



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Exatas e da Natureza - CCEN
Departamento de Química Fundamental - DQF

LÍVIA RODRIGUES E BRITO

Desenvolvimento de metodologias analíticas não destrutivas empregando imagens hiperespectrais no infravermelho próximo e Raman para análise de cruzamentos de traços de canetas.

Recife
2018

LÍVIA RODRIGUES E BRITO

Desenvolvimento de metodologias analíticas não destrutivas empregando imagens hiperespectrais no infravermelho próximo e Raman para análise de cruzamentos de traços de canetas.

Tese de Doutorado submetida ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Maria Fernanda Pimentel
Co-orientadores: André Braz

Recife
2018

Catálogo na fonte
Mariana de Souza Alves CRB4-2106

B862d Brito, Livia Rodrigues e
Desenvolvimento de metodologias analíticas não destrutivas empregando imagens hiperespectrais no infravermelho próximo e Raman para análise de cruzamentos de traços de canetas. – 2018.
158 f.: il., fig., tab.

Orientadora: Maria Fernanda Pimentel
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química. Recife, 2018.
Inclui referências e apêndices.

1. Química analítica. 2. Documentoscopia. 3. Cruzamento de traços. 4. Imagem hiperespectral. I. Pimentel, Maria Fernanda (orientadora). II. Título.

543

CDD (22. ed.)

UFPE-FQ 2019-68

LÍVIA RODRIGUES E BRITO

“Desenvolvimento de Metodologias Analíticas não Destrutivas Empregando Imagens Hiperespectrais no Infravermelho Próximo e Raman para Análise de Cruzamentos de Traços de Canetas.”

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química.

Aprovado em: 23/11/2018

BANCA EXAMINADORA

Profa. Maria Fernanda Pimentel (Orientadora)

Departamento de Engenharia Química
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Simone da Silva Simões

Departamento de Química
Universidade Estadual da Paraíba

Profa. Claudete Fernandes Pereira

Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Carolina Santos Silva

Departamento de Engenharia Química
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Ingrid Távora Weber

Instituto de Química
Universidade de Brasília

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha orientadora, Prof^a Dr.^a Maria Fernanda Pimentel, por toda dedicação, compreensão e incentivo, especialmente quando eu precisei deixar as coisas um pouco de lado para me dedicar ao meu sonho.

Ao meu co-orientador Dr. André Braz por todas as ideias, ajuda e, principalmente, paciência. Só a gente sabe quantas vezes nos desentendemos no português. Foram correções em cima de correções, mas no fim chegamos a um acordo.

Aos meus pais, Jorge e Márcia, e minha irmã, Júlia, por todo apoio, principalmente a minha mãe que sempre participa diretamente de tudo que eu faço e me dá forças para continuar.

Aos meus avós, Cleto, Albanita e Stela, pela compreensão de todas as ausências e pelas orações.

Aos meus amigos e colegas de trabalho, sem citar nomes para não ser injusta, por terem me ajudado das formas mais diversas possíveis e por serem amigos tão bons.

A Cristiane Vidal e, principalmente, a Amanda Belém, por terem me ajudado nas análises, sem elas nada teria sido possível.

Ao perito criminal Dr. Ricardo Honorato pelas excelentes ideias e colaboração.

Um agradecimento especial ao Prof. Hanns Weber, que há 11 anos atrás me convenceu a fazer química. Nem sei onde estaria hoje se não o tivesse conhecido.

Aos projetos NUQAAPE (FACEPE), NEQUIFOR (CAPES) e INCTAA (CNPq/FAPESP), pelo auxílio financeiro.

RESUMO

A determinação da ordem de traços em cruzamentos é um problema antigo na Documentoscopia que persiste até os dias de hoje. Na Documentoscopia, metodologias objetivas, rápidas e, principalmente, não destrutivas, são preferíveis devido à necessidade de se manter os documentos intactos. Neste trabalho, imagens hiperespectrais no infravermelho próximo (NIR) e Raman, associadas à quimiometria, foram utilizadas para a determinação da ordem de traços feitos com canetas de tinta azul e preta. Na análise das imagens na região do NIR, foram testados diferentes tipos de pré-processados e as imagens foram tratadas com a análise de componentes principais (PCA) e a resolução multivariada de curvas pelos mínimos quadrados alternados (MCR-ALS) na forma aumentada. Não foi possível discriminar a tinta do papel na maioria dos casos e em apenas 1 dos 15 pares de cruzamentos analisados foi possível determinar a ordem correta dos traços. Na análise das imagens no Raman, os espectros foram pré-processados com os mínimos quadrados assimétricos (AsLS) e a normalização vetorial e tratados com k-means, MCR-ALS e análise discriminante pelos mínimos quadrados parciais (PLS-DA). Os resultados foram analisados, primeiramente, visualmente, considerando-se a quantidade de tinta e continuidade dos traços. Em seguida, os resultados da MCR-ALS e PLS-DA foram analisados utilizando uma metodologia baseada na quantidade relativa de *pixels* de cada tinta na região do cruzamento, de forma a tornar a determinação objetiva. Os resultados obtidos foram, então, comparados com os resultados de análises utilizando a microscopia óptica, técnica comumente usada, e verificou-se que a metodologia objetiva resultou em maiores percentuais de acertos. Um percentual de determinações corretas da ordem de 73% foi obtido utilizando a MCR-ALS e a metodologia objetiva. Esses resultados demonstram que a metodologia proposta é viável para ser adotada pelos peritos criminais na análise de cruzamentos.

Palavras-chave: Cruzamento de traços. Imagem hiperespectral. Espectroscopia no infravermelho próximo. Espectroscopia Raman.

ABSTRACT

The determination of the chronological sequence of intersecting lines is an old problem in Questioned Documents forensic field that lasts until today. In Questioned Documents examinations, objective, fast and, mainly, non-destructive methodologies are preferable due to the need to keep the documents intact. In this work, near infrared (NIR) and Raman hyperspectral images associated with chemometrics techniques were used to determine the chronological sequence of intersecting lines made with blue and black pens. In NIR hyperspectral images analysis, different types of pre-processing techniques were tested and the images were treated using principal component analysis (PCA) and augmented multivariate curve resolution - alternating least squares (MCR-ALS). In most cases, it was not possible to differentiate ink from paper and just in 1 of the 15 intersection pairs analyzed it was possible to determine the correct chronological sequence of intersecting lines. In Raman hyperspectral images analysis, spectra were pre-processed with asymmetric least squares (AsLS) and unit vector normalization and treated with k-means, MCR-ALS and partial least squares – discriminant analysis (PLS-DA). The results of these analysis were, first, analyzed visually, considering the quantity of ink and continuity of the lines. After, MCR-ALS and PLS-DA results were analyzed using a methodology based on the relative quantity of pixels of each ink in the intersection region, in order to make the determination objective. The obtained results were, then, compared with the results of optical microscopy analysis, commonly used technique, and it was verified that the objective methodology resulted in higher correct determinations rates. A 73% of correct determinations rate was obtained using MCR-ALS and the objective methodology. These results show that the proposed methodology is feasible to be adopted by the criminal investigators in the analysis of intersecting lines.

