico (BÜNZLI; PIGUET, 2005; ELISEEVA; BÜNZLI, 2010). A luminescência desses íons é provocada pela transição f-f, que é proibida pela regra de seleção por não apresentar mudança de paridade, a excitação direta no íon Ln^{+3} puro não apresenta luminescência. Contudo, na presença de um campo ligante, pode ocorrer a mudança de paridade levando ao relaxamento das regras de seleção (BINNEMANS, 2015; MARTINS; ISOLANI, 2005).

A absorvidade molar dos Ln^{3+} é muito baixa, por isso em geral procura-se trabalhar com a excitação indireta. A excitação indireta, chamada de efeito antena, é conduzida em três etapas. De forma resumida, na primeira etapa, o ligante absorve energia sendo excitado a um estado eletrônico singleto S1. Na segunda etapa, ocorre o decaimento para o estado tripleto T1 do ligante, que, por fim, na terceira etapa, é transferida energia para o estado excitado do íon lantanídeo. Após essas etapas, ocorrem decaimentos não radiativos até o estado eletrônico excitado de energia mais baixa do íon (nível emissor). Uma vez populado o nível emissor, a energia é emitida na forma de luz, podendo ser observada na região do visível dependendo do íon utilizado (Figura 11) (ALLEN DORF, M. D.; BAUER, C. A.; BHAKTA, R. K.; HOUK, 2009; BINNEMANS, 2009). Entretanto, para que tudo isso ocorra é necessário que o nível tripleto do ligante esteja acima do estado emissor do íon Ln^{+3} , com isso é importante escolher o ligante com as posições adequadas dos níveis de energia. Os ligantes que mais se destacam são os compostos aromáticos policarboxilatos, bipyridinas e poliazoheterocíclicos (LUCENA, 2016; MARTINS; ISOLANI, 2005).

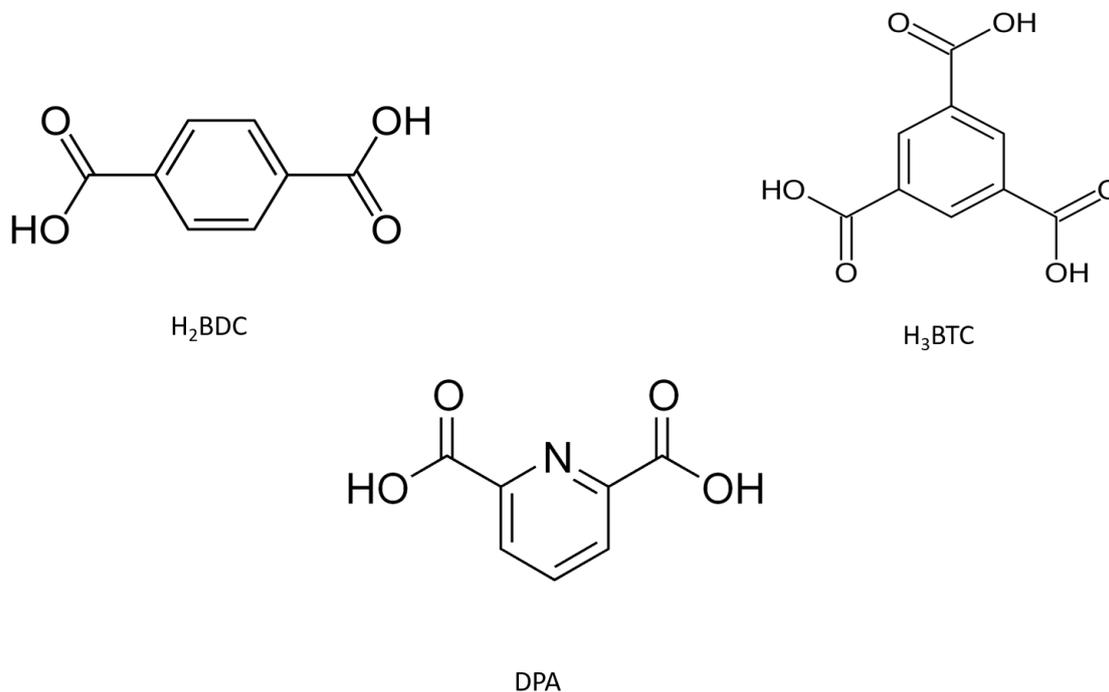
Figura 11 - Diagrama simplificado representando o efeito antena em complexos com lantanídeos (S1 = Singlete e T1 = Triplete).



Fonte: Adaptado de Allendorf et al., (2009).

Os ligantes carboxilatos estudados nesse trabalho foram o ácido teraftálico (ácido 1,4 benzenodicarboxílico, H₂BDC), ácido trimésio (1,3,5 benzenotricarboxílico, H₃BTC) e ácido dipicolínico (2,6 dicarboxílico, DPA – C₇H₅NO₄). Suas estruturas químicas estão representadas na Figura 12 e a escolha desses ligantes foi motivada pelo fato desses, quando ligados a um íon lantanídeo, formarem MOFs e apresentarem luminescência, estabilidade térmica e química antes e depois do disparo de uma arma de fogo, como já demonstrado em trabalhos anteriores (LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; GATTO, C. C.; TALHAVINI; MALDANER, A. O.; JUNIOR; WEBER, 2016; SERWY, I. B.; AMARAL, K. W.; MELO, M.A.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; RODRIGUES, M. O.; WEBER, 2016; WEBER, I. T.; TERRA, I. A. A.; MELO, A. J. G.; LUCENA; WANDERLEY, K. A.; PAIVA-SANTOS, C. O.; ANTÔNIO, S. G.; NUNES, L. A. O.; PAZ, FILIPE A. A.; SÁ, GILBERTO F.; JÚNIOR; RODRIGUES, 2012; WEBER, I.T.; DE MELO; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; JUNIOR, 2011).

Figura 12 - Representação estrutural dos ligantes utilizados.



Fonte: A autora (2019).

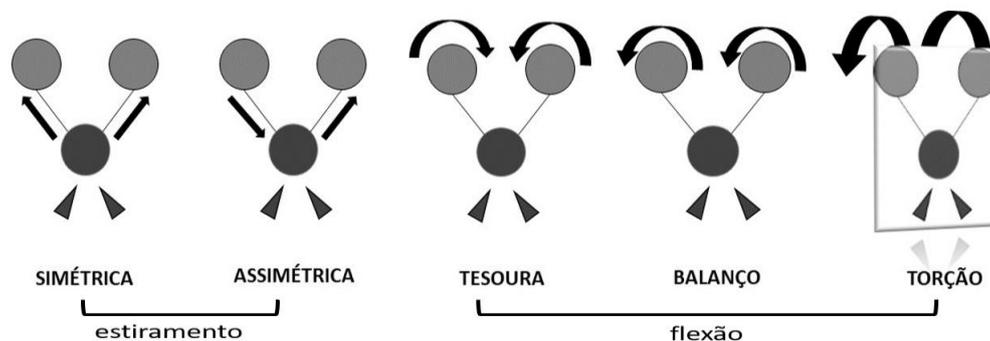
3.4 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (IV)

A espectroscopia é o estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria, sendo um dos seus principais objetivos a determinação dos níveis de energia de átomos ou moléculas (SALA, 2008). Essas interações são decorrentes, basicamente, da absorção, reflexão e espalhamento da radiação incidente e esses fenômenos são monitorados em diferentes regiões do espectro eletromagnético. Por sua vez, os espectros fornecem informações acerca das transições e servem para determinar as posições relativas dos níveis energéticos (RODRIGUES; GALZERANI, 2012a).

Tipicamente, dois tipos de vibrações podem acontecer: estiramento ou alongamento (*stretching*, em inglês), que ocorre quando há alteração da distância interatômica entre átomos ligados, e a flexão (*bending*, em inglês),

que ocorre quando há alteração do ângulo entre as ligações químicas (Figura 13) (SALA, 2008).

Figura 13 - Ilustração dos tipos de vibrações de uma molécula.



Fonte: A autora (2019).

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho tem seus fundamentos baseados na absorção da radiação pela molécula. Essa técnica foi descoberta por Herschel, em 1800, o qual conseguiu os primeiros espectros de absorção de um grande número de compostos orgânicos em diferentes estados físicos (LARKIN, 2011; SALA, 2008).

O IV é uma importante ferramenta para caracterização de diversos compostos moleculares. É uma técnica simples, rápida e que apresenta diversas variantes que permitem analisar as amostras em diferentes condições (transmitância direta, reflectância difusa, reflectância total atenuada, etc.). A radiação no infravermelho contempla a região espectral entre 12.800 cm^{-1} a 10 cm^{-1} . Essa região pode ser dividida em: infravermelho próximo (NIR do *Near Infrared*), médio (MIR do inglês *Midle Infrared*) e distante (FIR do inglês *Far Infrared*), como mostra a tabela 1 (SKOOG, D.; CROUCH; HOLLER, F. J.; ANZURES, 2008).

Regiões do infravermelho adaptado de (SKOOG, D.; CROUCH; HOLLER, F. J.; ANZURES, 2008)

Tabela 1 - Regiões do infravermelho

REGIÃO	NÚMERO DE ONDA (cm^{-1})	COMPRIMENTO DE ONDA (nm)	FREQUÊNCIA (Hz)
--------	-------------------------------------	--------------------------	-----------------

NIR	21.800 – 4.000	780 - 500	$3,8 \times 10^{14} - 1,2 \times 10^{14}$
MIR	4.000 – 200	2.500 – 50.000	$1,2 \times 10^{14} - 6,0 \times 10^{12}$
FAR	200 - 10	50.000 – 1.000.000	$6,0 \times 10^{12} - 3,0 \times 10^{11}$

Fonte: Adaptado de Skoog, d.; Crouch; Holler, f. J.; Anzures, (2008).

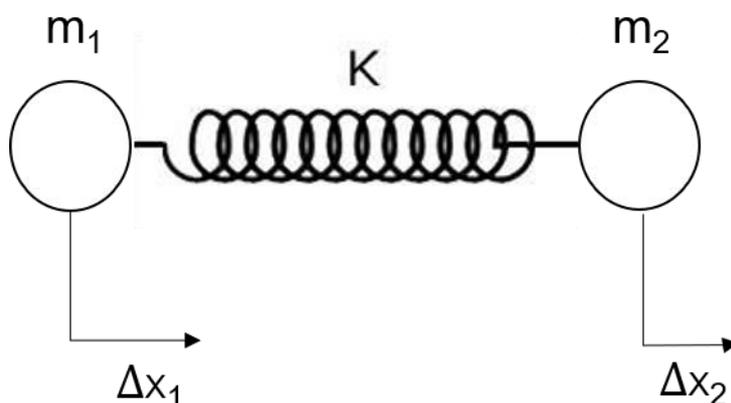
As moléculas absorvem a radiação na região do infravermelho, de forma discreta. Para que isso ocorra é necessário que a molécula sofra variação do momento de dipolo durante seu movimento rotacional ou vibracional. Nessas condições, o campo elétrico da radiação interage com o campo elétrico da molécula causando variações na amplitude de um dos seus movimentos. Assim, moléculas do tipo homonucleares não são ativas na espectroscopia no infravermelho, pois não há variação no momento de dipolo durante sua vibração (PAIVA et al., 2010; SKOOG, D.; CROUCH; HOLLER, F. J.; ANZURES, 2008).

Em uma molécula com **N** átomos, cada átomo tendo três graus de liberdade referente aos três eixos cartesianos, possui **3N** graus de liberdade de movimento. Contudo, dois tipos de movimentos (translacional e rotacional) não são considerados modos vibracionais, pois não alteram a distância interatômica. Nos movimentos translacionais os átomos se deslocam simultaneamente na mesma direção e paralelo a cada um dos eixos. E nos movimentos rotacionais, a molécula gira em torno dos três eixos. Dessa forma, uma molécula de **N** átomos não linear possui **3N – 6** graus de liberdade que alteram a distância interatômica ou mesmo modos vibracionais normais. Para uma molécula linear a quantidade de movimento será **3N – 5** pois não ocorre rotação no eixo da molécula (LARKIN, 2011; SALA, 2008).

O modelo mais simples (modelo clássico) para descrever o movimento de uma molécula e suas ligações é o modelo massa-mola, que descreve movimentos periódicos dos átomos em torno de pontos de equilíbrio, como em um oscilador harmônico. A molécula diatômica, caso mais simples, pode ser descrita como duas massas pontuais (m_1 e m_2), que representam os átomos, conectados por uma mola de massa desprezível e força constante (K), que representa a ligação química (Figura 14) (SALA, 2008). A frequência vibracional da molécula está relacionada com a massa dos átomos e a força da

ligação covalente entre eles, sendo que quanto mais forte a ligação ou menor a massa dos átomos envolvidos, maior a frequência vibracional do oscilador. Com isso, a constante de força da ligação, a massa dos átomos envolvidos determinam a frequência de oscilação e o movimento relativo entre os átomos (LARKIN, 2011).

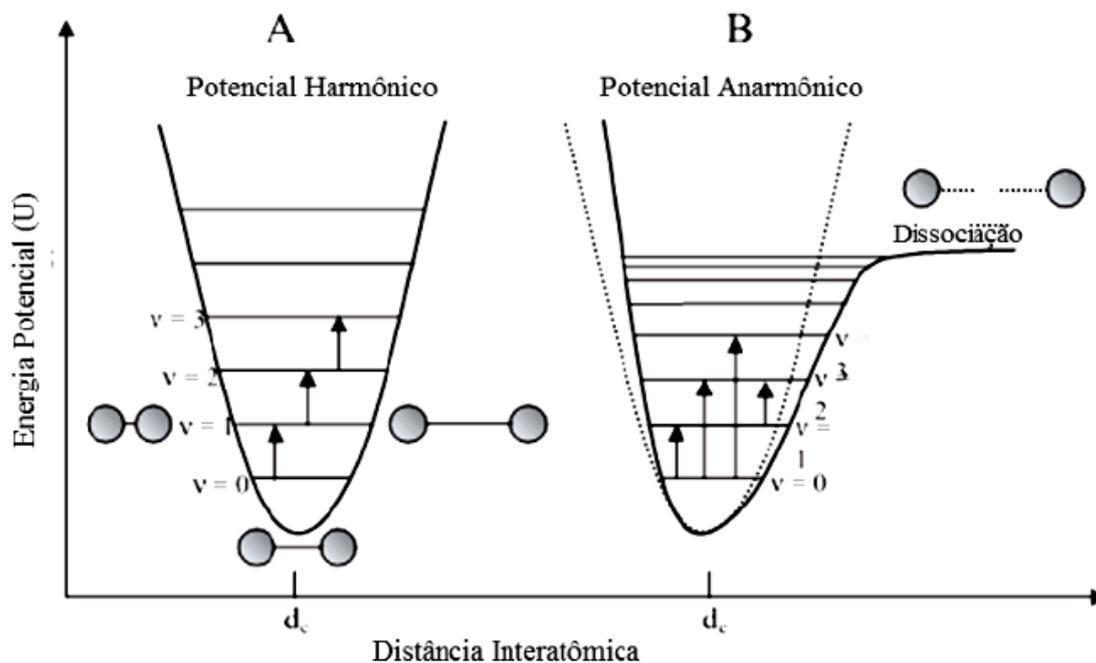
Figura 14 - Representação dos movimentos vibracionais através da modelo mola elástica. K é a constante da força da ligação, m_1 e m_2 são as massas dos respectivos átomos e Δx_1 e Δx_2 são os deslocamentos dos átomos na vibração.



Fonte: Sala, (2008).

Na aproximação de oscilador harmônico, apenas, transições entre dois níveis energéticos adjacentes ($\Delta v = \pm 1$) são permitidas pelas regras de seleção e as energias entre os níveis são iguais (Figura 15a). Assim, esse modelo permite, apenas explicar vibrações fundamentais e não prevê as combinações de vibração nem os sobretons ($\Delta v \geq \pm 2$). Assim, é necessário utilizar o modelo anarmônico (Figura 15b), que considera a repulsão entre os núcleos dos dois átomos em decorrência da sua aproximação e a variação da energia potencial com o afastamento dos átomos, o que leva à dissociação dos átomos, para explicar as transições referentes às combinações de vibração e os sobretons. A Figura 15, apresenta um diagrama de energia potencial de um oscilador harmônico e de um oscilador anarmônico.

Figura 15 - Diagrama de energia potencial para osciladores (a) harmônico e (b) anarmônico.



Fonte: Adaptado de Pasquini, (2003).

3.4.1 Espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)

Uma das técnicas mais utilizadas para elucidar e caracterizar compostos orgânicos é a espectroscopia de absorção no infravermelho médio (MIR). Os espectros nessa região apresentam bandas intensas e bem definidas, o que facilita a sua interpretação. A região MIR, conhecida como impressão digital, é bastante útil para a identificação de compostos, visto que pequenas diferenças na estrutura e na constituição da molécula pode modificar o perfil e a distribuição dos picos (SKOOG, D. A.; WEST; HOLLER, F. J.; CROUCH, 2014).

Por outro lado, as bandas no infravermelho próximo são fracas e representam sobretons e bandas de combinação, sobretons são bandas com valores de frequência correspondente a múltiplos inteiros das vibrações fundamentais e as bandas de combinação são combinações lineares das frequências fundamentais, o que dificulta a interpretação direta dos espectros. Contudo, quando associada a métodos quimiométricos a espectroscopia no

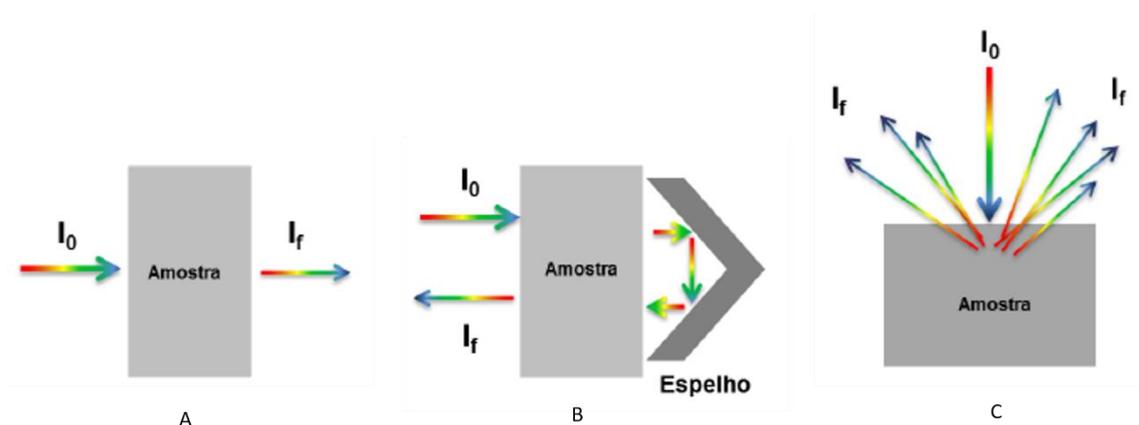
NIR torna-se uma ferramenta bastante útil, com ampla utilização nas áreas de controle de qualidade de fármacos, alimentos, polímeros, combustíveis e monitoramento de diversos processos industriais (PASQUINI, 2003) .

As bandas de absorção mais proeminentes que ocorrem na região NIR estão relacionadas com as bandas de combinação e sobretons dos grupos funcionais O-H, C-H, N-H e S-H (PASQUINI, 2003). Com isso, a maioria das moléculas orgânicas e bioquímicas exibem bandas de absorção únicas na região espectral NIR, que podem ser usadas tanto para análises qualitativas quanto quantitativas (ARNOLD, S. A.; HARVEY, L. M.; MCNEIL, B.; HALL, 2002).

As análises na espectroscopia NIR podem ser feitas sem preparo prévio das amostras e não requerem comprimentos de caminho óptico curtos ou dispersão em matrizes não absorventes, requisitos necessários para os métodos analíticos tradicionais como a espectroscopia MIR. Além disso, as absorções fracas na região do NIR oferecem vantagem analítica, por permitir a análise direta de matrizes altamente absorventes ou com alta dispersão de luz. As análises no infravermelho próximo podem ser feitas de diferentes formas: transmitância (empregada para materiais transparentes), transreflectância (utilizada em líquidos ou sólidos, dependendo das características de absorção e espalhamento da amostra) e reflectância difusa (utilizada em amostras sólidas, de forma compacta ou pó).

A título de ilustração, na Figura 16 estão representadas as principais formas de análise da espectroscopia NIR (ARNOLD, S. A.; HARVEY, L. M.; MCNEIL, B.; HALL, 2002; PASQUINI, 2003). Na Figura 16a observa-se o modo de transmitância, muito usada na espectrometria UV – VIS convencional, na qual as amostras são medidas em cubetas de vidro ou quartzo com o percurso óptico variando de 1 a 50 mm. Já no modo de transreflectância, representado pela Figura 16b, usam-se feixes de fibra óptica, diferenciando - se das medidas de transmitância pelo caminho óptico duplo. E por fim, o modo de reflectância difusa (Figura 16c) no qual a radiação que incide sobre o meio dispersante sofre um processo de absorção e dispersão, simultaneamente (OSBORNE, 1981).

Figura 16 - Principais formas de medidas empregadas na espectroscopia NIR. Transmitância (A), transreflectância (B) e reflectância difusa (C).



Fonte: Adaptado de Juliano; Silva, (2014).

Para a aquisição dos espectros NIR, nessa tese, foi utilizado um sistema de aquisição de imagens hiperespectrais (Hiperspectral Image Near Infrared, HSI-NIR) que está baseado na técnica de reflectância difusa. Nesse sistema, uma fonte de radiação NIR incide na amostra e, em seguida, uma linha de sensores, acoplada a uma câmera coleta a radiação refletida. O número de detectores é fixo, fazendo com que o número de *pixels* também seja fixo. Para controlar a área analisada a câmera contém um sistema de lentes capaz de selecionar linhas de largura específica, as quais podem ser de 10 mm, 50 mm ou 200 mm.

3.4.2 Imagem hiperespectral (HSI)

A análise de imagens começou nos anos 60 no campo da ciência da computação com o objetivo de extrair e analisar informações presentes nas imagens de satélite como também nos diagnósticos de radiologia e microscopia (PRATS-MONTALBÁN; DE JUAN; FERRER, 2011). Desde então, tem sido bastante utilizada nas áreas de alimentos (AMIGO; MARTÍ; GOWEN, 2013), farmácia (ALEXANDRINO, G. L.; KHORASANI, M. R.; AMIGO, J. M.; RANTANEN, J.; POPPI, 2015; GENDRIN; ROGGO; COLLET, 2008), agricultura (RAO; GARG; GHOSH, 2007; WILLIAMS, P. J.; GELADI, P.; BRITZ, T. J.; MANLEY, 2012), materiais e objetos de interesse histórico (CSÉFALVAYOVÁ; STRLIČ; KARJALAINEN, 2011) e nas ciências forenses

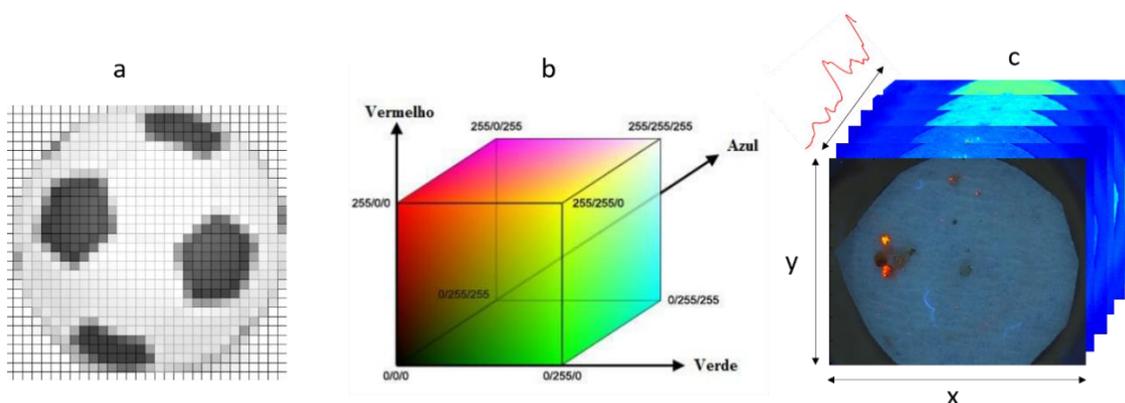
(GOWEN, A. A.; O'DONNELL; CULLEN, P. J.; DOWNEY; FRIAS, 2007; MOBARAKI, N.; AMIGO, 2018).

O processamento de imagens é o campo que abrange a parte da análise de imagens. Nele, são realizados procedimentos que visam extrair informações relevantes ou melhorar a qualidade visual da imagem. Para isso, são utilizadas informações das propriedades de imagem como: forma, textura, cor, entre outras (PRATS-MONTALBÁN; DE JUAN; FERRER, 2011).

A menor unidade que forma a imagem digital é chamada de *pixel*. Cada imagem tem um conjunto de coordenadas espaciais (x e y) e intensidade própria (z), números que representam cada *pixel* em uma escala de cores. As imagens digitais podem ser em escala de cinza, matriz bidimensional em que cada *pixel* assume um valor único de 0 a 255, onde 0 corresponde à cor preta e 255 à cor branca (Figura 17a). Pode-se ter também, imagens digitais compostas por três canais de cores, chamadas de RGB (do inglês, *Red, Green and Blue*. Em português, *vermelho, verde de azul respectivamente*). Nesse tipo de imagem, os três canais de cores constroem uma matriz tridimensional (hipercubo) onde cada *pixel* apresenta um conjunto de coordenadas que varia de 0 a 255 especificando a intensidade de cada cor, como mostrado na Figura 17b. (PRATS-MONTALBÁN; DE JUAN; FERRER, 2011).

Através da combinação dos princípios das imagens com os conceitos de espectroscopia, leva à formação de outro tipo de imagem, a qual fornece tanto informações químicas como espaciais de uma mesma amostra. Ela também é um hiper-cubo, sendo x e y as coordenadas espaciais, referentes à localização do *pixel*, e z um espectro. Quando o *pixel* dessas imagens é representado por alguns comprimentos de ondas, tem-se as imagens multiespectrais e quando representa um espectro completo, tem-se as imagens hiperespectrais (WU; SUN, 2013).

Figura 17 - Representação das imagens (a) RGB, (b) escala de cinza e (c) Hiperespectrais.

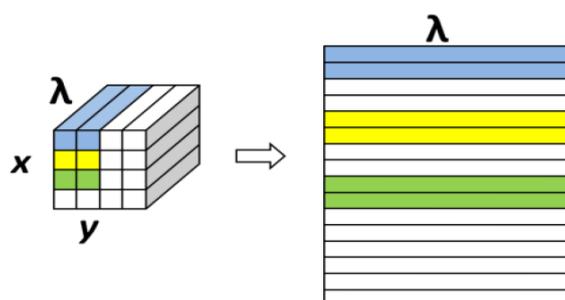


Fonte: Juliano; Silva, (2014).

As imagens hiperespectrais contêm uma alta complexidade de informações e, com isso, a utilização de métodos analíticos na análise direta das imagens pode não fornecer as informações relevantes e dificultar a análise. Assim, o uso de métodos quimiométricos torna-se imprescindível para extrair as informações contidas no conjunto de dados (AMIGO; BABAMORADI; ELCOROARISTIZABAL, 2015; AMIGO; MARTÍ; GOWEN, 2013).

Para que se possa aplicar qualquer método quimiométrico nas imagens, é necessário, primeiro, realizar um desdobramento do hiper-cubo. Esse desdobramento transforma o hiper-cubo (3D) em uma matriz bidimensional (2D), onde cada linha representará um *pixel*, e cada coluna e representará um valor de intensidade dos espectros. O desdobramento do cubo acontece como demonstrado na Figura 18.

Figura 18 - Desdobramento do hiper-cubo em uma matriz 2D.

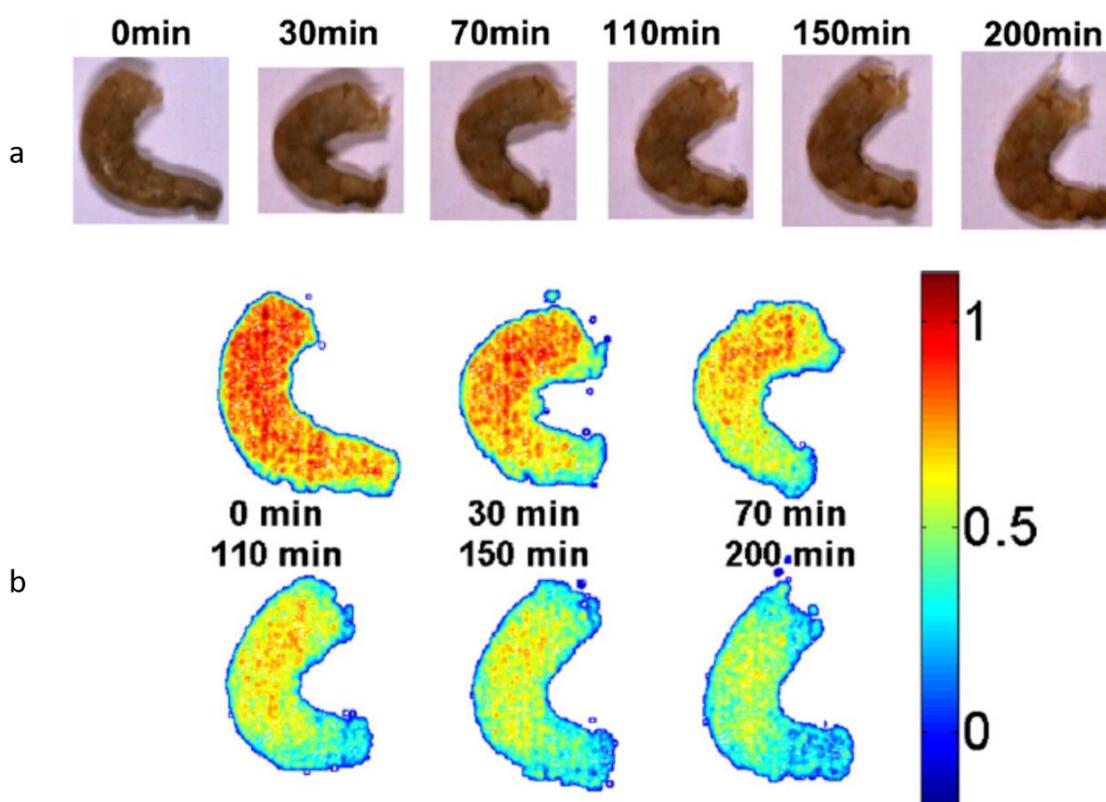


Fonte: Adaptado de Março et al., (2014).

Uma grande vantagem das imagens hiperespectrais em relação aos espectros obtidos por técnicas clássicas é que, ao remontar a imagem após o tratamento de dados, pode-se observar a distribuição dos compostos e suas respectivas concentrações relativas na superfície da amostra (PRATS-MONTALBÁN; DE JUAN; FERRER, 2011). Sendo, assim, uma técnica bastante útil para estudar, por exemplo, a homogeneidade e a textura de uma amostra, assim como a presença ou ausência de determinadas substâncias (ALEXANDRINO et al., 2015).

A Figura 19 mostra um exemplo da aplicação de imagens hiperespectrais no estudo do teor de umidade de um camarão em seis diferentes períodos de desidratação de 0 a 200 minutos. Os resultados são observados através de uma escala de cores no qual os valores altos de umidade estão em vermelho e os baixos em azul.

Figura 19 - Visualização de um camarão em diferentes períodos de desidratação. Em (a) a imagem do camarão e em (b) mapas de concentração do camarão em um mesmo período.



Fonte: Adaptado de Wu et al.,(2012).

As imagens hiperespectrais podem ser obtidas em diversas regiões espectrais como, por exemplo, ultravioleta (UV), visível (Vis), infravermelho próximo (NIR) e infravermelho médio (MIR) (AMIGO; MARTÍ; GOWEN, 2013). Todas as técnicas fornecem um grande volume de dados e importantes informações sobre a composição química e distribuição dos componentes nas amostras. A análise de imagens hiperespectrais requer uma etapa muito importante que é a de pré-processamento, pois em uma única imagem existe uma ampla coleção de dados armazenados em *pixels* e o manuseio dessas informações e a extração da informação relevante é de extrema importância para o resultado final (AMIGO; BABAMORADI; ELCOROARISTIZABAL, 2015).

3.4.2.1 *Técnicas de pré-processamento de imagens*

Os pré-processamentos das imagens hiperespectrais podem ser divididos em dois grupos: espacial e espectral (VIDAL; AMIGO, 2012). A escolha do conjunto de pré-processamentos vai depender das características da amostra, da técnica de aquisição de imagem e dos acessórios utilizados e da informação pretendida (RINNAN, Å.; BERG, F. VAN DEN.; ENGELSEN, 2009).

No pré-processamento espectral, o objetivo é evitar a influência de fenômenos indesejáveis, que podem ocorrer na detenção dos espectros, e maximizar as informações relevantes. Desse modo, os pré-processamentos espectrais mais utilizados são: normalização, derivada e suavização utilizando o algoritmo de Savitzky-Golay, correção de espalhamento de luz (MSC, do inglês *Multiplicative Scattering Correction*, SNV, do inglês *Standard Normal Variate*), e correção dos efeitos aditivos de linha de base a qual pode ser feita utilizando – se a derivada com filtro de Savitzky-Golay ou algoritmos de linha de base (VIDAL; AMIGO, 2012).

A normalização é aplicada para corrigir os efeitos de diferenças de concentração ou quantidade de amostras. Ela opera nas amostras dividindo cada variável de um vetor (ou espectro) por uma constante. A constante pode ser, por exemplo, a soma de todos os elementos do espectro (normalização pela área unitária), raiz quadrada da soma quadrática dos elementos (normalização pelo comprimento unitário) ou também valor máximo do espectro (normalização pelo máximo). Nos espectros, é comum utilizar a normalização pela faixa, onde divide cada variável pela diferença dos valores mínimo e máximo do espectro (RINNAN, Å.; BERG, F. VAN DEN.; ENGELSEN, 2009).

A suavização é utilizada para reduzir matematicamente o ruído e, assim, aumentar a relação sinal/ruído. Nesse método, é selecionada uma janela, a qual contém certo número de variáveis e os pontos na janela são, então, utilizados para determinar o valor do ponto central da janela, e assim, o tamanho da janela influencia diretamente o resultado da suavização. No

método de Savitzky-Golay, um polinômio de ordem baixa é ajustado aos pontos da janela e utilizado para calcular o ponto central (DE SOUZA; POPPI, 2012).

O MSC é utilizado para corrigir efeitos aditivos e multiplicativos resultantes do espalhamento de luz. Em uma matriz, cada espectro é corrigido com base em um espectro de referência, o qual é, na maioria das vezes, um espectro médio. Para a realização da correção, o primeiro passo é estimar os coeficientes de correção através da equação 1. Após essa etapa, realiza-se a correção através da equação 2.

$$\mathbf{x}_{org} = \mathbf{b}_0 + \mathbf{b}_{ref,1} * \mathbf{x}_{ref} + \mathbf{e} \quad \text{Equação 1}$$

$$\mathbf{x}_{corr} = \frac{\mathbf{x}_{org} - \mathbf{b}_0}{\mathbf{b}_{ref,1}} = \mathbf{x}_{ref} + \frac{\mathbf{e}}{\mathbf{b}_{ref,1}} \quad \text{Equação 2}$$

Para tal, \mathbf{x}_{org} é o espectro original, \mathbf{x}_{ref} é o espectro de referência, \mathbf{x}_{corr} é o espectro corrigido, \mathbf{e} é o resíduo deixado pela modelagem e \mathbf{b}_0 e $\mathbf{b}_{ref,1}$ são os coeficientes de correção associado aos efeitos aditivos e multiplicativos, respectivamente (RINNAN, Å.; BERG, F. VAN DEN.; ENGELSEN, 2009). Caso haja a necessidade de retirar uma amostra do conjunto de dados, como o MSC utiliza um espectro médio para correção, conseqüentemente, o \mathbf{x}_{ref} irá mudar acarretando na mudança do \mathbf{x}_{corr} . Assim, o MSC depende do conjunto de dados utilizado.

No caso do SNV, que não utiliza espectros de referência, a correção é feita em cada espectro individualmente. Primeiro o espectro é centrado na média e, depois é feita uma normalização utilizando o desvio padrão, seguindo a equação 3:

$$\mathbf{x}_{corr} = \frac{\mathbf{x}_{org} - \mathbf{a}_0}{\mathbf{a}_1} \quad \text{Equação 3}$$

Sendo, \mathbf{x}_{org} o espectro original, \mathbf{x}_{corr} o espectro corrigido, \mathbf{a}_0 o valor médio do espectro que será corrigido e \mathbf{a}_1 desvio padrão do espectro. O SNV,

por não utilizar um espectro de referência, não é influenciado pela retirada de uma amostra do conjunto de dados.

Outra forma de corrigir os efeitos de espalhamento de luz é através de derivadas com filtros de Savitzky-Golay. Essa técnica realiza primeiro a suavização dos espectros, ajustando o polinômio em uma janela de variáveis espectrais. Em seguida, aplica uma derivada de qualquer ordem. A derivada tanto pode evidenciar um sinal menos intenso no espectro como pode maximizar seus ruídos. Assim, é necessário ajustar corretamente a janela para que obtenha uma boa suavização e, ao mesmo tempo, não suprima informações importantes (RINNAN, Å.; BERG, F. VAN DEN.; ENGELSEN, 2009; VIDAL; AMIGO, 2012). Além de corrigir espalhamento e suavizar os espectros, a derivada com o filtro de Savitzky-Golay ajuda a corrigir problemas de linha de base.

Os pré-processamentos espaciais, por sua vez, tem como objetivo ajudar a reter apenas informações necessárias, já que uma imagem contém muitos dados e necessita, assim, de muito espaço para armazenamento. Porém, deve-se ter cuidado para que na redução do conjunto de dados não haja perda de informações significativas.

Uma das formas de fazer essa redução é através da compressão da imagem, que pode ser realizada de três maneiras: a codificação de bytes, seleção de variáveis ou a categorização de dados. A codificação de bytes é aplicada, se possível, para reduzir o armazenamento sem perder informações. A seleção de variáveis, por sua vez, é aplicada selecionando-se variáveis espectrais mais importantes para a amostra e, para isso, é necessário o conhecimento prévio dos dados. Nesse sentido, diferentes algoritmos matemáticos podem ser utilizados para determinar as variáveis que melhor representam os dados, um exemplo é o iPLS (do inglês, interval partial Least squares). Já a categorização de dados é feita substituindo-se os valores dos dados originais, que se enquadram em um intervalo pequeno, por um vetor representativo desse intervalo. Uma das técnicas mais utilizadas, nesse sentido, é a análise por componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) (VIDAL; AMIGO, 2012).

Além da compressão, pode-se realizar a redução da imagem através da seleção de uma região de interesse (ROI, do inglês *regions of interests*). Essa seleção pode ser feita manualmente ou através de uma matriz de pesos de uma análise por componentes principais. Quando a seleção da ROI é feita manualmente, deve-se levar em consideração que, por mais precisa que seja a seleção, esse processo torna-se bastante subjetivo e demanda tempo, o que afeta a reprodutibilidade dessa técnica (VIDAL; AMIGO, 2012). Por outro lado, a seleção da ROI com base na matriz de pesos da PCA pode ser feita de duas maneiras: através de histogramas ou pela determinação dos limites manualmente. Nos dois casos, pode-se obter uma rápida e adequada seleção, contudo, deve-se levar em conta que a escolha dos intervalos pode utilizar valores que pertencem à ROI ou ao restante da imagem. Assim, deve-se observar o que é mais vantajoso na seleção da região de interesse, se é garantir que apenas a ROI seja selecionada, mesmo que parte da região seja perdida, ou selecionar toda a ROI, mesmo que se inclua uma parte não relevante do objeto em estudo (VIDAL; AMIGO, 2012).

Outro pré-processamento utilizado em imagens é a detecção de *pixels* defeituosos, chamados de *dead pixels*. Esses defeitos derivam de flutuações atípicas nos detectores durante a aquisição da imagem, que podem gerar pontos, grupos ou até linhas de *pixels* com valores nulos ou ausentes. É importante retirar esses *pixels* defeituosos pois eles podem distorcer a resposta final. A retirada dos *dead pixels* podem ser feita realizando um corte na imagem, se esse *pixel* se encontrar em locais não relevantes na imagem. Se não for viável o corte na imagem, pode-se realizar a retirada através de uma correção que visa a substituição desse *pixel* pela média ou mediana dos *pixels* vizinhos (VIDAL; AMIGO, 2012).