Keywords: Intersecting lines. Hyperspectral image. Near infrared spectroscopy. Raman spectroscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Figura 1 – Imagem da SEM de um cruzamento no qual a tinta de uma caneta do tipo ballpoint (superfície lisa à direita) estava sobre a tinta de um carimbo (superfície rugosa à esquerda).....	24
Figura 2 –	Imagens de cruzamentos após a análise com o ESDA nos quais (a) a impressão latente estava sobre o traço de tinta e (b) o traço de tinta estava sobre a impressão latente.....	26
Figura 3 –	Esquema e imagem do microscópio dos diferentes arranjos das tintas observados nos cruzamentos dependendo do tipo de tinta: (a) líquida x líquida (duas camadas distintas), (b) líquida x óleo (mistura parcial) e (c) óleo x líquida (mistura completa).....	29
Figura 4 –	Imagens RGB falsas da região do cruzamento de cruzamentos entre canetas com tinta à base de gel em diferentes tempos de separação entre a aplicação do primeiro e do último traço, onde a linha horizontal (verde) corresponde ao primeiro traço e a vertical (vermelha) ao segundo.....	32
Figura 5 –	Imagens RGB falsas da região do cruzamento de cruzamentos entre canetas com tinta à base de óleo em diferentes tempos de separação entre a aplicação do primeiro e do último traço, onde a linha horizontal (verde) corresponde ao primeiro traço e a vertical (vermelha) ao segundo.....	33
Figura 6 –	Imagens RGB falsas da região do cruzamento de cruzamentos entre canetas com tinta à base de água (líquida) em diferentes tempos de separação entre a aplicação do primeiro e do último traço, onde a linha horizontal (verde) corresponde ao primeiro traço e a vertical (vermelha) ao segundo.....	33
Figura 7 –	Linha do tempo com as principais metodologias e avanços científicos na determinação da ordem dos cruzamentos de traços em análises de documentos.....	34
Figura 8 –	Representação esquemática do modelo do oscilador (a) harmônico e (b) anarmônico para a variação de energia potencial (U) de moléculas diatômicas.....	36
Figura 9 –	Esquema dos espalhamentos Rayleigh, Stokes e anti-Stokes onde as linhas tracejadas indicam os estados virtuais.....	38
Figura 10 –	Imagem (a) em escala de cinza, (b) RGB e (c) multiespectral ou hiperespectral.....	40
Figura 11 –	Imagem hiperespectral Raman de uma camada de emulsão. (a) Imagem global e (b) Mapa de distribuição em um determinado comprimento de onda.....	42
Figura 12 –	Desdobramento da matriz de dados segundo a função reshape.....	44
Figura 13 –	Espectros (a) brutos e (b) pré-processados com AsLS de um cálculo renal.....	47
Figura 14 –	Efeito de diferentes valores de λ em um espectro de uma célula de fibra de álamo, sendo λ igual a (a) 30.000, (b) 0 e (c) 1×10^9	47
Figura 15 –	Gráfico de dispersão (PC 3 x PC 2).....	49
Figura 16 –	Amostras de cruzamentos para análise no NIR.....	56

Figura 17 – Câmera hiperespectral SisuCHEMA SWIR.....	57
Figura 18 – Imagem RGB da região do cruzamento com as regiões contendo apenas uma das canetas marcadas.....	58
Figura 19 – a) Imagem dos escores da PC1, b) Histograma dos valores dos escores da PC1 e c) Imagem falsa com os pixels selecionados de um traço feito com uma caneta de tinta preta (Bic Velocity Gel).....	59
Figura 20 – Espectros brutos (a) completos e (b) sem as regiões ruidosas de um cruzamento entre as canetas Pentel BK-420 (preta) e Bic Cristal Gel (azul)	62
Figura 21 – Espectros médios das tintas das canetas Bic Velocity Gel e Pentel BK 437 e do papel.....	62
Figura 22 – Imagens dos escores da PC1 na PCA realizada nas regiões contendo apenas o papel e a tinta da caneta: (a) Bic Grip Roller, (b) Schneider TopBall 857, (c) Pentel BK 437, (d) Pilot BPS Grip, (e) Compactor 07 e (f) Bic Velocity Gel.....	63
Figura 23 – Histogramas dos valores dos escores da PC1 da PCA realizada nas regiões contendo apenas o papel e a tinta das canetas (a) Bic Grip Roller, (b) Pentel BK 437e (c) Compactor 07.....	64
Figura 24 – Imagens dos escores da PC1 da PCA realizada nas regiões contendo apenas o papel e a tinta de uma caneta e imagens falsas com os pixels selecionados através dos histogramas das canetas Pentel BK 437 e Compactor 07.....	65
Figura 25 – Imagens dos escores e histogramas dos valores dos escores da PC1 da PCA realizada nas regiões contendo apenas papel e a tinta das canetas selecionadas.....	65
Figura 26 – Espectros brutos das tintas das canetas selecionadas e do papel.....	66
Figura 27 – Mapas de concentração e espectros otimizados do cruzamento 19. Espectros (a) brutos e pré-processados com (b) SNV, (c) primeira e (d) segunda derivada com filtro de Savitzky-Golay e janela de 15 pontos.....	69
Figura 28 – Mapas de concentração e espectros otimizados do cruzamento 07. Espectros (a) brutos e (b) pré-processados com SNV.....	70
Figura 29 – Mapas de concentração e espectros otimizados do cruzamento 28. Espectros (a) brutos e (b) pré-processados com SNV.....	70
Figura 30 – Mapas de concentração e espectros otimizados dos cruzamentos (a) 23 e (b) 24 da análise feita com os espectros brutos.....	72
Figura 31 – Mapas de concentração e espectros otimizados dos cruzamentos (a) 27 e (b) 28 da análise feita com os espectros brutos.....	72
Figura 32 – Amostras de cruzamentos para análise no Raman.....	74
Figura 33 – Equipamento Raman SENTERRA II confocal.....	75
Figura 34 – Imagem RGB de um cruzamento com a região selecionada e a grade de 25x25 pontos. Os pontos são adquiridos da esquerda para a direita e de baixo para cima.....	76
Figura 35 – Esquema da ordem dos espectros da imagem no Raman após o (a) mapeamento, (b) montagem do hipercubo e (c) transposição da matriz da imagem no Raman.....	77
Figura 36 – Imagem RGB de um cruzamento com as regiões contendo apenas o papel e o cruzamento marcadas em vermelho.....	78

Figura 37 – Mapas de concentração de um cruzamento entre as canetas Bic Cristal Gel (azul) e Bic Pro (azul) com as regiões seleccionadas de cada tinta marcadas em branco.....	80
Figura 38 – (a) Espectros brutos do cruzamento e (b) espectros puros das tintas e do papel do cruzamento teste.....	82
Figura 39 – Ajuste do algoritmo AsLS variando o valor de λ de 107 a 1 e mantendo-se o valor de p fixo em 0,001.....	83
Figura 40 – Ajuste do algoritmo AsLS variando o valor de p de 0,0001 a 0,1 e mantendo-se o valor de λ fixo em 105.....	83
Figura 41 – Espectros das tintas e papel no cruzamento teste com diferentes pré-processamentos: (a) AsLS, (b) AsLS seguido da normalização pelo máximo, (c) AsLS seguido da normalização vetorial, (d) normalização pelo máximo seguida do AsLS e (e) normalização vetorial seguida do AsLS.....	84
Figura 42 – Mapas de concentração de cada tinta e papel do cruzamento teste com diferentes pré-processamentos: (a) AsLS seguido da normalização vetorial, (b) normalização pelo máximo seguida do AsLS e (c) normalização vetorial seguida do AsLS.....	85
Figura 43 – Espectros das tintas e papel no cruzamento teste corrigidos com AsLS, normalização vetorial e (a) sem suavização e com suavização com filtro de Savitzky-Golay com polinômio de 2° grau e janela de (b) 9, (c) 15, (d) 21 e (e) 31 pontos.....	85
Figura 44 – Mapas de concentração da MCR-ALS do cruzamento teste corrigidos com AsLS, normalização vetorial e (a) sem suavização e (b) com suavização com filtro de Savitzky-Golay com polinômio de 2° grau e janela de 31 pontos.....	86
Figura 45 – Mapas de concentração de cada tinta e papel usados no cruzamento teste, pré-processados e analisados com diferentes grades: (a) 15x15 e (b) 25x25 pontos.....	87
Figura 46 – Espectros puros, pré-processados, das tintas das canetas (a) Bic Cristal Gel, (b) Bic Pro (azul), (c) Pilot G2 (azul), (d) Uni-ball Signo (azul), (e) Bic Pro (preta), (f) Pilot G2 (preta), (g) Uni-ball Signo (preta) e (h) Pentel Energel.....	88
Figura 47 – Imagens falsas dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul obtidas com o k-means.....	90
Figura 48 – Espectros puros (a) das tintas das canetas Bic Cristal Gel e Uni-ball Signo e (b) do pigmento ftalocianina de cobre II corrigidos com AsLS e normalização vetorial.....	91
Figura 49 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 01 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	93
Figura 50 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 09 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	94
Figura 51 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 05 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e	

	imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	95
Figura 52	– Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 06 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	95
Figura 53	– Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 11 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	96
Figura 54	– Imagens falsas dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta obtidas com o k-means.....	97
Figura 55	– Mapas de concentração e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta preta.....	98
Figura 56	– Mapas de previsão e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta preta.....	99
Figura 57	– Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 14 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	100
Figura 58	– Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 19 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	103
Figura 59	– Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 24 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	103
Figura 60	– Imagens falsas dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta obtidas com o k-means.....	104
Figura 61	– Espectros puros (a) das tintas das canetas Bic Pro azul e preta e (b) do corante Cristal Violeta corrigidos com AsLS e normalização vetorial.....	106
Figura 62	– Mapas de concentração e imagens falsas dos cruzamentos 31 e 32.....	107
Figura 63	– Mapas de concentração e imagem falsa do cruzamento 42.....	109
Figura 64	– Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 45 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	112
Figura 65	– Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 42 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo	

	as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	112
Figura 66 –	Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 49 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) x, (d) x-s, (e) x-1,96s e (f) x-2,575s.....	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Canetas separadas quanto à marca, modelo, tipo e cor da tinta.....	55
Tabela 2 – Canetas selecionadas.....	56
Tabela 3 – Cruzamentos entre as canetas pretas selecionadas.....	66
Tabela 4 – Número de espectros extraídos de cada traço nos cruzamentos entre as canetas pretas selecionadas.....	67
Tabela 5 – Resultados das análises dos cruzamentos entre as canetas pretas selecionadas onde □ corresponde a uma determinação correta e X a uma determinação incorreta.....	71
Tabela 6 – Canetas separadas quanto à marca, modelo e cor da tinta.....	74
Tabela 7 – Resultados obtidos para cada situação.....	80
Tabela 8 – Cruzamentos entre as canetas de tinta azul.....	89
Tabela 9 – Resultados das análises dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul.....	92
Tabela 10 – Cruzamentos entre as canetas de tinta preta.....	96
Tabela 11 – Resultados das análises visuais dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta.	100
Tabela 12 – Resultados das análises objetivas dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta.	101
Tabela 13 – Cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta.....	105
Tabela 14 – Resultados das análises visuais dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta.....	108
Tabela 15 – Resultados das análises objetivas dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta.....	111
Tabela 16 – Percentual de acertos, erros e resultados indeterminados das análises objetivas utilizando os mapas de concentração de todos os tipos de cruzamentos de traços analisados.....	114
Tabela 17 – Resultados dos testes cegos dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul.....	116
Tabela 18 – Resultados dos testes cegos dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta.....	117
Tabela 19 – Resultados dos testes cegos dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta.....	118
Tabela 20 – Resultados dos testes cegos e das análises visuais e objetivas usando a espectroscopia Raman dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul.....	120
Tabela 21 – Resultados dos testes cegos e das análises visuais e objetivas usando a espectroscopia Raman dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta.....	121
Tabela 22 – Resultados dos testes cegos e das análises visuais e objetivas usando a espectroscopia Raman dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta.....	122

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AsLS	Mínimos quadrados assimétricos, do inglês <i>asymmetric least squares</i>
ATR-FTIR	Refletância total atenuada - infravermelho com transformada de Fourier , do inglês <i>attenuated total reflectance – Fourier transform infrared</i>
ESDA	Aparelho de detecção eletrostática, do inglês <i>electrostatic deposition apparatus</i>
LSCM	Microscopia confocal de varredura a laser, do inglês <i>laser scanning confocal microscopy</i>
MCR-ALS	Resolução multivariada de curvas pelos mínimos quadrados alternados, do inglês <i>multivariate curve resolution – alternating least squares</i>
MSC	Correção do espalhamento multiplicativo, do inglês <i>multiplicative scatter correction</i>
NIR	Infravermelho Próximo, do inglês <i>near infrared spectroscopy</i>
PCA	Análise de componentes principais, do inglês <i>principal component analysis</i>
PC	Componente principal, do inglês <i>principal component</i>
PLS	Mínimos quadrados parciais, do inglês <i>partial least squares</i>
PLS-DA	Análise discriminante pelos mínimos quadrados parciais, do inglês <i>partial least squares – discriminant analysis</i>
SEM	Microscópio eletrônico de varredura, do inglês <i>scanning electron microscope</i>
SIMPLISMA	Do inglês, <i>simple-to-use interactive self-modeling mixture analysis</i>
SNV	Variação normal padrão, do inglês <i>standard normal variate</i>
ToF-SIMS	Espectrometria de massas de tempo de voo de íons secundários, do inglês <i>time of flight - secondary ion mass spectrometry</i>
VSC	Vídeo comparador espectral, do inglês <i>video spectral comparator</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL.....	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
3.1	DOCUMENTOSCOPIA.....	20
3.2	CRUZAMENTO DE TRAÇOS.....	20
3.2.1	Evolução histórica das metodologias de análise	23
3.2.1.1	Anos 60 e 70.....	23
3.2.1.2	Anos 80.....	23
3.2.1.3	Anos 90.....	25
3.2.1.4	2000 a 2009.....	26
3.2.1.5	2010 até hoje.....	28
3.3	INFRAVERMELHO PRÓXIMO.....	35
3.4	RAMAN.....	37
3.5	IMAGENS HIPERESPECTRAIS.....	40
3.5	TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS DE ANÁLISE DE IMAGENS.....	43
3.5.1	Técnicas de pré-processamento espectral	44
3.5.2	Técnicas de segmentação de imagens	48
3.5.2.1	Análise de componentes principais.....	48
3.5.2.2	<i>k-means</i>	49
3.5.2.3	Análise discriminante pelos mínimos quadrados parciais.....	50
3.5.3	Técnicas de resolução de imagens	52
3.5.3.1	Resolução multivariada de curvas pelos mínimos quadrados alternados.....	52
4	INFRAVERMELHO PRÓXIMO	55
4.1	METODOLOGIA.....	55
4.1.1	Preparo das amostras	55
4.1.2	Instrumentação e aquisição das imagens	57
4.1.3	Pré-processamento espectral e tratamento das imagens	57
4.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4.3	CONCLUSÕES.....	73
5	RAMAN	74
5.1	METODOLOGIA.....	74