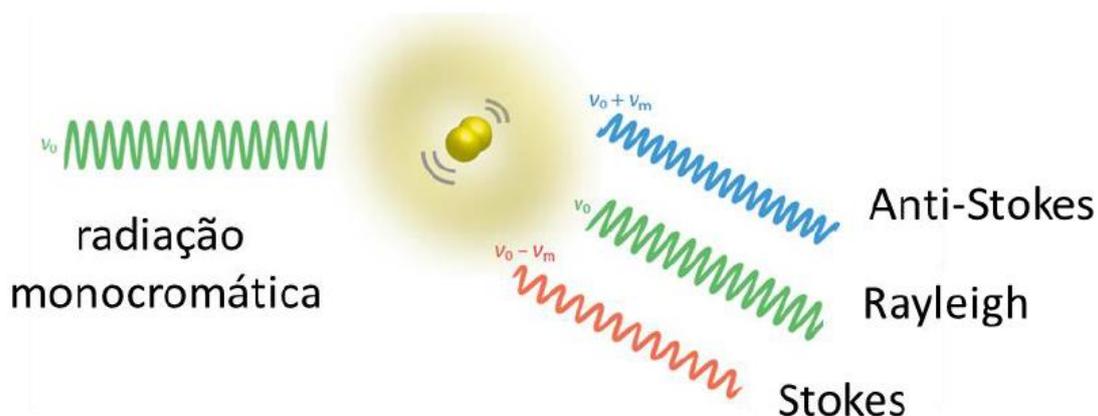
Outros pré-processamentos podem ser feitos na imagem e no espectro. Um resumo detalhado destes pré-processamentos pode ser encontrado no trabalho de Vidal & Amigo (VIDAL; AMIGO, 2012), onde os autores correlacionam os pré-processamentos com as técnicas para sua aplicação, os tipos de imagens que podem ser utilizados, além de suas vantagens e desvantagens.

3.5 ESPECTROSCOPIA RAMAN

Quando a radiação eletromagnética interage com os elétrons e os núcleos dos átomos, essa radiação pode ser absorvida, transmitida ou espalhada. Quando a radiação é espalhada, a maioria dos fótons incidentes se espalham com a mesma energia inicial, ou seja, são espalhados elasticamente. Esse tipo de espalhamento é chamado de espalhamento Rayleigh e não carrega informação a respeito da estrutura e composição molecular. Contudo, há uma pequena parcela da radiação que é espalhada inelasticamente, ou seja, com energia diferente da incidida, esse fenômeno é chamado de espalhamento Raman (FERRARO; NAKAMOTO; BROWN, 2003).

Existem duas formas de espalhamento Raman. A primeira ocorre quando o fóton incidente transfere parte de sua energia para as moléculas no estado fundamental e, com isso, tem-se a redução da energia dos fótons, fenômeno chamado de espalhamento Stokes. A segunda ocorre quando o fóton incidente interage com moléculas vibracionalmente excitadas e recebe energia delas, o que resulta em um aumento da energia dos fótons espalhados. Este fenômeno chamado de espalhamento anti-Stokes. Esses processos estão demonstrados na Figura 20 (FERRARO; NAKAMOTO; BROWN, 2003; LARKIN, 2011; SALA, 2008).

Figura 20 - Formas de espalhamentos da radiação que ocorrem quando uma radiação monocromática interage com uma amostra.



Fonte: Opilik; Schmid; Zenobi, (2013).

O sinal Raman irá depender da variação do momento de dipolo induzido na molécula pelo campo elétrico da radiação incidente. Isso ocorre quando o campo elétrico (**E**) da radiação incidente interage com a nuvem eletrônica da molécula e provoca uma alteração no estado vibracional gerando um novo momento de dipolo (**P**). Essa alteração é decorrente do movimento periódico da separação das cargas na molécula, devido à perturbação periódica dos elétrons que está oscilando com a mesma frequência que a radiação incidente. A relação entre o campo elétrico e o momento de dipolo induzido dará origem a uma constante chamada de polarizabilidade ou tensor de polarizabilidade (**α**), como mostrado na equação 5 (OLIVEIRA, 2001). O tratamento teórico foi dado por Placzek e assim chamado como teoria da polarizabilidade de Placzek.

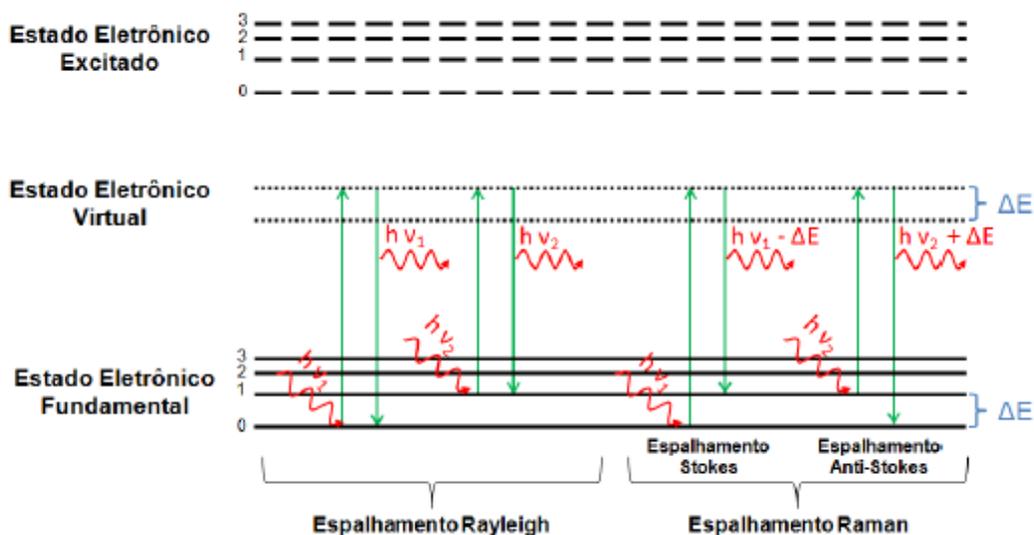
$$\mathbf{P} = \alpha\mathbf{E}$$

Equação 4

A polarizabilidade de uma molécula irá depender da estrutura molecular e do tipo de ligação dos átomos presentes na molécula, pois quanto menor a distância entre o núcleo atômico e os elétrons menor será a influência do campo elétrico da radiação sobre a molécula. Com isso, α será regido pelo modo vibracional dos átomos da molécula que dependerá da intensidade do campo elétrico da radiação incidente, o que influenciará no deslocamento dos núcleos (LARKIN, 2011).

É importante ressaltar que o espalhamento Raman ocorre através de um estado quântico virtual que é chamado dessa maneira por não representar um estado quântico real da molécula (Figura 21). Sendo assim, o chamado estado virtual é um autoestado gerado pela distorção da nuvem eletrônica da molécula através da interação com o campo elétrico oscilante do feixe de luz. Esse fenômeno dura, aproximadamente, 10^{-14} segundos ou menos (LEWIS; EDWARDS, 2001; SALA, 2008).

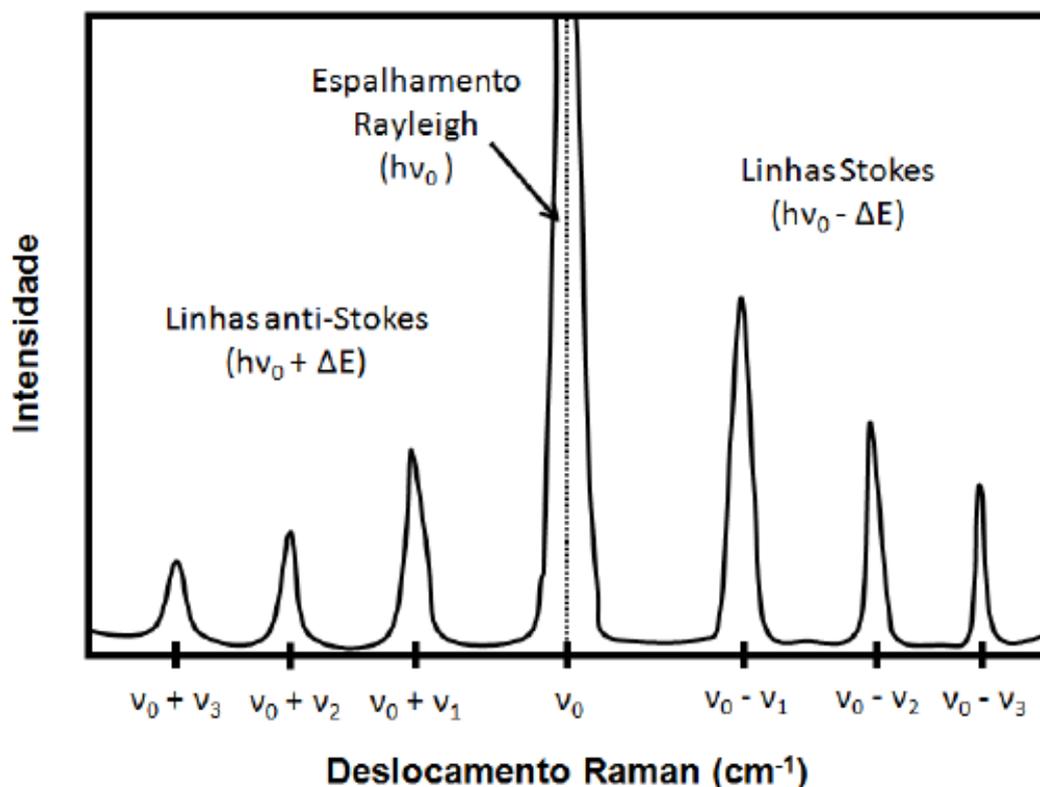
Figura 21 - Esquema dos espalhamentos Rayleigh e Raman stokes e anti – stokes.



Fonte: Avila, (2013).

A maioria dos estudos são realizados na região Stokes, pois a população de moléculas no estado vibracional fundamental tende a ser maior nas condições ambientes. Desse modo, a intensidade dos picos formados na região Stokes é consideravelmente maior que na região anti - Stokes. Para efeitos práticos a principal diferença entre as duas regiões do espectro é a intensidade dos picos, pois ambas trazem a mesma informação a respeito dos níveis vibracionais na molécula (Figura 22) (FERRARO; NAKAMOTO; BROWN, 2003).

Figura 22 - Ilustração de um espectro Raman com as regiões stokes e anti – stokes.



Fonte: Avila, (2013).

Como a espectroscopia Raman é um fenômeno de perturbação de segunda ordem, sua seção de choque é cerca de 10 vezes menor quando comparado ao infravermelho, o que torna esse efeito pouco intenso, limitando o uso da técnica a sistemas puros ou com altas concentrações de analito, durante um tempo (AROCA, 2006).

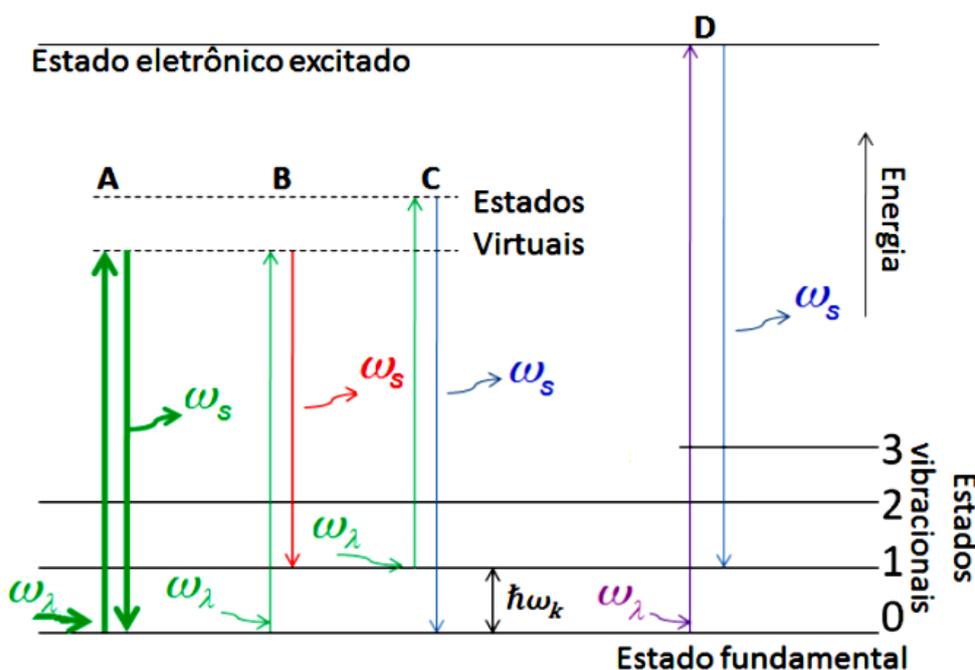
Existem algumas formas de intensificar o sinal Raman, uma dessas é quando se tem o efeito de espalhamento Raman Ressonante (RR), que resulta da ressonância entre a radiação incidente e uma transição eletrônica permitida da espécie, aumentando a seção de choque em até 10^5 vezes: alguns modos vibracionais são preferencialmente intensificados, sobretudo os grupos cromóforos. Além do RR há, também, o efeito de intensificação de espalhamento por meio de superfície (SERS, *Surface Enhanced Raman Scattering*, em inglês), cuja a intensificação do sinal é em torno de seis ordens de grandeza (AROCA, 2006).

3.5.1 Raman ressonante (RR)

A intensidade do efeito Raman normal, também chamado de Raman ordinário, depende, apenas, da polarizabilidade do estado eletrônico fundamental. Por outro lado, quando a energia do fóton coincide com a energia necessária para promover uma transição eletrônica, ocorre uma intensificação de sinal Raman (Figura 23d). Esse efeito é conhecido como Raman Ressonante (RIBEIRO; SANTOS, 1992; SALA, 2008).

Essa intensificação ocorre porque há uma recombinação eletrônica que dará origem a um fóton espalhado que envolve processo de decaimento radiativos, com grande probabilidade de ocorrência. Com isso, quando a radiação incidente for semelhante a diferença de energia de estados eletrônicos da amostra, a probabilidade de ocorrer o processo de espalhamento aumenta, fazendo com que haja um maior número de fótons que participam do espalhamento inelástico. Na prática, isso corresponde a uma intensificação em fatores de até 10^5 vezes na intensidade do sinal (RIBEIRO; SANTOS, 1992). (RODRIGUES; GALZERANI, 2012b)

Figura 23 - Mecanismo de espalhamento da luz em uma molécula. A) Espalhamento elástico, B) espalhamento inelástico Raman Stokes, C) espalhamento inelástico Raman anti-Stokes e D) espalhamento Raman Ressonante.

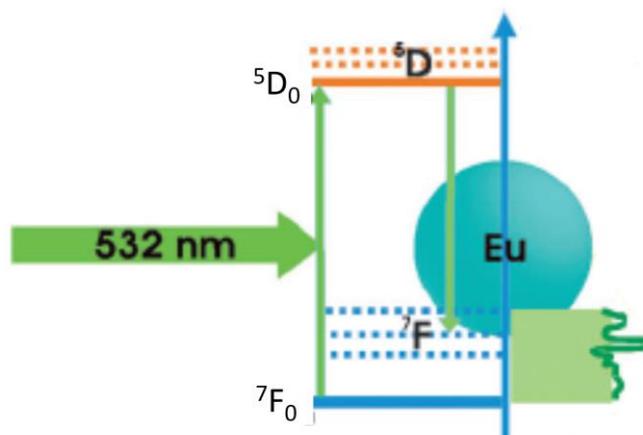


Fonte: Almeida, (2015).

Além do aumento da intensidade do efeito Raman, essa condição de ressonância dá à espectroscopia Raman a possibilidade de se determinar as energias das transições eletrônicas da molécula a partir de seus espectros vibracionais. O espectro que contém ambas as informações, vibracional e eletrônico, é chamado espectro vibrônico (SALA, 2008; SANTOS, 1978; TEMPERINI, 1977).

Para compostos que contém o íon Eu^{3+} , metal utilizado nessa tese, a ressonância é alcançada quando a amostra é irradiada com um laser de energia próxima a transição eletrônica ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_0$ (Figura 24) (YAMAMOTO; BOUŘ, 2012). Assim nos espectros de emissão obtidos por RR, assim como no espectrofluorímetro, obtêm-se as transições características deste íon, ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_j$ ($j = 0,1,2,3,4,5$ e 6) de acordo com a frequência de cada transição (BINNEMANS, 2015).

Figura 24 - Explicação esquemática da ressonância induzida por espalhamento Raman, onde um laser de frequência 532 nm está em ressonância com a transição eletrônica ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_0$ do íon Eu^{3+} .



Fonte: Yamamoto; Bouř, (2012).

3.6 ANÁLISE MULTIVARIADA

3.6.1 Análise por componentes principais (PCA)

A análise por componentes principais (*Principal Component Analysis* (PCA), em inglês) é um método de análise exploratória não supervisionado e é a base para diversos métodos de reconhecimentos de padrões. A PCA tem

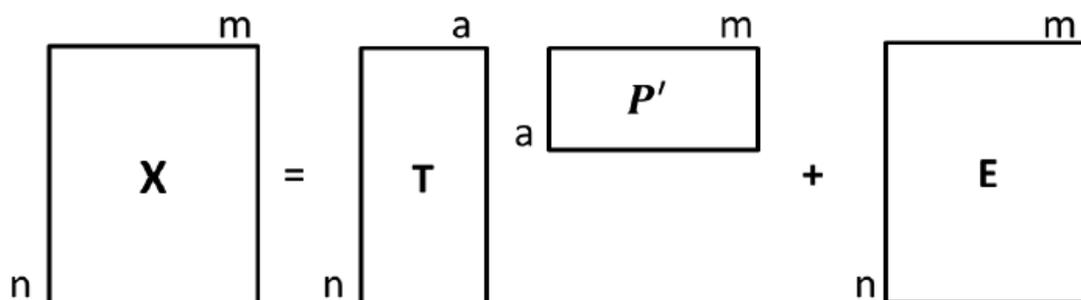
como objetivo diminuir a dimensionalidade das matrizes, encontrar similaridades entre as amostras e detectar anomalias (*outliers*) (DE SOUZA; POPPI, 2012).

A dimensionalidade é reduzida através de um novo sistema de eixos, chamado de componentes principais (PC), que permite transformar grandes matrizes de dados em matrizes menores e, assim, ajudar a extrair o máximo de informações relevantes. Para isso, a matriz original dos dados (**X**) será decomposta em outras matrizes chamadas de escores (**T**) e pesos (**P**), além de uma matriz de resíduos (**E**) como mostra a equação 11 ou de forma esquemática a Figura 25.

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E} \quad \text{Equação 5}$$

Na Figura 25 tem-se que **n** é o número de amostras (linhas), **m** é o número de variáveis (colunas) e **a** é o número de componentes principais.

Figura 25 - Decomposição da matriz de dados X, em uma matriz de escores T, uma matriz de pesos P e uma matriz de resíduo E.

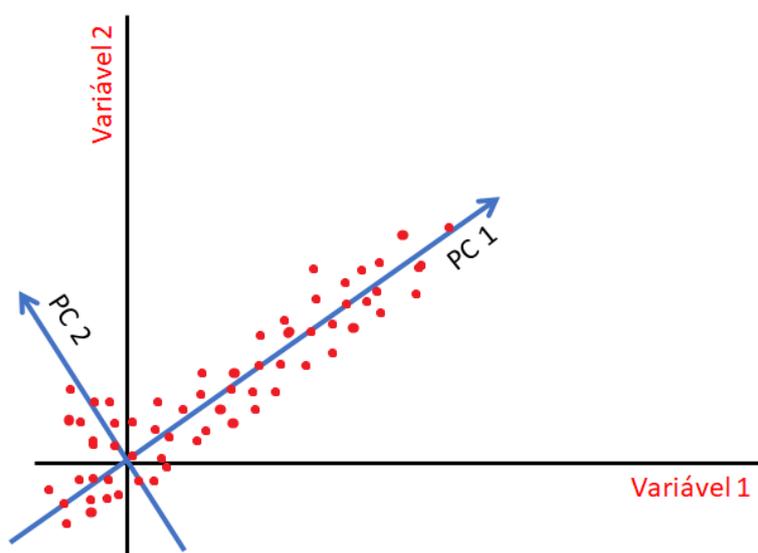


Fonte: A autora (2019).

A matriz de escores será representada por um gráfico que mostrará as relações de similaridades entre as amostras. A matriz de pesos (*loadings*, em inglês), por sua vez, mostrará a contribuição de cada variável original na formação dos novos eixos. (BRO; SMILDE, 2014). Dessa forma, a análise da PCA deve ser feita através dos dois gráficos em conjunto, afim de observar as principais diferenças entre as amostras assim como as variáveis responsáveis por essas diferenças.

A primeira componente principal, de (PC1) será traçada no sentido de maior variabilidade do conjunto de dados. Uma nova PC será traçada ortogonal à PC1, a fim de explicar a maior porcentagem da variabilidade não explicada pela PC1. Esta nova PC será chamada de PC2, como mostra a Figura 26. As primeiras componentes principais explicam a maior parte da variância dos dados e sendo assim, são utilizadas para representar esses dados sem a necessidade de analisar todas as componentes geradas pelo modelo (BRO; SMILDE, 2014).

Figura 26 - Dispersão de amostras no sistema de eixos originais (linha preta) e as duas primeiras componentes principais (linha azul).



Fonte: Khattree; Naik, (2000)

A PCA é um método que possibilita uma visão geral do conjunto de dados, mostrando a relação entre as variáveis e as amostras. Esse método é bastante utilizado pois é a base para diversas outras técnicas como a regressão linear, análise discriminante, redes neurais, análise de componentes independentes, resolução multivariada de curvas, entre outras (BRO; SMILDE, 2014).

3.6.2 Análise Discriminante por Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais

PLS-DA é um método supervisionado no qual é preciso ter um conhecimento prévio sobre as classes do conjunto de amostras. Essas classes

podem ser definidas através de uma análise exploratória empregando a PCA, por exemplo, ou através de um conhecimento inicial das amostras.

O modelo de classificação por PLS-DA é construído através de dois passos: no primeiro é feito a redução da dimensionalidade pelo componente PLS e no segundo é realizada a análise discriminante através da construção do modelo de previsão. O PLS vai buscar uma relação direta entre a resposta instrumental (matriz **X**) e a propriedade de interesse (matriz **Y**), a fim de reduzir a dimensão dos dados. Para isso, o PLS decompõe as matrizes **X** e **Y** em matrizes de scores (**T** e **U**) e loadings (**P** e **Q**), sendo **E** e **F** os resíduos das matrizes **X** e **Y**, como está mostrado nas equações 12 e 13. As matrizes geradas pela decomposição de **X** e **Y** geram novas variáveis chamadas de variáveis latentes (VL) (DAMASCENO, D.; TOLEDO; GODINHO, M. S.; DA SILVA; DE OLIVEIRA, S. B.; DE OLIVEIRA, 2015).

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E} \quad \text{Equação 6}$$

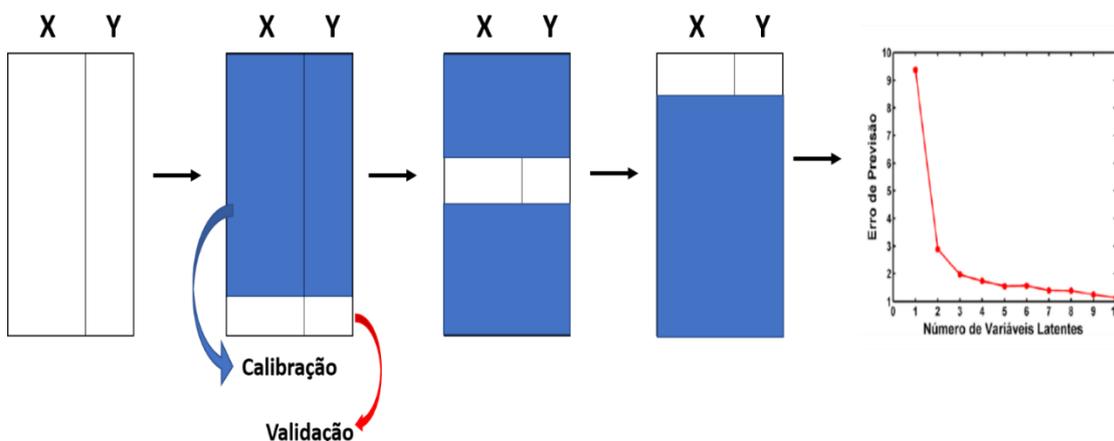
$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}' + \mathbf{F} \quad \text{Equação 7}$$

$$\mathbf{U} = \mathbf{TW} \quad \text{Equação 8}$$

Para a construção do modelo PLS-DA, procura-se encontrar a quantidade de variáveis latentes que descrevem a máxima correlação de **X** e **Y**, obtidas pelo coeficiente de correlação linear (**W**) entre as respectivas (equação 14). A seleção do número de variáveis latentes (VL) é determinada a partir da validação das amostras, tem-se utilizado, para esse trabalho, a validação cruzada por *leave one out*. Nessa validação, vários modelos são gerados deixando sempre uma amostra de fora por vez e, em seguida, é feita a previsão dessa amostra deixada de fora. Esse processo é repetido várias vezes até que todas as amostras tenham sido excluídas da análise uma vez. Esse processo é importante para avaliar a capacidade de previsão e como a eficiência do modelo construído. Na Figura 27 está demonstrado o esquema do processo de validação cruzada por *leave-one-out* onde 3 VL que apresentam

baixo erro de previsão. Nesse caso, se forem utilizadas menos do que 3 VL, o modelo pode apresentar erros por falta de ajuste e se forem utilizadas mais do que 3 VL latentes, o modelo poderá ficar sobreajustado (BRERETON; LLOYD, 2014).

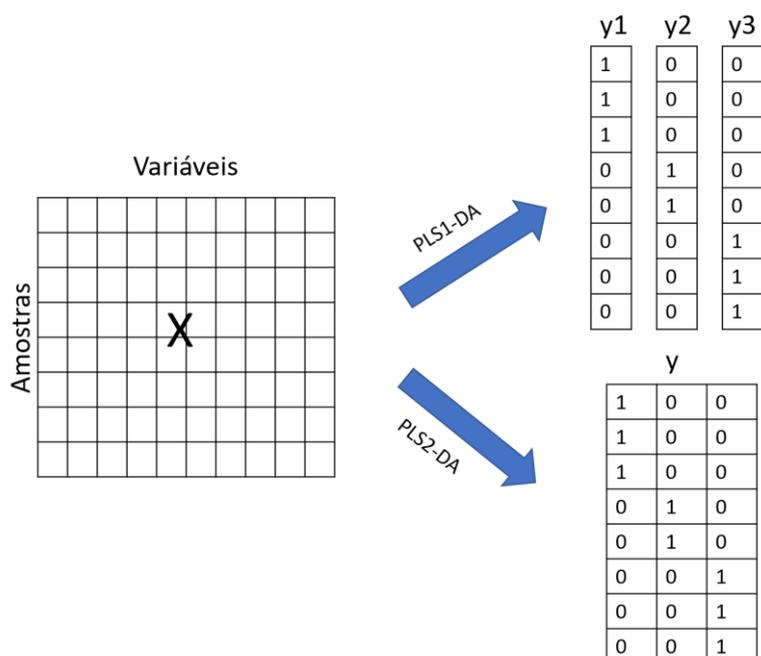
Figura 27 - Esquema para escolha das variáveis latentes na validação cruzada por leave-one-out.



Fonte: A autora (2019).

Na fase de treinamento, as classes das amostras são conhecidas e, assim, cada matriz ou vetor, \mathbf{Y} é composta por valores 0 e 1, sendo o valor 1 atribuído às amostras que pertencem à classe que se pretende discriminar e o valor 0 atribuído às amostras pertencentes a outras classes. Dois algoritmos podem ser utilizados para realizar esse processo, PLS1-DA e PLS2-DA. No PLS1-DA, \mathbf{Y} é um vetor binário e o modelo apresenta apenas duas classes por vez. Já no PLS2-DA, utiliza-se uma matriz \mathbf{Y} com todas as classes em um único modelo. A Figura 28 ilustra as duas abordagens do modelo PLS-DA.

Figura 28 - Ilustração do PLS1-DA e PLS2-DA.



Fonte: Adaptado de Lopes; Braga; Pastore, (2015).

Na etapa de previsão, são utilizadas amostras que não participaram da fase de treinamento, chamadas de conjunto de teste. Nessa etapa, os valores determinados para Y irão identificar a qual a classe a amostra do conjunto de teste irá pertencer. Esses valores apresentam valores que não são exatamente 0 ou 1. Dessa forma, é necessário estabelecer valores limite entre as classes (*thresholds*), que podem ser estabelecidos através do Teorema de Bayes. Assim amostras com $y > threshold$ são classificadas como pertencentes à classe. No gráfico, o *thresholds* é representado por uma linha tracejada e esse valor é selecionado a fim de minimizar o número de resultados falsos positivos e falsos negativos.

A avaliação do desempenho do modelo de classificação pode acontecer através de tabelas de contingências, onde se tem parâmetros como a sensibilidade e a especificidade.

A sensibilidade é a habilidade do modelo de reconhecer corretamente as amostras que pertencem a uma determinada classe. Já a especificidade é a habilidade do modelo em descartar amostras que não pertencem à classe em estudo. Esses parâmetros são calculados de acordo com as equações 15 e 16.

$$\text{Sensibilidade} = \frac{vp}{vp+fn} \times 100 \quad \text{Equação 9}$$

$$\text{Especificidade} = \frac{vn}{vn+fp} \times 100 \quad \text{Equação 10}$$

Nas equações 15 e 16 tem-se que fp (falso positivo) o número de amostras que foram classificadas em uma classe mas não pertencem a ela, fn (falso negativo) o número de amostras que não foram classificadas na classe à qual pertence, vn (verdadeira negativas) o número de amostras que não pertencem a classe e não foram classificadas nessa classe e vp (verdadeiro positivo) número de amostras que foram corretamente classificadas na classe à qual pertencem (SOARES, L. F.; DA SILVA; BERGO, M. C. J.; CORADIN, V. T. R.; BRAGA, J. W. B.; PASTORE, 2017).

3.6.3 Resolução Multivariada de Curvas por Mínimos Quadrados Alternativos

Após o pré-processamento dos dados, aplicam-se então as técnicas quimiométricas para que possam ser extraídas as informações desejadas. A Análise Multivariada de Imagens (MIA, do inglês multivariate image analysis) corresponde a um grande número de métodos quimiométricos que são utilizados na interpretação de dados. De acordo com os objetivos do estudo, diferentes métodos podem ser utilizados, dentre eles os de classificação, calibração, processamento entre outros. Nesse trabalho, foi utilizada a resolução multivariada de curvas por mínimos quadrados alternados (MCR-ALS, do inglês inglês Multivariate Curve Resolution with Alternating Least-Squares) para identificar os *pixels* que contém a MOF sob estudo (VICINI, 2005).

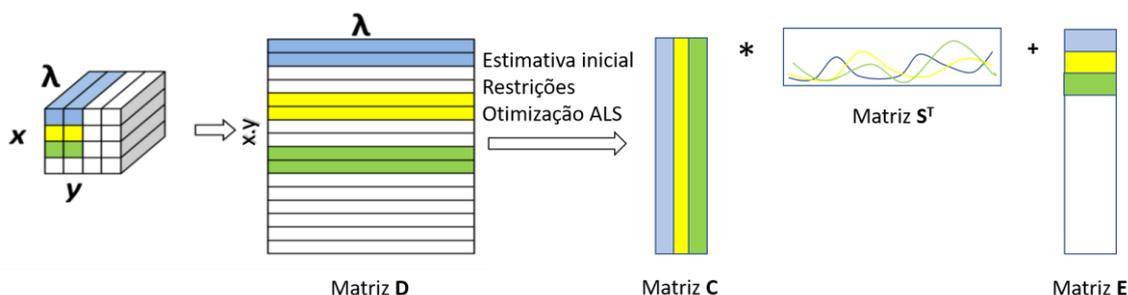
O MCR-ALS é uma técnica multivariada que pode ser aplicada na análise de imagens. O MCR-ALS é baseado no processamento de sinais analíticos com o objetivo de resolver misturas de sinais. (ANTUNES, M C.; J. SIMÃO; DUARTE, A. C.; TAULER, 2002; JAUMOT, J.; GARGALLO, R.; DE JUAN, A.; TAULER, 2005; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA; ALEXANDRINO, G.

L.; POPPI; TAULER, 2014a; RUCKEBUSCH, C.; BLANCHET, 2013). O MCR procura decompor a matriz de dados no produto de duas matrizes (equação 4), a qual **D** é a matriz dos dados espectrais, **C** é a matriz de concentração relativa, **S** é matriz de espectros puros de cada componente da amostra e **E** a matriz dos resíduos, como mostrado na Figura 29 (MARÇO, P. H.; VALDERRAMA; ALEXANDRINO, G. L.; POPPI; TAULER, 2014a). Essa equação é resolvida utilizando o algoritmo ALS.

$$\mathbf{D} = \mathbf{CS}^T + \mathbf{E}$$

Equação 11

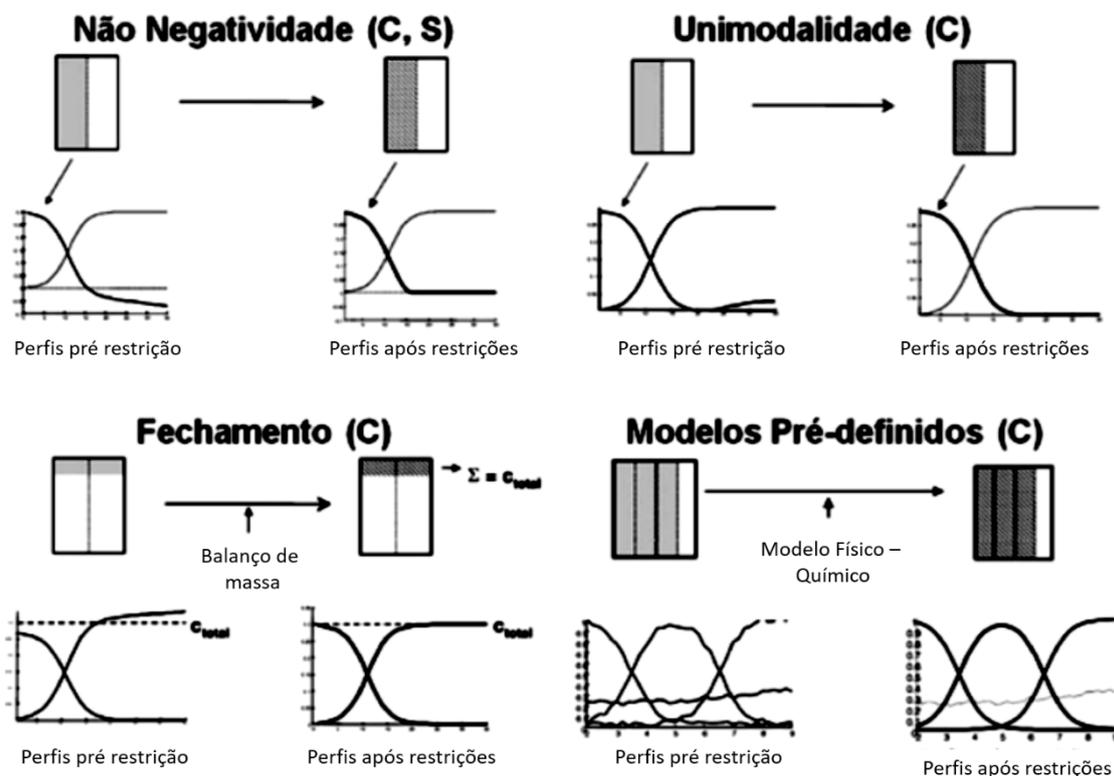
Figura 29 - Esquema do MCR-ALS.



Fonte: Adaptado de Março et al., (2014).

As restrições utilizadas fazem com que os perfis tanto de concentração como dos espectros sejam modificados afim de encontrar os resultados aceitáveis para o problema. Com isso, a restrição de não negatividade é utilizada para impedir que o algoritmo encontre soluções com valores negativos nas matrizes de concentração e espectro, visto que não há sentido em uma concentração negativa. A unimodalidade é aplicada fazendo com que os perfis tenham um único máximo, já o “closure” (fechamento) força os perfis de concentração a se manterem constante durante todo processo. A utilização de modelos pré-definidos faz com que os perfis sigam modelos pré-estabelecidos que descrevem, por expressões matemáticas, um comportamento físico-químico (AZZOUZ; TAULER, 2008; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA; ALEXANDRINO, G. L.; POPPI; TAULER, 2014b). Estas restrições estão esquematizadas na Figura 30.

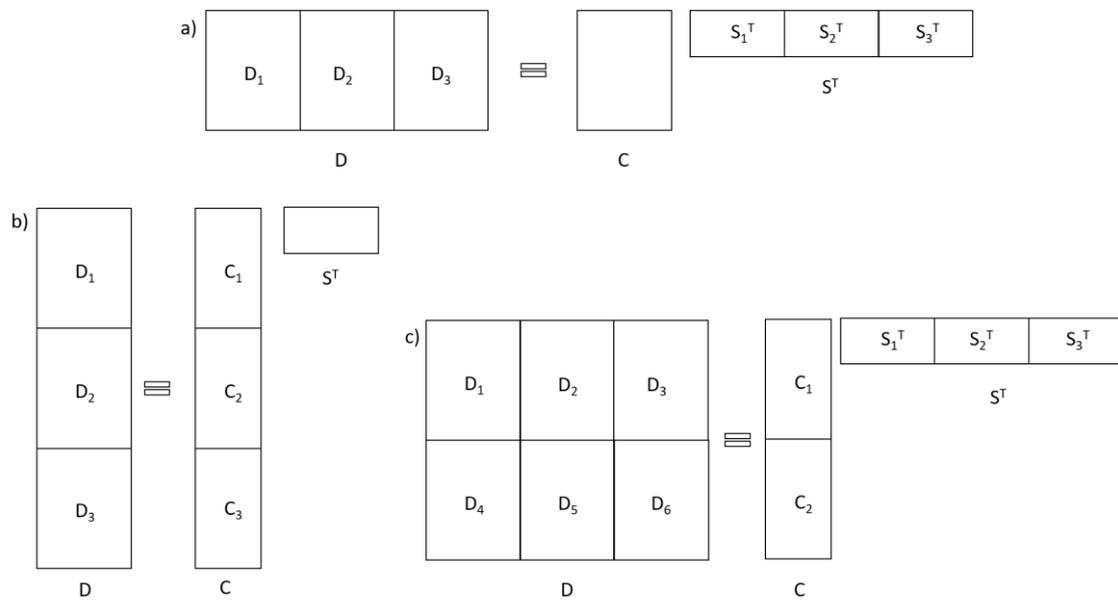
Figura 30 - Esquema das restrições que podem ser utilizadas no MCR-ALS.



Fonte: Março et al., (2014).

O uso de restrições nem sempre é possível ou suficiente pra resultar na convergência. Para corrigir esse problema, outras estratégias podem ser adotadas como por exemplo, o uso da matriz aumentada, onde a análise dos dados é feita em diferentes matrizes simultaneamente, como ilustra a Figura 31. Essa estratégia ajuda a aumentar a variabilidade na matriz D, o que minimiza o problema de deficiência de posto (MARÇO, P. H.; VALDERRAMA; ALEXANDRINO, G. L.; POPPI; TAULER, 2014b). A matriz pode ser aumentada na direção das linhas (Figura 31a), nas colunas (Figura 31b) ou nos dois sentidos (Figura 31c).

Figura 31 - MCR com matriz aumentada na direção (a) das linhas, (b) das colunas e (c) das linhas e colunas.



Fonte: Março et al., (2014)

**APLICAÇÃO DE HSI-NIR E MÉTODOS DE RESOLUÇÃO
DE CURVAS PARA IDENTIFICAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE
MARCADORES LUMINESCENTES DE RESÍDUO DE TIRO**

4 INTRODUÇÃO

Os resultados obtidos nos testes exploratórios, mostrados no tópico “contextualização”, indicam para a direção de que o MCR-ALS é um método promissor na identificação dos LGSR por tipo de marcador. Dessa forma, esta tese se inicia explorando de forma mais sistemática o método quimiométrico MCR-ALS na análise e identificação de LGSR contendo diferentes marcadores luminescentes, para fins de codificação.