5.1.1	Preparo das amostras	74
5.1.2	Instrumentação e aquisição das imagens	75
5.1.3	Pré-processamento espectral e tratamento das imagens	76
5.1.4	Testes cegos	80
5.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
5.2.1	Cruzamentos do tipo azul x azul.....	89
5.2.2	Cruzamentos do tipo preto x preto.....	96
5.2.3	Cruzamentos do tipo azul x preto.....	104
5.2.4	Microscopia óptica - Testes cegos.....	115
5.2.5	Comparação dos resultados dos testes cegos e do Raman.....	119
5.3	CONCLUSÕES	121
6	CONCLUSÕES GERAIS	124
7	PERSPECTIVAS FUTURAS	126
	REFERÊNCIAS	127
	APÊNDICE A - Mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta utilizando imagens hiperespectrais na região do NIR.....	132
	APÊNDICE B – Mapas de concentração (MCR-ALS) e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta azul utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	135
	APÊNDICE C – Mapas de previsão (PLS-DA) e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta azul utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	136
	APÊNDICE D – Valores limite utilizados na análise objetiva dos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	137
	APÊNDICE E – Percentual de <i>pixels</i> selecionados nos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	138
	APÊNDICE F – Valores limite utilizados na análise objetiva e percentual de <i>pixels</i> selecionados nos mapas de previsão (PLS-DA) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	139
	APÊNDICE G – Valores limite utilizados na análise objetiva dos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	140
	APÊNDICE H – Percentual de <i>pixels</i> selecionados nos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	141
	APÊNDICE I – Valores limite utilizados na análise objetiva e percentual de <i>pixels</i> selecionados nos mapas de previsão (PLS-DA) dos cruzamentos	

entre canetas de tinta preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	142
APÊNDICE J - Mapas de concentração (MCR-ALS) e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	143
APÊNDICE K – Mapas de previsão (PLS-DA) e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	147
APÊNDICE L - Valores limite utilizados na análise objetiva dos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	151
APÊNDICE M - Percentual de <i>pixels</i> selecionados nos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	152
APÊNDICE N – Valores limite utilizados na análise objetiva e percentual de <i>pixels</i> selecionados nos mapas de previsão (PLS-DA) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.....	153
APÊNDICE O – Imagens RGB dos cruzamentos do tipo azul x azul.....	154
APÊNDICE P – Imagens RGB dos cruzamentos do tipo preto x preto...	155
APÊNDICE Q – Imagens RGB dos cruzamentos do tipo azul x preto....	156

1 INTRODUÇÃO

Um dos ramos das Ciências Forenses é a Documentoscopia, que trata da investigação de documentos. Segundo Raza e Saha (2013), um problema recorrente do qual a Documentoscopia se ocupa é a determinação da ordem de traços em cruzamentos. Além de recorrente, é um problema antigo que data dos anos 30, segundo Mathyer e Pfister (1984).

Ao longo dos anos, uma série de metodologias foram propostas para determinar a ordem dos traços, conforme relatado no artigo de revisão de Brito et al. (2017). Essas metodologias podem ser divididas em dois tipos: análise morfológica dos traços e análise físico-química das tintas. Saini, Kaur e Sood (2009) se basearam nas propriedades físicas das tintas como, por exemplo, o brilho observado nas tintas à base de óleo, para discriminá-las. O maior problema desse tipo de metodologia é a subjetividade da análise, a qual depende fortemente da experiência do analista.

Metodologias baseadas em técnicas espectroscópicas também vêm sendo desenvolvidas a fim de tentar tornar a análise mais rápida e objetiva. Alguns trabalhos, inclusive, já utilizaram as imagens hiperespectrais, imagens nas quais cada pixel é representado por um espectro completo, associando a informação espectral à informação espacial. Os trabalhos de Silva et al. (2014), Braz, López-López e García-Ruiz (2015) e Borba et al. (2017) são exemplos de trabalhos envolvendo imagens hiperespectrais do infravermelho próximo (NIR, do inglês *near infrared*) e Raman. No trabalho de Silva et al. (2014), cruzamentos de traços feitos com diferentes tipos de caneta de tinta preta e impressoras a laser foram analisados utilizando imagens hiperespectrais no infravermelho próximo e obteve-se um percentual de acerto de 85% (17 dos 20 pares de cruzamentos tiveram a ordem dos traços corretamente determinada). No trabalho de Braz, López-López e García-Ruiz (2015), cruzamentos de traços feitos com diferentes tipos de caneta de tinta azul foram analisados utilizando a espectroscopia Raman e obteve-se um percentual de acerto de 55% (5 dos 9 pares de cruzamentos tiveram a ordem dos traços corretamente determinada). Esse baixo percentual de acerto se deveu ao fato de poucas canetas terem sido testadas e a tinta de uma delas ter predominado em todos os cruzamentos em que foi usada, independentemente de ela estar por baixo ou por cima. O resultado foi que, nos 4 cruzamentos envolvendo essa caneta, a ordem dos traços não foi corretamente determinada. No trabalho de Borba et al. (2017), dois cruzamentos de traços feitos

com canetas do tipo *ballpoint* (esferográfica) foram analisados utilizando a espectroscopia Raman e, através da análise em camadas de diferentes profundidades, foi possível determinar a ordem dos traços. Apesar do grande potencial das metodologias propostas, esses trabalhos basearam a determinação da ordem dos traços na interpretação visual dos resultados, o que ainda confere um caráter subjetivo à metodologia.

Nesta tese, foram desenvolvidas metodologias analíticas não destrutivas empregando as imagens hiperespectrais no NIR e Raman, associadas à quimiometria, para determinar a ordem dos traços em cruzamentos feitos com canetas de tinta azul e preta de diferentes tipos de tinta. Além da interpretação visual dos resultados, foi desenvolvida uma metodologia objetiva para a determinação da ordem dos traços baseada na quantidade relativa (percentual) de *pixels* de cada tinta na região do cruzamento, de forma a tornar a análise de fato independente do analista.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Desenvolver metodologias não destrutivas para análise de cruzamentos de traços feitos com canetas utilizando imagens hiperespectrais do infravermelho próximo e Raman associadas à quimiometria.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o uso das imagens hiperespectrais no NIR e Raman na determinação da ordem de traços feitos com canetas de tinta azul e preta;
- Avaliar o uso de diferentes técnicas quimiométricas (*k-means*, MCR-ALS e PLS-DA) para tratar as imagens hiperespectrais.
- Desenvolver uma metodologia que permita a determinação objetiva da ordem dos traços.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 DOCUMENTOSCOPIA

Nas Ciências Forenses, a Documentoscopia, que trata da investigação de documentos, é um ramo tão antigo que sua origem remota à Roma antiga ou, até mesmo antes disso, à antiga China, quando as falsificações passaram a ter implicações legais (BRAZ, 2015).