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.1 Amostras

Dois conjuntos de amostras de LGSR foram produzidos e coletados no Instituto Nacional de Criminalística em Brasília (INC - DF) sobre a supervisão do perito federal Dr. Márcio Talhavinni. Para construção destes conjuntos, os marcadores foram adicionados à pólvora da munição NTA 9 mm da Companhia Brasileira de Cartuchos (CBC). Para tal, as munições foram abertas com um martelo de inércia e 6% em massa (19,2 mg) de marcador foi adicionado à pólvora de cada munição. Em seguida, as munições foram fechadas utilizando um processo chamado de *crimpagem*, onde utiliza-se uma prensa de recarga.

A partir das munições marcadas, foram realizados disparos com arma de fogo no stand de tiros da Polícia Federal, utilizando-se uma pistola Glock 17. Após uma sequência de três tiros, os LGSRs foram coletados na arma, no cartucho e na mão do atirador, com auxílio de uma lâmpada UV (254 nm). Cada local no qual foi realizado a coleta de LGSR gerou uma amostra que foi analisada por HSI-NIR. Para a coleta destes resíduos, utilizou-se um suporte metálico revestido com fita adesiva branca (fita crepe), chamado de *stub*. Para que se tivesse uma maior quantidade de LGSR sobre a fita crepe, no momento da coleta, pressionou-se repetidas vezes o *stub* contra a superfície em que se desejava realizar a coleta.

4.1.1.1 Grupo a – construção do modelo

O primeiro conjunto de amostras foi utilizado para otimização do modelo MCR-ALS. Ele continha 19 amostras sendo elas: 6 amostras referentes ao

marcador EuBDC, 6 amostras referentes ao EuBTC e 7 amostras referentes ao EuDPA.

4.1.1.2 *Grupo b – validação do modelo (teste cego)*

Para a realização do teste cego, foram preparadas 18 munições divididas em 6 grupos, contendo três munições do mesmo tipo de marcador. Em seguida, três voluntários escolheram um conjunto de munições, anotaram em um papel o grupo escolhido e realizaram os disparos. No final da sessão de disparos, um analista neutro, que não sabia quais munições ou marcadores haviam sido utilizados, coletou as partículas de LGSR nas mãos, na arma e nos cartuchos. Para cada local coletado, foi utilizado um stub, produzindo, assim, uma amostra para cada. Este procedimento foi realizado em dois dias seguidos, de modo que cada voluntário realizou o disparo de um conjunto por dia, ou seja, foram disparados três conjuntos por dia sendo um para cada voluntário.

A coleta foi realizada com auxílio de uma lâmpada UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$), para indicar o local aonde tinha maior concentração de LSGR. No final, foram produzidas 18 amostras, chamadas de conjunto B. Esse conjunto foi utilizado para validar o modelo construído com o conjunto A.

As armas utilizadas foram diferentes para evitar a contaminação cruzada. Esse procedimento está resumido na Figura 32.

Figura 32 - Esquema para produção das amostras do teste cego.



Fonte: A autora (2019).

4.1.2 Aquisição das Imagens Hiperespectrais

Após a coleta dos LGSRs as amostras foram analisadas por HSI-NIR. Uma imagem foi adquirida para cada amostra, utilizando o sistema de imagem SisuCHEMA da Specim®. Essas imagens foram obtidas em uma faixa espectral de 928-2524 nm, utilizando a macro-lente com tamanho de *pixel* de 30x30 μm . O próprio equipamento realiza a calibração de iluminação, obtendo referências de claro e escuro. O número de *pixels* varia de imagem para imagem e a integridade das amostras foi completamente preservada durante toda a aquisição dos dados. Esse procedimento foi realizado no laboratório do

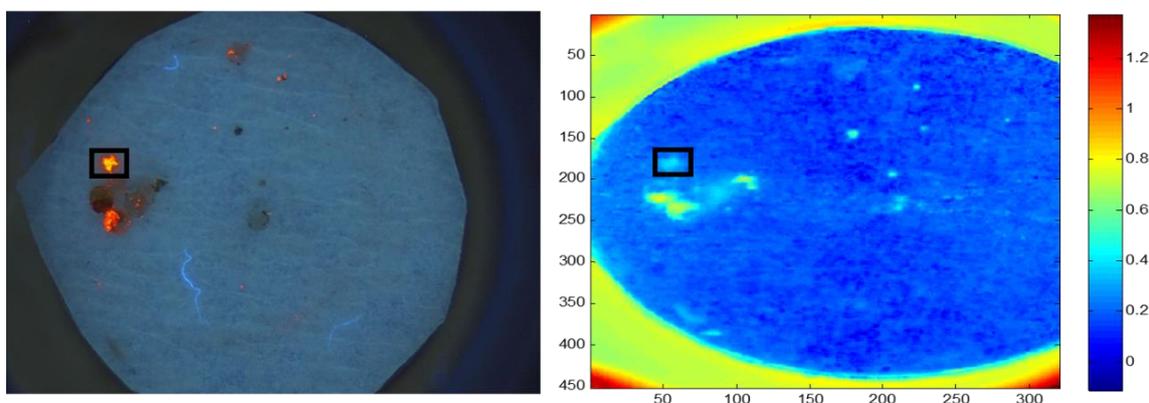
Grupo de Instrumentação e Automação (GIA) sob a supervisão do Prof. Dr. Célio Pasquini na UNICAMP.

4.1.2.1 Tratamento de dados

Todas as imagens adquiridas foram analisadas usando o HYPER-Tools (MOBARAKI, N.; AMIGO, 2018), que é uma interface de usuário *freeware* que trabalha no ambiente MatLab® (The Mathworks, Massachussetss, EUA) e que está disponível de forma gratuita no site www.hypertools.org.

Inicialmente, uma ROI foi selecionada, manualmente, para reduzir o tamanho da imagem, tendo-se utilizado as imagens do VSC como referência para garantir que o LGSR estivesse presente, como mostrado na Figura 33.

Figura 33 - À esquerda, a imagem adquirida pelo VSC para uma amostra LGSR e à direita, a imagem falsa (soma do sinal em cada comprimento de onda sem pré-processamento - intensidade / imagem que não representa a cor real dos componentes presentes), obtida a partir da HSI-NIR.

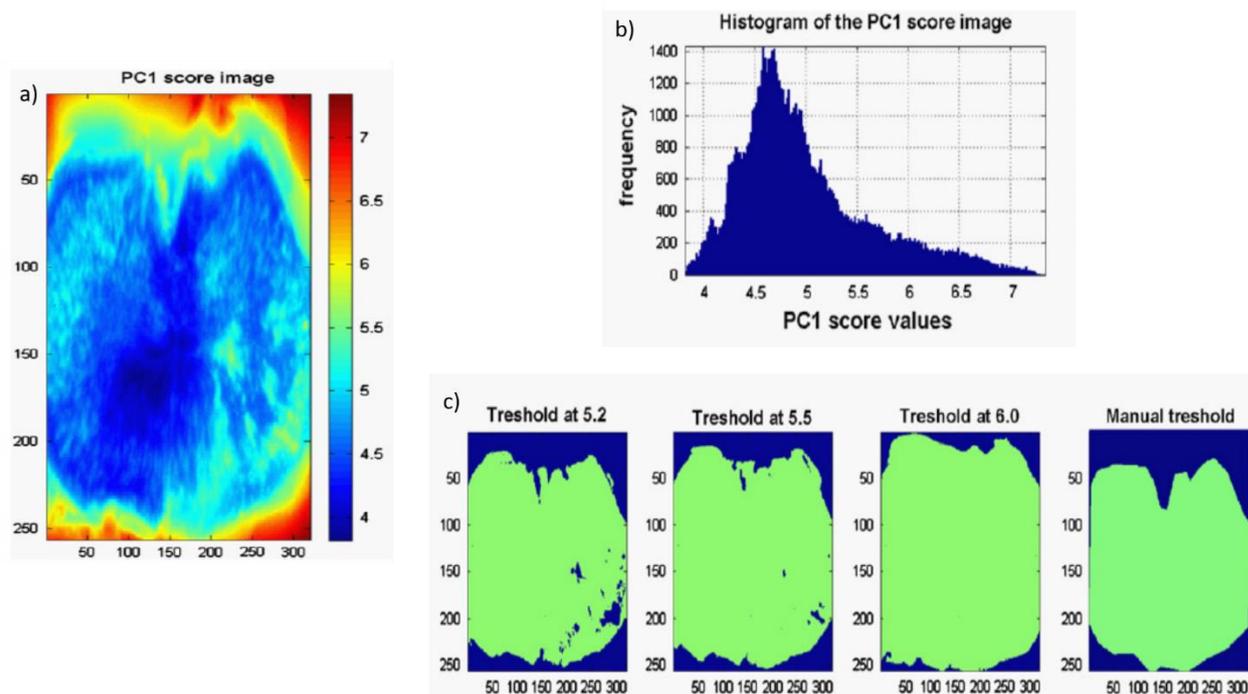


Fonte: A autora (2019).

Em seguida, outra ROI foi selecionada a fim de reduzir ao máximo os *pixels* referentes ao substrato manter e apenas os *pixels* relacionados ao LGSR. Contudo, a nova ROI foi selecionada utilizando-se os scores de uma das componentes principais fornecidas pela PCA. A Figura 34, ilustra o processo de seleção da ROI por PCA. Na imagem da primeira componente principal (PC1) (Figura 34a), pode-se observar duas áreas principais a área azul, que corresponde a área de interesse escuro e a área ciano, a área que será descartada. A barra de gradiente de cores mostra a separação, em cores,

das duas áreas e é utilizada para determinar a área de interesse adequada que será selecionada no gráfico de histograma (Figura 34b). Vários testes podem ser feitos, com limiares diferentes, a fim de obter o melhor resultado de separação como mostra a Figura 34c.

Figura 34 - Ilustração do processo de seleção da ROI utilizando PCA. Em a) tem-se uma imagem falsa com mapa de concentração relativa, b) valores de PC1 para imagem falsa e em c) imagens de cores falsas obtidas após à aplicação de um threshold escolhido (cor verde para pixels selecionados e azul para pixels não selecionados).



Fonte: Adaptado de Vidal; Amigo, (2012).

Também foi necessária a aquisição da imagem de cada MOF pura e do substrato puro, para serem usados como estimativas iniciais no modelo MCR-ALS. Nessas imagens, foi realizada a seleção de região com tamanho espacial de 11 X 11 *pixels*.

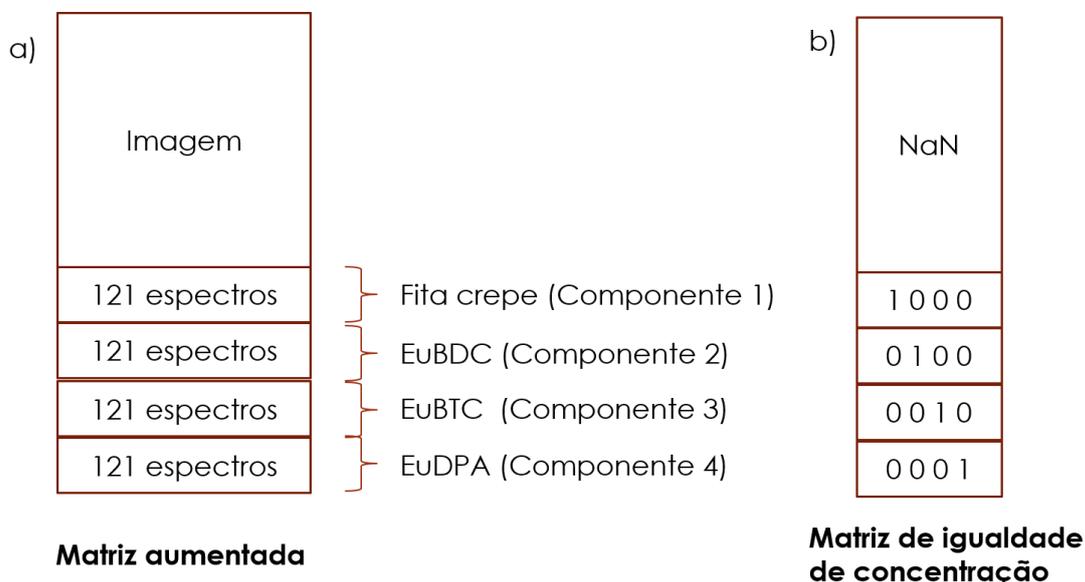
Em seguida as imagens foram submetidas aos seguintes pré-processamentos:

- Corte nos espectros devido ao alto ruído, mantendo a faixa espectral de 878-2474 nm,
- SNV,
- MSC,

- Suavização com filtro de Savitzky – Golay (polinômio de 2ª ordem com largura de janela de 7, 11 e 15 pontos),
- 1ª e 2ª derivadas com filtro de Savitzky – Golay (polinômio de 2ª ordem com largura de janela de 7, 11 e 15 pontos).

Para utilização do MCR-ALS foi necessário construir uma matriz que contém os espectros da imagem após a aplicação da ROI aumentada com 121 espectros de cada componente (Figura 35a). Outra matriz foi construída para utilizar a restrição de igualdade de concentração, com o mesmo tamanho da matriz original, mas ao invés de valores dos espectros, a matriz contém valores de NaN para valores que serão encontrados pelo modelo (do mesmo tamanho da imagem), 1 e 0 referente ou não ao componente analisado, respectivamente (Figura 35b).

Figura 35 - Imagem ilustrativa das matrizes construídas para serem utilizadas no modelo MCR-ALS. Em a) a matriz construída pelos valores dos espectros da imagem aumentada com os valores dos espectros de cada componente, em b) a matriz de igualdade de concentração com os valores de NaN (com o tamanho igual a imagem analisada) e, 1 e 0 referente ou não a cada componente.



Fonte: A autora (2019).

O MCR-ALS foi realizado nas imagens pré-processadas usando a interface gráfica fornecida por Jaumot et al. e disponível, gratuitamente, no site <http://www.mcrals.info/>. Foram utilizados os termos componente1,

componente2, componente3 e componente4 para indicar os marcadores EuBDC, EuBTC, EuDPA e a fita crepe respectivamente. Os espectros puros dos quatro componentes foram utilizados como estimativas iniciais, atuando como referência para a construção do modelo. Além das estimativas iniciais também foram empregadas restrições de não negatividade e igualdade de concentração. Os resultados foram dispostos em perfis espectrais otimizados e em mapas de concentração relativos para cada componente.

Para construção dos modelos, o espectro de GSR puro, sem marcador, não foi utilizado devido à sua composição complexa que inclui pólvora combusta e não combusta, além de vários subprodutos da queima do estabilizante, aditivos, *primer*, etc. Além disso, a composição das partículas de GSR é muito pouco homogênea e observa-se muita variação na composição entre partículas de GSR. Portanto não foi possível obter um padrão de espectro para o GSR sem marcador.

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como já descrito anteriormente, na primeira fase do trabalho foi realizada uma otimização na coleta dos LGSR para análise por HSI-NIR e observou-se que o substrato fita crepe comercial apresentou melhor desempenho. Além disso, foi também avaliado o melhor pré-processamento para os espectros e para as imagens. Em seguida, foi construído um modelo PLS-DA para classificação dos *pixels* em cada amostra de LGSR contendo um dos 3 marcadores (EuBDC, EuBTC e EuDPA). Os resultados observados mostraram que através do PLS-DA, foi possível classificar os *pixels* como pertencentes ou não à classe de um dos três marcadores em todas as nove amostras de LGSR utilizando a fita crepe e, com isso, mostrou-se que se trata de uma técnica eficiente quando se tem conhecimento prévio da amostra e do marcador que se quer analisar.

Em uma rotina forense, geralmente não se tem o conhecimento da amostra e, assim, a análise por PLS-DA fica comprometida. Nesse sentido, foi realizado um estudo exploratório com MCR-ALS e foi observado um grande

potencial, pois através do MCR-ALS foi possível obter tanto a identificação dos *pixels* referentes a um dos três LGSR quanto a obtenção do espectro referente ao LGSR. Essas informações facilitam a identificação do tipo marcador e, além disso, para a utilização desse modelo, não é necessário o conhecimento prévio da amostra, pois o próprio modelo faz a identificação. Todos esses dados estão descritos, com detalhes, em CARVALHO, 201.

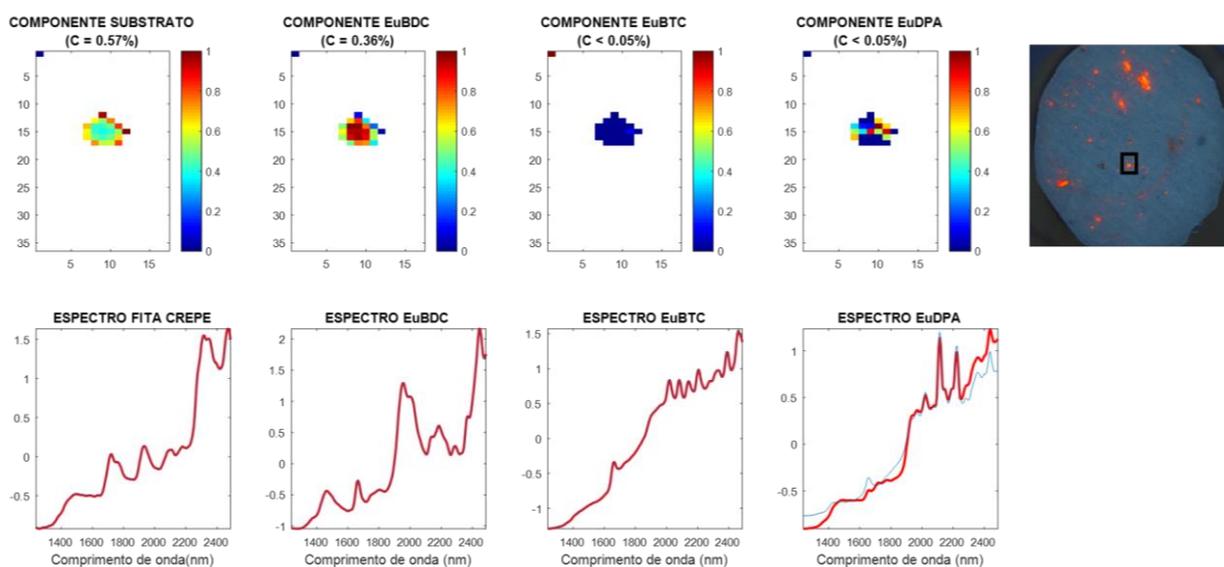
Dando continuidade ao trabalho, foi realizado um estudo mais detalhado utilizando o MCR-ALS. Para isso foram preparados e usados dois conjuntos de amostras: O conjunto A foi utilizado para a construção do MCR-ALS e o conjunto B foi utilizado como teste cego a fim de validar o modelo. Em cada amostra, foi realizado o pré-processamento das imagens e dos espectros e, em seguida foi construído um o modelo MCR-ALS.

As Figuras 36, 37 e 38 mostram exemplos dos resultados obtidos para cada marcador. Em cada amostra, o modelo fornece o mapa de concentração, onde os *pixels* em vermelho representam os valores de concentração mais altas e os *pixels* em azul representam os valores de concentração mais baixas, assim como o espectro recuperado e a concentração relativa média (C) para cada componente. Assim, para cada amostra tem-se quatro mapas que representam a concentração relativa de cada um dos quatro componentes (fita crepe, EuBDC, EuBTC e EuDPA, respectivamente). Junto a isso foi adicionada a imagem do VSC da amostra analisada, indicando a ROI selecionada.

Considera-se como reconhecimento da amostra quando o mapa de concentração, a concentração relativa média (C) e o espectro reconstruído apresentam boa concordância com um dos três marcadores. Por exemplo, na Figura 36 observa-se que além de uma excelente concordância entre o espectro recuperado (azul) e o espectro puro (vermelho), o mapa de concentração relativa mostra maior concentração para o componente EuBDC (*pixels* vermelhos). É importante ressaltar que os espectros da componente pura (azul) estão sobrepostos aos espectros recuperados pelo modelo (vermelho), portanto não é possível visualizar a componente pura (azul nas figuras 36, 37 e 38. Além disso, dentre os três marcadores o que apresenta maior concentração relativa média é o EuBDC. Portanto, essa amostra foi identificada como contendo o marcador EuBDC.

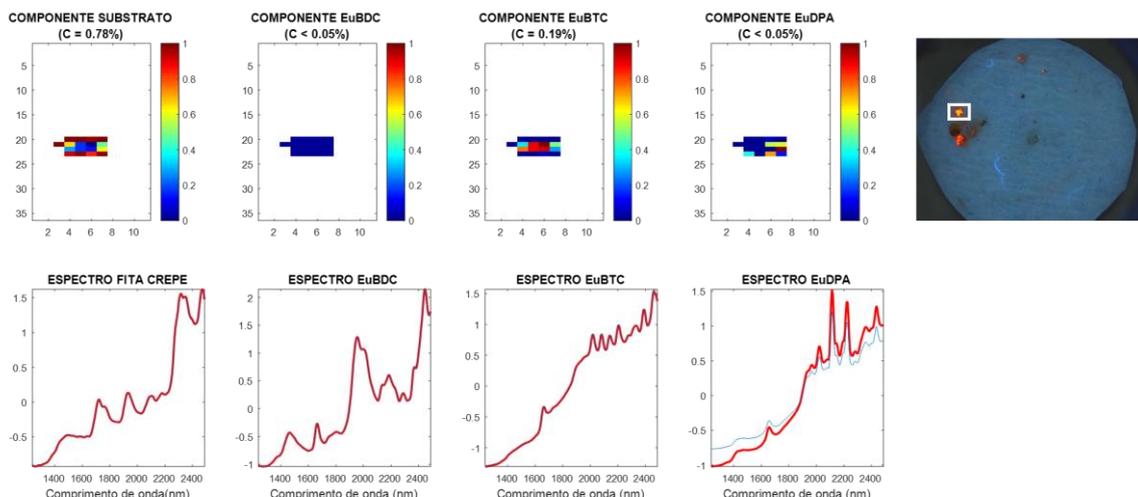
Na Figura 37, podem ser observados os dados para a amostra contendo o marcador EuBTC. Observa-se a concordância do perfil espectral associada a um elevado valor de concentração relativa média (C) apenas para a componente EuBTC. De maneira similar, a Figura 38, mostra a concordância no perfil espectral associada a um elevado valor de concentração relativa média (C) para a componente EuDPA, indicando que essa amostra contém o marcador EuDPA. Todas as demais imagens (mapas de concentração e espectros recuperados) estão no apêndice.

Figura 36 - Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBDC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.



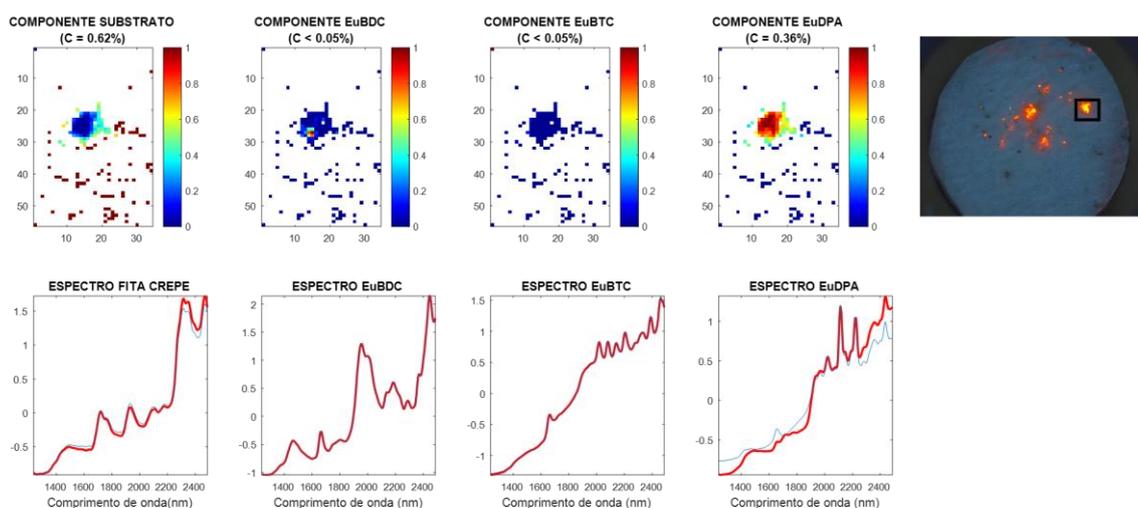
Fonte: A autora (2019).

Figura 37 - Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBTC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.



Fonte: A autora (2019).

Figura 38 - Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuDPA coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.



Fonte: A autora (2019).

Nos mapas de concentração, observa-se que mesmo depois de selecionar a ROI, não foi possível eliminar todas as informações relacionadas ao substrato. Isso pode ser atribuído ao fato da partícula de LGSR ser, geralmente, muito pequena, fazendo com que a radiação NIR penetre suficientemente para obter informações espectrais da fita ou o tamanho da partícula analisada seja menor que a do *pixel*. Mesmo com a presença de

informações da fita, observa-se, nos mapas de concentração, a diferença dos *pixels* referentes a MOF e dos *pixels* referentes à fita crepe, as quais não interferem na identificação do marcador presente. Em números, a matriz de concentração pode ser representada por uma média dos valores dos *pixels* referentes ao componente analisado. Através da média, pôde-se observar que quando o valor era maior ou igual a 0,05% o modelo identificava um dos LGSR como presente na amostra. Esse valor, portanto, foi utilizado como limite de detecção para o modelo.

Cada amostra foi avaliada utilizando-se o valor da média junto com a imagem do mapa de concentração. Observou-se, portanto, que das 19 amostras do grupo A foi possível classificar corretamente o LGSR em 15 amostras, significando 79% de acerto. Das quatro amostras restantes que não foram corretamente identificadas, uma apresentou C menor que o limite de detecção em todos os componentes, indicando que essas amostras continham baixa concentração de marcador e, por isso, o modelo não conseguiu fazer a previsão. Nas outras três amostras (16%), todas contendo o marcador EuBDC, o modelo fez a identificação equivocada provocando um falso-positivo. O resumo destes resultados está disposto na tabela 2 na qual comparou-se a previsão do modelo com o resultado correto, em vermelho estão as amostras que não foram identificadas corretamente pelo modelo e ND (Não detectado).

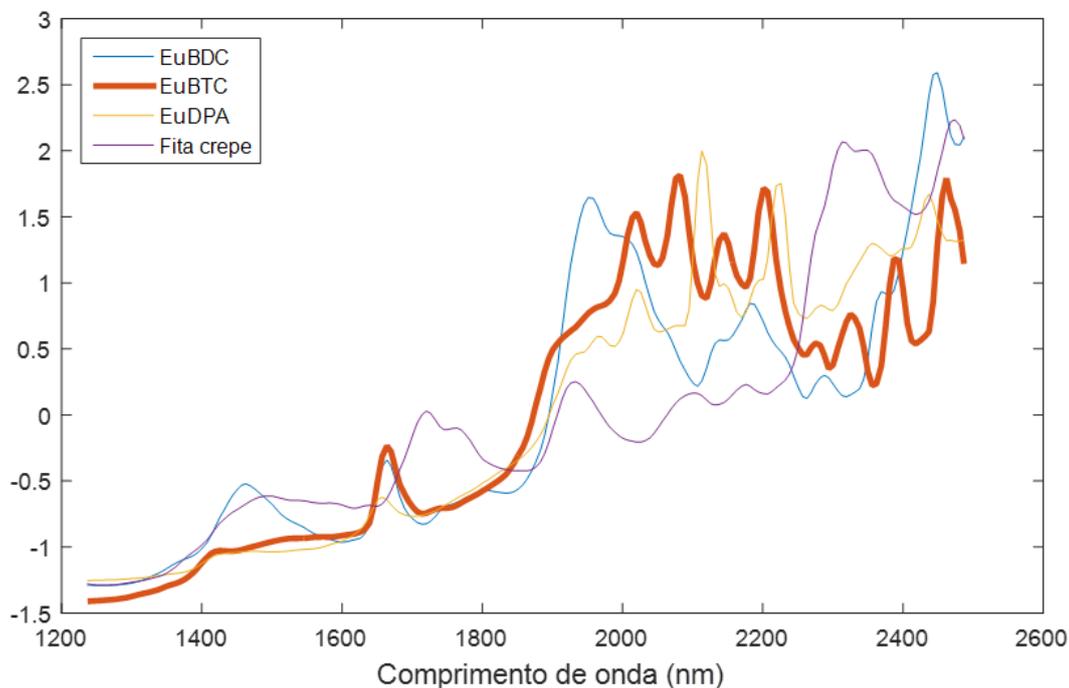
Tabela 2 - Resumo dos resultados do grupo A.

Amostras	Concentração Relativa Média (%)				Previsão do LGSR por MCR-ALS	Marcador Correto
	Substrato	EuBDC	EuBTC	EuDPA		
EuBDC 1	0,83	<0,05	0,10	<0,05	EuBTC	EuBDC
EuBDC 2	0,64	0,22	<0,05	0,09	EuBDC	EuBDC
EuBDC 3	0,85	<0,05	0,08	0,06	EuBTC	EuBDC
EuBDC 4	0,77	<0,05	0,21	<0,05	EuBTC	EuBDC
EuBDC 5	0,91	0,08	<0,05	<0,05	EuBDC	EuBDC
EuBDC 6	0,57	0,36	<0,05	<0,05	EuBDC	EuBDC
EuBTC 1	0,85	<0,05	0,08	0,06	EuBTC	EuBTC
EuBTC 2	0,59	<0,05	0,33	0,07	EuBTC	EuBTC
EuBTC 3	0,85	<0,05	0,10	<0,05	EuBTC	EuBTC
EuBTC 4	0,78	<0,05	0,19	<0,05	EuBTC	EuBTC
EuBTC 5	0,84	<0,05	0,13	<0,05	EuBTC	EuBTC
EuBTC 6	0,93	<0,05	0,06	<0,05	EuBTC	EuBTC
EuDPA 1	1,25	<0,05	0,12	0,14	EuDPA	EuDPA
EuDPA 2	0,69	<0,05	0,11	0,19	EuDPA	EuDPA
EuDPA 3	0,59	<0,05	0,07	0,32	EuDPA	EuDPA
EuDPA 4	0,89	<0,05	<0,05	0,11	EuDPA	EuDPA
EuDPA 5	0,62	<0,05	<0,05	0,38	EuDPA	EuDPA
EuDPA 6	1,40	<0,05	<0,05	<0,05	ND	EuDPA
EuDPA 7	0,82	<0,05	<0,05	0,15	EuDPA	EuDPA

Fonte: A autora (2019).

Como pode ser visto nas amostras em que o modelo não conseguiu identificar corretamente, o marcador EuBDC, tem-se que o marcador foi identificado como sendo EuBTC. Uma das hipóteses a se considerar é que o espectro de EuBTC, por conter muitas bandas na região entre 2000 e 2500 nm, tenha causado conflito para o modelo (Figura 39). Do mesmo modo, a possibilidade de contaminação não pode ser descartada, embora todos os cuidados tenham sido tomados no sentido de evita-la.

Figura 39 - Espectros da do EuBDC (azul), EuBTC (vermelho), EuDPA (amarelo) e a fita crepe (violeta).



Fonte: A autora (2019).

Após os resultados observados no grupo A, foi realizada a validação dos modelos de MCR-ALS, utilizando as amostras do grupo B (18 amostras). Das 18 amostras coletadas, apenas uma delas (coletada nas mãos do atirador) foi descartada por não apresentar a luminescência do marcador. Os resultados, quanto a classificação das 17 amostras avaliadas, estão dispostos na tabela 3. Foi possível identificar o marcador corretamente em 12 amostras (70,6%). Das cinco restantes, duas amostras (12%) apresentaram concentração relativa inferior aos limites de detecção (<0,05%) e nas outras três amostras (17,6%) houve classificação incorreta do marcador. Percebeu-se que em todos os casos de identificação incorreta, existe uma confusão envolvendo o marcador EuBTC. Como já mencionado anteriormente, o fato do espectro da MOF EuBTC possuir bandas que se sobrepõem às bandas das MOFs EuBDC e EuDPA pode prejudicar na identificação dos marcadores.

Tabela 3 - Resumo dos resultados dos testes cegos (Grupo B).

Amostras	Concentração Relativa Média (%)				Previsão do LGSR por MCR-ALS	Marcador Correto
	Substrato	EuBDC	EuBTC	EuDPA		
1	0.52	0.33	<0.05	0.09	EuBDC	EuBDC
2	0.42	0.42	0.10	<0.05	EuBDC	EuBDC
3	0.99	<0.05	<0.05	<0.05	ND	EuBDC
4	0.89	0.10	<0.05	<0.05	EuBDC	EuBDC
5	0.69	<0.05	0.17	0.13	EuBTC	EuBDC
6	0.44	0.49	<0.05	0.06	EuBDC	EuBDC
7	0.94	<0.05	<0.05	0.06	EuDPA	EuBTC
8	0.72	<0.05	0.13	0.08	EuBTC	EuBTC
9	0.41	0.06	0.38	0.15	EuBTC	EuBTC
10	0.92	<0.05	<0.05	<0.05	ND	EuBTC
11	0.73	<0.05	0.14	0.07	EuBTC	EuBTC
12	0.70	<0.05	0.19	0.08	EuBTC	EuBTC
13	0.16	<0.05	0.75	0.06	EuBTC	EuDPA
14	0.44	0.09	<0.05	0.17	EuDPA	EuDPA
15	0.88	0.06	<0.05	0.08	EuDPA	EuDPA
16	0.88	<0.05	<0.05	0.13	EuDPA	EuDPA
17	0.52	<0.05	0.11	0.15	EuDPA	EuDPA

Fonte: A autora (2019).

4.3 CONCLUSÃO

A utilização de imagens hiperespectrais na região do infravermelho próximo para identificação de três marcadores luminescentes de resíduo de tiro mostrou-se eficiente, considerando a complexidade das amostras devido a presença de partículas de GSR. Porém, observou-se que em alguns casos, o modelo não conseguiu identificar o LGSR na amostra. Nestes casos foi observado que as amostras tinham baixa concentração de LGSR ou as partículas de LGSR eram muito pequenas, o que leva a forte interferência do substrato. Por isso, para que possa obter melhores resultados por MCR-ALS, é recomendado que no momento da coleta o analista busque garantir a coleta de uma quantidade de partículas de LGSR suficiente para análise, assim como realize uma coleta cuidadosa a fim de garantir a coleta de partículas maiores.

Através da utilização do método HSI-NIR / MCR-ALS, foi possível identificar corretamente cerca de 72,9% das amostras (grupo A + grupo B). Em 8,1 % dos casos (3 amostras), o LGSR não foi identificado devido à baixa concentração do marcador no *stub*, e em apenas 16,2% dos casos (6 amostras) o método forneceu uma classificação errada. Em todos os casos de identificação errada houve confusão com o marcador EuBTC, provavelmente por esse marcador apresentar bandas que se sobrepõem às bandas dos outros dois marcadores.

O método desenvolvido mostrou-se eficiente, rápido e não destrutivo para distinguir MOFs, permitindo a identificação de LGSRs em um contexto forense. Para fins de codificação, sugerimos não usar marcadores baseados em BTC quando utilizar a técnica de HSI-NIR, porque pode ocorrer confusão pelo uso da espectroscopia NIR.

**APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA RAMAN NORMAL E
RAMAN RESSONANTE E MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS NA
IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES LUMINESCENTES DE
RESÍDUO DE TIRO**

5 INTRODUÇÃO

No início, a utilização da espectroscopia Raman para a caracterização de GSR foi direcionada para a análise das partículas geradas por munições contendo Pb, Ba e Sb. Por exemplo, Stich et al. (1998) buscaram identificar os íons de chumbo e bário provenientes da munição. Para isso, três diferentes substratos foram testados (papel, tecido e fita de grafite) e foi percebido que o tecido apresentava alta fluorescência e que o espectro da fita de grafite tinha alta absorvância e mascarava os picos das substâncias de interesse. Com isso, eles utilizaram apenas o substrato de papel para análise dos GSR. Foram realizadas análises das partículas de GSR resultantes de disparos a 10, 20 e 30 cm de distâncias do substrato, utilizando a mesma arma. Como resultado, foi possível identificar partículas de carbono, de carbonato de bário e óxido de chumbo, além de partículas que continham misturas de carbonato de bário, sulfato de chumbo e óxido de chumbo em diferentes regiões do mesmo substrato. Esse trabalho mostrou a potencialidade da espectroscopia Raman em detectar os principais componentes das munições convencionais, mostrando-se como uma alternativa na análise do GSR.

Outro trabalho, realizado por Bueno et al. (2012) teve como objetivo identificar tanto compostos orgânicos como inorgânicos nas partículas de GSR com base nos espectros Raman. Eles utilizaram, para esse experimento, dois tipos de armas, uma de calibre 0.38 e outra de 9 mm, a fim de relacionar a composição química com o tipo de calibre. Os autores observaram, inicialmente, que as partículas de GSR apresentam diferentes colorações podendo ser bronze, marrom ou preta e que os espectros de partículas de GSR de diferentes calibres apresentaram um perfil similar. Sendo assim, observaram, também, que a análise de uma mesma partícula gera espectros diferentes, mostrando a heterogeneidade das partículas de GSR. Inicialmente, os autores identificaram os modos vibracionais de grupos nitro (NO_2), carbonato (CO_3), compostos aromáticos e sais inorgânicos, resultado de componentes encontrados na munição como o primer. Em seguida, os autores construíram dois conjuntos de dados, um outro com os espectros Raman obtidos nas partículas de cor bronze e outro com os espectros Raman obtidos nas partículas de cor marrom, a fim de discriminar as diferentes partículas e

relacioná-las com o tipo de calibre utilizado (9 mm ou 0.38). Esses conjuntos foram analisados por diferentes métodos quimiométricos como: análise por componentes principais (PCA), regra dos vizinhos mais próximos (KNN), análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e análise discriminante de máquinas de vetores de suporte (SVM). Os dados estatísticos mostraram que as partículas de cor bronze apresentaram uma maior precisão na identificação do par calibre-munição. No entanto, o estudo foi considerado preliminar por não conter um número maior de combinações calibre-munição. Além disso seria necessário observar outras características das munições que podem influenciar na composição química das partículas de GSR, variando o processo de descarga, o calibre da munição e, também, as diferentes composições presentes nas munições.

Já o trabalho de Lopez Lopez, Deldado e Garcia – Ruiz (2012) teve como objetivo relacionar o GSR com a munição utilizada, e observar a influência de outras substâncias encontradas na roupa da vítima ou do suspeito na análise de GSR. Para isso, analisaram os compostos orgânicos de seis diferentes munições além de areia, sangue seco e tinta preta. Eles observaram que os perfis espectrais das partículas de GSR geradas por cada munição são semelhantes, respectivamente, aos perfis espectrais das suas munições antes do disparo. Além disso, foi possível diferenciar as partículas de GSR dos outros resíduos encontrados em uma cena de crime e discriminar os tipos de munição através da composição química dos seus estabilizantes.

O mesmo grupo de pesquisa realizou outro trabalho utilizando a espectroscopia Raman que tinha como objetivo o estudo da contaminação potencial de GSR quando diferentes munições são disparadas com a mesma arma gerando, portanto, um efeito memória da arma (LÓPEZ-LÓPEZ; DELGADO; GARCÍA-RUIZ, 2013). Esse trabalho teve como objetivo analisar, através da espectroscopia Raman, compostos orgânicos presentes no GSR, coletados no alvo, gerados por diferentes munições. Os autores utilizaram dois tipos de munições e realizaram disparos sobre um alvo de papel a uma distância de aproximadamente de 30cm. A primeira munição continha difenilamina (SB-T 93+) e derivados e a segunda continha etil centralite (SB 96+). Os autores fizeram, primeiro uma análise visual dos espectros buscando

identificar (1) a presença do composto alvo desejado (difenilmanina ou etil centralite) para caracterizar o GSR e (2) a presença de contaminação com um dos compostos alvo oriunda de disparos anteriores. Após a análise visual, realizaram uma análise discriminante utilizando a distância de Mahalanobis através de uma região específica do espectro (1800 a 800 cm^{-1}). Para isso utilizaram os espectros do propelente para calibração e espectros de GSR para validação do método. Os resultados obtidos pelas distâncias de Mahalanobis mostraram que apenas um GSR de SB 96+ foi classificado como SB-T 93+, mostrando que o efeito memória não tem influência na análise orgânica do GSR por Raman normal.