Os documentoscopistas (peritos em Documentoscopia) enfrentam grandes desafios como, por exemplo, a grande variedade de documentos (cartas, cheques, documentos de identidade, contratos, testamentos, petições, notas de suicídio, bilhetes de loteria, etc.); a singularidade e alto valor econômico de alguns desses documentos, cuja integridade deve ser mantida; e a crescente sofisticação nas falsificações, que torna necessário o desenvolvimento contínuo de metodologias analíticas cada vez mais informativas e eficientes.

Dos vários desafios enfrentados de forma recorrente pelos documentoscopistas, um deles é a determinação da ordem de traços em cruzamentos (RAZA; SAHA, 2013). Segundo Mathyer e Pfister (1984), trata-se de um problema que data dos anos 30, mas cujos avanços mais importantes só ocorreram após 1960. Apesar de antigo, ainda hoje, quase 90 anos depois, ele continua sendo um problema sério e, em alguns casos, sem solução.

3.2 CRUZAMENTO DE TRAÇOS

Apesar de diversas metodologias terem sido propostas ao longo dos anos, pouco se sabe sobre os aspectos físico-químicos das tintas nos cruzamentos e sobre as variáveis que podem influenciar na deposição de uma tinta sobre a outra como, por exemplo, o tipo de instrumento utilizado, tipo e cor da tinta, tipo de papel e tempo entre a aplicação de cada uma das tintas (BRITO et al., 2017).

Um fator bastante importante, que deve ser considerado, diz respeito ao tipo de instrumento utilizado, mais especificamente ao mecanismo de liberação das tintas, uma vez que, dependendo desse, o traço de tinta pode ser mais uniforme ou apresentar falhas decorrentes da liberação desigual de tinta pela caneta. Essas falhas podem causar ilusões de ótica e influenciar na análise do cruzamento,

comprometendo a determinação da ordem dos traços. As canetas mais comuns no mercado são do tipo *ballpoint* (esferográficas) e *rollerball*, as quais possuem uma esfera na extremidade que, ao ser pressionada contra o papel, no momento da escrita, gira sobre ele e permite a liberação da tinta do seu interior. A diferença entre esses dois tipos de canetas diz respeito ao tipo de tinta, pois a primeira possui uma tinta viscosa à base de óleo e a segunda possui uma tinta líquida mais fluida à base de gel. Independentemente do tipo de tinta, os traços feitos com esse tipo de mecanismo podem apresentar uma característica que é uma maior quantidade de tinta nas laterais do que no centro. Além desses dois tipos de caneta, há, ainda, canetas hidrográficas cuja tinta é a base de água e ainda mais líquida do que as das canetas do tipo *rollerball* e cuja ponta é de feltro, semelhante a um marcador, o que garante uma distribuição mais uniforme da tinta.

Além do tipo de mecanismo de liberação das tintas, quando se busca determinar a ordem dos traços nos cruzamentos feitos com canetas, outro importante aspecto a ser compreendido diz respeito à composição da tinta. As tintas de caneta são compostas por diferentes substâncias, compostos orgânicos em sua maioria, tais como colorantes (corantes ou pigmentos), solventes, resinas e surfactantes (BRUNELLE; CRAWFORD, 2003; CHALMERS, EDWARDS e HARGREAVES, 2012). Corantes são, em geral, compostos orgânicos contendo anéis aromáticos sendo, portanto, solúveis em solventes orgânicos. Exemplos de corantes são o cristal violeta, Rodamina B, violeta de etila e azul de Victoria B (BRAZ; LÓPEZ-LÓPEZ; GARCÍA-RUIZ, 2014). Pigmentos, por outro lado, são compostos orgânicos e inorgânicos que se encontram na forma de pós finamente divididos suspensos em um veículo líquido que pode ser água ou um solvente orgânico. Exemplos de pigmentos são as ftalocianinas de níquel e cobre II. Os diversos compostos das tintas, os quais estão presentes em diferentes quantidades, determinam a eficiência da sua secagem, absorção e qualidade da distribuição no papel. É importante ressaltar que não se tem conhecimento da composição química exata das tintas, uma vez que ela é patenteada e mantida em segredo por questões comerciais.

Genericamente, as canetas podem se dividir em três classes de acordo com a base das suas tintas: óleo, gel e líquida (tinta à base de água). As tintas à base de óleo, por serem mais viscosas, são menos absorvidas pelo papel e o fazem de forma mais lenta, se depositando, assim, na sua superfície; enquanto que as tintas mais

fluídas (gel e líquidas) possuem uma absorção maior e mais rápida, chegando, inclusive, a serem visualizadas no lado oposto do papel.

Quando se deseja obter informações sobre a composição das tintas, as técnicas espectroscópicas apresentam algumas vantagens em comparação a outras técnicas porque, além de permitirem obter informações químicas relevantes diretamente no papel, as análises são rápidas e não comprometem a integridade do documento, uma vez que não são destrutivas. Há, inclusive, vários trabalhos utilizando a espectroscopia do infravermelho (SILVA et al., 2013), a espectroscopia na região do visível (DA SILVA et al., 2014a; DA SILVA et al., 2014b) e a espectroscopia Raman (BRAZ; LÓPEZ-LÓPEZ; GARCÍA-RUIZ, 2014; BORBA; HONORATO; DE JUAN, 2015) para a análise e discriminação de tintas de canetas. Apesar disso, elas também apresentam algumas desvantagens. Por exemplo, na espectroscopia do infravermelho a celulose do papel apresenta bandas de absorção características que podem se sobrepor às bandas das tintas e, assim, “mascarar” a sua informação. Na espectroscopia Raman, por outro lado, apesar de não haver interferência do papel, a fluorescência gera um sinal tão forte que pode modificar a forma do espectro e, nos piores casos, sobrepor completamente o sinal das tintas (BRUNELLE; CRAWFORD, 2003). É importante ressaltar que, uma vez que as tintas são formadas por diversos compostos orgânicos e inorgânicos, os espectros das tintas apresentam uma superposição dos espectros desses compostos, o que pode dificultar ou até mesmo impossibilitar a sua identificação através da análise das bandas espectrais.

Diversos trabalhos foram desenvolvidos ao longo dos anos propondo diferentes metodologias de análise, que vão desde a simples visualização de características físicas das tintas como cor e brilho, passando por procedimentos de “extração” invasivos das tintas e análise da estrutura tridimensional dos traços até análises químicas usando diversas técnicas analíticas e quimiometria. O artigo de Brito et al. (2017) faz uma revisão crítica de todos esses trabalhos e coloca em perspectiva as vantagens e limitações de cada um deles de forma que o leitor entenda as tendências da área. O que se segue é um resumo dessa revisão.