Por fim, o trabalho realizado por Lucena et. al. (2017) usou uma abordagem diferente das descritas anteriormente. Os autores estudaram munições marcadas com marcadores luminescentes e utilizaram duas técnicas de forma complementar, o MEV/EDS para identificar os compostos inorgânicos e a espectroscopia Raman para identificação dos compostos orgânicos. Além disso, testaram dois tipos de marcadores luminescentes um verde ($[Y_{0,85}Yb_{0,10}Tb_{0,05}(BTC)]$) e outro vermelho ($[Y_{0,95}Eu_{0,05}(BTC)]$). Como resultado observaram que as partículas luminescentes conseguem atingir até oito metros de distância do atirador através do seu rastro no chão. Observaram também que as partículas apresentam espalhamento padrão quando disparadas de uma mesma distância. A análise do MEV/EDS mostrou que as partículas luminescentes também contêm Pb, Ba e Sb. O marcador “viaja” junto com a partícula de GSR e, assim, existindo a possibilidade do marcador luminescente poder ser usado como sinalizador na coleta de GSR.

Visto que a espectroscopia Raman já é uma técnica já utilizada no contexto forense, diferentemente da imagem hiperespectral, este trabalho tem como objetivo avaliar a possibilidade de utilizar a espectroscopia Raman para diferenciar três diferentes marcadores luminescentes (EuBDC, EuBTC e EuDPA) para codificação de munições. Para isso foi feito a análise visual dos espectros Raman Ressonante como também a caracterização e classificação utilizando os espectros obtidos por Raman Normal e Raman Ressonante, desses marcadores luminescentes, através das técnicas quimiométricas PCA, PLS-DA e MCR-ALS

5.1 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1.1 Produção de amostras

As amostras para análise por Raman Normal e Ressonante foram preparadas da mesma maneira que foi descrita no item 1.1. A diferença foi que as pistolas utilizadas foram Jericho 941F e Glock G17. A coleta dos LGSR foi realizada na arma, no cartucho e na mão de um atirador após a execução de três disparos com um *stub* contendo fita crepe. Cada local em que o LGSR foi coletado gerou uma amostra que foi analisada por Raman normal e Raman ressonante.

5.1.2 Aquisição dos espectros

5.1.2.1 *Espectros Raman*

Os espectros das amostras dos marcadores puros e dos LGSR foram adquiridos em um espectrômetro Raman da marca Bruker (SENTERRA) acoplado a um microscópio confocal e sem preparo prévio das amostras. Todos os espectros foram obtidos no Instituto de Criminalística da Polícia Civil de Pernambuco (IC – PE).

Para a análise por Raman normal e ressonante, foram adquiridos 5 espectros em pontos diferentes de uma mesma amostra como forma de compensar a heterogeneidade na composição do GSR. A média dos 5 espectros foi utilizada para representar cada amostra. Os espectros foram obtidos de partículas de GSR onde sua localização foi auxiliada por uma lâmpada UV de comprimento de onda de 254 nm.

Na aquisição dos espectros foram usados dois lasers, de 785 nm e 532 nm. O laser de 785 nm foi empregado para obter informações sobre o perfil vibracional das amostras analisadas e, assim, construir o conjunto de dados para o Raman normal. O laser de 532 nm foi utilizado para obter informações sobre o perfil vibrônico das amostras. Como a energia do laser de 532 nm ($1,8 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$) é semelhante à energia de excitação eletrônica do íon Eu^{3+} ($1,7 \times$

10^4 cm^{-1}) (BINNEMANS, 2015), torna-se possível observar as transições eletrônicas para o íon Eu^{3+} . Assim, esses espectros foram utilizados para construir o conjunto de dados para o Raman ressonante.

Os parâmetros foram ajustados a fim de obter a melhor relação sinal ruído e evitar a influência da fluorescência nos espectros. Os melhores resultados foram obtidos com os parâmetros dispostos na tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros utilizados para aquisição dos espectros no Raman normal e no Raman ressonante.

Parâmetros	Laser 785nm	Laser 532nm
ABERTURA CONFOCAL	50 μm	50 μm
POTÊNCIA DO LASER	10 mW	0,2 mW
MAGNIFICAÇÃO	50x	50x
TEMPO DE EXPOSIÇÃO	5 s	0,1 s
ACUMULAÇÕES	2	1
FAIXA ESPECTRAL	559 – 1809 cm^{-1}	699– 4400 cm^{-1}

Fonte: A autora (2019).

5.1.2.2 *Luminescencia*

Os espectros de emissão foram obtidos no laboratório de Terras Raras (BSTR) na Universidade Federal de Pernambuco, utilizando um fluorímetro Horiba Jobin Yvon modelo Fluorolog-3, à temperatura ambiente em estado sólido. O aparelho é equipado com um monocromador modelo FL-1039/40, com lâmpada de xenônio de 450 W, fotomultiplicadora Hamamatsu R928P e lâmpada pulsada de xênon de 150 W. As medidas foram feitas utilizando um suporte específico do equipamento que dispõe a amostra sob um ângulo de 45° em relação à luz incidente.

5.1.3 Análise quimiométrica

Em todos os espectros adquiridos tanto por Raman normal quanto por Raman ressonante foram utilizadas a normalização pelo máximo e a correção da linha de base como pré-processamentos antes de qualquer tratamento

quimiométrico. Para a análise por PCA e PLS-DA, os espectros também foram centrados na média. Utilizou-se o PLS_Toolbox (Eigenvector Research Inc., EUA) na construção dos modelos de PCA e PLS – DA e, para construção dos modelos de MCR – ALS, utilizou-se a interface gráfica, fornecida por Jaumot et. al. (2005). Todos os ambientes gráficos trabalham no Matlab® (The Mathworks, Massachussetss, EUA).

5.1.3.1 *Raman Normal*

5.1.3.1.1 Seleção de amostras

Um conjunto de 45 amostras divididas em conjunto de treinamento e conjunto de teste, foi utilizado para as análises por Raman normal. No conjunto de treinamento foram usadas 5 amostras de EuBDC puro, 5 amostras de EuBTC puro e 5 amostras de EuDPA puro, 10 amostras de LGSR contendo EuBDC, 10 amostras de LGSR contendo EuBTC e 10 amostras de LGSR contendo EuDPA.

5.1.3.1.2 Análise de dados

Os espectros médios de cada amostra foram utilizados para a PCA e para a construção dos modelos PLS-DA e MCR-ALS. Todos os espectros foram pré-processados com normalização e correção de linha de base. Para análise por PCA, o conjunto de dados foi organizado da seguinte maneira: nas 15 primeiras linhas as amostras de EuBDC, nas 15 linhas seguintes as amostras de EuBTC e por fim as 15 amostras de EuDPA. Em seguida, o conjunto de dados foi centrado na média e a PCA foi feita, a fim de observar a possibilidade de discriminação entre os três marcadores e identificar as variáveis que mais influenciam na identificação desses marcadores.

O mesmo conjunto de dados pré-processado com normalização e correção de linha de base foi dividido em conjunto de treinamento (30 amostras) e em conjunto de teste (15 amostras). O modelo de classificação utilizado foi o PLS2-DA e, assim, obteve-se um modelo com três classes. A matriz **X** de treinamento foi construída da seguinte maneira: nas 15 primeiras linhas estão as amostras da MOF pura, na sequência estão 5 amostras de EuBDC, 5 de EuBTC e 5 de EuDPA, nas linhas seguintes estão as amostras de LGSR (5 amostras de cada marcador colocadas na mesma sequência por tipo de

marcador). Da mesma maneira, a matriz Y foi construída e organizada, no entanto contendo nas variáveis a classe à qual cada amostra pertence. As matrizes X e Y foram utilizadas para construir o modelo utilizando a validação cruzada por “*leave one out*”. Em seguida, foi realizada a previsão das amostras do conjunto de teste através do modelo construído. A matriz de teste também foi organizada na mesma sequência que a matriz de treinamento, mas contendo apenas amostras de LGSR. No conjunto de teste, as amostras de LGSR utilizadas não são as mesmas usadas no conjunto de treinamento. O número de variáveis latentes foi escolhido a partir do erro de classificação e os resultados obtidos foram avaliados através da taxa de falso positivo (TFP) e falso negativo (TFN).

Para a construção do modelo MCR-ALS, a matriz de dados foi organizada da seguinte forma: 10 amostras de EuBDC (5 amostras da MOF pura e 5 de LGSR), 10 amostras de EuBTC e 10 amostras de EuDPA, dispostas da mesma maneira que as de EuBDC. À esta matriz é adicionada uma matriz contendo as amostras do conjunto teste. Para iniciar a análise por MCR-ALS, os dados foram pré-processados e o número de componentes presentes no sistema assim como as estimativas iniciais dos perfis espectrais foram fornecidos. Nesse trabalho, foram utilizados quatro componentes, pois além dos três diferentes tipos de marcadores outras substâncias poderiam estar influenciando na identificação dos LGSRs e assim o modelo pode apresentar um problema de posto. A fita crepe não foi utilizada como uma das componentes porque nas análises iniciais mostrou ser possível adquirir espectros sem a influência da fita crepe. Como estimativa inicial, foi utilizada a média das cinco amostras de MOF pura para cada marcador, resultando em 3 espectros médios. Foi acrescentado, à essa matriz de estimativas iniciais, um vetor randômico para compor o quarto componente. Durante a aplicação da metodologia MCR-ALS, a restrição de não negatividade das concentrações que impõe que os perfis de concentração dos componentes sejam sempre positivos foi aplicada. Foi aplicada também a restrição de igualdade de concentração constante e igual a 1, apenas para as amostras de treinamento, a fim de obter a quantificação das amostras de teste através do modelo.

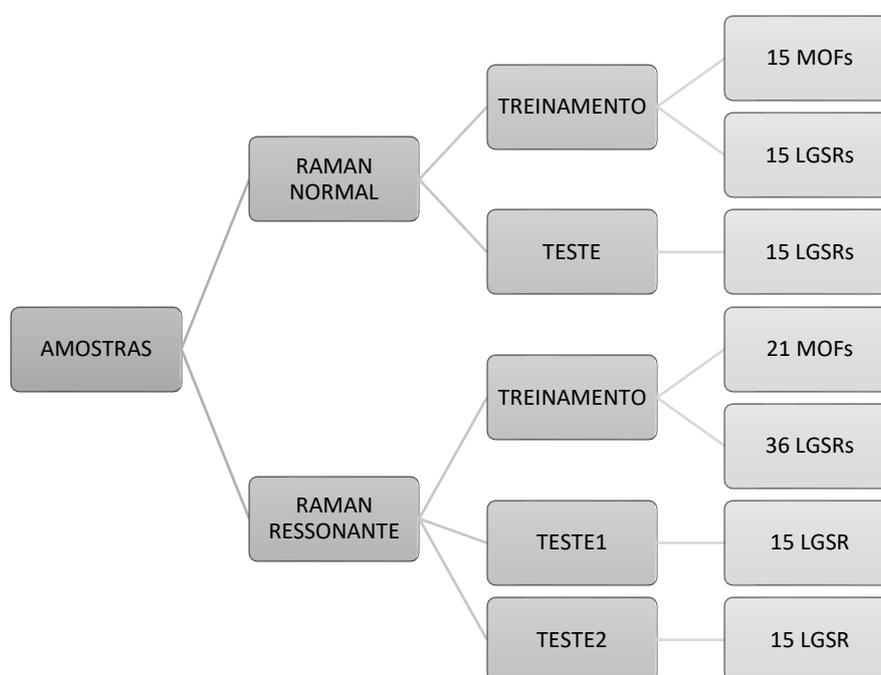
5.1.3.2 Raman Ressonante

5.1.3.2.1 Seleção de amostras

Um conjunto de 87 amostras foram divididas em conjunto de treinamento, conjunto de teste 1 e conjunto de teste 2. No conjunto de treinamento foram utilizadas 57 amostras as quais foram divididas em: 6 amostras de EuBDC puro, 6 amostras de EuBTC puro e 9 de amostras EuDPA puro, 21 amostras de LGSR contendo EuBDC, 6 amostras de LGSR contendo EuBTC, 9 amostras de LGSR contendo EuDPA

No conjunto de teste 1 foram utilizadas as 15 amostras de LGSR e no conjunto de teste 2 foram utilizadas outras 15 amostras de LGSR. Cada conjunto de teste apresentou 5 amostras de cada marcador. Na Figura 40 estão apresentados em fluxograma, todos os conjuntos de amostras utilizados para a análise por PCA e construção dos modelos de PLS-DA e MCR-ALS, tanto para o Raman normal quanto para o Raman ressonante.

Figura 40 - Fluxograma com o resumo dos conjuntos de dados utilizados tanto no Raman normal quanto no Raman ressonante.



Fonte: A autora (2019).

5.1.3.2.2 Análise de dados

As amostras foram pré-processadas e utilizadas para a análise por PCA e na construção dos modelos PLS-DA e MCR-ALS. Na PCA, a matriz de dados foi composta pelos espectros médios das 87 amostras e organizadas como descritas no tópico anterior. Assim como no Raman normal, objetivo de se realizar a PCA é observar a diferença entre os três marcadores e quais as variáveis mais importantes para essas diferenças.

Para construir o modelo PLS2-DA foram utilizados os mesmos procedimentos descritos no tópico anterior. Na matriz treinamento, foram utilizados os espectros Raman ressonante das amostras do conjunto de treinamento. Esta matriz foi organizada com 27 amostras de EuBDC (6 de MOF pura e 21 de LGSR), 12 amostras de EuBTC (6 de MOF pura e 6 de LGSR) e 18 amostras de EuDPA (9 de MOF pura e 9 de LGSR). Já na matriz de teste foram utilizados os dois conjuntos de teste, organizados da mesma maneira como foi descrito no tópico anterior.

Para a construção do modelo MCR-ALS, foi utilizada uma matriz que continha os espectros das amostras de treinamento dispostos da mesma maneira que a matriz de treinamento no PLS2-DA. A matriz foi aumentada com as amostras dos conjuntos de teste na seguinte ordem: 10 amostras de EuBDC (5 do teste 1 e 5 do teste2), 10 amostras de EuBTC e 10 amostras de EuDPA, disposta da mesma maneira. No modelo MCR-ALS para os espectros Raman Ressonante, não foi utilizado o vetor randômico, pois os espectros Raman são intensificados pela ressonância e, assim, não há problema de posto pela influência de outras substâncias. Assim, o número de componentes inseridos no sistema foi apenas o número de marcadores luminescentes. Para as estimativas iniciais, foram utilizados, apenas, os espectros médios das MOFs puras de cada marcador. Da mesma maneira que foi feito para o Raman normal, as restrições de não negatividade para as concentrações foram utilizadas para as duas matrizes e a igualdade de concentração foi utilizada para o conjunto de treinamento.

5.1.4 Teste cego

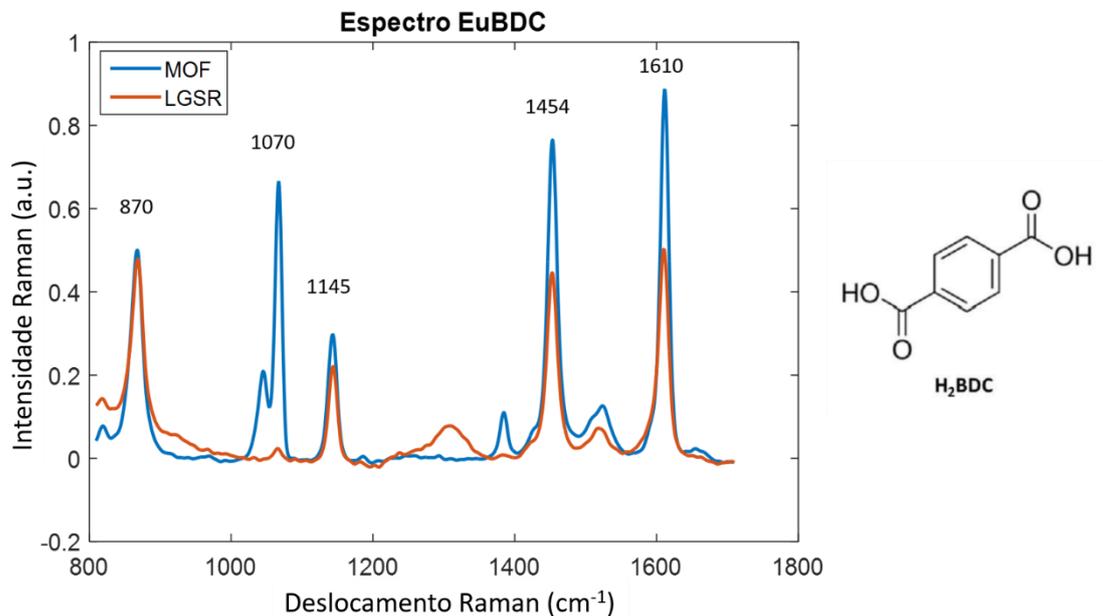
Para análise por Raman Ressonante, 39 amostras de LGSR, além dos espectros puros de cada MOF como referência, foram codificadas e entregues a quatro analistas, a fim de classificar visualmente cada amostra com um tipo de marcador luminescente. Dois desses analistas obtinham experiência na análise de espectros Raman, já os outros dois não tinham experiência. Além disso, a classificação foi feita de forma visual, sem nenhum recurso quimiométrico. Os quatro analistas não tinham informações sobre o tipo de marcador que estava presente nas amostras analisadas. Esse conjunto foi construído espectros vibrônicos (Raman Ressonante), das amostras de LGSR remanescentes utilizadas no mestrado. Em cada amostra, foi adquirido um espectro. Essas 39 amostras estão divididas da seguinte forma: 10 amostras contêm EuDPA, 21 contêm EuBDC e 8 contêm EuBTC.

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2.1 Espectroscopia Raman normal

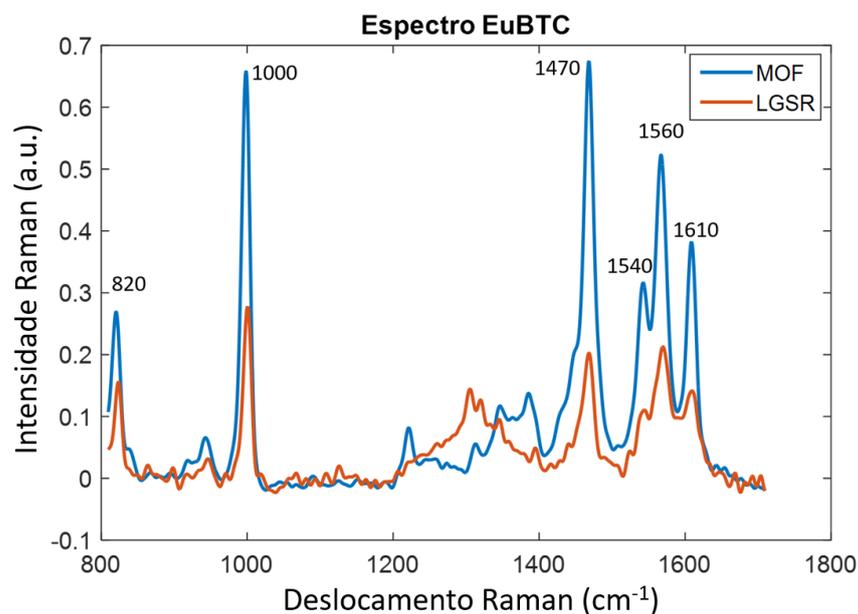
Os espectros dispostos nas Figuras 41, 42 e 43, correspondem aos espectros médios de todas as amostras de MOF e de seu LGSR. Os espectros foram normalizados e a linha de base corrigida. Além disso, as regiões que não apresentaram informações significativas, mas apenas ruído, foram retiradas. Assim, a região espectral entre 800 e 1700 cm^{-1} foi utilizada para caracterização das amostras.

Figura 41 - Espectros Raman do EuBDC obtidos pela média das amostras da MOF (marcador puro) e do LGSR contendo este marcador (após o disparo) e a estrutura molecular do ligante utilizado para produzir o marcador EuBDC.



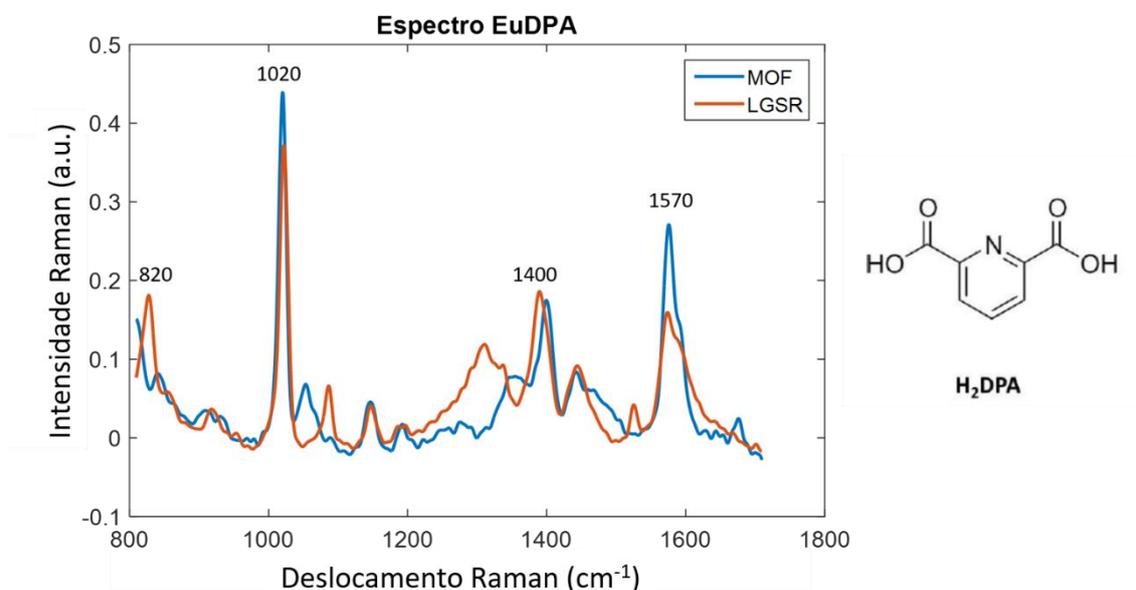
Fonte: A autora (2019).

Figura 42 - Espectros Raman do EuBTC obtidos pela média das amostras da MOF (marcador puro) e do LGSR contendo este marcador (após o disparo) e a estrutura molecular do ligante utilizado para produzir o marcador EuBTC.



Fonte: A autora (2019).

Figura 43 - Espectros Raman do EuDPA obtidos pela média das amostras da MOF (marcador puro) e do LGSR contendo este marcador (após o disparo) e a estrutura molecular do ligante utilizado para produzir o marcador EuDPA.



Fonte: A autora (2019).

Os três ligantes orgânicos utilizados nesse trabalho exibem estruturas semelhantes, e por isso, apresentam os mesmos modos vibracionais em algumas regiões dos seus espectros. Além disso, os picos referentes a anéis aromáticos são bastante intensos – o que faz com que os espectros do EuBTC e EuBDC sejam bastante parecidos. Percebe-se, portanto, a presença dos estiramentos simétricos e assimétricos do grupo COO^- , próximos de 1426 e 1560 cm^{-1} , respectivamente. Com a ausência das bandas do grupo carboxilato protonado, na região entre 1715 a 1680 cm^{-1} , pode-se entender que o Eu^{3+} foi complexado com os ligantes através dos grupos carboxílicos. O deslocamento dessas bandas em cada ligante é devido a coordenação com o íon Eu^{3+} . Observa-se também, a flexão fora do plano da ligação C-H do anel aromático, entre 800 e 900 cm^{-1} . A banda em 1610 cm^{-1} , presente apenas nos espectros de EuBDC e EuBTC, estão associadas com os modos de estiramento da ligação C=C do anel aromático. No EuBTC, a banda em 1000 cm^{-1} , também está associada ao estiramento da ligação C=C. No EuDPA as vibrações do anel são observadas em 1020 cm^{-1} (BIEMMI, E.; BEIN, T.; STOCK, 2006; BIEMMI, E.; DARGA, A.; STOCK; BEIN, 2008; CARMONA, 1980; HUANG, J.; XU, Y.; CHEN, X.; XU, D.; XU, Y.; HE, 2012; KUMARI, G.; PATIL, N. R.;

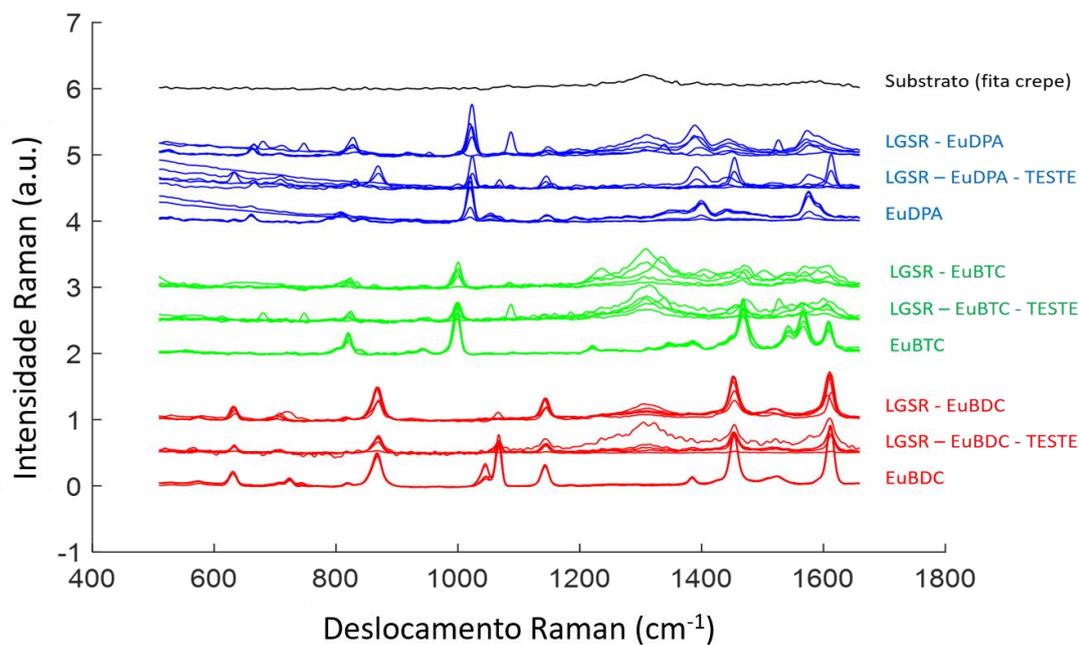
BHADRAM, V. S.; HALDAR, R.; BONAKALA, S.; MAJI, T. K.; NARAYANA, 2016; MAHALAKSHMI; BALACHANDRAN, 2014; MCCANN; LAANE, 2008; PRESTIPINO, C.; REGLI, L.; VITILLO, J. G.; BONINO, F.; DAMIN, A.; LAMBERTI, C.; ZECCHINA, A.; SOLARI, P. L.; KONGSHAUG, K. O.; BORDIGA, 2006; TAN, K.; NIJEM, N.; CANEPA; GONG, Q.; LI, J.; THONHAUSER; CHABAL, 2012; TÉLLEZ, C. A.; HOLLAUER, E.; MONDRAGON, M. A.; CASTAÑO, 2001). A região entre 1200-1400 cm^{-1} apresenta uma banda larga e pouco definida que corresponde ao sinal do substrato (fita crepe) como mostrado na Figura 44, mais adiante.

No espectro do EuBDC, observa-se que as bandas em 1070 e 1385 cm^{-1} estão presentes apenas nos espectros da MOF. Essas bandas correspondem ao estiramento do grupo C-O e ao acoplamento entre o estiramento C=C e flexão C=C-C, do anel aromático, respectivamente. A ausência dessas bandas pode estar indicando que o tipo de coordenação entre o íon Eu^{3+} e o ligante pode ter mudado, após o disparo, e assim a intensidade dessas vibrações tenham diminuído. Sabendo-se que o modo de coordenação do carboxilato ao metal pode ocorrer de diversas maneiras, e que não há presença do pico em 1670 cm^{-1} , referente a vibração do C=O, pode-se entender que houve mudança de coordenação entre os tipos de coordenação bidentado. (DEACON, G. B.; PHILLIPS, 1980; ZELENÁK; VARGOVÁ; GYÖRYOVÁ, 2007).

5.2.1.1 *Análise por Componentes Principais*

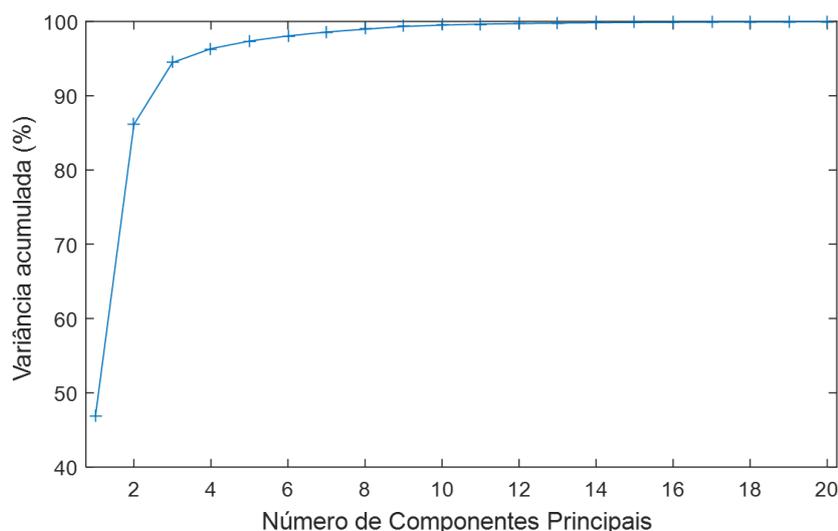
Inicialmente foi feita uma análise exploratória por PCA com os dados pré-processados com normalização e correção da linha de base. Essa análise foi feita utilizando um conjunto de 45 amostras, sendo 15 marcadores puros e 30 LGSR marcados dos quais 15 LGSR foram utilizados como conjunto teste e as demais amostras como conjunto de treinamento. Além disso, a região entre 1200 e 1400 cm^{-1} foi removida dos espectros por corresponder às informações do substrato (fita crepe) e poder causar uma variabilidade indesejada no conjunto de dados e dificultar a diferenciação dos LGSRs. A Figura 45 mostra os espectros médios das amostras e da fita crepe.

Figura 44 - Espectros pré processados das MOFs, LGSRs e o substrato fita crepe.



Fonte: A autora (2019).

A Figura 45 mostra a variância acumulada de cada componente principal. De acordo com esses resultados, a primeira componente principal (PC1) explica aproximadamente 45,23% da variância dos dados e a segunda componente (PC2) explica 36,80%, resultando num total de 82,03% da variância explicada. Portanto, é possível simplificar a análise concentrando-se apenas nas 2 primeiras PCs.

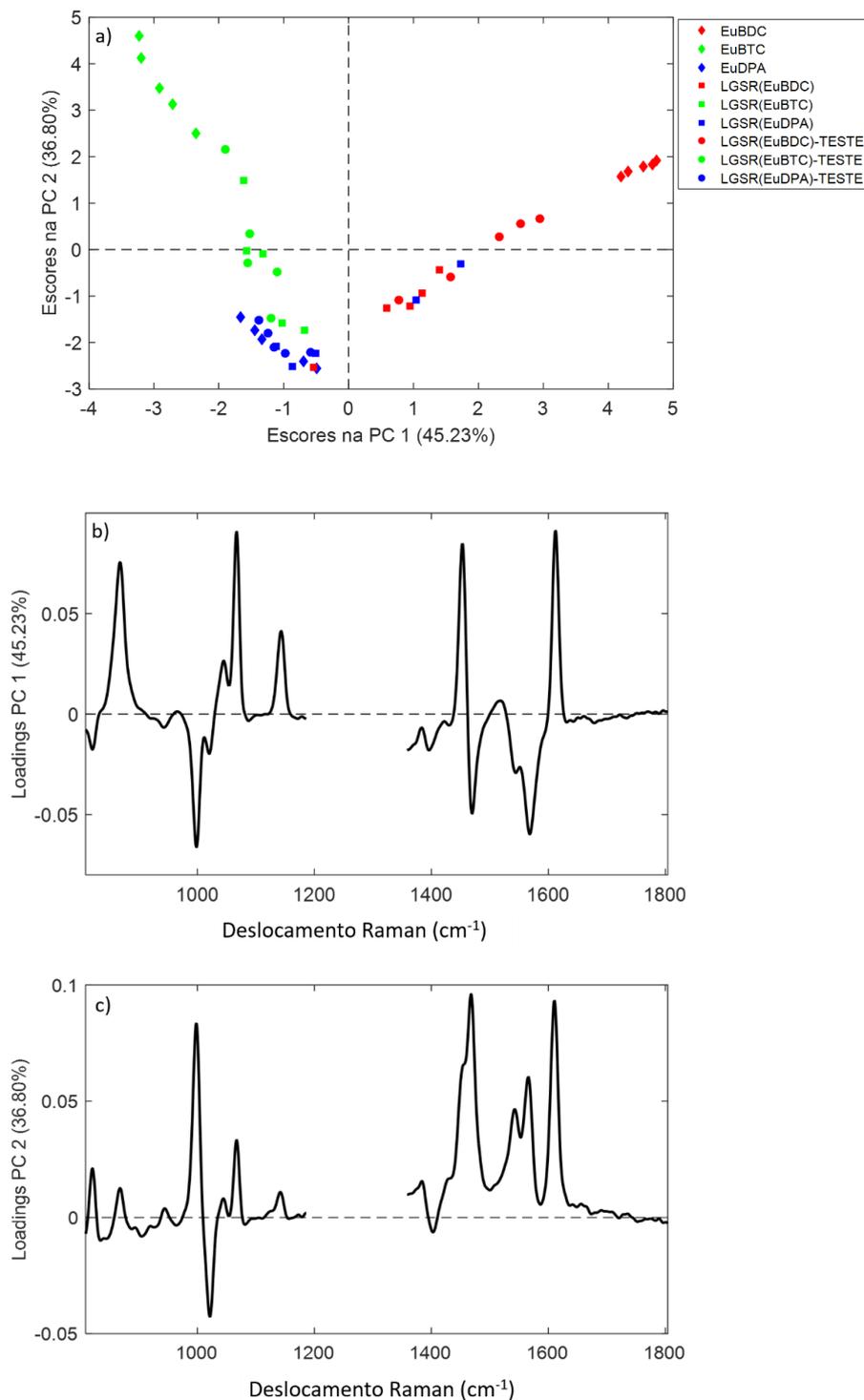
Figura 45 - Gráfico de variância acumulada.

Fonte: A autora (2019).

Na Figura 46a, é possível avaliar os escores do modelo da PCA, com a projeção em PC1 x PC2. Observa-se que há uma tendência ao agrupamento para os diferentes tipos de marcadores, contudo, tem-se uma dispersão entre as amostras de EuBDC e de EuBTC, indicando que a variabilidade entre as amostras de um mesmo marcador é maior que a variabilidade entre os tipos de marcadores. Quase todas as amostras (a exceção de uma) que contém o marcador EuBDC se localizaram em valores positivos da PC1 enquanto as demais amostras se localizaram em valores negativos da PC1 (a exceção de 2 amostras de LGSR contendo EuDPA). As variáveis responsáveis por essa separação são observadas no gráfico de *loadings* na PC1 (Figura 46b) e correspondem às bandas localizadas em 870, 1070, 1454 e 1610 cm^{-1} .

A PC2 é responsável pela diferença entre as amostras com o marcador EuBTC e as amostras com o marcador EuDPA, embora esta separação não seja muito nítida. As amostras contendo o marcador EuDPA se localizam em valores negativos de PC2, contudo 6 amostras contendo EuBTC se localizaram em valores negativos de PC2 causando confusão com EuDPA. Os picos responsáveis pela tendência à separação entre EuBTC e EuDPA são 1000, 1470 e 1610. A diferenciação entre os marcadores é dada, basicamente, pelo deslocamento das bandas referentes aos estiramentos simétricos do grupo carboxílico e pelos modos vibracionais do anel aromático.

Figura 46 - a) gráfico de escores PC1 x PC2, b) gráfico de loadings na PC1 e c) gráfico de loadings na PC2.



Fonte: A autora (2019).

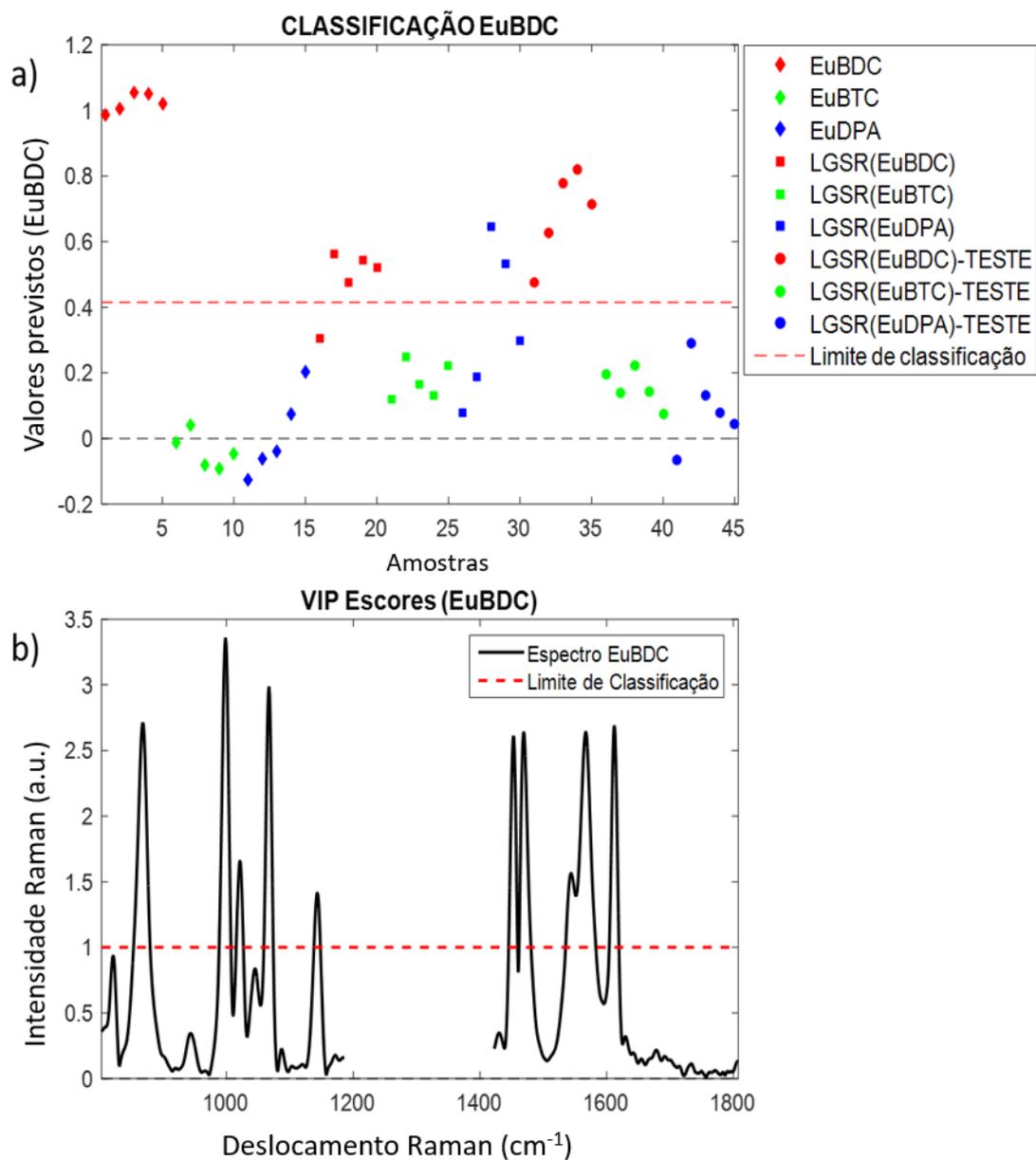
5.2.1.2 PLS-DA

A análise exploratória por PCA mostrou a possibilidade de distinguir as amostras de LGSR por tipo de marcador, contudo um certo grau de confusão foi observado. A fim de explorar as possibilidades de discriminação entre os marcadores e LGSR que os contenham foi utilizada uma técnica de classificação PLS-DA, para classificar as amostras de LGSR por tipo de marcador.