3.2.1 Evolução histórica das metodologias de análise

3.2.1.1 Anos 60 e 70

Nos anos 60 e 70, foram propostas metodologias baseadas na microscopia, tendo-se utilizado, gradualmente, instrumentos cada vez mais sofisticados. Primeiro foram utilizados os estereoscópicos, em seguida os microscópios óticos e, eventualmente, os microscópios eletrônicos de varredura (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscope*). Nesses trabalhos, apenas as características físicas dos traços como, por exemplo, a dispersão da tinta e continuidade do seu brilho, foram levadas em consideração. Quanto aos instrumentos de escrita, diferentes tipos de instrumentos foram utilizados no preparo dos cruzamentos como, por exemplo, lápis, canetas e máquinas de escrever. As desvantagens da microscopia são a subjetividade da análise e dependência da experiência do analista.

No final dos anos 70, em 1979, Igoe e Reynolds desenvolveram a técnica do *lifting*, a qual foi melhorada pelos mesmos em 1982 (IGOE; REYNOLDS, 1982). Essa metodologia consistia em “extrair” a tinta dos traços de canetas do tipo *ballpoint* pressionando um papel revestido com uma camada brilhosa (papel KromeKote) e aplicando calor sobre o mesmo. Com a pressão e o calor, as tintas dos traços seriam transferidas para esse papel e o traço que fosse transferido em maior quantidade e apresentasse continuidade nas suas bordas seria considerado como sendo o traço feito por último. Apesar de essa metodologia ter apresentado um percentual de acertos elevado (80% a 100%), não era aplicável para tintas mais fluídas e dependia da habilidade do analista. É importante ressaltar que, cerca de 15 anos depois, essa metodologia foi retomada por Leung e Leung (1997) e submetida a uma série de testes como, por exemplo, a análise da influência da pressão da escrita e da fricção realizada no papel no momento da “extração”. O objetivo desse trabalho foi propor uma teoria para explicar a metodologia, de forma a estabelecer as suas bases científicas e evitar que ela fosse tão questionada pelos peritos.

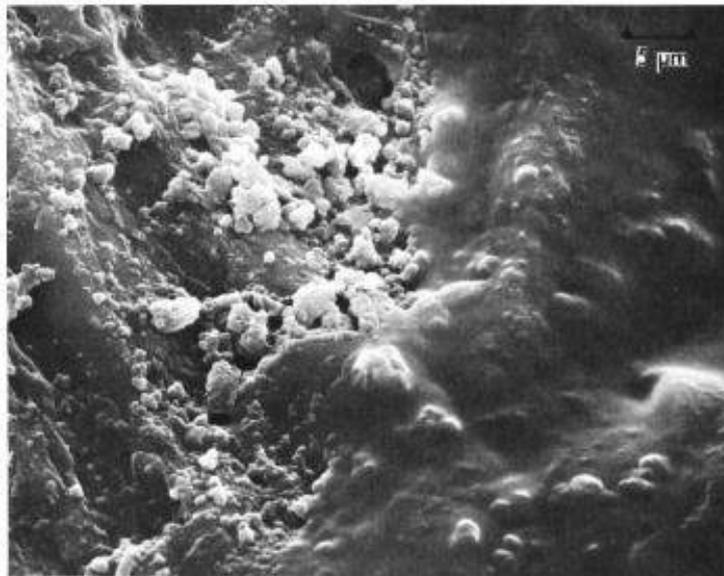
3.2.1.2 Anos 80

Nos anos 80, a microscopia continuou a ser usada juntamente com outras técnicas de análise das características físicas dos traços. Além disso, diversos autores

avaliaram a metodologia do *lifting* e propuseram modificações como a substituição do papel KromeKote por um adesivo removível ou papel fotográfico e a aplicação de solução de timol ou piridina para facilitar a extração da tinta. Os diversos autores que utilizaram essa metodologia não concordaram, contudo, no que diz respeito à técnica ser não destrutiva.

Koons (1985) propôs o uso combinado da metodologia do *lifting* com a SEM e concluiu que o uso combinado dessas duas técnicas apresentava grande potencial em análises de cruzamentos, principalmente aqueles feitos com canetas do tipo *ballpoint* e máquinas de escrever. Assim como Koons, os autores Mathyer e Pfister (1984) também propuseram o uso da SEM e afirmaram ser possível analisar cruzamentos com essa metodologia mesmo após a utilização da metodologia do *lifting*. A desvantagem da SEM é que ela só é eficiente na análise de cruzamentos de traços de tintas que possuam diferentes texturas como as tintas de canetas do tipo *ballpoint* e de carimbo (Figura 1).

Figura 1 – Imagem da SEM de um cruzamento no qual a tinta de uma caneta do tipo *ballpoint* (superfície lisa à direita) estava sobre a tinta de um carimbo (superfície rugosa à esquerda).



Fonte: Mathyer e Pfister, 1984.

Jasuja, Singla e Chattopadhyay (1987) propuseram uma metodologia baseada na análise das marcas de relevo deixadas no verso do papel utilizando uma luz oblíqua e uma lupa. Essa metodologia tem a vantagem de o operador não ser influenciado por

ilusões de ótica resultantes da diferença de cores das tintas, uma vez que se analisa o verso do papel. A desvantagem, contudo, é a dependência de diversos fatores como a pressão empregada nos traços, o ângulo da escrita, a dureza do suporte utilizado abaixo do papel e a espessura do papel e dos traços.

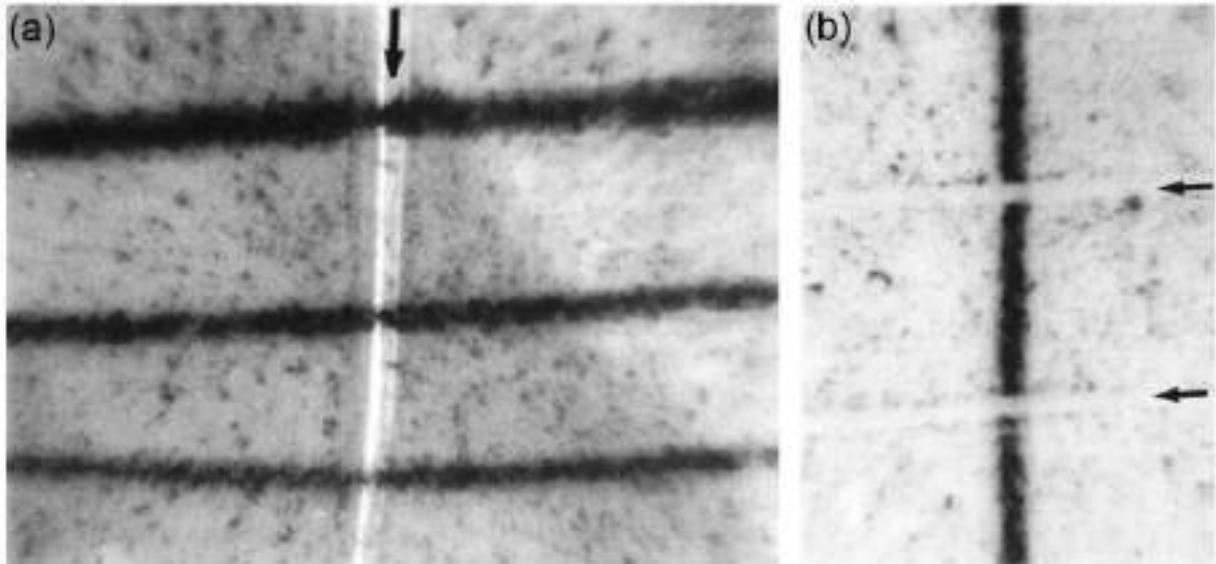
3.2.1.3 Anos 90

Nos anos 90, o aparelho de detecção eletrostática (ESDA, do inglês *electrostatic deposition apparatus*) foi utilizado para a análise de cruzamentos de traços de tinta e impressões latentes (RADLEY, 1993; GILES, 1993; RADLEY, 1995). Essa técnica se baseia na diferença de potencial das impressões latentes (resultantes da escrita) e das áreas adjacentes. Nessa técnica, a folha de papel é, primeiramente, colocada sobre uma superfície metálica e recoberta com um plástico que é, em seguida, carregado eletrostaticamente. Um pó preto (geralmente toner) é, então, adicionado sobre o plástico, se acumulando nas regiões de maior eletricidade estática, que correspondem às impressões latentes. A amostra é, por fim, fotografada e a ordem dos traços é determinada visualmente. Observou-se que, quando a impressão latente estava sobre o traço de tinta feito com canetas do tipo *ballpoint*, havia a predominância de marcas pretas na região do cruzamento (Figura 2a) e o contrário (predominância de marcas brancas) foi observado quando o traço de tinta estava sobre a impressão (Figura 2b). A utilização do ESDA na análise da ordem de impressões latentes e traços feitos com canetas do tipo *ballpoint* apresentou um percentual de acerto baixo (22%), o que foi atribuído ao fato do toner também ter aderido às impressões latentes deixadas pela caneta. Outros trabalhos também propuseram o uso dessa técnica, testando-a em diferentes condições (ex. diferentes tipos de caneta e papel) e avaliando a influência da umidade. Além do baixo percentual de acertos, uma desvantagem dessa metodologia é que ela é muito dependente da experiência do analista.

Além do ESDA, outras metodologias continuaram a ser utilizadas durante essa década, como a análise através de microscópios estereoscópicos e a metodologia do *lifting*. Também foi proposta uma metodologia de análise usando a microscopia confocal de varredura a laser (LSCM, do inglês *laser scanning confocal microscopy*) (CHENG et al., 1998). Nessa metodologia, são comparadas as diferenças de fluorescência entre as tintas de forma a discriminá-las. Apesar do percentual de acerto

na determinação da ordem dos traços ter sido elevado (75%), algumas desvantagens incluem as pequenas diferenças de fluorescência entre as tintas e a análise visual das características físicas das tintas, sendo, portanto, subjetiva e dependente da experiência do analista.

Figura 2 – Imagens de cruzamentos após a análise com o ESDA nos quais (a) a impressão latente estava sobre o traço de tinta e (b) o traço de tinta estava sobre a impressão latente.



Fonte: adaptada de Radley, 1993.

3.2.1.4 2000 a 2009

Os anos 2000 foram particularmente importantes, pois foram propostas novas metodologias baseadas na análise química como as espectroscopias vibracionais e as técnicas de caracterização da superfície. Claybourn e Ansell (2000) propuseram o uso da espectroscopia Raman na análise de cruzamentos feitos com canetas do tipo *ballpoint*. Nesse trabalho, eles assumiram que, nos cruzamentos, é possível a formação de três arranjos das tintas: i) duas camadas distintas (dupla camada), ii) mistura parcial e iii) mistura completa das tintas. Assumindo a formação de duas camadas distintas em cruzamentos entre canetas do tipo *ballpoint*, foram obtidos dois espectros na região do cruzamento, um na superfície e outro a uma profundidade de 5 μ m. O resultado esperado era que, na superfície, a maior contribuição espectral fosse da tinta aplicada por último (segundo traço). Apesar de ser não destrutiva e introduzir a análise química, essa metodologia tem como desvantagens: i) o fato de ter sido testada apenas em dois cruzamentos (falta de representatividade amostral),

ii) a área analisada ter sido muito pequena (região não representativa) e apenas um espectro ter sido obtido, iii) o espectro obtido à 5 μm ter apresentado grande contribuição da fluorescência (mascarando a informação da tinta), iv) a interpretação dos resultados (espectros) ter sido visual e v) a análise ter sido restrita a tintas cujos espectros eram suficientemente diferentes. É importante ressaltar que a hipótese de que as tintas analisadas formam uma dupla camada não foi cientificamente comprovada e a profundidade de 5 μm pode não ter sido suficiente para alcançar a primeira camada de tinta e, conseqüentemente, detectá-la.

Três anos depois, Fabiańska e Kunicki (2003) também assumiram a formação de duas camadas de tinta distintas e propuseram o uso da espectroscopia Raman, com a diferença de que o espectro da tinta inferior foi obtido queimando-se a camada de tinta superior com o próprio laser do instrumento aplicando-se alta potência durante um longo período de tempo. Além de não ter apresentado resultados reprodutíveis, o método é destrutivo.

Além da espectroscopia Raman, foi proposto, por Bojko, Roux e Reedy (2008), o uso da espectroscopia do infravermelho médio, mais especificamente de imagens hiperespectrais de refletância total atenuada (ATR-FTIR, do inglês *attenuated total reflectance – fourier transform infrared*). Nessa metodologia, na qual foram obtidos espectros de cada tinta separadamente e imagens do cruzamento, observou-se que os espectros das tintas apresentavam forte contribuição dos espectros do papel. Apesar de terem sido obtidas imagens hiperespectrais, um único comprimento de onda foi selecionado (análise univariada) e a imagem desse comprimento específico foi interpretada visualmente. Foi observado que na região do cruzamento entre tintas de caneta do tipo *ballpoint* de cor preta e toner, quando o toner estava por cima havia uma descontinuidade do traço da tinta da caneta, a qual não era observada na ordem oposta. Essa descontinuidade foi explicada como sendo devida ao bloqueio da radiação pelo toner, cuja absorção é elevada, fazendo com que a radiação não atingisse a tinta da caneta. Apesar de ser uma metodologia rápida e não-destrutiva, ela continua sendo subjetiva (interpretação visual dos resultados); a contribuição do papel impediu a análise de cruzamentos entre tintas de outros tipos de caneta e, apesar de se ter obtido o espectro completo, o tratamento foi univariado, pois apenas um comprimento de onda foi utilizado. É importante ressaltar que apesar do desenvolvimento dessas e de outras novas metodologias, algumas já existentes continuaram sendo usadas, como foi o caso da microscopia e do ESDA.

3.2.1.5 2010 até hoje

A partir de 2010, algumas metodologias focaram na análise química dos cruzamentos e passaram a utilizar a análise multivariada dos dados, de forma a utilizar toda a informação espectral e não apenas um comprimento de onda como feito por Bojko, Roux e Reedy (2008).