A Figura 47a mostra os resultados de classificação para o modelo das amostras com o marcador EuBDC. Observa-se que apenas uma amostra de LGSR do conjunto de treinamento não foi classificada corretamente. Os resultados para o modelo de classificação das amostras com o marcador EuBTC estão representados na Figura 48a. Neste modelo, percebe-se que apenas, uma amostra de LGSR do conjunto de teste, não foi classificada como EuBTC. Por fim, para o modelo construído para as amostras com o marcador EuDPA uma amostra de LGSR do conjunto de teste não foi classificada como EuDPA.

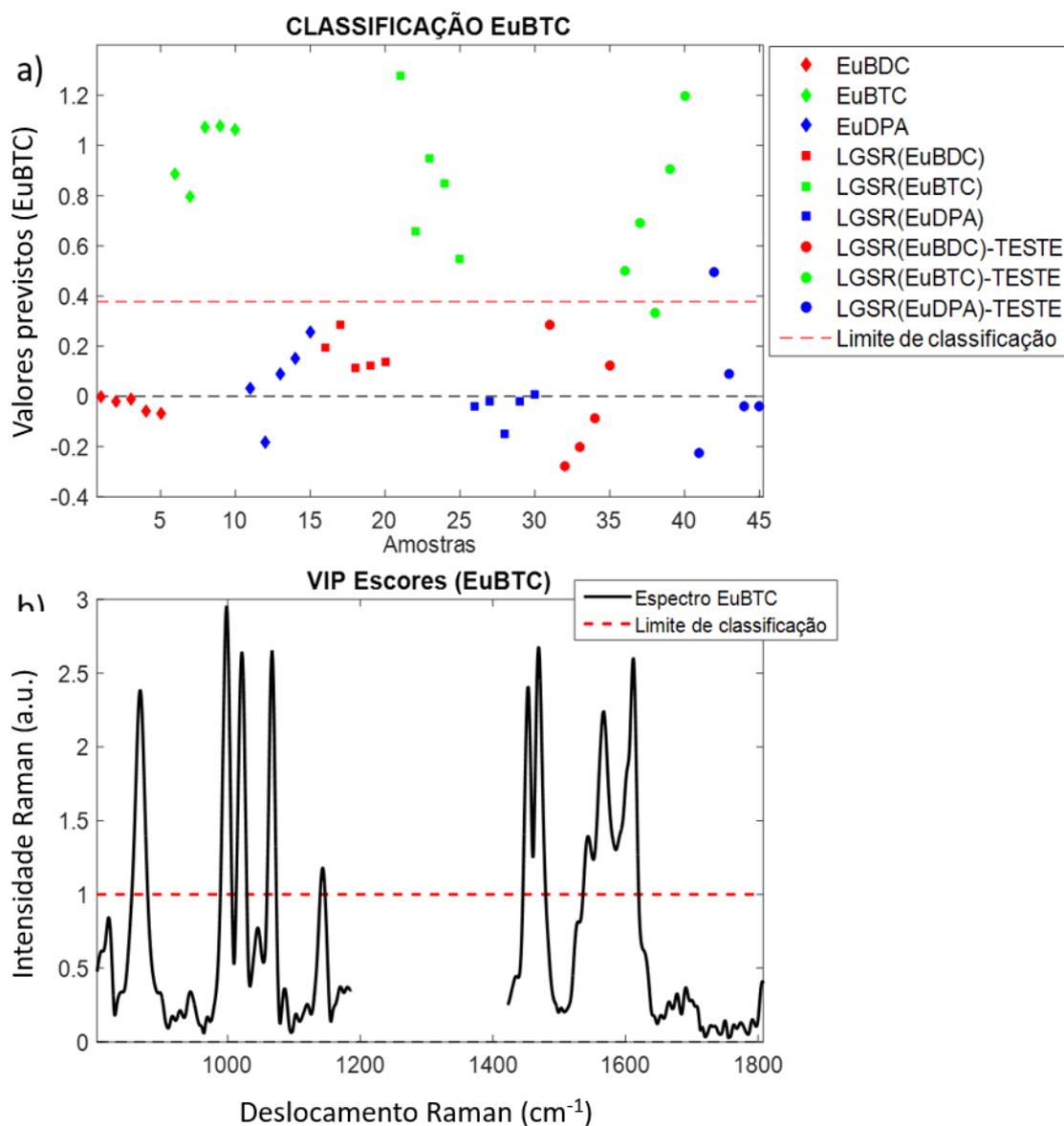
Percebe-se que em todos os gráficos de classificação feitos pelo modelo há uma mistura entre as classes dos marcadores. Para analisar os resultados obtidos na classificação, foi utilizado o gráfico que mostra as variáveis mais importantes para classificação chamado de VIP scores (Variable Importance in Projection, em inglês), como mostrado nas Figuras 47b, 48b e 49b. Para evitar a interferência dessa banda na classificação Foi removido a banda referente ao substrato ($1200 - 1400 \text{ cm}^{-1}$), pois esta banda está presente nas amostras de LGSR. Devido à proximidade em que as regiões vibracionais de cada MOF algumas amostras podem estar sendo classificadas de forma errônea e, assim, apresentando uma mistura entre as classes.

Figura 47 - a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuBDC.



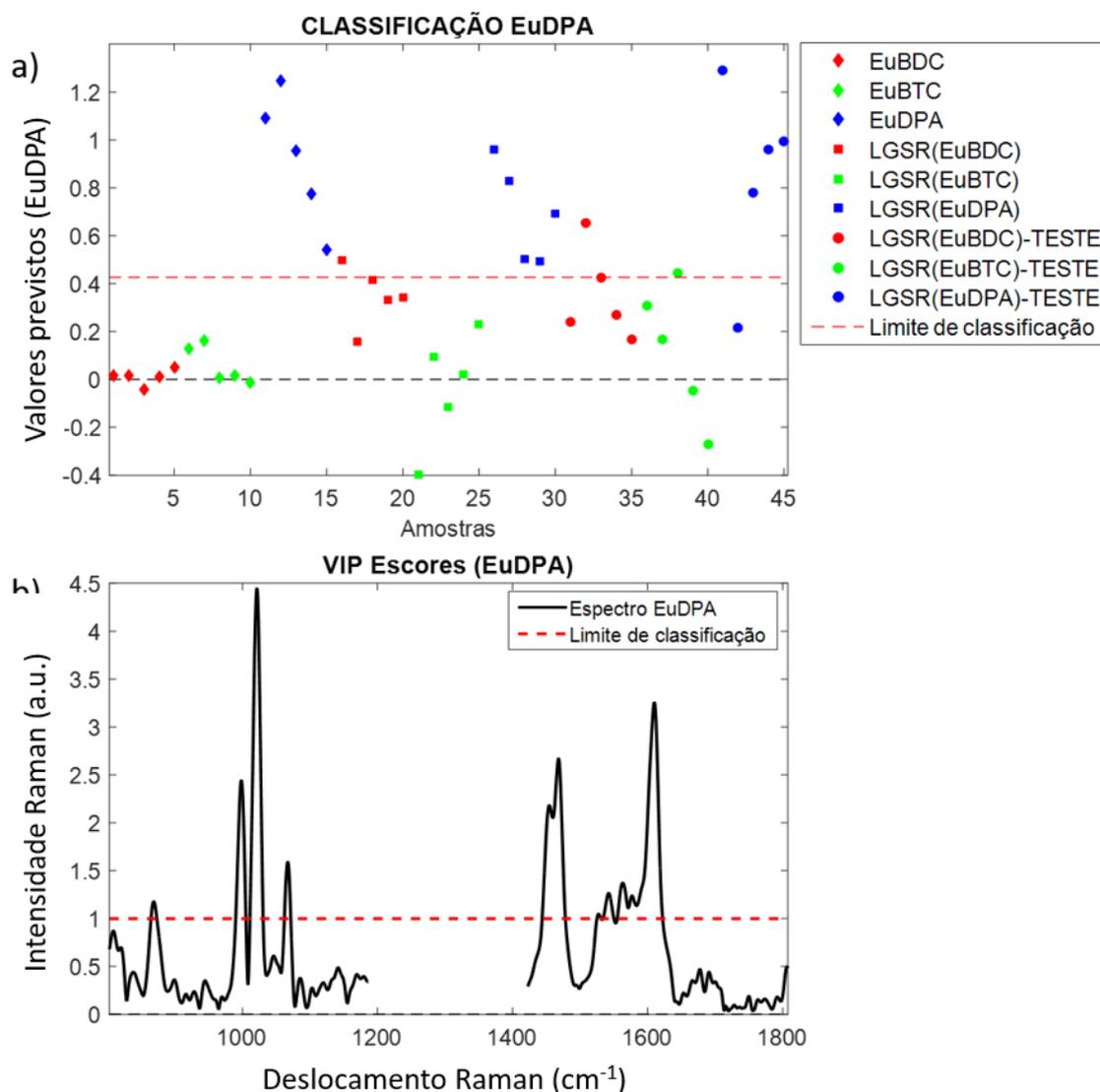
Fonte: A autora (2019).

Figura 48 - a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuBTC.



Fonte: A autora (2019).

Figura 49 - a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuDPA.



Fonte: A autora (2019).

Na tabela 5 estão apresentados os valores de sensibilidade (S) e especificidade (E) obtidos na classificação por PLS-DA, para o conjunto de treinamento (30 amostras) e o conjunto teste (15 amostras). Os valores esperados para esses parâmetros são valores próximos de 1, indicando que a maioria das amostras foram classificadas nas suas classes corretamente, como também não foram classificadas fora de sua classe.

Observa-se que tanto para o EuBDC, EuBTC e EuDPA a maioria das amostras de treinamento e de teste são classificadas dentro das suas classes corretamente, o que torna os valores de S e E mais próximos do esperado.

Entretanto, tem-se poucas amostras que não foram classificadas na classe à qual pertencem ou classificadas fora de sua classe. Esses resultados estão em concordância com a confusão observada nos resultados obtidos na PCA, o que faz com os valores de S e E diminuam.

Tabela 5: Resultados obtidos na PLS-DA para os espectros de Raman Normal.

MARCADOR	LV	TREINAMENTO		TESTE	
		S	E	S	E
EUBDC	3	0,90	0,95	1,00	0,90
EUBTC	3	1,00	1,00	0,80	0,90
EUDPA	3	1,00	0,90	0,80	0,90

Fonte: A autora (2019).

5.2.1.3 MCR-ALS

Procurando melhorar os resultados de classificação e distinção dos marcadores, foi usada a técnica de MCR-ALS. Nesse modelo utilizou-se como estimativas iniciais os espectros médios dos marcadores puros e um vetor randômico. Esse vetor foi utilizado a fim de recuperar uma quarta componente que não esteja sendo representada pelos picos das MOFs puras, mas que pode estar presente nos espectros de LGSR, como o substrato por exemplo. Com isso, para a construção do modelo, foram utilizados os espectros sem a retirada das bandas do substrato.

A possibilidade de conseguir resolver misturas faz com que o MCR-ALS, ao contrário do PLS-DA, consiga lidar melhor com outras substâncias presentes no espectro como as substâncias oriundas do substrato. Foram utilizadas restrições de não-negatividade para as concentrações e igualdade de concentração, o que determina que os perfis das concentrações das componentes sejam sempre positivos, constantes e igual a 1, representando a totalidade da concentração (CRUZ, J.; BAUTISTA, M.; AMIGO, J. M.; BLANCO,

2009). A matriz foi aumentada, com o objetivo de obter uma maior correlação entre o marcador puro e o LGSR que o contem e, assim, aumentar a probabilidade de diferenciação dos LGSR por tipo de marcador.

Os resultados obtidos por MCR-ALS apresentaram perfis de concentração para cada marcador assim como espectros recuperados e a sua similaridade com o espectro puro em cada marcador, mostrados na Figura 51 e Figura 52. Além disso, para a avaliação do modelo foram observados os valores de porcentagem de falta de ajuste (%LOF), a variância explicada (R^2) e o coeficiente de correlação entre o perfil do espectro recuperado com o perfil do espectro puro.

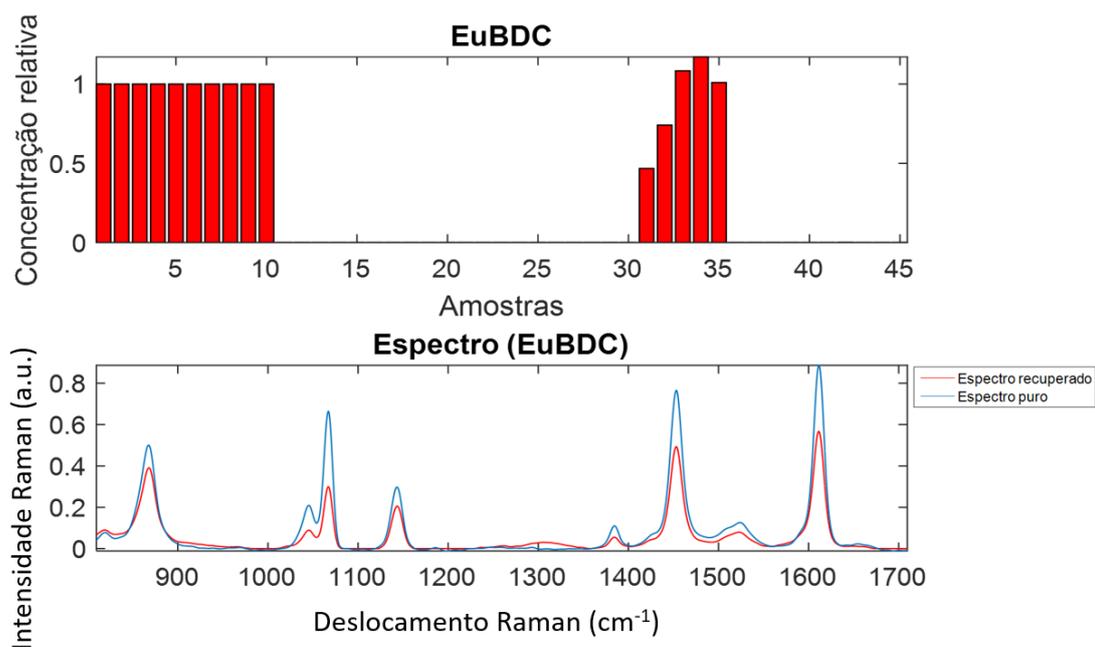
A decomposição do MCR-ALS apresentou 10% de LOF, 98,9% de R^2 e um coeficiente de correlação de 0,98, 0,97 e 0,75 entre os espectros recuperados e espectros puros de EuBDC, EuBTC e EuDPA, respectivamente, indicando resultados relevantes para o modelo. Os espectros recuperados para os marcadores EuBDC e EuBTC obtiveram uma boa correlação com seu espectro puro, obtendo um valor próximo de 1, como desejado. Isto indica que o MCR-ALS recuperou apenas as informações referentes aos marcadores EuBDC e EuBTC e que, mesmo recuperando bandas referentes ao substrato (região de 1300 cm^{-1}), o MCR-ALS obteve uma boa correlação com os espectros puros. Para as amostras contendo EuDPA, o espectro recuperado apresentou baixa correlação com o seu espectro puro (coeficiente de correlação = 0,75), em detrimento da alta variabilidade dos espectros deste marcador.

Os resultados dos perfis de concentração para as amostras contendo os marcadores EuBDC, EuBTC e EuDPA estão dispostos nos gráficos de barras (Figura 50a, 51a e 52a), nos quais tem-se a concentração relativa por amostra para cada marcador. As amostras nos intervalos entre 1 a 10 e 31 a 35 são referentes ao EuBDC, as amostras no intervalo entre 11 a 20 e 36 a 40 são referentes ao EuBTC e as amostras no intervalo de 21 a 30 e 41 a 45 são referentes ao EuDPA.

As amostras contendo os marcadores EuBDC foram identificadas corretamente, como era esperado devido ao bom coeficiente de correlação

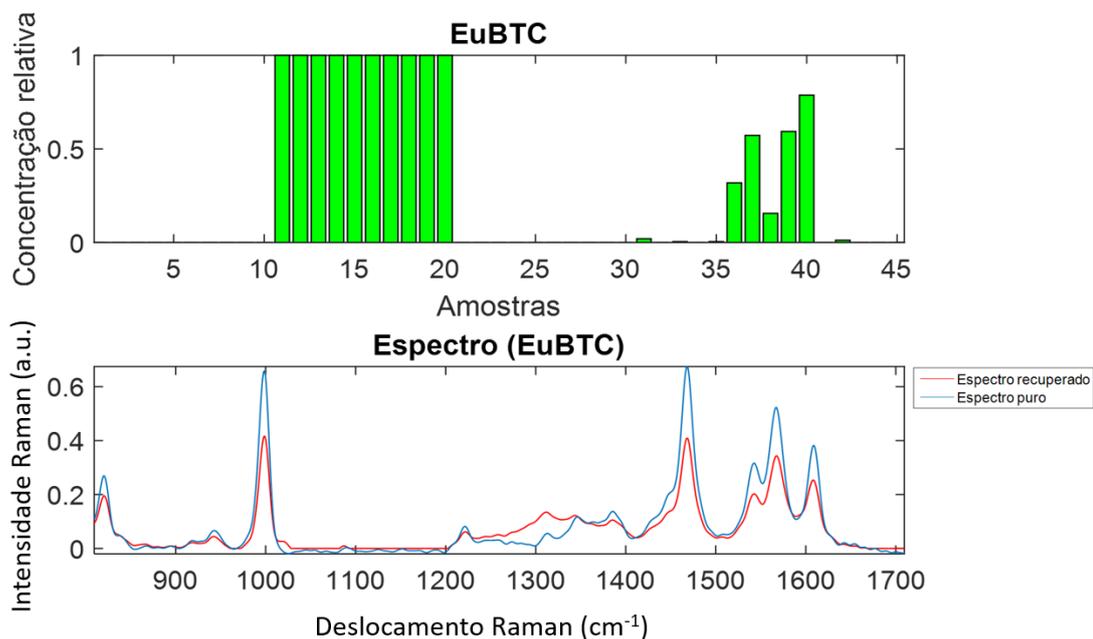
obtido nos espectros recuperados. Para as amostras com EuBTC, observa-se uma pequena confusão com amostras de EuBDC e EuDPA. Mesmo com uma boa recuperação espectral, o espectro de EuBTC apresenta uma variabilidade na região entre 1200 e 1400 cm^{-1} , que pode estar relacionada as variáveis da fita crepe, e assim diminuindo a correlação entre os espectros o que dificultou a identificação das amostras. Já os espectros recuperados de EuDPA apresentaram baixa correlação mostrando que há uma variabilidade entre seus espectros e assim fazendo confusão entre amostras de EuDPA e os demais marcadores. Através da Figura 53 observa-se que o modelo não recupera um perfil de uma nova componente, indicando que as variáveis utilizadas foram as variáveis dos componentes das amostras puras.

Figura 50 - a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuBDC e b) o espectro de EuBDC recuperado pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e o espectro da MOF pura (linha azul).



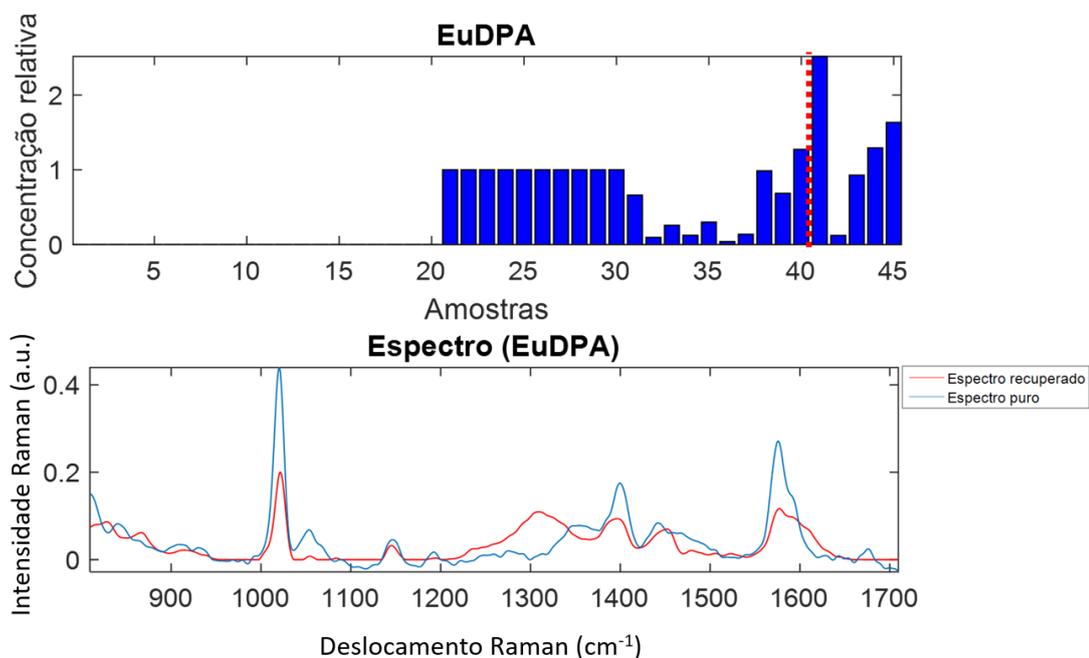
Fonte: A autora (2019).

Figura 51 - a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuBTC e b) o espectro de EuBTC recuperado pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e o espectro da MOF pura (linha azul).



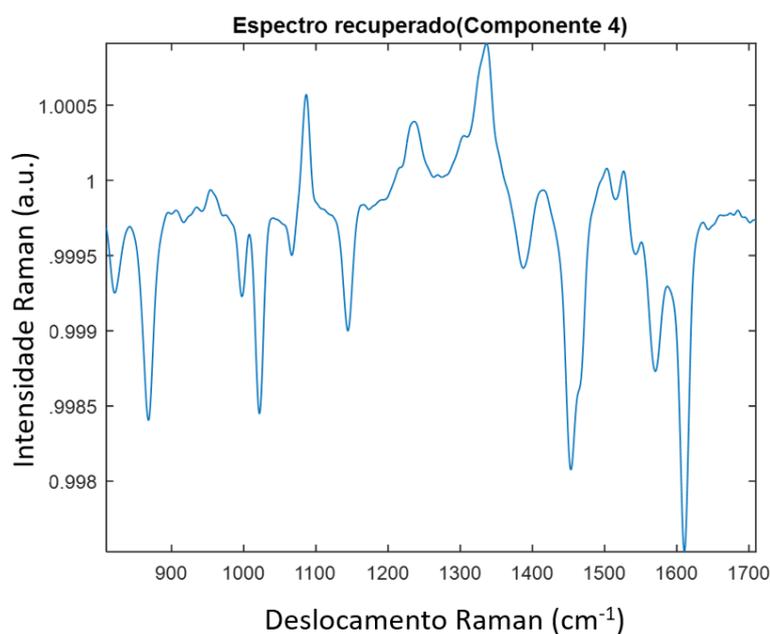
Fonte: A autora (2019).

Figura 52 - a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuDPA e b) o espectro de EuDPA recuperado pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e o espectro da MOF pura (linha azul).



Fonte: A autora (2019).

Figura 53 - Espectro recuperado por MCR-ALS do quatro componente.

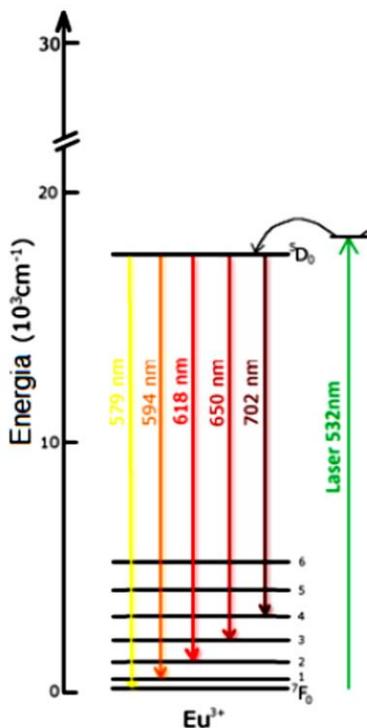


Fonte: A autora (2019).

5.2.2 Espectroscopia Raman Ressonante

A utilização do efeito do Raman Ressonante, além de aumentar a intensidade dos sinais Raman, fornece informações sobre a estrutura eletrônica do sistema, devido à aproximação entre a energia do nível emissor do íon Eu^{3+} e a energia do laser (Figura 54). Para fins forense, existe a vantagem de se obter o espectro de emissão do Eu^{3+} com a infraestrutura disponível (dado que é comum se dispor de espectrômetros Raman mas bastante raro se ter um espectrofluorímetro em laboratórios forense). O espectro obtido apresenta, tipicamente, o mesmo perfil do espectro de emissão do íon Eu^{3+} adquirido por um espectrofluorímetro, com excelente relação sinal ruído, visto que a contribuição vibracional tem intensidade muito baixa.

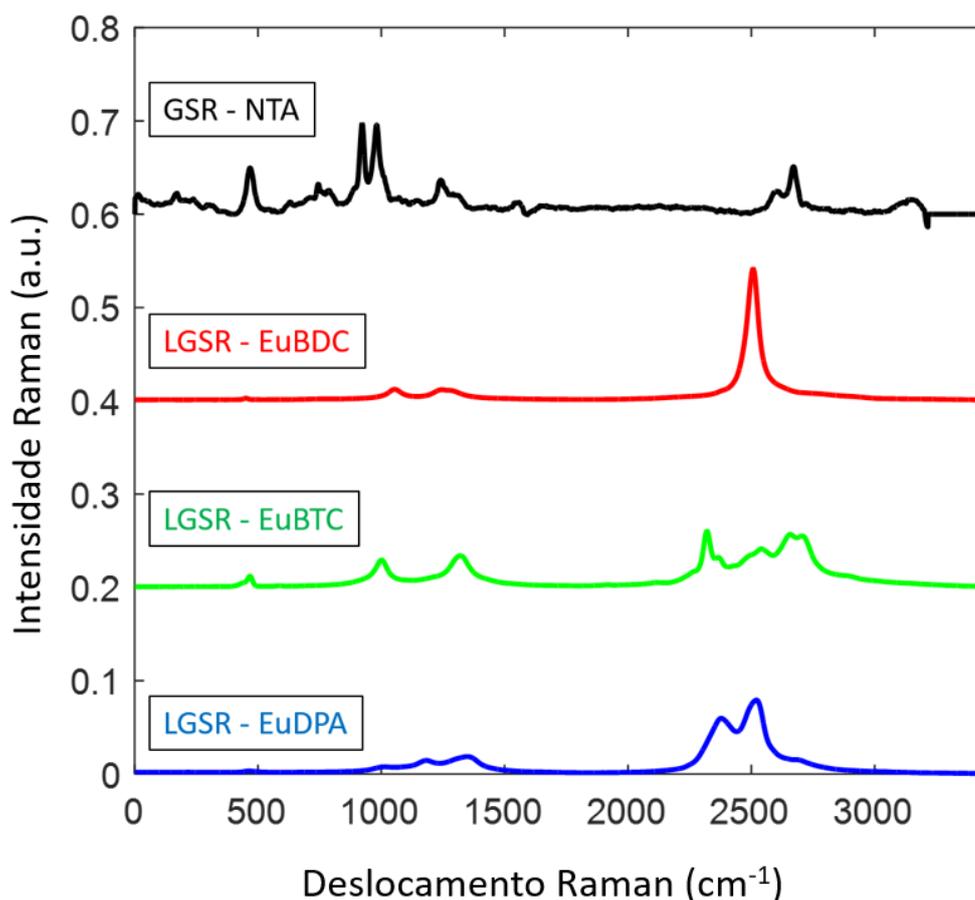
Figura 54 - Esquema representativo das transições observadas no espectro de Raman Ressonante para as amostras contendo Eu^{3+} após excitação com um laser de comprimento de onda 532 nm.



Fonte: Adaptado de Lucena, (2016).

A Figura 55 apresenta os espectros típicos de GSR (obtido sobre partícula acobreada) e de LGSR (partículas esbranquiçadas). Observa-se que os sinais do GSR não se sobrepõem aos principais picos dos marcadores. Esse resultado é importante pois diminui a interferência do GSR na caracterização e diferenciação dos marcadores. Contudo, nem sempre é possível observar estas partículas através do microscópio devido ao seu tamanho e com isso os espectros adquiridos são, muitas vezes, uma combinação dos espectros do marcador com o GSR, o que pode dificultar a análise, principalmente visual.

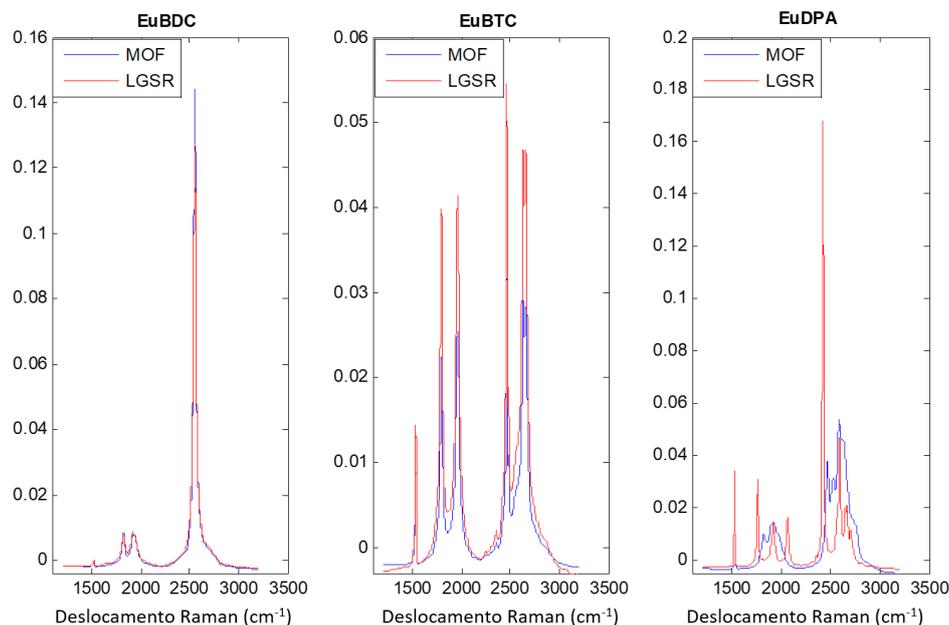
Figura 55 - Espectros normalizados a partir do Raman Ressonante para as amostras de GSR NTA (linha preta) e LGSR do marcador EuBDC (linha vermelha), EuBTC (linha verde) e EuDPA (linha azul).



Fonte: A autora (2019).

Na Figura 56, ao comparar o espectro da MOF (marcador puro – linha azul) e do LGSR correspondente (linha vermelha), percebe-se que o perfil espectral das amostras contendo EuBDC e EuBTC apresentam uma boa coerência entre eles. Contudo, nas amostras contendo EuDPA observa-se uma mudança significativa no perfil espectral. Essa mudança pode estar associada à baixa reprodutibilidade na síntese, estudada em trabalhos anteriores, em decorrência das diferentes fases que podem ser formadas na síntese desse marcador (AROUCA, 2016; TALHARI, 2017). Além disso, pode ter ocorrido que esse marcador tenha sofrido mudança estrutural no processo de combustão da pólvora. Contudo, mesmo havendo mudança no perfil do EuDPA-LGSR, ele continua apresentando luminescência intensa na região do vermelho, mostrando que este composto não perde suas características luminescentes.

Figura 56 - Espectros Raman Ressonante adquiridos de três amostras contendo EuBDC, EuBTC e EuDPA puros e seus respectivos LGSR. Espectros pré-processados com normalização e correção de linha de base.



Fonte: A autora (2019).

Os espectros Raman geralmente são apresentados em número de onda relativo, considerando-se que o espalhamento Rayleigh seja o zero da escala de número de onda. Os espectros de emissão, por outro lado, são comumente apresentados em termos de comprimento de onda. Para facilitar a comparação entre os dois espectros, foi feita a conversão descrita nas equações abaixo (LUCENA, 2016). É importante lembrar que o zero da escala de números de onda (ou o Rayleigh) corresponde a frequência do laser utilizado, nesse caso 532nm (18787 cm^{-1}). Sabendo-se que o comprimento de onda é inversamente proporcional a frequência (equação 17), e que a frequência de onda absoluta pode ser calculada como sendo a frequência de onda do laser menos a frequência de onda relativa (equação 18), é possível chegar ao cálculo do comprimento de onda absoluto (equação 20) utilizando as substituições necessárias (equação 19).

$$\lambda_{abs} = \frac{1}{\nu_{abs}}, \quad \text{Equação 12}$$

$$\nu_{abs} = \nu_l - \nu_{rel}, \quad \text{Equação 13}$$

$$\frac{1}{\lambda_{abs}} = \frac{1}{\lambda_l} - \nu_{rel}, \quad \text{Equação 14}$$

$$\lambda_{abs} = \frac{1}{\frac{1}{\lambda_l} - \nu_{rel}}, \quad \text{Equação 15}$$

Nas quais,

ν_{abs} : Número de onda absoluta;

ν_l : Número de onda do laser;

ν_{rel} : Número de onda relativa;

λ_{abs} : comprimento de onda absoluto;

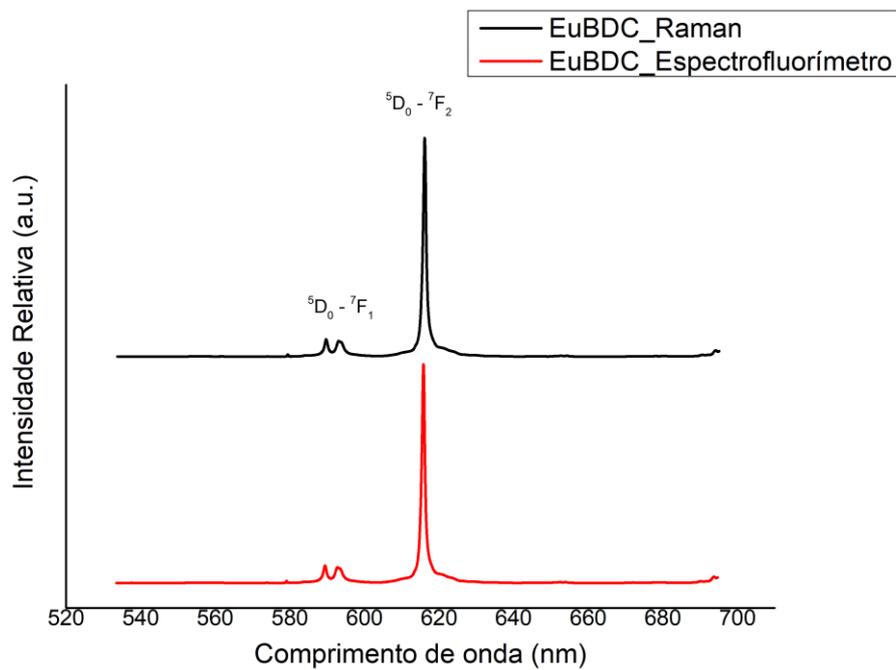
λ_l : comprimento de onda do laser;

Nas Figuras 57, 58 e 59 pode-se observar a presença das transições eletrônicas características do íon Eu^{3+} quando comparado com os espectros de emissão obtidos no espectrofluorímetro. Esses espectros são referentes às amostras puras dos 3 diferentes marcadores (EuBTC, EuBDC e EuDPA). A transição ${}^5\text{D}_0\text{-}{}^7\text{F}_2$, que apresenta uma maior intensidade, é responsável pela luminescência na região do vermelho. A diferença básica entre os dois espectros é observada por uma melhora na resolução dos espectros obtidos por Raman Ressonante, devido ao seu aumento na seção de choque (RIBEIRO; SANTOS, 1992; SKOOG, D.; CROUCH; HOLLER, F. J.; ANZURES, 2008). Além disso, ao comparar os dois perfis espectrais da amostra de EuDPA, observa-se uma diferença entre eles, a qual pode estar atrelada, as modificações estruturais ocorridas em virtude da síntese. O estudo realizado por Caroline Carneiro, na sua dissertação (CARNEIRO, 2019), mostrou que essa MOF tem uma síntese relativamente pouco reprodutível e variações são esperadas de uma síntese para outra.

Nas amostras de EuBTC e EuDPA foi observado, no espectro Raman, uma multiplicidade maior do que o obtido no espectrofluorímetro para a transição ${}^5\text{D}_0\text{-}{}^7\text{F}_0$. De acordo com a regra de seleção $(2J + 1)$ só seria permitido a existência de um pico para essa transição. Portanto os dois picos, mostrados nessa região, indica que os íons Eu^{3+} podem estar em sítios de ambientes químicos diferentes. A transição ${}^5\text{D}_0\text{-}{}^7\text{F}_4$ não foi mostrada porque essa banda encontra-se em uma região (680-710nm) fora do alcance do

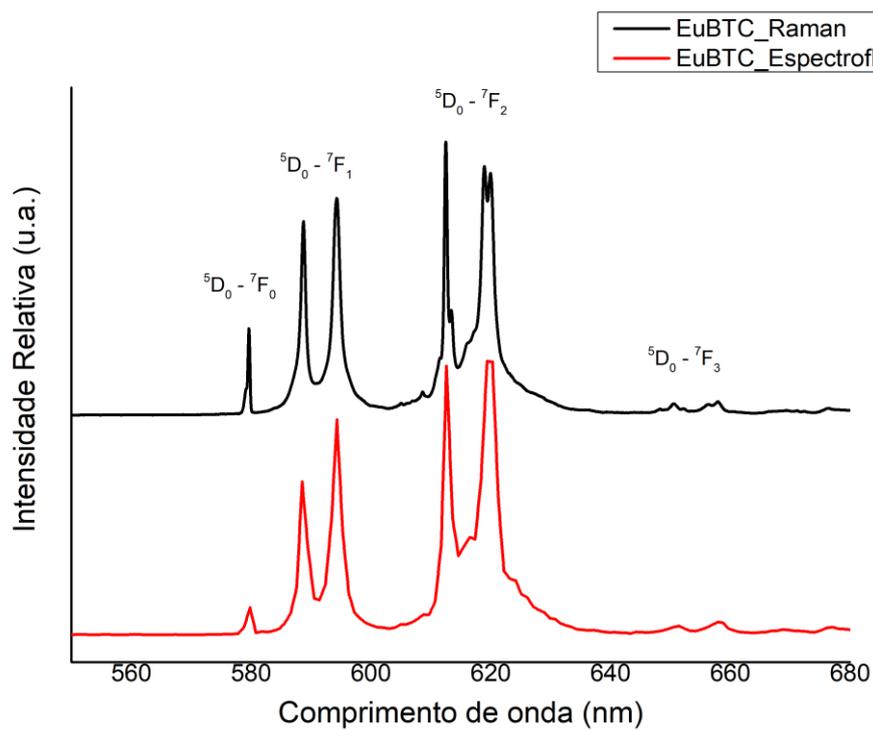
espectrômetro Raman utilizado (limite espectral 675nm) (BINNEMANS, K.; HERCK, 1997; BINNEMANS, 2015; TANNER, 2013).

Figura 57 - Espectros de emissão obtido por espectroscopia Raman ressonante (preto), e por espectroscopia emissão “convencional” (vermelho) da amostra EuBDC.



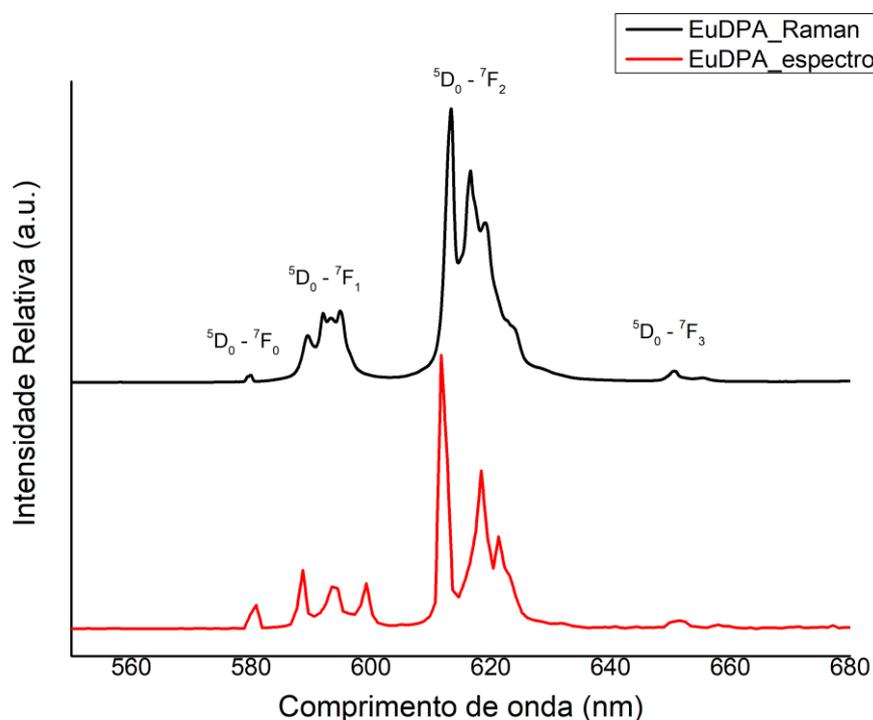
Fonte: A autora (2019).

Figura 58 - Espectros de emissão obtido por espectroscopia Raman ressonante (preto), e por espectroscopia emissão “convencional” (vermelho) da amostra EuBTC.



Fonte: A autora (2019).

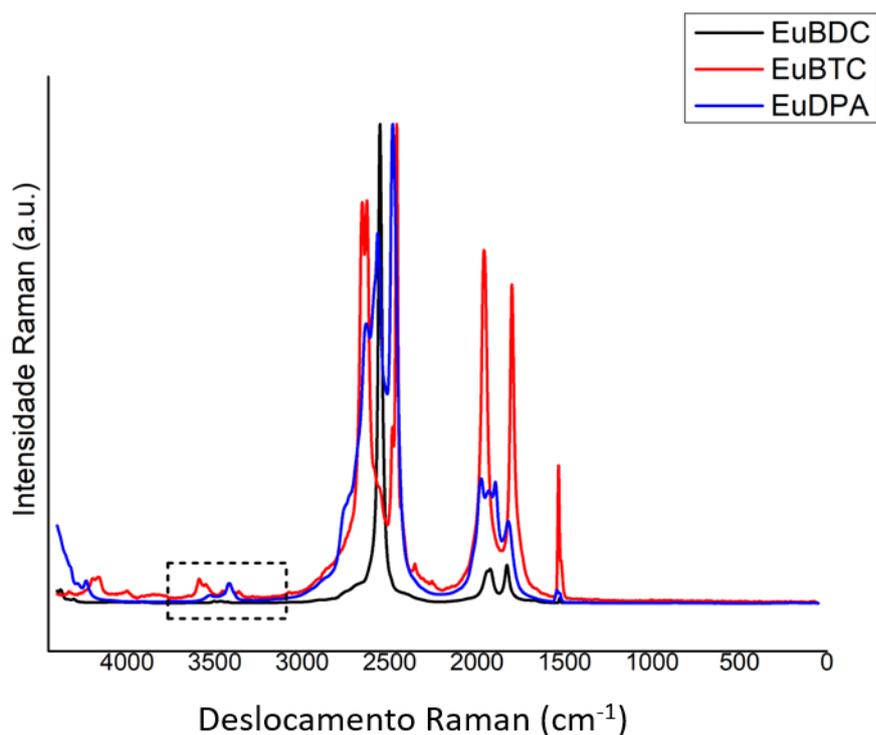
Figura 59 - Espectros de emissão obtido por espectroscopia Raman ressonante (preto), e por espectroscopia emissão “convencional” (vermelho) da amostra EuDPA.



Fonte: A autora (2019).

Em virtude da característica vibrônica do Raman Ressonante, é possível observar, também, alguns picos referentes às transições vibracionais, mesmo com baixa intensidade. Nos espectros, observa-se as bandas atribuídas as vibrações das ligações O-H entre 3400 a 3600 cm^{-1} , como indicada na Figura 60. Para o EuBTC essas bandas são referentes a presença de água na esfera de coordenação da estrutura (LIU, K.; YOU, H.; ZHENG; JIA, G.; ZHANG, L.; HUANG, Y.; YANG, M.; SONG, Y.; ZHANG, 2009; QU, Y.; KE, Y.; LU, S.; FAN; PAN, G.; LI, 2005) e para EuDPA a presença dessas vibrações é referente ao ligante protonado na estrutura (HDPA) (RODRIGUES, M. O.; BRITO-SILVA, A. M.; JÚNIOR, S. A.; SIMONE, C. A. DE; ARAÚJO, A. A. S.; CARVALHO, P. H. V. DE; SANTOS, S. C. G.; ARAGÃO, K. A. S.; FREIRE; MESQUITA, 2009).

Figura 60 - Espectro Raman ressonante dos marcadores EuBDC (linha preta), EuBTC (linha vermelha) e EuDPA (linha azul).



Fonte: A autora (2019).

É importante destacar que os espectros de emissão das MOFs puras, adquiridas tanto por Raman Ressonante quanto pelo fluorímetro, apresentam perfis bastante distintos entre si. Esta diferença sugere certa facilidade em classificar o LGSR em função do espectro RR (ou de emissão).

5.2.2.1 *Teste cego*

A primeira parte do trabalho foi avaliar a possibilidade de distinção de LGSR contendo os diferentes marcadores, por meio de uma análise visual dos espectros de emissão obtidos por Raman Ressonante. Para tal, foi utilizado um conjunto com 39 amostras de LGSR das quais foi adquirido um espectro por amostra. Em seguida, as amostras codificadas e os espectros foram entregues para 4 analistas, os quais receberam também o espectro das MOFs puras como referência. Dois destes analistas tem experiência em espectroscopia Raman (III e IV), enquanto que os outros dois não tinham praticamente

nenhuma experiência (I e II). O analista III foi o único a não identificar as amostras que ele não tinha certeza da resposta. Na tabela 6 estão dispostos os resultados das identificações de todos os analistas e a resposta correta para cada amostra. As amostras que os analistas não identificaram foram marcadas com X, as amostras identificadas de forma errada foram marcadas de vermelho e as amostras que foram identificadas corretamente estão em negrito.

Tabela 6: Resultado das respostas de cada analista para cada amostra de LGSR através do espectro de emissão por Raman Ressonante. Na última coluna a resposta do marcador verdadeiro.

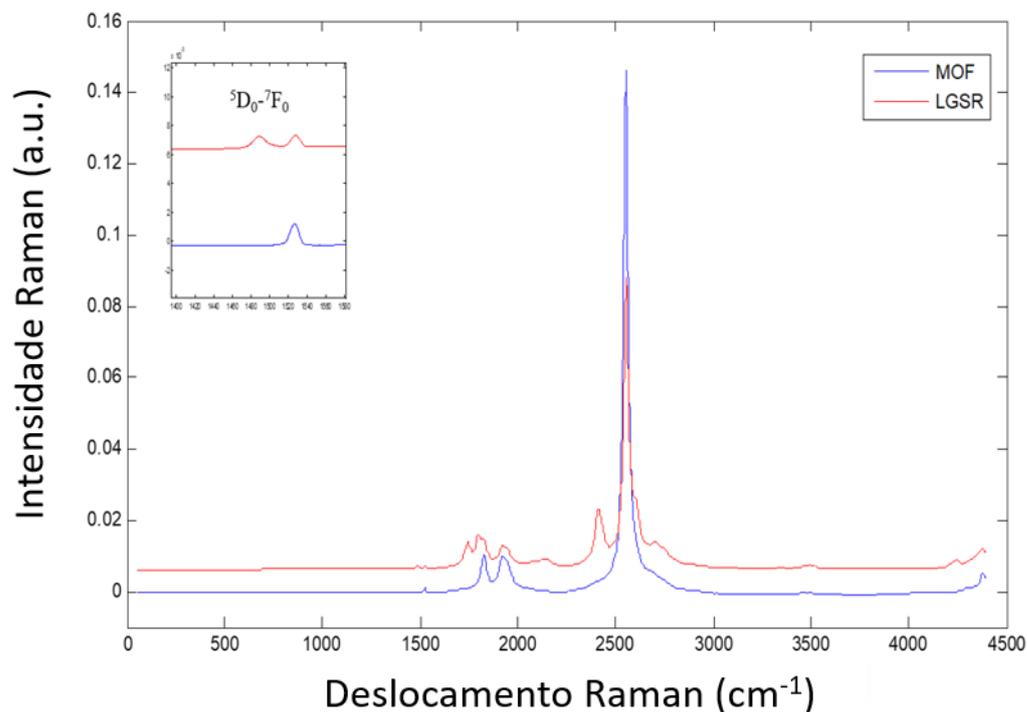
AMOSTRA	ANALISTA I	ANALISTA II	ANALISTA III	ANALISTA IV	MARCADOR CONTIDO NO LGSR
<i>M1</i>	<i>BTC/DPA</i>	<i>DPA</i>	<i>X</i>	<i>DPA</i>	<i>BDC</i>
M4	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M6	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M7	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M9	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M11	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M13	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M20	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M21	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M22	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M23	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M25	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M28	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M29	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M30	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M31	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M32	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M33	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M34	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M36	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M38	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M39	BDC	BDC	BDC	BDC	BDC
M8	BTC	BTC	BTC	BTC	BTC
M12	BTC	BTC	BTC	BTC	BTC
M14	BTC	BTC	BTC	BTC	BTC
M16	BTC	BTC	BTC	BTC	BTC
M26	BTC	BTC	BTC	BTC	BTC
M27	BTC	BTC	BTC	BTC	BTC

M35	BTC	BTC	BTC	BTC	BTC
<i>M2</i>	<i>BTC/DPA</i>	<i>DPA</i>	<i>X</i>	<i>DPA</i>	<i>DPA</i>
<i>M3</i>	<i>BTC/DPA</i>	<i>DPA</i>	<i>X</i>	<i>DPA</i>	<i>DPA</i>
<i>M5</i>	<i>BTC/DPA</i>	<i>DPA</i>	<i>X</i>	<i>DPA</i>	<i>DPA</i>
<i>M10</i>	<i>BTC/DPA</i>	<i>DPA</i>	<i>X</i>	<i>BTC/DPA</i>	<i>DPA</i>
<i>M15</i>	<i>BTC</i>	<i>BTC</i>	<i>X</i>	<i>BTC/DPA</i>	<i>DPA</i>
<i>M17</i>	<i>BTC/DPA</i>	<i>DPA</i>	<i>X</i>	<i>BTC</i>	<i>DPA</i>
<i>M18</i>	<i>BTC</i>	<i>BTC</i>	<i>X</i>	<i>DPA</i>	<i>DPA</i>
<i>M19</i>	<i>BTC</i>	<i>DPA</i>	<i>X</i>	<i>BTC</i>	<i>DPA</i>
<i>M24</i>	<i>BTC/DPA</i>	<i>DPA</i>	<i>X</i>	<i>DPA</i>	<i>DPA</i>
<i>M37</i>	<i>BTC</i>	<i>DPA</i>	<i>BTC</i>	<i>DPA</i>	<i>DPA</i>

Fonte: A autora (2019).

A partir dos resultados mostrados na tabela 6 é possível observar que das amostras contendo EuBDC e EuBTC apenas uma (M1) foi identificada incorretamente por todos os analistas. Todas as demais amostras foram corretamente identificadas pelos 4 analistas, levando a um percentual de acerto de 95,5% para as munições contendo EuBDC e 100% para as munições contendo EuBTC. Na amostra M1 que continha LGSR de EuBDC, ao comparar seu espectro com o do EuBDC puro, na Figura 61, percebe-se que a mudança no perfil espectral pode ser resultado da mistura de compostos com fases diferentes, pois há um aumento da multiplicidade nos picos em todas as transições. Levando em consideração que a síntese dos marcadores não foi feita em uma única batelada.

Figura 61 - Espectros Raman Ressonante da amostra M1 (vermelha) e espectro do EuBDC puro (azul).



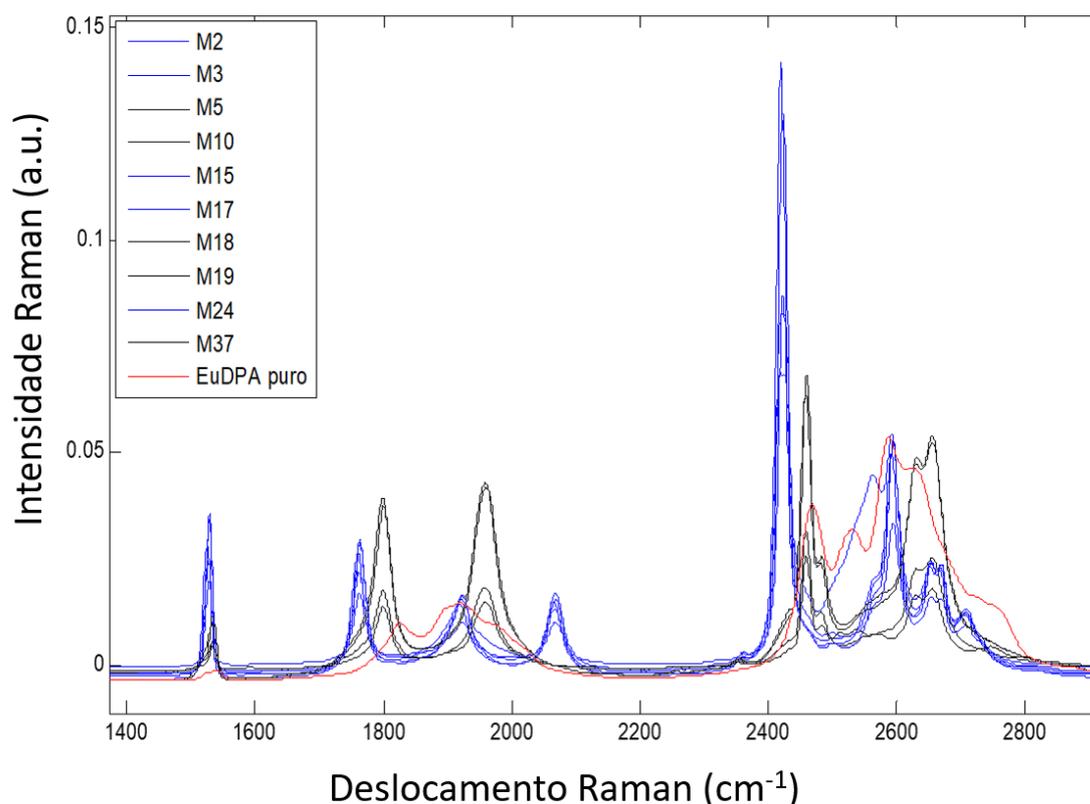
Fonte: A autora (2019).

Nas amostras com EuDPA foi observada uma alta frequência de erros na identificação do marcador. De 10 amostras analisadas nenhuma foi corretamente identificada pelos analistas. A porcentagem de acerto por analista é: o analista II obteve 80% de acerto e o analista IV obteve 60% de acerto. O analista III não classificou 9 amostras e uma foi classificada errada, levando a 0% de acerto. O analista I teve dúvida em 6 amostras e 4 classificou errado, levando a 0% de acerto também. Levando em consideração uma situação real, uma não classificação pode gerar laudos inconclusivos necessitando de uma investigação mais profunda, isso dará mais credibilidade e confiança ao trabalho. Estes erros de identificação deram-se pelo fato de que o perfil espectral de todas amostras de LGSr de EuDPA possuíam perfis diferentes em comparação ao perfil da MOF pura.

Ao analisar as amostras de LGSr - EuDPA é possível observar dois perfis espectrais. As amostras M2, M3, M15, M17 e M24 (espectros em azul) apresentaram o mesmo perfil espectral entre si e as amostras M5, M10, M18, M19 e M37 (espectros em preto) apresentam o mesmo perfil espectral entre si,

mas diferente das outras amostras (Figura 62) e da referência (EuDPA puro). Uma das possibilidades dessas mudanças espectrais pode estar relacionada com a baixa repetibilidade da síntese do EuDPA, que foi observada por Caroline Carneiro (CARNEIRO, 2019). Carneiro (2019) observou, também, que a MOF EuDPA passa por modificações estruturais durante o disparo o que torna difícil a identificação correta do LGSR que a contém.

Figura 62 - Espectros de LGSR EuDPA das amostras analisadas no teste cego (preto e azul) e espectro da MOF pura (vermelho).



Fonte: A autora (2019).

O resultado do teste cego mostrou que é possível identificar e diferenciar LGSR que contenham os marcadores EuBDC e EuBTC por meio de uma análise visual do espectro Raman e que não é necessário que o analista tenha familiaridade com a espectroscopia Raman para fazer essa avaliação. Esses resultados sugerem que seria possível fazer uma marcação seletiva (codificação) em munições usando esses marcadores para uso em larga escala por peritos. Contudo, a baixa reprodutibilidade de síntese bem como as

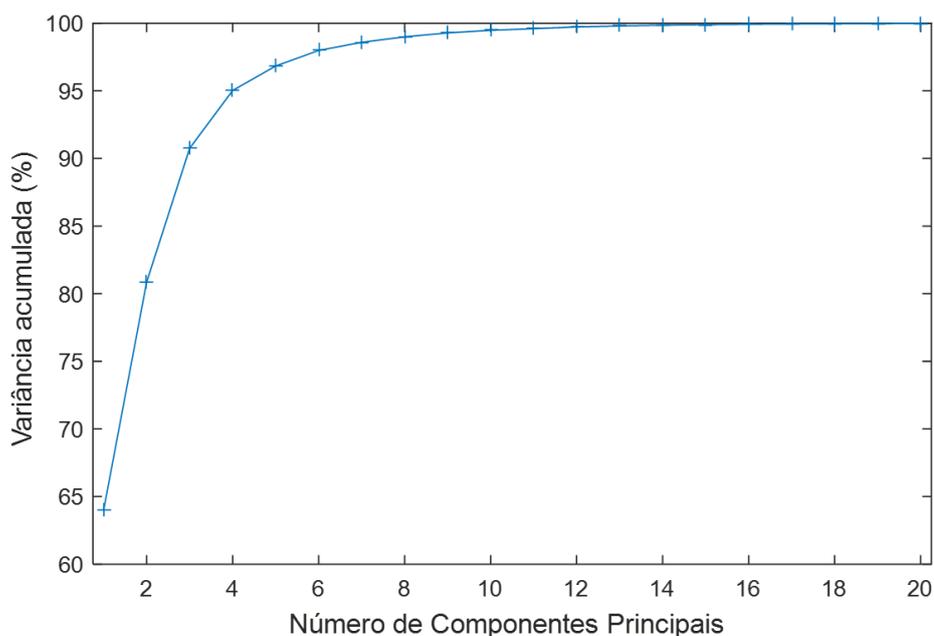
pequenas mudanças estruturais do EuDPA durante o disparo faz que com este marcador não seja adequado para este tipo de aplicação.

Além das análises visuais realizadas por diferentes analistas, foram feitos tratamentos quimiométricos com os espectros Raman ressonante no sentido de identificar os LGSR em função do marcador contido. O objetivo dessa etapa foi propor modelos de análise menos subjetivos que também possam vir a ser incorporados à rotina pericial. Para tal, foram testados métodos quimiométricos como PCA, PLS-DA e MCR-ALS.

5.2.2.2 *Análise por Componentes Principais*

Após o pré-processamento dos espectros, foi feita uma PCA com essas amostras. A variância acumulada de cada componente principal está disposta na Figura 63. De acordo os resultados, a PC1 explica aproximadamente 64,0% da variância dos dados, a PC2 explica 16,9% dos dados e a PC3 explica 9,8%, resultando num total de, aproximadamente, 90,7% da variância explicada, podendo-se, portanto, simplificar a análise concentrando-se apenas nas 3 primeiras PCs.

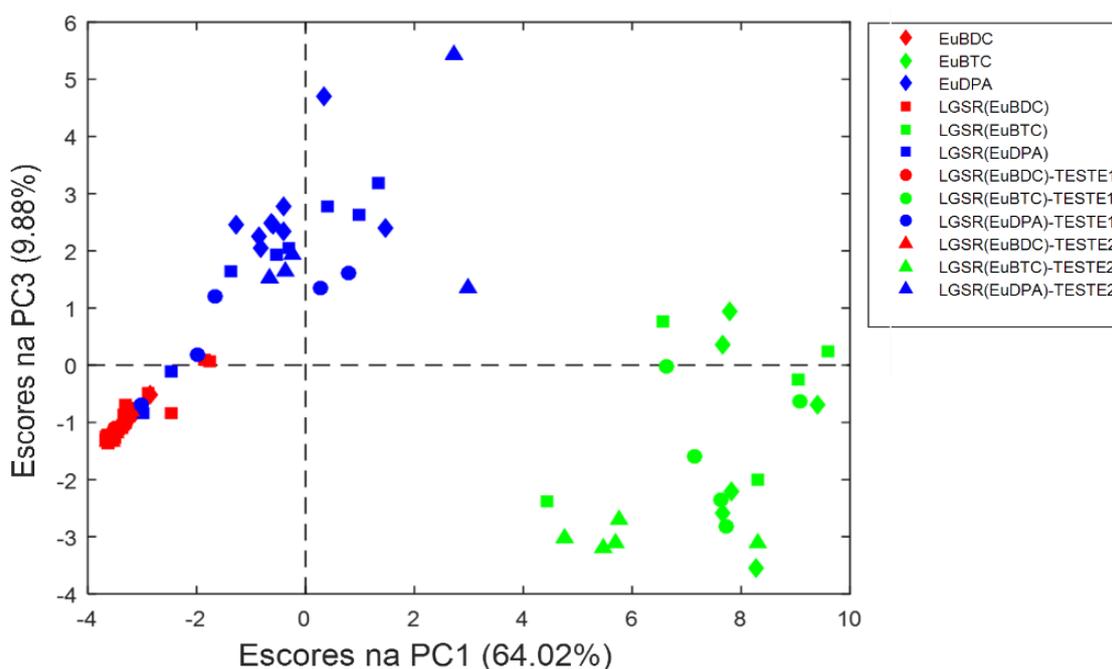
Figura 63 - Gráfico de variância acumulada.



Fonte: A autora (2019).

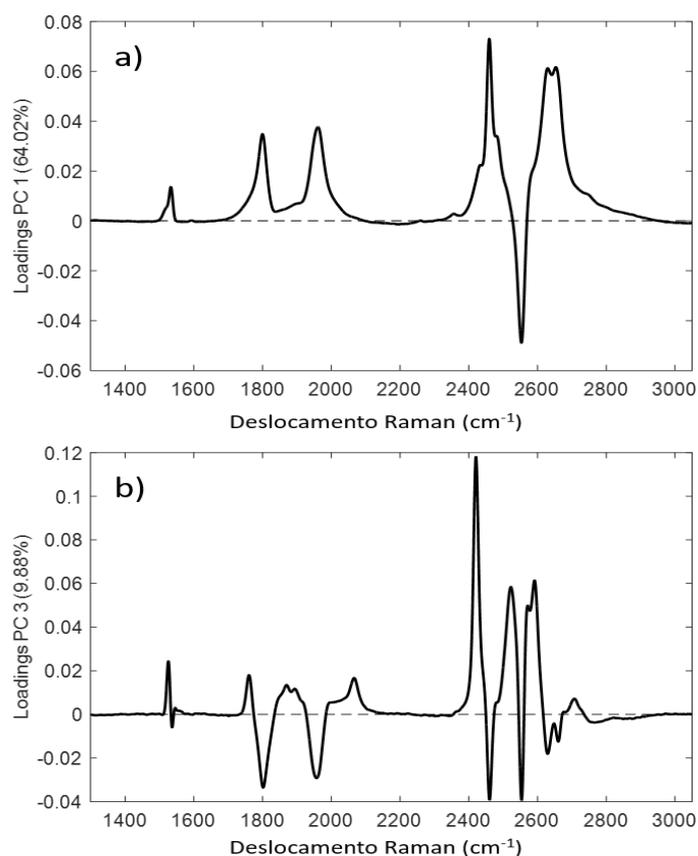
A Figura 64 apresenta o gráfico de escores da PC1 x PC3, pois é a combinação que melhor apresenta a diferença entre os marcadores. É importante ressaltar que as informações evidenciadas pelos espectros Raman Ressoante são referentes principalmente a mudança do ambiente químico em que o íon Eu^{3+} está inserido, e assim pode-se obter uma diferenciação das amostras ao mudar de ligante.

Figura 64 - gráfico de escores PC1 x PC3.



Fonte: A autora (2019).

Figura 65 - a) gráfico de loadings na PC1 e b) gráfico de loadings na PC3.



Fonte: A autora (2019).

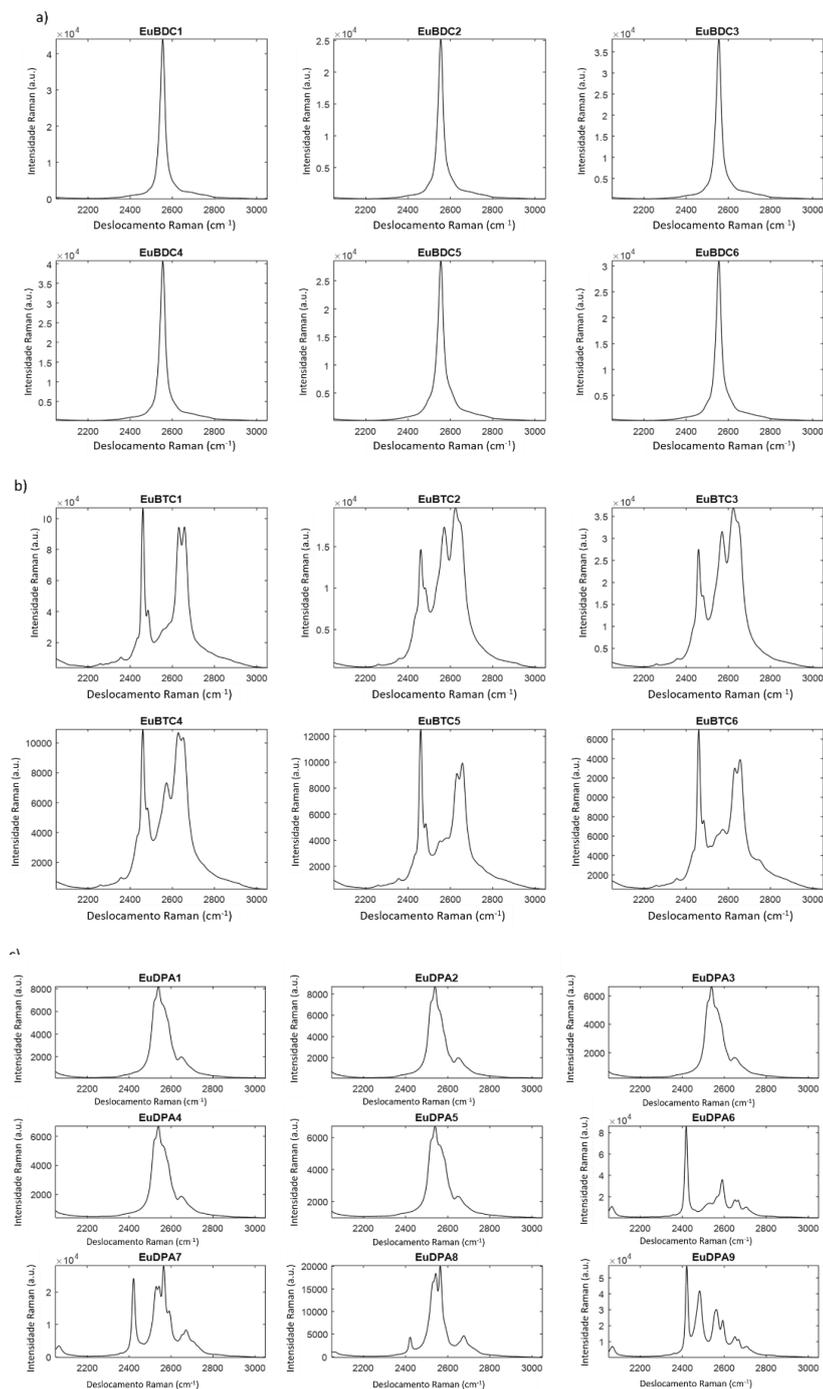
A Figura 65 mostra o gráfico de loadings das PC1 e PC3. A diferenciação das amostras de EuBTC para os demais marcadores pode ser resultado da diferença da intensidade relativa entre as variáveis das transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ e $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$, o que não é visto nos outros marcadores e que pode ser explicada através dos valores positivos na primeira componente principal (PC1). Já ao analisar os loadings na PC3, pode-se observar que a diferenciação das amostras de EuDPA para os outros marcadores é dada pela multiplicidade na região da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$.

Esse comportamento deve estar associado a possibilidade de mudanças estruturais que podem ser observadas tanto entre as diferentes sínteses como após o disparo, como já mencionado. A clara diferença entre as amostras, de EuBTC e EuBDC, explica os altos índices de acerto na classificação visual destas amostras. No entanto, a baixa reprodutibilidade espectral das amostras

contendo EuDPA, por outro lado, explica os baixos índices de acerto obtidos para estas amostras.

Ainda no gráfico de scores, pode-se observar uma dispersão entre as amostras de EuBTC e, também, entre as amostras de EuDPA. Essa dispersão pode estar relacionada à mudança de simetria que causa uma variação nas intensidades ou no perfil da transição $^5D_0-^7F_2$. Essa transição, geralmente a mais intensa, é responsável pela cor vermelha dos compostos de európio. É chamada de transição hipersensível pois sua intensidade é fortemente influenciada pelo ambiente químico que envolve o európio e, com isso, é comumente usada para inferir sobre a simetria dos compostos luminescentes que contem európio (III). Sabendo-se que o número máximo de bandas resultantes para as transições $^5D_0-^7F_j$ seguem a regra $2j + 1$, o número máximo de bandas observadas, nas diferentes transições, pode propor a simetria pontual do ambiente químico em torno do íon Eu^{3+} . E assim pode ser observado para as transições $^5D_0-^7F_2$ até cinco picos nessa região (BINNEMANS, 2015; TANNER, 2013). A diferença espectral, mostrada, para as transições $^5D_0-^7F_2$ em cada marcador puro, mostra que estes compostos apresentam ambientes químicos distintos para o íon Eu^{3+} , o que ajuda na diferenciação dos marcadores, mas também provoca a dispersão, principalmente das amostras de EuBTC e EuDPA.

Figura 66 - Transição eletrônica ${}^5D_0 - {}^7F_2$ dos espectros de emissão adquiridos por Raman ressonante dos marcadores puros, sem pré-processamento, de a) EuBDC, b) EuBTC e c) EuDPA, nas 21 sínteses analisadas.



Fonte: A autora (2019).

Nos espectros de EuBTC e EuDPA, é possível observar que os picos são alargados e pouco definidos o que indica que há sobreposição de sinais, o que pode ser confirmado pela presença de dois picos na transição ${}^5D_0-{}^7F_0$, como já mencionado, resultado da existência de ambientes químicos distintos

em torno do íon Eu^{3+} . Em consequência a transição ${}^5\text{D}_0\text{-}{}^7\text{F}_2$ pode ser uma média das fases cristalográficas presentes no composto (BINNEMANS, 2015). Essa mistura de fases pode ter provocado a dispersão das amostras contendo os marcadores EuBTC e, principalmente, EuDPA.

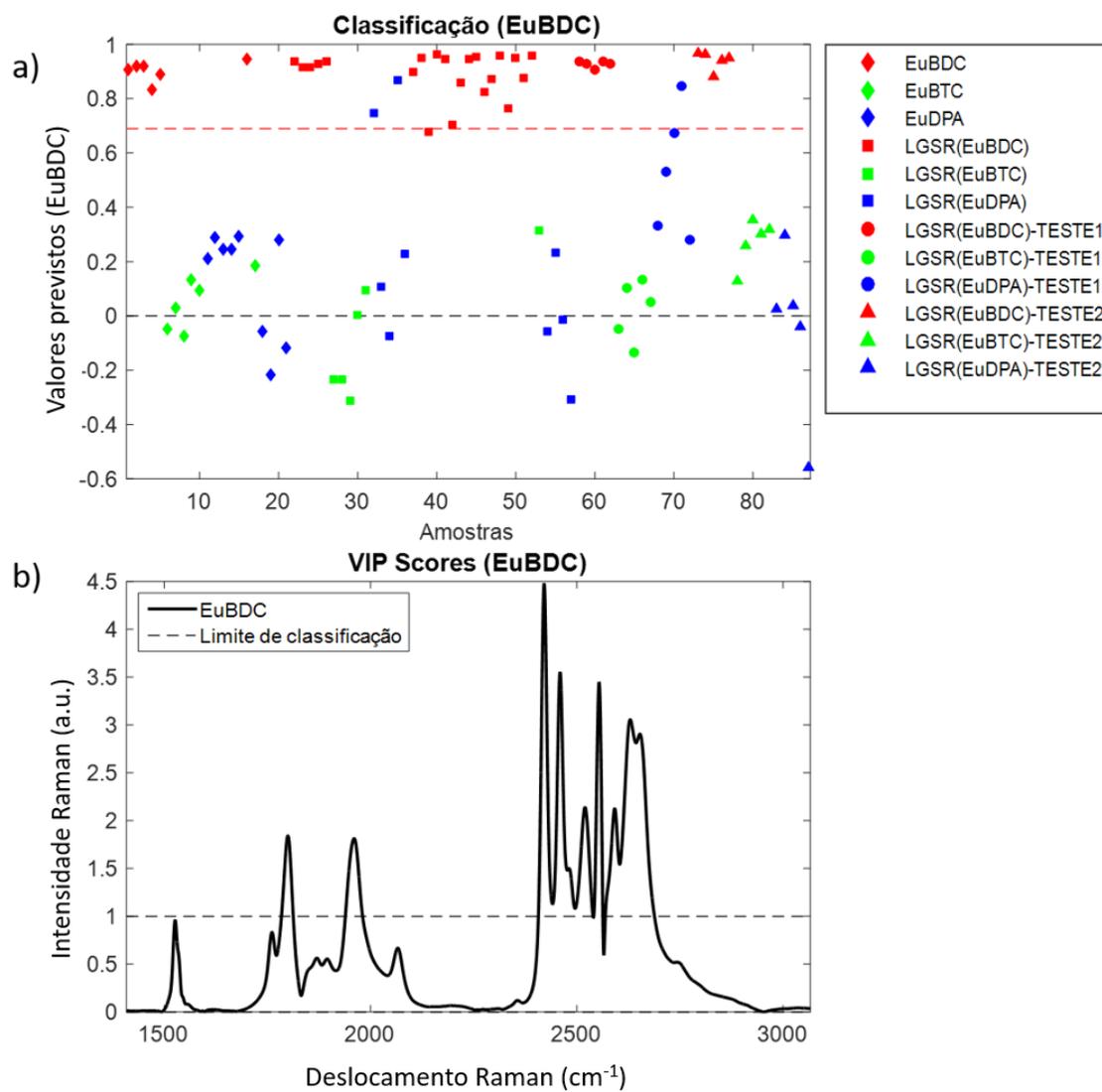
Observa-se, também, que, das nove sínteses da MOF EuDPA analisadas foram obtidos cinco perfis espectrais diferentes, indicando que este marcador apresentou baixa reprodutibilidade espectral. Contudo, observa-se que nas amostras obtidas no primeiro conjunto de teste, quando há um controle na síntese é possível obter um perfil mais semelhante. Para fins forenses, é necessário ter-se padrões espectrais confiáveis e reprodutíveis utilizando as mesmas rotas sintéticas, portanto, é necessário controlar melhor a síntese do marcador EuDPA ou utilizar outra metodologia para a sua identificação. Já para as amostras de EuBDC e EuBTC, foi observado boa similaridade entre as amostras, o que sugere a possibilidade de previsão do LGSR através da MOF pura, empregando técnicas de classificação ou mesmo de mistura de sinais.

5.2.2.3 PLS-DA

Na construção dos modelos PLS-DA foram utilizados os mesmos conjuntos de treinamento e testes usados na análise por PCA. Duas variáveis latentes foram escolhidas, representando 75% da variância explicada em \mathbf{X} e 81% da variância em \mathbf{Y} .

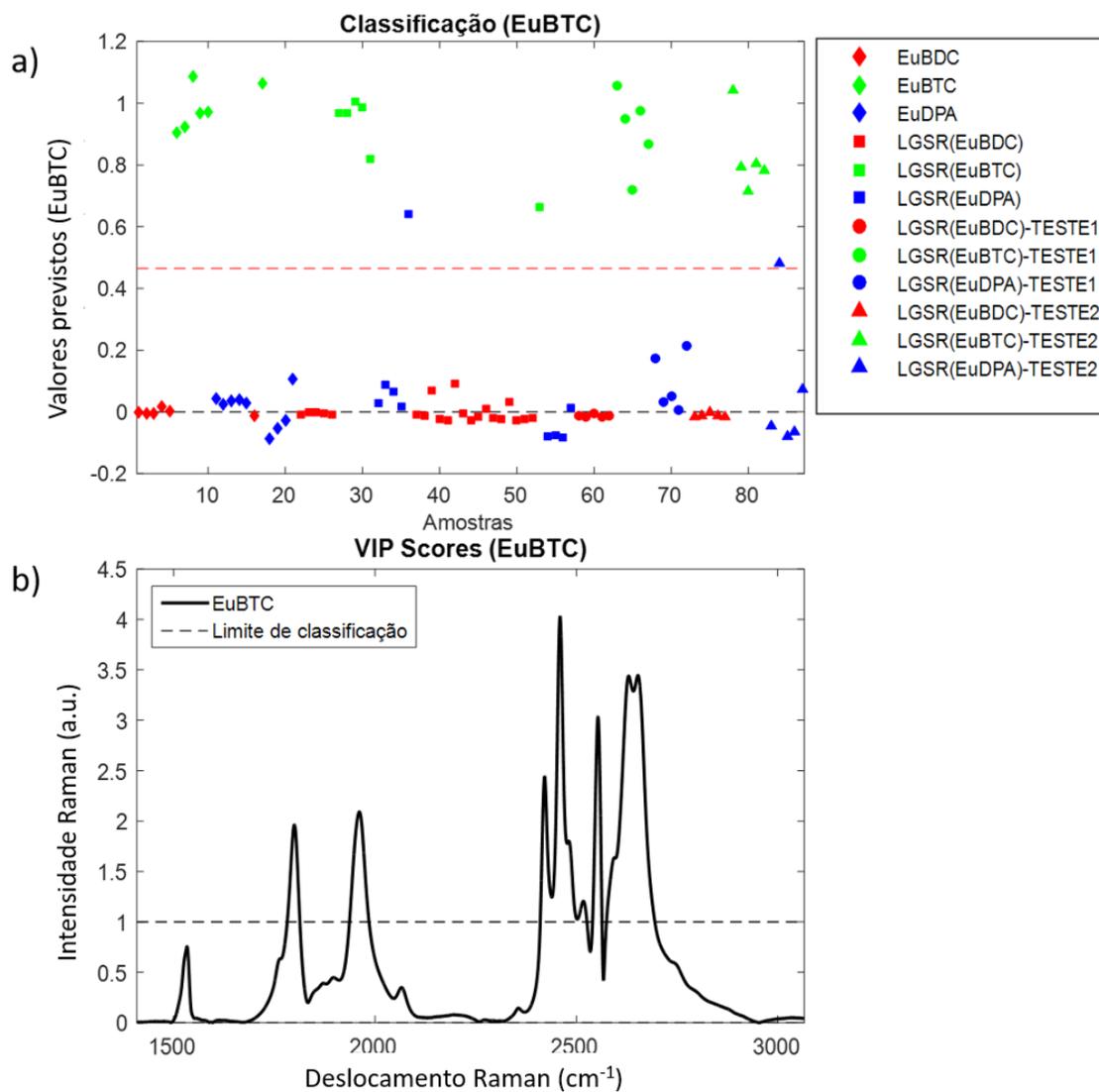
Os resultados da classificação para os marcadores EuBDC, EuBTC e EuDPA estão dispostos nas Figuras 67a, 68a e 69a, respectivamente. Nos modelos de classificação para as amostras de EuBDC e EuBTC, observa-se que todas as amostras foram classificadas corretamente de acordo com seu marcador. Analisando os gráficos de VIP escores (Figura 67b, Figura 68b e Figura 69b), percebe-se que a boa classificação é devido à diferença do perfil espectral na transição ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$. Contudo, nesses modelos, observa-se, também, uma confusão de algumas amostras de EuDPA com os outros dois marcadores. Como já visto, as amostras de EuDPA apresentaram baixa repetibilidade nos perfis espectrais, o que pode ter gerado uma classificação incorreta ou mesmo a não classificação das amostras de EuDPA como sendo EuDPA.

Figura 67 - a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuBDC.



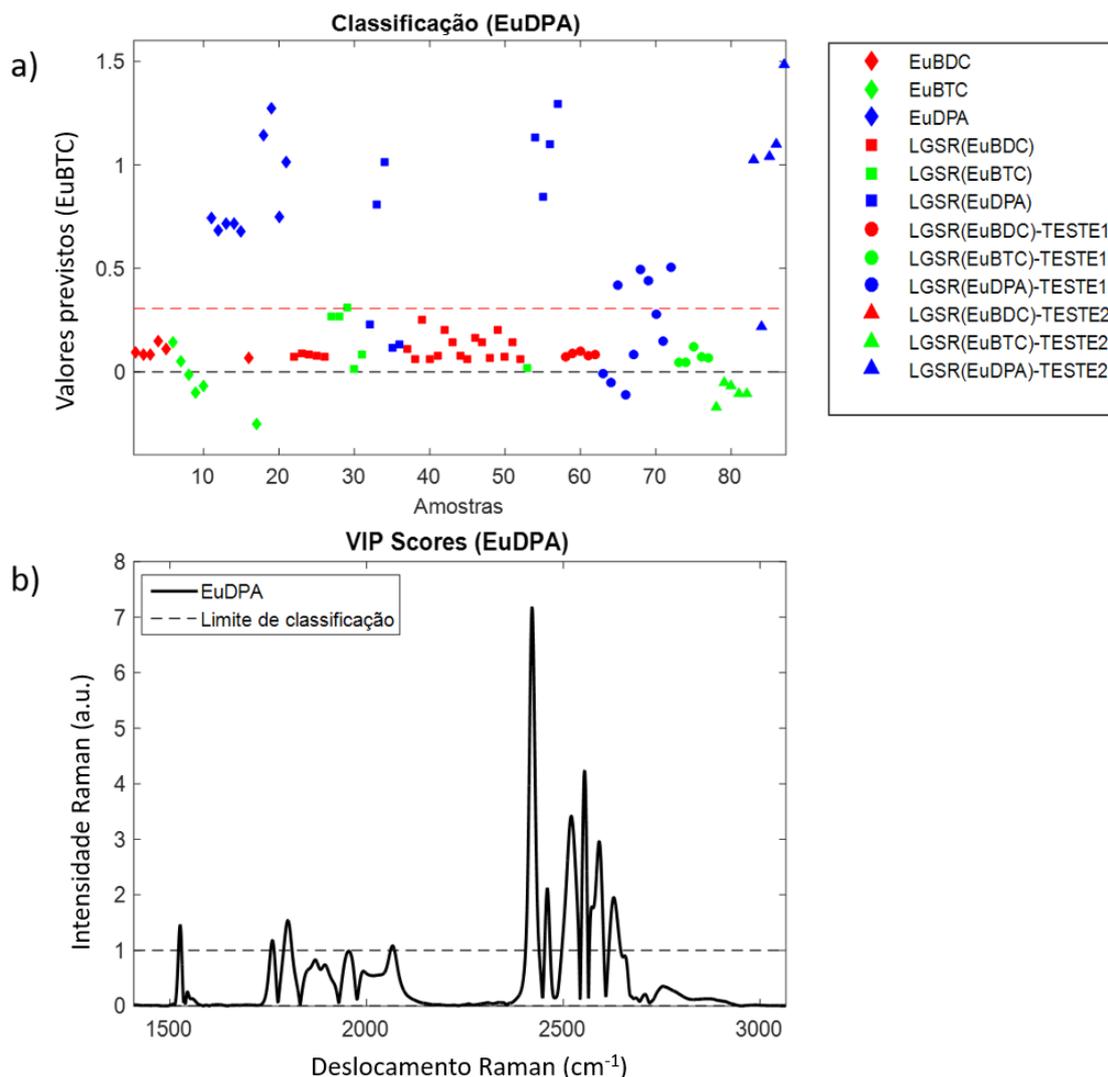
Fonte: A autora (2019).

Figura 68 - a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuBTC.



Fonte: A autora (2019).

Figura 69 - a) Resultados do modelo de classificação e b) gráfico de VIP escores para as amostras de marcador com EuDPA.



Fonte: A autora (2019).

Na tabela 7, estão resumidos os resultados obtidos na classificação por PLS-DA, através dos valores de sensibilidade (S) e especificidade (E), tanto para etapa treinamento (calibração e validação) como de previsão (teste 1 e teste 2). Os valores de S e E dados pelo modelo, mostra uma boa classificação, principalmente para o EuBTC, onde apenas uma amostra de LGSR do conjunto de treinamento foi classificada como EuDPA. Contudo, essa mesma amostra também foi classificada como EuBTC, indicando que houve confusão na classificação, como já discutido. Para as amostras de EuBDC também se observou uma boa classificação, onde apenas duas amostras de

LGSR do conjunto de treinamento não foram classificadas como EuBDC. Mas também, não foram classificadas dentro da classe dos outros marcadores. Mostrando que o EuBDC apresenta uma boa diferenciação entre as amostras através do seu perfil espectral. Por fim, as amostras de EuDPA houve confusão com todos os marcadores assim como a não classificação dentro da classe EuDPA, como já esperado, devido aos resultados anteriores.

Tabela 7: Resultados obtidos na PLS-DA para os espectros de Raman Ressonante.

MARCADOR	TREINAMENTO			TESTE 1		TESTE 2	
	LV	S	E	S	E	S	E
EuBDC	2	0,93	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
EuBTC	2	1,00	0,92	1,00	1,00	1,00	1,00
EuDPA	2	0,83	0,83	0,80	0,80	0,80	0,80

Fonte: A autora (2019).

Com base nos resultados obtidos pelo PLS-DA para o Raman Ressonante, observa-se uma melhor classificação em relação aos resultados observados no Raman normal, principalmente para as amostras de EuBDC e EuBTC, pois apresentaram valores próximos de 1. Isso indica que a maioria das amostras foram classificadas corretamente de acordo com o tipo de marcador assim como as amostras não foram classificadas em outras classes. Sabendo-se que os conjuntos de treinamento, teste 1 e teste 2 foram construídos com amostras de marcadores produzidas em diferentes períodos, observa-se que as amostras de EuBDC e EuBTC apresentam uma boa reprodutibilidade espectral e, por isso, o modelo consegue classificar corretamente a maioria das amostras desses marcadores, diferentemente para as amostras de EuDPA.

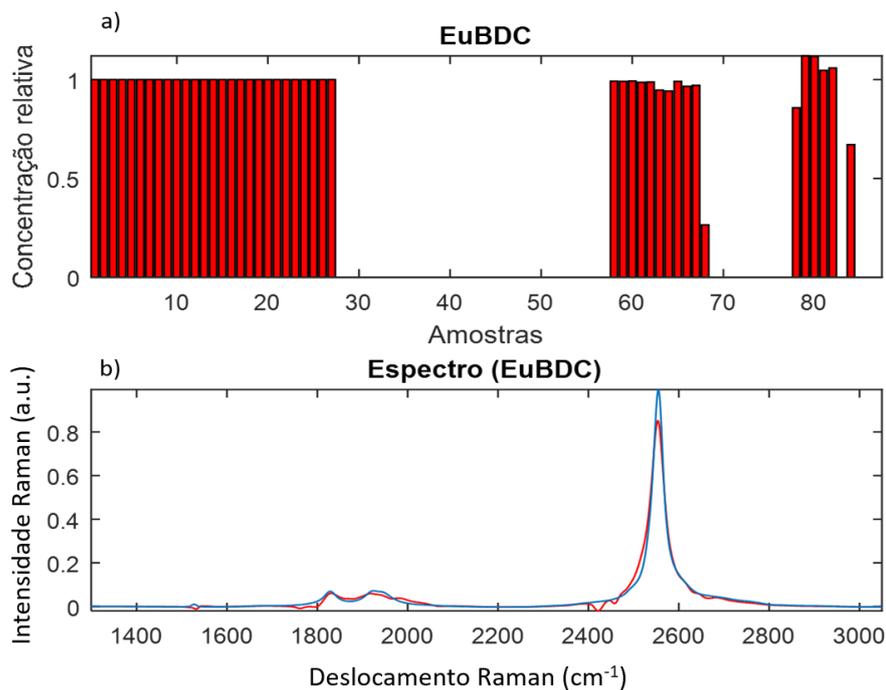
Os menores valores de S são atribuídos para as amostras de EuDPA, indicando que menos amostras foram classificadas como EuDPA, confirmando

a alta variabilidade espectral desse marcador e assim dificuldade na classificação das amostras.

5.2.2.4 *MCR-ALS*

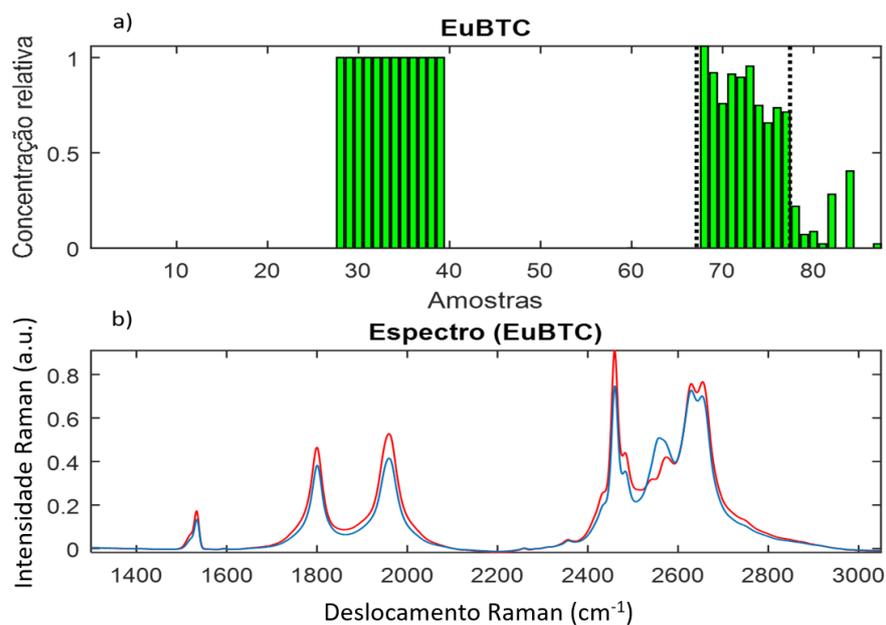
Na análise por MCR-ALS foram utilizados como estimativas iniciais, os espectros médios de cada MOF pura, além disso, as restrições de não-negatividade e igualdade de concentração foram aplicadas. O modelo MCR-ALS obteve 8,6% de LOF e $R^2 = 99,3\%$, mostrando que o modelo conseguiu explicar a maioria dos dados. Os espectros recuperados pelo modelo, apresentados nas Figuras 70, 71 e 72, mostram uma alta similaridade com os espectros puros, principalmente nos marcadores EuBDC e EuBTC, para os quais obteve-se um coeficiente de correlação de 0,99 e 0,98. Já o espectro recuperado para o EuDPA apresentou baixa correlação (0,67) devido à alta variabilidade do perfil espectral desse marcador. Esse fato dificultou a identificação das amostras de LGSR-EuDPA e aumentou o percentual de LOF. Nos gráficos de barras, as amostras de EuBDC estão no intervalo de 1 a 27 (conjunto de treinamento) e 58 a 67 (conjunto de teste1 e teste2), as amostras de EuBTC nos intervalos de 28 a 39 (conjunto de treinamento) e 68 a 77 (conjunto de teste 1 e teste 2) e as amostras de EuDPA no intervalo de 40 a 57 (conjunto de treinamento) e de 78 a 87 (conjunto de teste 1 e teste 2).

Figura 70 - a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuBDC e b) espectro recuperado, de EuBDC, pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e espectro da MOF pura (linha azul).



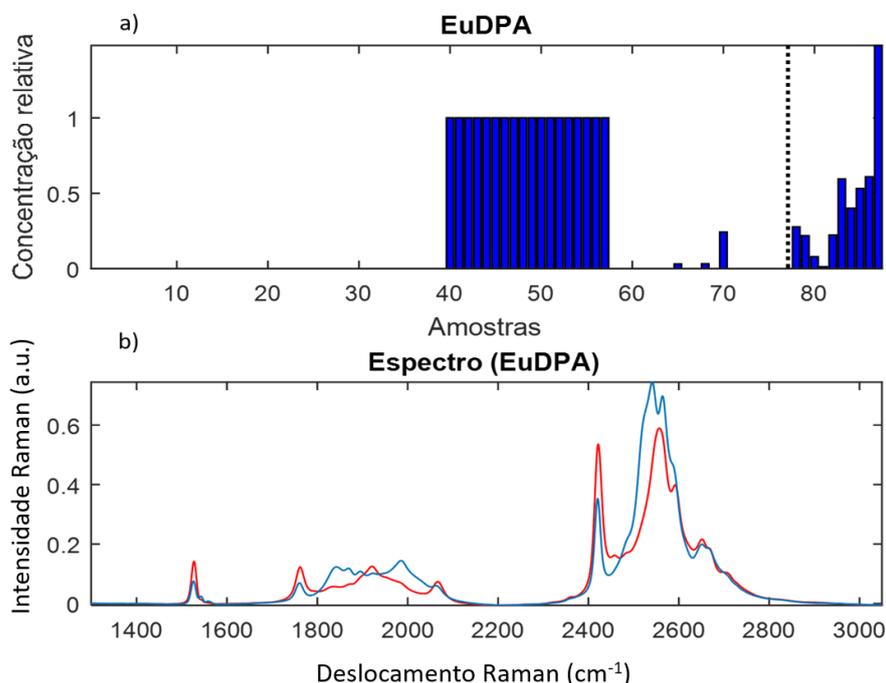
Fonte: A autora (2019).

Figura 71 - a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuBTC e b) espectro recuperado, de EuBTC, pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e espectro da MOF pura (linha azul).



Fonte: A autora (2019).

Figura 72 - a) Gráfico de barras dos perfis de concentração relativa das amostras de EuDPA e b) espectro recuperado, de EuDPA, pelo modelo MCR-ALS (linha vermelha) e espectro da MOF pura (linha azul).



Fonte: A autora (2019).

Nos gráficos de barras dos perfis de concentração relativa para cada marcador (Figura 70a, 71a e 72a), observa-se que todas as amostras de teste, para os marcadores os três marcadores, foram identificadas corretamente. Contudo, em todos os gráficos observa-se a identificação errônea de amostras que não pertencem ao marcador estudado. Isso indica que o modelo MCR-ALS apresentou um alta confusão na identificação das amostras de teste, mas essa confusão foi observada apenas entre EuBTC ou EuBDC e EuDPA. Não havendo confusão entre EuBDC e EuBTC. Indicando que o modelo consegue identificar e diferenciar estes dois marcadores.

Outra observação relevante é que, devido à presença de um pico da transição $^5D_0 - ^7F_2$ (2500 cm⁻¹), as 5 primeiras amostras de EuDPA foram identificadas como EuBDC apresentando uma alta concentração relativa que indica que estas amostras apresentaram maior correlação com o EuBDC do que com EuDPA.

Os resultados obtidos para o Raman ressonante, utilizando o MCR-ALS, mostraram que a utilização desse modelo é uma boa alternativa para a

identificação dos marcadores luminescentes de resíduo de tiro quando se utiliza os marcadores EuBDC e EuBTC. Contudo, para o marcador EuDPA, tanto no MCR-ALS quanto no PLS-DA, observou-se uma dificuldade de identificação do marcador devido à instabilidade do mesmo, o que gerou perfis espectrais diferentes. Não sendo, portanto, um bom marcador para ser utilizado quando o objetivo for de codificação, pois pode-se obter resultados incorretos, o que é inviável na prática da ciência forense.

5.3 CONCLUSÃO

Nesse tópico foram utilizados os espectros vibracionais obtidos pela espectroscopia Raman Normal e os espectros vibrônicos obtidos pelo Raman Ressonante. Esses espectros foram utilizados para caracterizar e distinguir três marcadores luminescentes de resíduo de tiro, com a finalidade de aplicá-los como codificadores de munições.

Esses marcadores são compostos formados pelo íon Eu^{3+} , o que faz com que todos apresentem a mesma luminescência na região do vermelho. Com isso, sua caracterização e distinção foram feitas através de características espectrais oriundas dos diferentes ligantes orgânicos. Para isso, os espectros foram avaliados tanto por aspectos visuais quanto por análise multivariada de dados, tendo-se utilizado PCA, PLS-DA e MCR-ALS.

A análise visual dos espectros de emissão por Raman Ressoante foi feita por quatro analistas através de um teste cego. Os resultados obtidos mostraram que apenas os marcadores contendo EuBDC e EuBTC foram classificados corretamente por apresentarem o mesmo perfil espectral antes e depois dos disparos. Já para as amostras de EuDPA, os analistas tiveram dificuldades em classificar devido à alta variabilidade do perfil espectral em decorrência da alta instabilidade do composto no processo de síntese. Contudo, vale a pena ressaltar que apenas um analista teve o cuidado de não classificar as amostras de EuDPA em nenhum tipo de marcador, deixando o resultado como inconclusivo. Isto é importante porque na rotina forense a não classificação é melhor que uma classificação errada, pois a não classificação

gera um laudo inconclusivo, o que não culpa ou isenta ninguém. Já um laudo errado pode acusar ou inocentar erradamente uma pessoa.

Mesmo apresentando uma variabilidade espectral, o EuDPA não perdeu a sua luminescência após o disparo, o que o torna um bom marcador luminescente. Contudo não apresenta os requisitos necessários para ser empregado em um processo de codificação de munições que requeira a discriminação do tipo de LGSR.

Através da análise quimiométrica por PCA, percebe-se que a identificação e distinção dos LGSRs, por tipo de marcador, foi melhor através dos espectros do Raman ressonante. É possível que esse resultado esteja relacionado ao fato de que nos espectros de Raman normal existe uma certa similaridade química entre os ligantes (todos são carboxilatos aromáticos), o que se reflete em similaridade no espectro, além disso esses espectros carregam informações do substrato, que dificulta a identificação. Já no Raman ressonante os picos nos espectros obtidos são, principalmente, as transições eletrônicas do íon Eu^{3+} . Como os picos nessas transições são modificados devido ao ambiente químico que o íon está inserido, a diferenciação entre os tipos de marcador foi mais perceptível. Os agrupamentos observados no Raman ressonante foram causados, principalmente, pelas variáveis relativas à transição $^5\text{D}_0 - ^7\text{F}_2$, que é justamente a transição mais sensível à mudança de ambiente químico.

Tanto para Raman ressonante quanto para Raman normal, os resultados obtidos por MCR-ALS mostraram-se melhor para identificação dos marcadores EuBDC e EuBTC, pois além da identificação correta das amostras, os modelos obtiveram espectros recuperados com boa correlação com os espectros puros.

Assim, as metodologias apresentadas mostraram-se eficaz na identificação e distinção dos marcadores luminescentes de resíduo de tiro que contém EuBDC e EuBTC. EuBDC e EuBTC são especialmente interessantes para fins de codificação de munições pois não há mistura de classes entre eles, diferentemente das amostras com EuDPA. Com isso, recomenda-se a não utilização do EuDPA, quando utilizar a espectroscopia Raman, com o objetivo

de codificação, pois devido a sua variabilidade espectral ele pode gerar falsas conclusões.

6 CONCLUSÕES GERAIS

Nessa tese foi proposto o desenvolvimento de metodologias analíticas para a área da química forense empregando imagens hiperespectrais na região do infravermelho próximo e espectroscopia Raman (normal e ressonante) para identificação e classificação de resíduos de tiro oriundos de munições NTA marcadas. Os modelos de classificação (PLS-DA) e resolução de curvas (MCR-ALS) foram construídos para discriminar três marcadores luminescentes de resíduos de tiro (LGSR) que apresentam a mesma emissão da cor vermelha, mas estruturas químicas diferentes, a fim de utilizá-los como codificadores de munições. Foram escolhidos para serem avaliados, métodos de análise não destrutivos, com pouco ou nenhum preparo prévio de amostra e que permitam a obtenção do máximo de informações com a realização de uma única análise, para que sejam compatíveis com a rotina pericial.

Os modelos de classificação construídos utilizando tanto a HSI-NIR como a espectroscopia Raman mostraram ser possível a identificação e distinção do LGSR contendo diferentes marcadores. Observou-se que a análise por HSI-NIR permite obter uma reconstrução de um mapa de distribuição espacial, contudo, nesse mapa, são observados, apenas, os pontos com maior concentração de LGSR, indicando a necessidade de um cuidado maior no momento da coleta. Para isso a amostra coletada precisa ter uma quantidade suficiente de LGSR de modo a que o modelo consiga diferenciar os *pixels* do substrato dos *pixels* do LGSR.

Por outro lado, ao utilizar a espectroscopia Raman, as análises são pontuais. Isso pode ser vantajoso pois não requer que uma grande quantidade de amostra seja coletada nem que as partículas sejam grandes, mas por outro lado, é necessário procurar as partículas de LGSR, com o auxílio de um microscópio, o que torna uma técnica mais demorada do que o HSI-NIR.

Os resultados obtidos por MCR-ALS utilizando o HSI-NIR, mostraram-se eficientes na identificação dos três marcadores, acertando o tipo de marcador em 72,2% das amostras analisadas. Contudo, nas amostras não identificadas observou-se que em algumas amostras o modelo não conseguia identificar o

marcador devido à sua baixa concentração. Em outras amostras, o modelo confundiu o EuBTC com os demais marcadores, devido uma sobreposição das bandas do EuBTC com outros marcadores. Entretanto, o modelo consegue recuperar os espectros de cada marcador com uma boa correlação com seu espectro puro. Mostrando que mesmo com a complexidade das amostras, por causa da heterogeneidade das partículas, o modelo consegue identificar os *pixels* referentes ao marcador.

Assim como no HSI-NIR, o MCR-ALS consegue diferenciar as amostras de LGSR por tipo de marcador, através dos espectros Raman normal e ressonante. Contudo, observa-se que nas amostras com EuDPA, o modelo tem dificuldades de identificação devido à sua variabilidade espectral, obtendo, um espectro recuperado pelo modelo com uma baixa correlação com o espectro puro.

As metodologias propostas permitem identificar os marcadores EuBDC e EuDPA utilizando o método HSI-NIR e os marcadores EuBDC e EuBTC utilizando a espectroscopia Raman ressonante. Portanto, dependendo do tipo de marcador utilizado é necessário escolher qual técnica é melhor para análise. Apenas o EuBDC não apresentou problemas de identificação com nenhuma técnica. Assim, para fins de codificação as duas técnicas podem ser usadas para identificação de marcadores luminescentes, contudo, é necessário realizar testes em conjuntos maiores, assim como testar outros marcadores e construir um conjunto de dados que possa ser identificado sem haver confusão.

Por fim, a espectroscopia Raman leva vantagem, por ser uma técnica bastante utilizada na rotina forense, e, portanto, é encontrada com facilidade em laboratórios forenses. Por outro lado, a análise por imagens hiperespectrais na análise forense tem se mostrado uma ferramenta bastante promissora, o que pode torná-la especialmente atraente em um futuro próximo.

6.1 PERSPECTIVAS FUTURAS

Estudar a possibilidade de aumentar a base de dados para o processo de codificação de munições marcados com materiais luminescentes. Para isso necessita-se de:

- Analisar outras substâncias que possam atuar como marcadores luminescentes.
- Aumentar o conjunto de amostras com diferentes marcadores para serem avaliados por HSI-NIR, Raman normal e ressonante.
- Realizar a fusão de dados como forma de melhorar os resultados obtidos na classificação.

REFERÊNCIAS

ALEXANDRINO, G. L.; KHORASANI, M. R.; AMIGO, J. M.; RANTANEN, J.; POPPI, R. J. Monitoring of multiple solid-state transformations at tablet surfaces using multi-series near-infrared hyperspectral imaging and multivariate curve resolution. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 93, p. 224–230, 2015.

ALLENDORF, M. D.; BAUER, C. A.; BHAKTA, R. K.; HOUK, R. J. T. Luminescent metal–organic frameworks. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 5, p. 1330, 2009.

ALMEIDA, M. R. DE. **Espectroscopia Raman e Quimiometria como ferramentas analíticas para química forense e paleontologia**. Tese (Doutorado em Química): Universidade Estadual de Campinas, 2015.

AMIGO, J. M.; BABAMORADI, H.; ELCOROARISTIZABAL, S. Hyperspectral image analysis. A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 896, p. 34–51, 2015.

AMIGO, J. M.; MARTÍ, I.; GOWEN, A. Hyperspectral Imaging and Chemometrics. A Perfect Combination for the Analysis of Food Structure, Composition and Quality. **Data Handling in Science and Technology**, v. 28, p. 343–370, 2013.

ANTUNES, M. C.; J. SIMÃO, J. E. ; DUARTE, A. C.; TAULER, R. Multivariate curve resolution of overlapping voltammetric peaks: quantitative analysis of binary and quaternary metal mixtures. **The Analyst**, v. 127, n. 6, p. 809–817, 2002.

armas online. Disponível em: <<http://armasonline.org/armas-online/cartuchos-polvoras-e-projeteis-nocoes-basicas/>>. Acesso em: 14 jul. 2020.

ARNOLD, S. A.; HARVEY, L. M.; MCNEIL, B.; HALL, J. W. Employing Near-Infrared Spectroscopic Methods of Analysis for Fermentation Monitoring and Control. **BioPharm International**, p. 26–34, 2002.

AROCA, R. **Surface-Enhanced vibrational spectroscopy**. 1. ed. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd, 2006.

AROUCA, A.M.; LUCENA, M.A.M.; ROSSITER, R.J.; TALHAVINI, M. ; WEBER, I. T. Use of luminescent gunshot residues markers in forensic context—Part II. **Forensic Science International**, v. 281, p. 161–170, 2017.

AROUCA, A. M. **Estudo da Aplicabilidade de Marcadores Luminescentes de Disparos de Armas de Fogo**. Dissertação (Mestrado em Química): Universidade de Brasília, 2016.

ASTM. **Standard Guide for Gunshot Residue Analysis by Scanning Electron Microscopy/Energy Dispersive X-ray Spectrometry**, 2008. Disponível em: <www.astm.org>

AVILA, T. C. DE. **Espectroscopia Raman e Quimiometria como Ferramentas no Monitoramento On-Line do Processo Fermentativo da Glicose pela Saccharomyces cerevisiae**. Dissertação (Mestrado em Química): Universidade Estadual de Campinas, 2013.

AZZOUZ, T. .; TAULER, R. Application of multivariate curve resolution alternating least squares (MCR-ALS) to the quantitative analysis of pharmaceutical and agricultural samples. **Talanta**, v. 74, n. 5, p. 1201–1210, 2008.

BIEMMI, E.; BEIN, T.; STOCK, N. Synthesis and characterization of a new metal organic framework structure with a 2D porous system: $(\text{H}_2\text{NEt}_2)_2[\text{Zn}_3(\text{BDC})_4]_3\text{DEF}$. **Solid State Sciences**, v. 8, p. 363–370, 2006.

BIEMMI, E.; DARGA, A.; STOCK, N. .; BEIN, T. Direct growth of $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2(\text{H}_2\text{O})_3 \cdot \text{xH}_2\text{O}$ thin films on modified QCM-gold electrodes - Water sorption isotherms. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 114, n. 1–3, p. 380–386, 2008.

BINNEMANS, K.; HERCK, K. V. Influence of dipicoline ligands on the spectroscopic properties of europium (III) in solution. **Chemical Physics Letters** **266**, v. 2614, p. 0–5, 1997.

BINNEMANS, K. Lanthanide-Based Luminescent Hybrid Materials. **Chemical Reviews**, v. 109, n. 9, p. 4283–4374, 2009.

BINNEMANS, K. Interpretation of europium(III) spectra. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 295, p. 1–45, 2015.

BLAKEY, L. S.; SHARPLES, G. P.; CHANA, K.; BIRKETT, J. W. Fate and Behavior of Gunshot Residue-A Review. **Journal of Forensic Sciences**, v. 63, n. 1, p. 9–19, jan. 2018.

BRANDONE, A.; DE FERRARI, F. .; PELIZZA, P.; SIGNORI, M. The labelling of gunpowder: An approach to improve gunshot residues determination. **Forensic Science International**, v. 47, n. 3, p. 289–295, 1990.

BRERETON, R. G. **Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant**. 1. ed. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd, 2003. v. 8

BRERETON, R. G.; LLOYD, G. R. Partial least squares discriminant analysis: Taking the magic away. **Journal of Chemometrics**, v. 28, n. 4, p. 213–225, 2014.

BRO, R.; SMILDE, A. K. Principal component analysis. **Anal. Methods**, v. 6, n. 9, p. 2812–2831, 2014.

BÜNZLI, J.-C. G. On the design of highly luminescent lanthanide complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 293–294, p. 19–47, 2015.

BÜNZLI, J.-C. G.; PIGUET, C. Taking advantage of luminescent lanthanide ions. **Chemical Society Reviews**, v. 34, n. 12, p. 1048, 2005.

BURLESON, G. L.; GONZALEZ, B.; SIMONS, K.; YU, J. C. C. Forensic analysis of a single particle of partially burnt gunpowder by solid phase micro-extraction–gas chromatography–nitrogen phosphorus detector. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 22, p. 4679–4683, maio 2009.

CARMONA, P. Vibrational spectra and structure of crystalline dipicolinic acid and calcium dipicolinate trihydrate. **Spectrochimica Acta Part A:**

Molecular Spectroscopy, v. 36, n. 7, p. 705–712, 1980.

CARNEIRO, C. R. **Diferenciação de MOFs e LGSR por meio do espectro de luminescência do Eu^{3+} utilizando técnicas quimiométricas**. Dissertação (Mestrado em Química): Universidade de Brasília, 2019.

CARVALHO, M. A. **Utilização da análise de imagem hiperespectral no infravermelho próximo para identificação de marcadores luminescentes a base de redes metalorgânicas MOF**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais): Universidade Federal de Pernambuco, 2015.

CRUZ, J.; BAUTISTA, M.; AMIGO, J. M.; BLANCO, M. Nir-chemical imaging study of acetylsalicylic acid in commercial tablets. **Talanta**, v. 80, n. 2, p. 473–478, 15 dez. 2009.

CSÉFALVAYOVÁ, L.; STRLIČ, M.; KARJALAINEN, H. Quantitative NIR chemical imaging in heritage science. **Analytical Chemistry**, v. 83, n. 13, p. 5101–5106, 2011.

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

DAMASCENO, D.; TOLEDO, T. G. .; GODINHO, M. S.; DA SILVA, C. P. .; DE OLIVEIRA, S. B.; DE OLIVEIRA, A. E. Análise multivariada de imagens na química: Um experimento para determinação do pH de águas potáveis. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 836–841, 2015.

DE SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: UM tutorial, parte I. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223–229, 2012.

DEACON, G. B.; PHILLIPS, R. J. Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylato complexes and the type of carboxylate coordination. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 33, p. 227–250, 1980.

ELISEEVA, S. V.; BÜNZLI, J. C. G. Lanthanide luminescence for functional materials and bio-sciences. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 1, p. 189–227, 2010.

FARIA, D. L. A.; SANTOS, L. G. C.; GONÇALVES, N. S. Uma Demonstração Sobre o Espalhamento Inelástico de Luz: Repetindo o Experimento de Raman. **Química Nova**, v. 20, n. 3, p. 319–323, 1997.

FERRARO, J. R.; NAKAMOTO, K.; BROWN, C. W. **Introductory Raman Spectroscopy**. 2^a ed. Cambridge, Massachusetts, EUA: Academic Press, 2003.

FREITAS, J. C. D. **Identificação de assinaturas químicas em resíduos de disparos de arma de fogo em diferentes alvos**. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear - Materiais): Universidade de São Paulo, 2010.

FURUKAWA, H.; CORDOVA, K. E.; O'KEEFFE, M.; YAGHI, O. M. The

Chemistry and Applications of Metal-Organic Frameworks. **Science**, v. 341, n. 6149, p. 974–987, 2013.

GENDRIN, C.; ROGGO, Y.; COLLET, C. Pharmaceutical applications of vibrational chemical imaging and chemometrics: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, n. 3, p. 533–553, 2008.

GOWEN, A. A.; O'DONNELL, C. P. .; CULLEN, P. J.; DOWNEY, G. .; FRIAS, J. M. Hyperspectral imaging - an emerging process analytical tool for food quality and safety control. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 12, p. 590–598, 2007.

HUANG, J.; XU, Y.; CHEN, X.; XU, D.; XU, Y.; HE, Q. Synthesis, characterization and properties of some rare earth complexes with 2,6-pyridine dicarboxylic acid and α -Picolinic acid. **Journal of Rare Earths**, v. 30, n. 6, p. 586–591, jun. 2012.

JAUMOT, J.; GARGALLO, R.; DE JUAN, A.; TAULER, R. A graphical user-friendly interface for MCR-ALS: a new tool for multivariate curve resolution in MATLAB. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 76, n. 1, p. 101–110, mar. 2005.

KANG, I. J.; KHAN, N. A.; HAQUE, E.; JHUNG, S. H. Chemical and Thermal Stability of Isotypic Metal–Organic Frameworks: Effect of Metal Ions. **Chemistry – A European Journal**, v. 17, n. 23, p. 6437–6442, 27 maio 2011.

KHATTREE, R.; NAIK, D. Principal Component Analysis. **Multivariate Data Reduction and Discrimination with SAS Software**, v. 2, p. 25–77, 2000.

KUMARI, G.; PATIL, N. R.; BHADRAM, V. S.; HALDAR, R.; BONAKALA, S.; MAJI, T. K.; NARAYANA, C. Understanding guest and pressure-induced porosity through structural transition in flexible interpenetrated MOF by Raman spectroscopy. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 47, n. 2, p. 149–155, fev. 2016.

KUPPLER, R. J.; TIMMONS, D. J.; FANG, Q.-R.; LI, J.-R.; MAKAL, T. A.; YOUNG, M. D.; YUAN, D.; ZHAO, D.; ZHUANG, W.; ZHOU, H.-C. Potential applications of metal-organic frameworks. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 23–24, p. 3042–3066, dez. 2009.

LARKIN, P. J. **IR and Raman Spectroscopy Principles and Spectral Interpretation**. 1. ed. Amsterdam: Elsevier Ltd, 2011.

LEUS, K.; BOGAERTS, T.; DECKER, J.; DEPAUW, H.; HENDRICKX, K.; VRIELINCK, H.; VAN SPEYBROECK, V.; VAN DER VOORT, P. . Systematic study of the chemical and hydrothermal stability of selected “stable” Metal Organic Frameworks. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 226, p. 110–116, maio 2016.

LEWIS, I. R.; EDWARDS, H. G. M. **Handbook of Raman Spectroscopy**. New York: Marcel Dekker, 2001.

LIU, K.; YOU, H.; ZHENG, Y. .; JIA, G.; ZHANG, L.; HUANG, Y.; YANG, M.; SONG, Y.; ZHANG, H. Facile shape-controlled synthesis of luminescent europium benzene-1,3,5-tricarboxylate architectures at room temperature.

CrystEngComm, v. 11, n. 12, p. 2622, 2009.

LOPES, R. E. C. **Discriminação de madeiras similares por NIRS e PLS-DA considerando variações de temperatura e umidade**. Dissertação (Mestrado em Química): Universidade de Brasília, 2015.

LÓPEZ-LÓPEZ, M.; DELGADO, J. J.; GARCÍA-RUIZ, C. Ammunition Identification by Means of the Organic Analysis of Gunshot Residues Using Raman Spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 8, p. 3581–3585, 2012.

LÓPEZ-LÓPEZ, M.; DELGADO, J. J.; GARCÍA-RUIZ, C. Analysis of macroscopic gunshot residues by Raman spectroscopy to assess the weapon memory effect. **Forensic Science International**, v. 231, n. 1–3, p. 1–5, 2013.

LUCENA, M. A. M.; DE SÁ, G. F. .; RODRIGUES, M. O.; JÚNIOR, S. A. .; TALHAVINI, M.; WEBER, I. . T. ZnAl₂O₄ -based luminescent marker for gunshot residue identification and ammunition traceability. **Anal. Methods**, v. 5, n. 3, p. 705–709, 2013.

LUCENA, M. A. M.; OLIVEIRA, M. F. L.; AROUCA, A. M.; TALHAVINI, M.; FERREIRA, E. A.; JUNIOR, S. A.; VEIGA-SOUZA, F. H.; WEBER, I. T. Application of the Metal–Organic Framework [Eu(BTC)] as a Luminescent Marker for Gunshot Residues: A Synthesis, Characterization, and Toxicity Study. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 9, n. 5, p. 4684–4691, 8 fev. 2017.

LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; GATTO, C. C.; TALHAVINI, M. .; MALDANER, A. O.; JUNIOR, S. A. .; WEBER, I. T. Synthesis of [Dy(DPA)(HDP)] and its potential as gunshot residue marker. **Journal of Luminescence**, v. 170, p. 697–700, fev. 2016.

LUCENA, M. A. M.; WEBER, I. T. .; RODRIGUES, M. O.; JÚNIOR, S. A.; WANDERLEY, K. .A.; TALHAVINI, M. Marcadores luminescentes nas ciências forenses: Aplicação da MOF MIL-78 como marcadores luminescente de resíduo de tiro. **Anais do 6º Encontro Nacional sobre Terras Raras**, p. 31, 2014.

LUCENA, M. A.M.; ORDOÑEZ, C.; WEBER, I. T.; TORRE, M.; GARCÍA-RUIZ, C.; LÓPEZ-LÓPEZ, M. Investigation of the use of luminescent markers as gunshot residue indicators. **Forensic Science International**, v. 280, p. 95–102, nov. 2017.

LUCENA, M.A.M.; AROUCA, A. M. .; TALHAVINI, M.; JÚNIOR, S. A. .; WEBER, I. T. Ammunition encoding by means of co-doped luminescent markers. **Microchemical Journal**, v. 145, p. 539–546, 2019.

LUCENA, M. A. M. **Marcadores Luminescentes para Identificação de Resíduos de Tiro: Síntese, avaliação da toxicidade e aplicação da rede Metal-Orgânica [Ln(BTC)]**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais): Universidade Federal de Pernambuco, 2016.

MACCREHAN, W. A.; LAYMAN, M. J.; SECL, J. D. Hair combing to collect organic gunshot residues (OGSR). **Forensic Science International**, v. 135, n. 2, p. 167–173, 2003.

MAHALAKSHMI, G.; BALACHANDRAN, V. FT-IR and FT-Raman spectra, normal coordinate analysis and ab initio computations of Trimesic acid. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 124, p. 535–547, 2014.

MAIO, V. J. M. DI. **Gunshot Wounds: Practical Aspects of Firearms, Ballistics, and Forensic Techniques**. 2ª ed. Florida, USA: CRC Press, 1999.

MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. .; ALEXANDRINO, G. L.; POPPI, R. J. .; TAULER, R. Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. **Química Nova**, v. 37, n. 9, p. 1525–1532, 2014a.

MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. .; ALEXANDRINO, G. L.; POPPI, R. J. .; TAULER, R. Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. **Química Nova**, v. 37, n. 9, p. 1525–1532, 2014b.

MARTINS, T. S.; ISOLANI, P. C. Terras raras: Aplicações industriais e biológicas. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 111–117, 2005.

MARTINS, V.; RONCONI, C. M. Redes de Coordenação: Planejamento, Síntese, Topologia e Propriedades Fotofísicas. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 1318–1341, 2017.

MARTINY, A.; CAMPOS, A. P.C.; SADER, M. S.; PINTO, M. A. L. SEM/EDS analysis and characterization of gunshot residues from Brazilian lead-free ammunition. **Forensic Science International**, v. 177, n. 1, p. 9–17, 2008.

MCCANN, K.; LAANE, J. Raman and infrared spectra and theoretical calculations of dipicolinic acid, dinicotinic acid, and their dianions. **Journal of Molecular Structure**, v. 890, n. 1–3, p. 346–358, 2008.

MOBARAKI, N.; AMIGO, J. M. HYPER-Tools. A graphical user-friendly interface for hyperspectral image analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 172, p. 174–187, 2018.

MORALES, E. B.; VÁZQUEZ, A. L. R. Simultaneous determination of inorganic and organic gunshot residues by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 1061, n. 2, p. 225–233, 2004.

MOROS, J.; GARRIGUES, S.; GUARDIA, M. DE LA. Vibrational spectroscopy provides a green tool for multi-component analysis. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 7, p. 578–591, 2010.

OLIVEIRA, L. F. C. DE. Espectroscopia Molecular. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, v. 4, p. 24–30, 2001.

OPILIK, L.; SCHMID, T.; ZENOBI, R. Modern Raman Imaging: Vibrational Spectroscopy on the Micrometer and Nanometer Scales. **Annual Review of Analytical Chemistry**, v. 6, n. 1, p. 379–398, 2013.

OSBORNE, B. G. Principles and practice of near infra-red (NIR) reflectance analysis. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 16, n. 1, p. 13–19, 1981.

PAIVA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 4. ed. Whashington: Cengage Learning, 2010.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. **J. Braz.Chem. Soc.**, v. 14, p. 198–219, 2003.

PRATS-MONTALBÁN, J. M.; DE JUAN, A.; FERRER, A. Multivariate image analysis: A review with applications. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 107, n. 1, p. 1–23, 2011.

PRESTIPINO, C.; REGLI, L.; VITILLO, J. G.; BONINO, F.; DAMIN, A.; LAMBERTI, C.; ZECCHINA, A.; SOLARI, P. L.; KONGSHAUG, K. O.; BORDIGA, S. Local structure of framework Cu(II) in HKUST-1 metallorganic framework: Spectroscopic characterization upon activation and interaction with adsorbates. **Chemistry of Materials**, v. 18, n. 5, p. 1337–1346, 2006.

QU, Y.; KE, Y.; LU, S.; FAN, R. .; PAN, G.; LI, J. Hydrothermal synthesis, structures and spectroscopy of 2D lanthanide coordination polymers built from helical chains: $[Ln_2(BDC)_3(H_2O)_2]_n$ ($Ln=Sm$, 1; $Ln=Eu$, 2; BDC=1,3-benzenedicarboxylate). **Journal of Molecular Structure**, v. 734, n. 1–3, p. 7–13, 2005.

RAMOS, A. L. D.; TANASE, S.; ROTHENBERG, G. Redes metalorgânicas e suas aplicações em catálise. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 123–133, 2014.

RAO, N. R.; GARG, P. K.; GHOSH, S. K. Development of an agricultural crops spectral library and classification of crops at cultivar level using hyperspectral data. **Precision Agriculture**, v. 8, n. 4–5, p. 173–185, 2007.

REBOLEIRA, N. G. I. **Caracterização Química de Resíduos de Pólvora na Identificação de Munições**. Dissertação (Mestrado em Química): Universidade de Lisboa, 2013.

RIBEIRO, M. C. C.; SANTOS, P. S. Espectro eletrônico de absorção e perfil de excitação Raman. Duas faces de uma mesma questão. **Química Nova**, v. 15, n. 4, p. 317–322, 1992.

RINNAN, Å.; BERG, F. VAN DEN.; ENGELSEN, S. B. Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 10, p. 1201–1222, 2009.

ROCHA, J.; CARLOS, L. D.; PAZ, F. A. A.; ANANIAS, D. Luminescent multifunctional lanthanides-based metal-organic frameworks. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 2, p. 926–940, 2011.

RODRIGUES, M. O.; BRITO-SILVA, A. M.; JÚNIOR, S. A.; SIMONE, C. A. DE; ARAÚJO, A. A. S.; CARVALHO, P. H. V. DE; SANTOS, S. C. G.; ARAGÃO, K. A. S.; FREIRE, R. O.; MESQUITA, M. E. Estudos espectroscópicos e estruturais dos polímeros de coordenação 2D, $\infty[Tb(DPA)(HDP)]$ e $\infty[Gd(DPA)(HDP)]$. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 286–291, 2009.

RODRIGUES, A. D. G.; GALZERANI, J. C. Espectroscopias de

infravermelho , Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 34, n. 4, p. 4309–9, 2012a.

RODRIGUES, A. D. G.; GALZERANI, J. C. Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 34, n. 4, 2012b.

ROMOLO, F. S.; MARGOT, P. Identification of gunshot residue: a critical review. **Forensic Science International**, v. 119, n. 2, p. 195–211, 2001.

ROSA, M. F. DA; SILVA, P. S. DA; GALVAN, F. D. B. Ciência Forense no Ensino de Química por Meio da Experimentação. **Química Nova na Escola**, v. 37, n. 1, 2015.

ROWSELL, J. L. C.; YAGHI, O. M. Metal-organic frameworks: A new class of porous materials. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 73, n. 1–2, p. 3–14, 2004.

RUCKEBUSCH, C.; BLANCHET, L. Multivariate curve resolution: A review of advanced and tailored applications and challenges. **Analytica Chimica Acta**, v. 765, p. 28–36, 2013.

SALA, O. **Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho**. 2. ed. São Paulo: UNESP, 2008.

SANTOS, P. S. **O efeito Raman ressonante e sua relação com transições eletrônicas em alguns complexos de metais de transição**. Tese (Doutorado em Química): Universidade de São Paulo, 1978.

SCHWOEBLE, A. J.; EXLINE, D. L. **Current Methods in Gunshot residue analysis**. 1. ed. Florida: CRC Press LLC, 2000.

SERWY, I. B.; AMARAL, K. W.; MELO, M.A.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; RODRIGUES, M. O.; WEBER, I. T. **Low cost lanthanide-organic frameworks marker for gunshot residue identification**. Las Vegas: Anual Scientific Meeting of American Academy of Forensic Sciences, 2016.

SERWY, I. B.; WANDERLEY, K. A.; LUCENA, M. A.M.; MALDANER, A. O.; TALHAVINI, M.; RODRIGUES, M. O. ; WEBER, I. T. $[Ln_2(BDC)_3(H_2O)_4]_n$: A low cost alternative for GSR luminescent marking. **Journal of Luminescence**, v. 200, p. 24–29, 2018.

SILVA, C. J. **Comparação entre reflectância difusa convencional e imagem hiperespectral na região do infravermelho próximo para determinação de viscosidade mooney e plasticidade wallace em borracha natural**. Dissertação (Mestrado em Química): Universidade Estadual de Campinas, 2014.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M. ; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentals of analytic chemistry**. 9ª ed. Boston, Massachusetts, EUA: Cengage Learning, 2014.

SOARES, L. F.; DA SILVA, D. C. .; BERGO, M. C. J.; CORADIN, V. T. R.; BRAGA, J. W. B.; PASTORE, T. C. M. Avaliação de espectrômetro nir

portátil e pls-da para a discriminação de seis espécies similares de madeiras Amazônicas. **Química Nova**, v. 40, n. 4, p. 418–426, 2017.

TALHARI, A. L. R. **Estudo da Toxicidade de Marcadores Luminescentes para Resíduos de Tiro: Avaliação da Estabilidade, da Toxicidade Aguda por Inalação e Oral da MOF ∞ [Eu(DPA)(HDPa)].** Dissertação (Mestrado em Química): Universidade de Brasília, 2017.

TAN, K.; NIJEM, N.; CANEPA, P. .; GONG, Q.; LI, J.; THONHAUSER, T. .; CHABAL, Y. J. Stability and hydrolyzation of metal organic frameworks with paddle-wheel SBUs upon hydration. **Chemistry of Materials**, v. 24, n. 16, p. 3153–3167, 2012.

TANNER, P. A. Some misconceptions concerning the electronic spectra of tri-positive europium and cerium. **Chemical Society reviews**, v. 42, n. 12, p. 5090–5101, 2013.

TAUDTE, R. V.; BEAVIS, A.; BLANES, L.; COLE, N.; DOBLE, P.; ROUX, C. Detection of Gunshot Residues Using Mass Spectrometry. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–16, 2014.

TÉLLEZ, C. A.; HOLLAUER, E.; MONDRAGON, M. A.; CASTAÑO, V. M. Fourier transform infrared and Raman spectra, vibrational assignment and ab initio calculations of terephthalic acid and related compounds. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 57, n. 5, p. 993–1007, 2001.

TEMPERINI, M. L. A. **Alguns aspectos da espectroscopia Raman ressonante.** Tese (Doutorado em Química): Universidade de São Paulo, 1977.

TUCKER, W.; LUCAS, N.; SEYFANG, K. E.; KIRKBRIDE, K. P.; POPELKA-FILCOFF, R. S. Gunshot residue and brakepads: Compositional and morphological considerations for forensic casework. **Forensic Science International**, v. 270, p. 76–82, 2017.

URBANACUTESKI, T. **Chemistry and Technology of Explosives.** 1. ed. New York, USA: Pergamon Press, 1964. v. 1

VAN DE VOORDE, B.; BUEKEN, B.; DENAYER, J.; DE VOS, D. Adsorptive separation on metal-organic frameworks in the liquid phase. **Chemical Society reviews**, v. 43, n. 16, p. 5766–88, 2014.

VICINI, L. **Análise multivariada da teoria à prática.** Monografia (Especialização em Química): Universidade Federal de Santa Maria, 2005.

VIDAL, M.; AMIGO, J. M. Pre-processing of hyperspectral images. Essential steps before image analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 117, p. 138–148, ago. 2012.

WEBER, I. T.; MELO, A. J. G. D. .; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M.O.; JUNIOR, S. A. **Processo de Obtenção de Munição Luminescente e Processo de Detecção de Resíduos de Tiro**, 2010.

WEBER, I. T.; TERRA, I. A. A.; MELO, A. J. G.; LUCENA, M. A. M. .; WANDERLEY, K. A.; PAIVA-SANTOS, C. O.; ANTÔNIO, S. G.; NUNES, L. A. O.; PAZ, FILIPE A. A.; SÁ, GILBERTO F.; JÚNIOR, S. A. .; RODRIGUES, M.

O. Up-conversion properties of lanthanide-organic frameworks and how to track ammunitions using these materials. **RSC Advances**, v. 2, n. 7, p. 3083, 2012.

WEBER, I.T.; DE MELO, A. J. G. .; LUCENA, M. A. M.; RODRIGUES, M. O.; JUNIOR, S. A. . High Photoluminescent Metal–Organic Frameworks as Optical Markers for the Identification of Gunshot Residues. **Analytical Chemistry**, v. 83, n. 12, p. 4720–4723, 2011.

WEBER, I.T.; MELO, A.J.G.; LUCENA, M.A.M.; CONSOLI, E.F.; RODRIGUES, M.O.; DE SÁ, G.F.; MALDANER, A.O.; TALHAVINI, M.; JÚNIOR, S. A. Use of luminescent gunshot residues markers in forensic context. **Forensic Science International**, v. 244, p. 276–284, nov. 2014.

WILLIAMS, P. J.; GELADI, P.; BRITZ, T. J.; MANLEY, M. Growth characteristics of three *Fusarium* species evaluated by near-infrared hyperspectral imaging and multivariate image analysis. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 96, n. 3, p. 803–813, 2012.

WU, D.; SHI, H.; WANG, S.; HE, Y. .; BAO, Y.; LIU, K. Rapid prediction of moisture content of dehydrated prawns using online hyperspectral imaging system. **Analytica Chimica Acta**, v. 726, p. 57–66, 2012.

WU, D.; SUN, D.-W. Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: A review — Part II: Applications. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 19, p. 15–28, 2013.

YAMAMOTO, S.; BOUŘ, P. Detection of molecular chirality by induced resonance raman optical activity in europium complexes. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 51, n. 44, p. 11058–11061, 2012.

ZELEŇÁK, V.; VARGOVÁ, Z.; GYÖRYOVÁ, K. Correlation of infrared spectra of zinc(II) carboxylates with their structures. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 66, n. 2, p. 262–272, 2007.

APENDICE A – RESULTADO DAS AMOSTRAS DO CONJUNTO B COM MCR-ALS

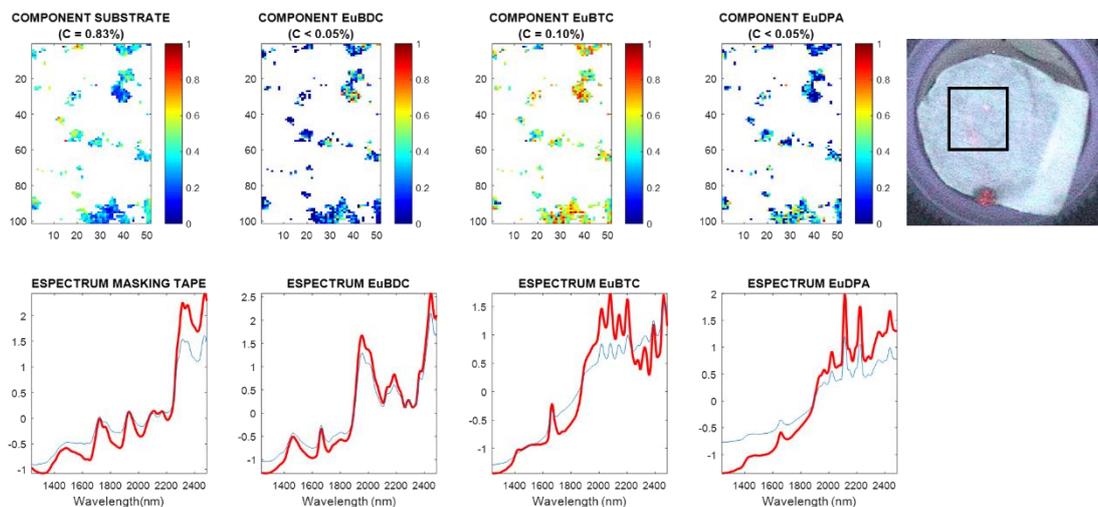


Figura A1: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBDC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

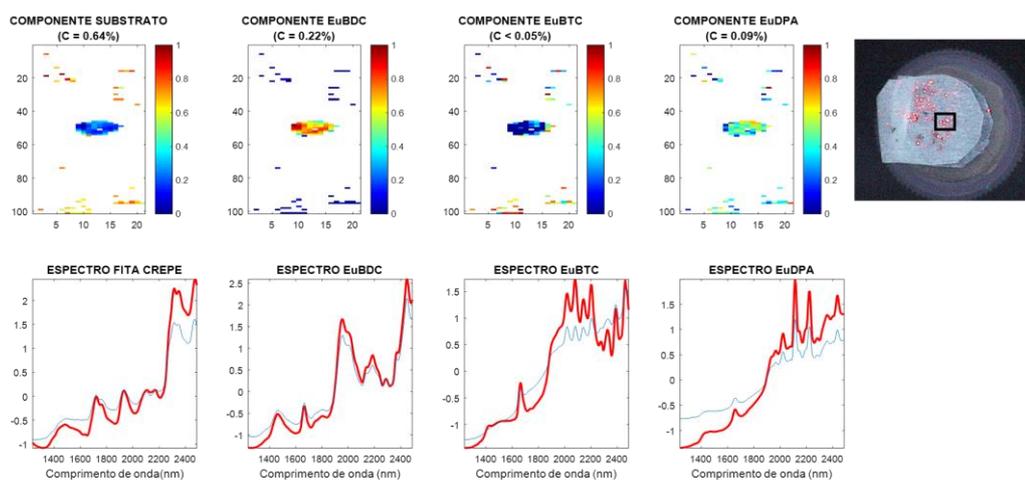


Figura A2: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBDC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

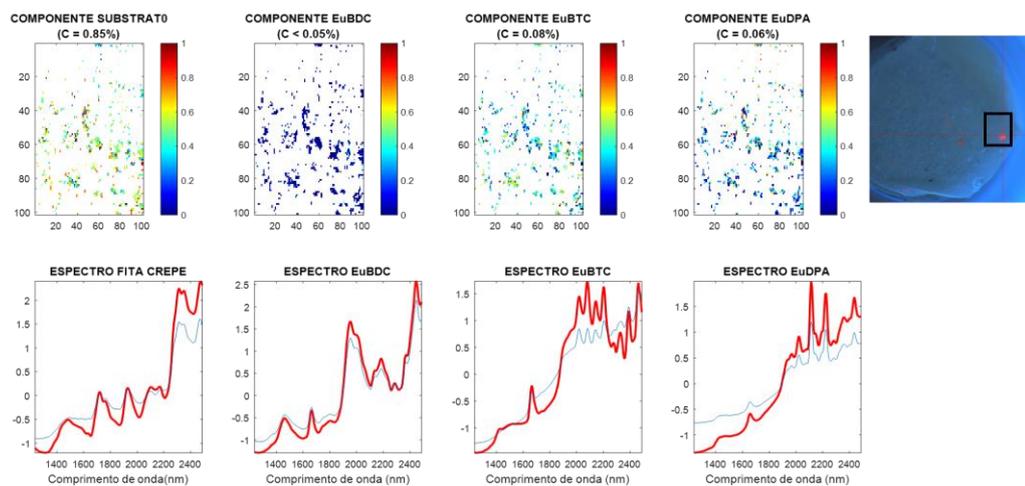


Figura A3: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBDC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

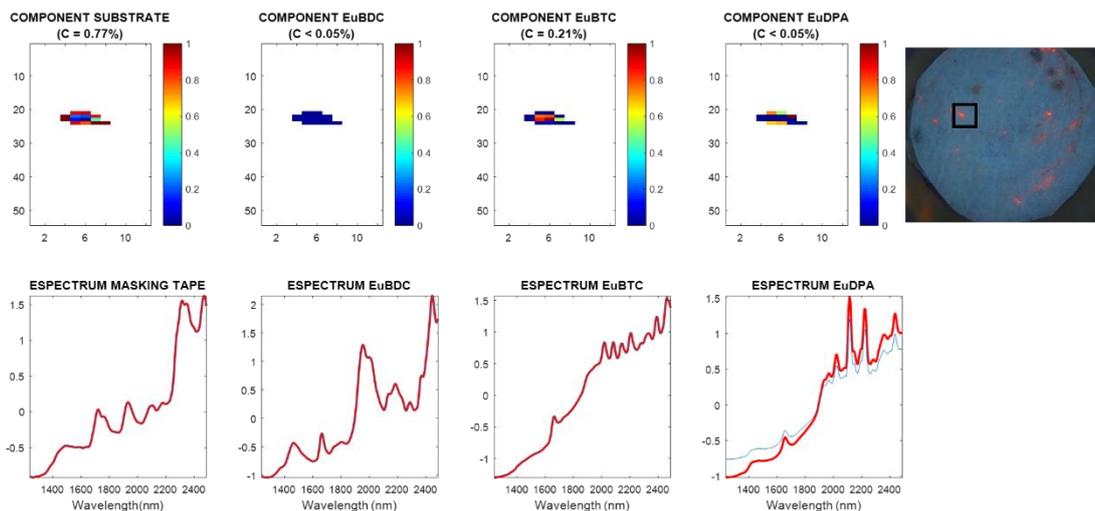


Figura A4: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBDC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

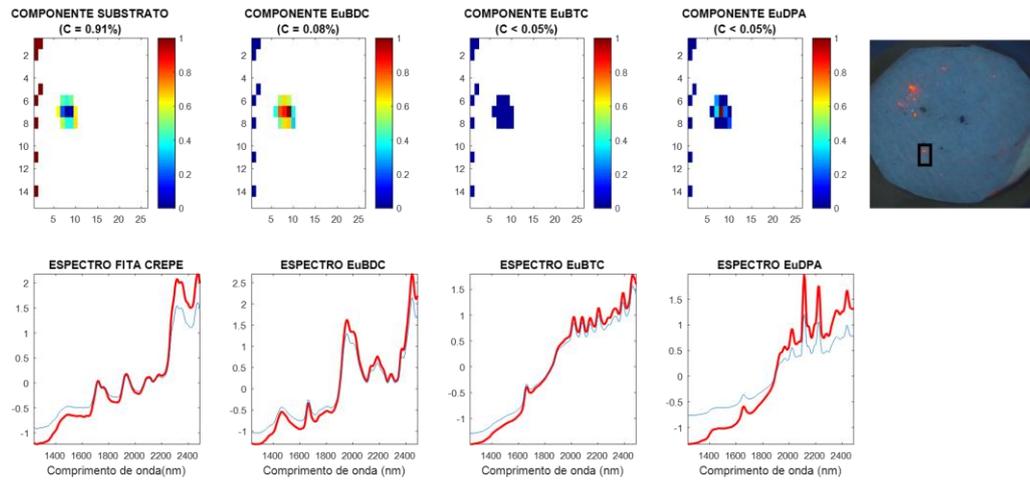


Figura A5: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBDC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

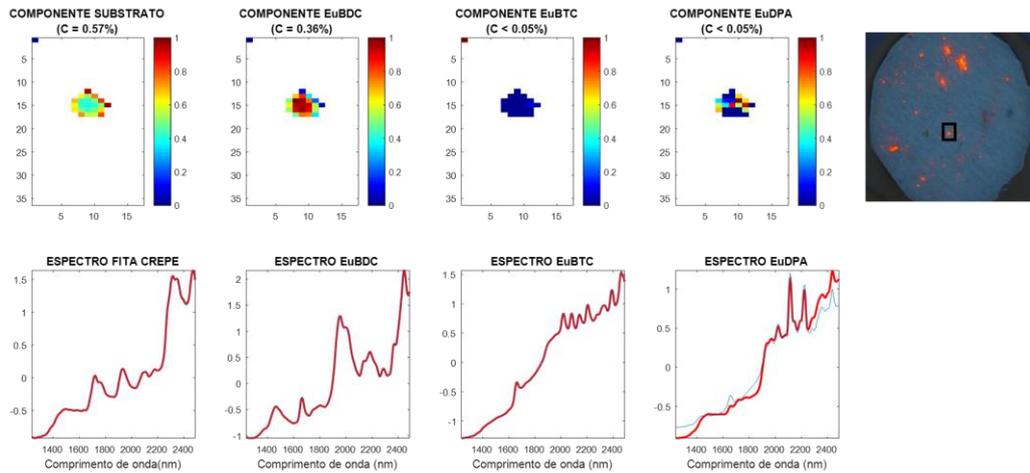


Figura A6: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBDC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

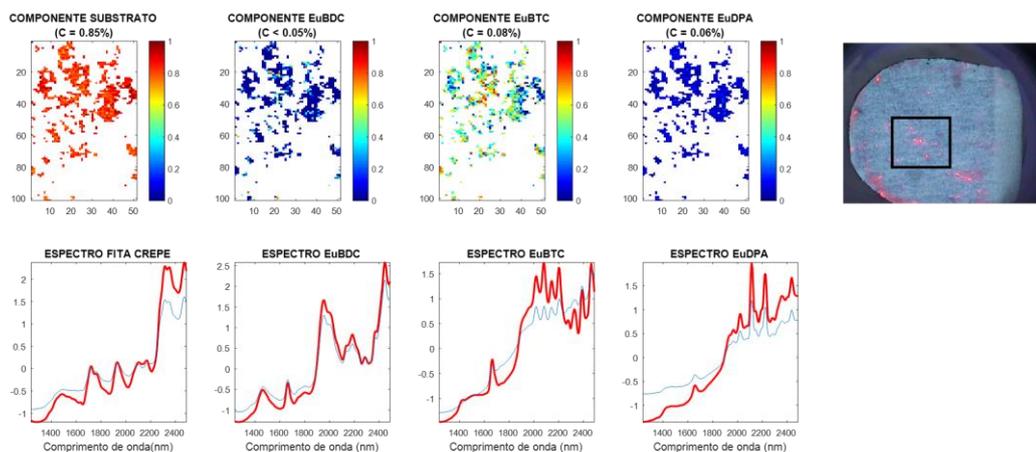


Figura A7: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBTC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

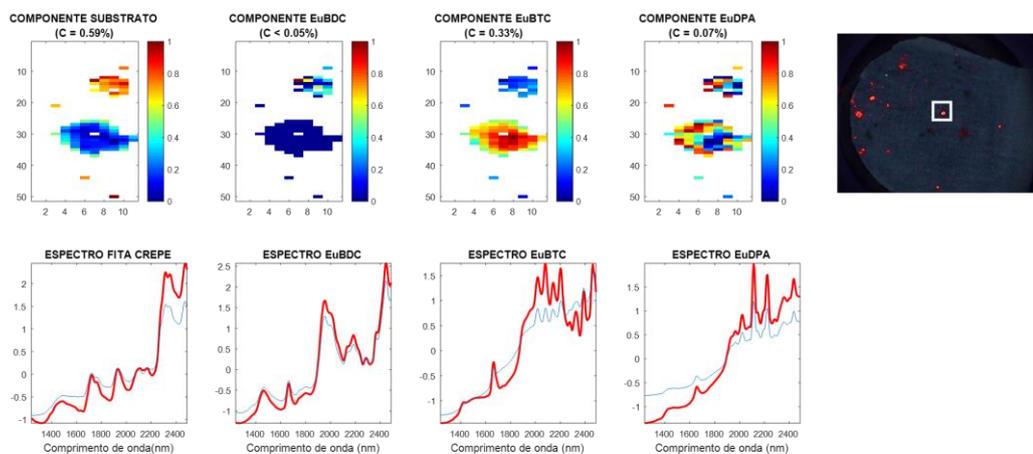


Figura A8: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBTC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

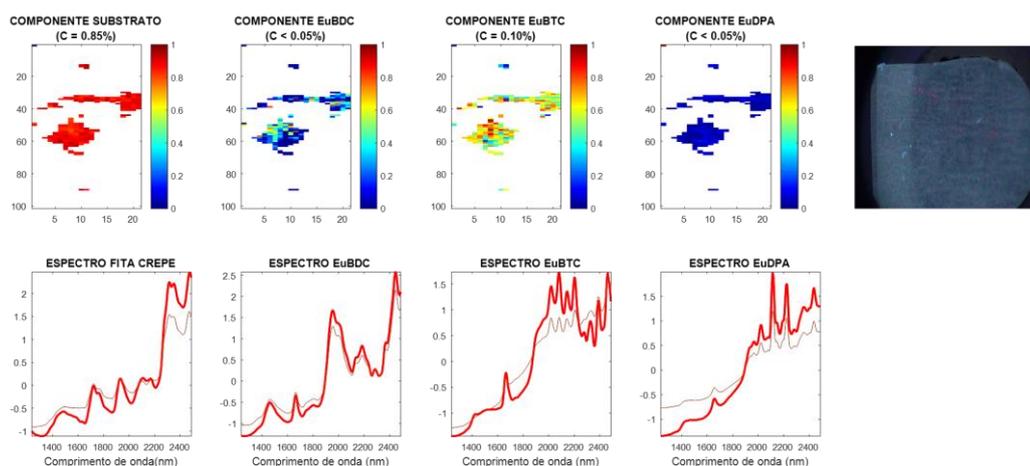


Figura A9: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBTC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

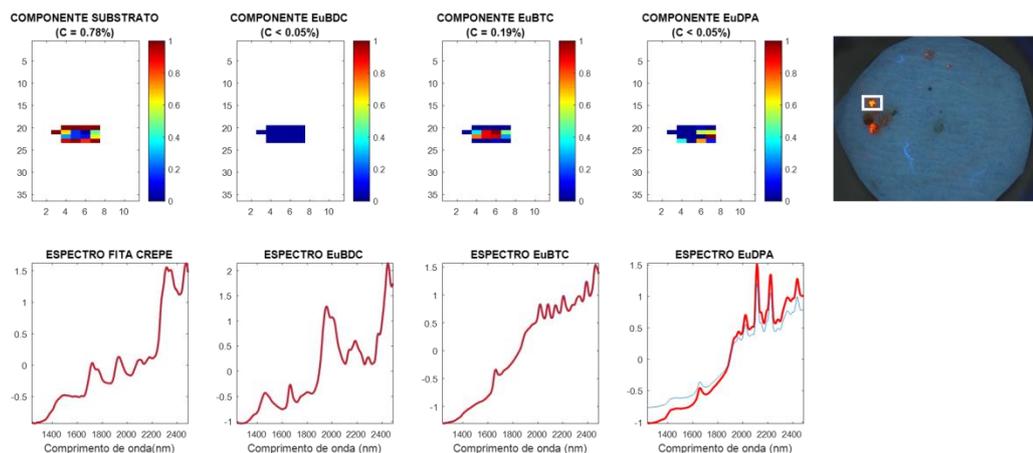


Figura A10: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBTC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

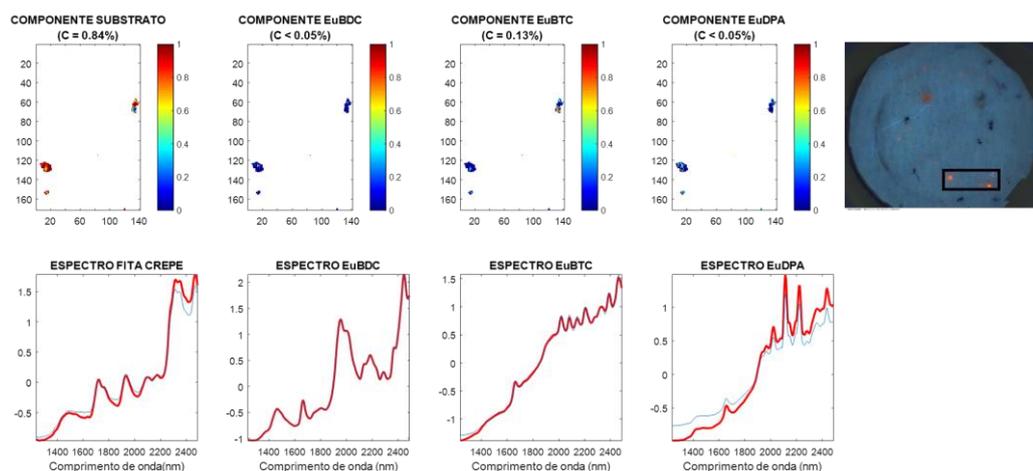


Figura A11: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBTC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

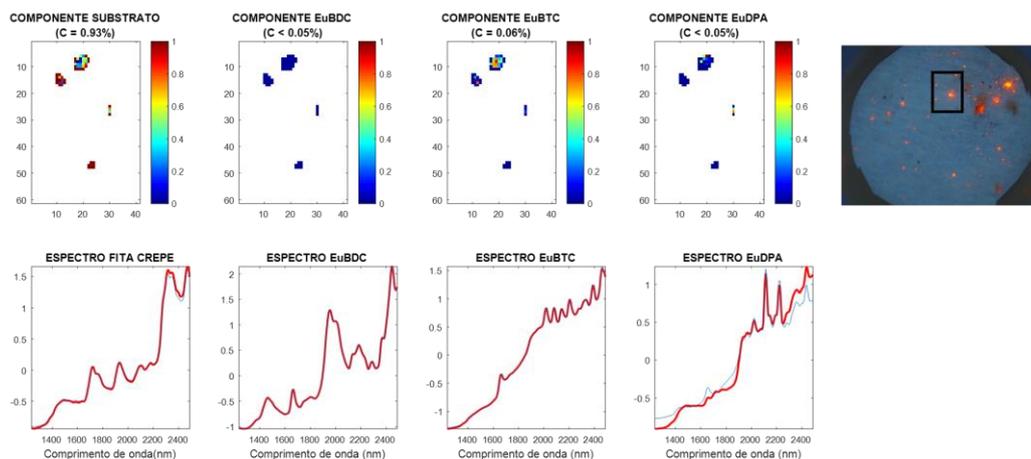


Figura A12: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuBTC coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

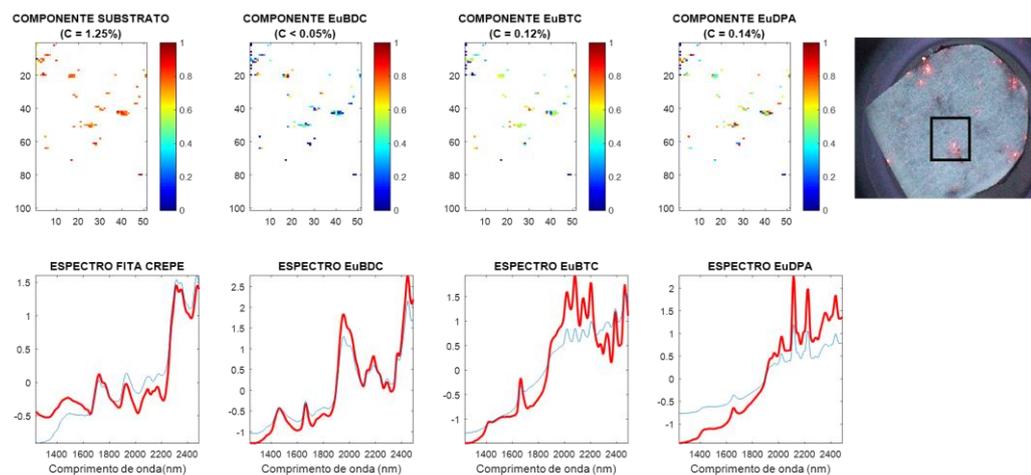


Figura A13: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuDPA coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

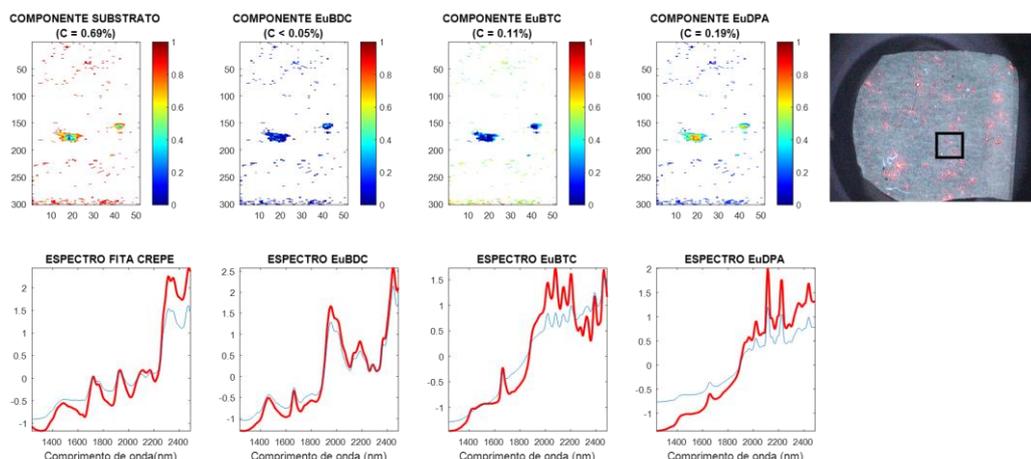


Figura A14: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuDPA coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

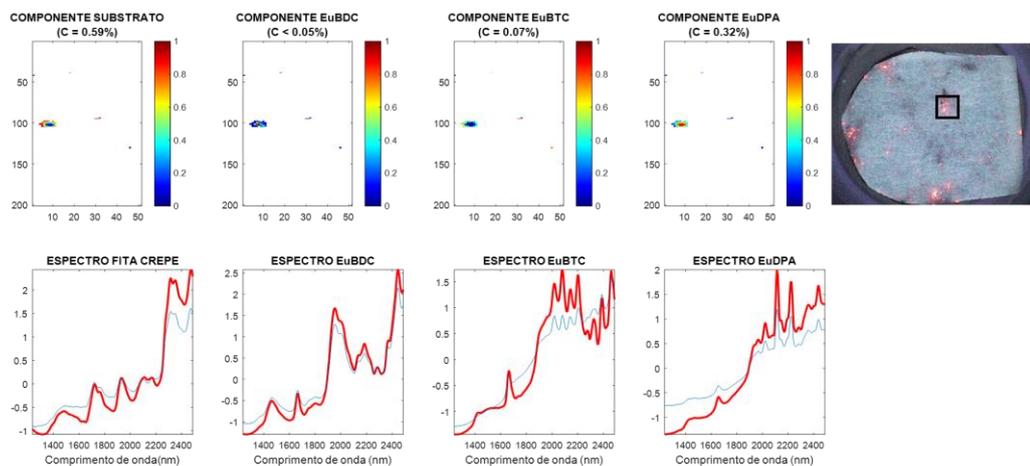


Figura A15: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuDPA coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente..

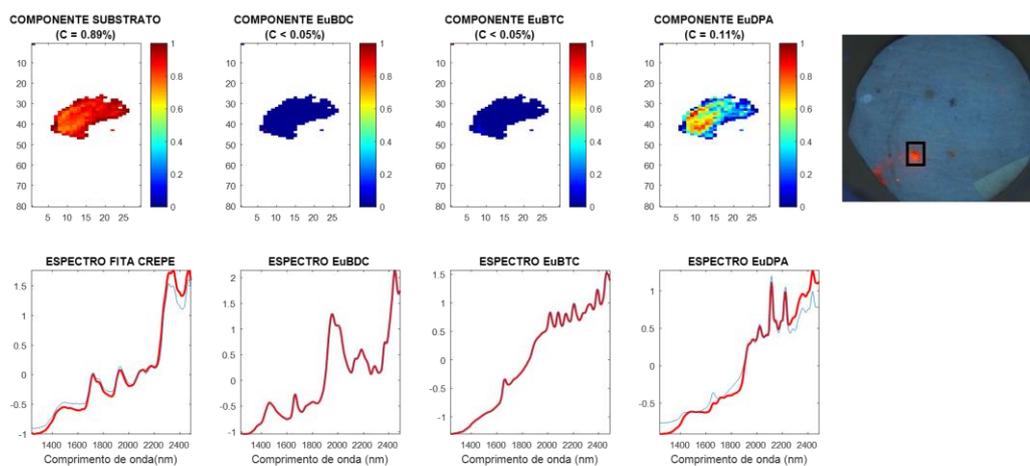


Figura A16: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuDPA coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente.

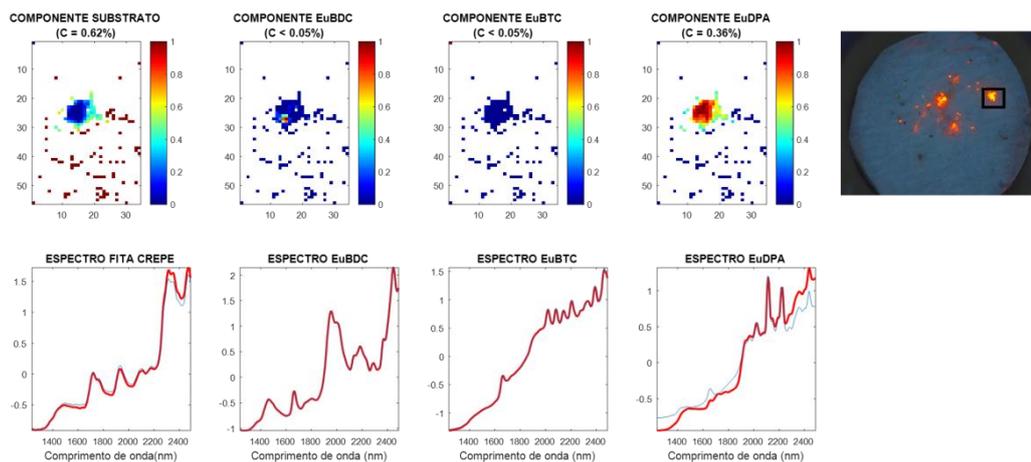


Figura A17: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuDPA coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente..

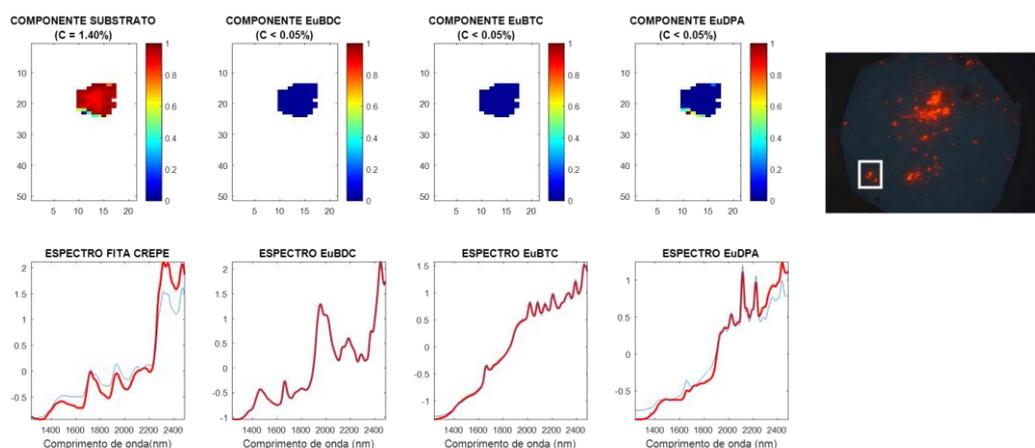


Figura A18: Mapas de distribuição de uma amostra contendo EuDPA coletados de cartucho, imagem VSC e espectros puros (azul) e reconstruídos e restaurados pelo modelo (vermelho) de cada componente..