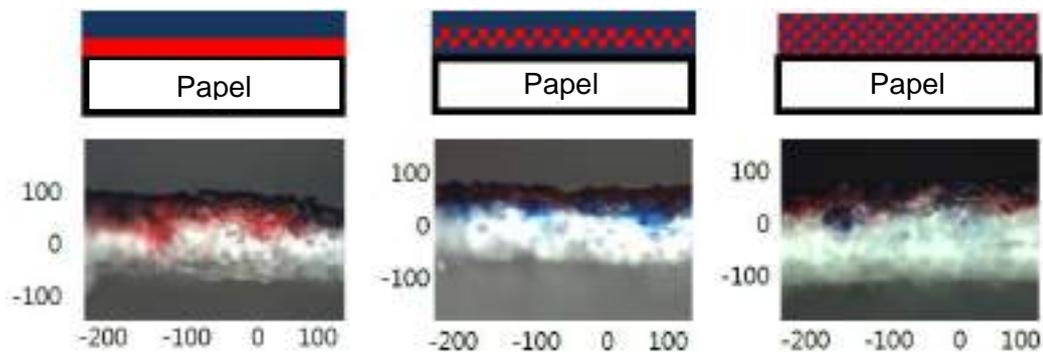
Vaid, Rana e Dhawan (2011) propuseram o uso do vídeo comparador espectral (VSC, do inglês *video spectral comparator*), que é um equipamento comum em laboratórios de documentoscopia para a análise de cruzamentos de traços feitos com canetas de diferentes tipos (*ballpoint*, gel e líquida), lápis, toner e tintas de impressora. Nessa metodologia proposta, espectros de refletância na região do visível foram obtidos em diferentes pontos dos traços e do cruzamento e comparados. Assim como foi feito por Claybourn e Ansell (2000) e Fabiańska e Kunicki (2003), os autores assumiram que as tintas formam duas camadas distintas, o que faz com que o espectro na região do cruzamento corresponda ao da tinta aplicada por último e localizada, portanto, na superfície do papel. Alguns espectros da região do cruzamento, contudo, apresentaram bandas correspondentes às duas tintas, sugerindo a ocorrência de mistura das tintas. É importante ressaltar que, nessa metodologia, a interpretação dos resultados permaneceu visual e subjetiva, uma vez que os espectros eram comparados visualmente.

O primeiro trabalho que propôs uma metodologia de análise mais objetiva foi o de Gomes e Sercheli (2011), o qual utilizou a espectroscopia Raman de forma semelhante ao feito por Claybourn e Ansell (2000) para analisar cruzamentos entre tintas de caneta do tipo *ballpoint* de cores azul e preta. Nessa metodologia, não só os espectros pontuais das tintas e da região do cruzamento foram comparados de forma mais objetiva, baseando-se nas razões das intensidades normalizadas das bandas espectrais que mais discriminavam as tintas em função da profundidade, como também foi feito um mapeamento da área contendo o cruzamento e partes dos traços separadamente de um dos cruzamentos. Os autores não avaliaram, contudo, o potencial da metodologia para outros cruzamentos.

Três anos depois, Ozbek et al. (2014) propuseram uma análise visual da distribuição das tintas nos cruzamentos, a qual foi feita cortando-se uma seção do cruzamento com um bisturi e analisando-a com uma amplificação de 20x. Esse trabalho foi inovador por buscar a comprovação empírica da distribuição das tintas e

não só assumir a formação da dupla camada de tintas como foi feito, anteriormente, por vários autores. O que se observou foi que, realmente, há três possíveis arranjos das tintas (Figura 3), como assumiram Claybourn e Ansell (2000), mas que apenas cerca de 49% dos 128 cruzamentos de traços feitos com canetas apresentaram as duas camadas de tintas distintas. A dupla camada foi observada, principalmente, para os cruzamentos feitos com canetas de tinta à base de gel e líquidas e, ao contrário do que se assumiu até então, as tintas à base de óleo, presentes nas canetas do tipo *ballpoint*, tendem a formar misturas.

Figura 3 – Esquema e imagem do microscópio dos diferentes arranjos das tintas observados nos cruzamentos dependendo do tipo de tinta: (a) líquida x líquida (duas camadas distintas), (b) líquida x óleo (mistura parcial) e (c) óleo x líquida (mistura completa).



Fonte: adaptada de Ozbek et al., 2014.

Com o objetivo de tornar as análises mais objetivas, foi proposta uma metodologia baseada no número de *pixels* vermelhos das imagens digitais (imagens RGB) de cruzamentos de traços de tintas de carimbo (vermelhas), as quais são à base de óleo (hidrofóbicas), e tintas de impressora (pretas), as quais são à base de água (LEE, K. Y. et al, 2014). Nessa metodologia, era obtida, primeiramente, uma imagem da região do cruzamento e calculado o número de *pixels* vermelhos, referentes às tintas de carimbos. Em seguida, era feita a remoção (extração) da camada de tinta superior utilizando uma fita adesiva; uma nova imagem era, então, obtida e o número de *pixels* vermelhos era novamente calculado. Por fim, era calculada a razão entre o número de *pixels* vermelhos que se tornavam pretos e vice-versa e, com essa razão, eram determinadas as ordens dos traços. Se o número de *pixels* vermelhos na imagem final (após a extração) fosse menor do que na imagem inicial, isso significava que a tinta que foi extraída e que, portanto, estava por cima era a tinta do carimbo

(vermelha), garantindo a autenticidade do documento. Caso contrário, a tinta que estava por cima era da impressora e o documento não era autêntico. Esse procedimento, contudo, envolvia a extração da tinta, sendo, portanto, uma metodologia destrutiva, e assumia a formação da dupla camada de tintas. Os resultados demonstraram o potencial dessa metodologia, contudo, poucos cruzamentos foram analisados e os autores não mencionaram o tamanho da área analisada e quanto da amostra foi destruída com a extração. A vantagem dessa metodologia comparada com outras que foram propostas, principalmente com a metodologia do *lifting*, é o fato das conclusões serem obtidas de forma objetiva, baseando-se em um valor numérico e não na interpretação visual dos resultados.

Dando continuidade ao uso de imagens hiperespectrais, Silva et al. (2014) propuseram o uso de imagens hiperespectrais do infravermelho próximo (NIR, do inglês *near infrared spectroscopy*) e análise multivariada para a análise de 20 pares de cruzamentos de traços feitos com canetas de tinta preta de diferentes tipos (*ballpoint*, gel e líquida) e com impressoras a laser, as quais utilizam toner. A análise discriminante pelos mínimos quadrados parciais (PLS-DA, do inglês *partial least squares – discriminant analysis*) e a resolução multivariada de curvas pelos mínimos quadrados alternados (MCR-ALS, do inglês *multivariate curve resolution - alternating least squares*) foram as técnicas utilizadas para a análise das imagens. Analisando-se os mapas de concentração obtidos, observou-se que quando a tinta do toner estava por cima da tinta da caneta, o traço do toner apresentava uma descontinuidade enquanto que essa descontinuidade não foi observada no outro par do cruzamento (tinta da caneta sobre a tinta do toner), o que permitiu identificar a ordem correta dos traços em 17 dos 20 pares de cruzamentos analisados. Esse resultado foi explicado como sendo resultante do fato da deposição da tinta do toner ser afetada pela presença da tinta da caneta. É importante ressaltar que os autores relataram dificuldades em diferenciar as tintas das canetas do papel, devido ao fato de haver uma forte contribuição dos espectros do papel como foi relatado, também, por Bojko, Roux e Reedy (2008). Comparando-se os resultados obtidos por Bojko, Roux e Reedy (2008) e Silva et al. (2014), tem-se que enquanto no primeiro foi observada a descontinuidade do traço da caneta, no segundo a descontinuidade foi observada no traço do toner. É importante ressaltar, contudo, que as regiões espectrais utilizadas foram diferentes (infravermelho médio e infravermelho próximo, respectivamente)

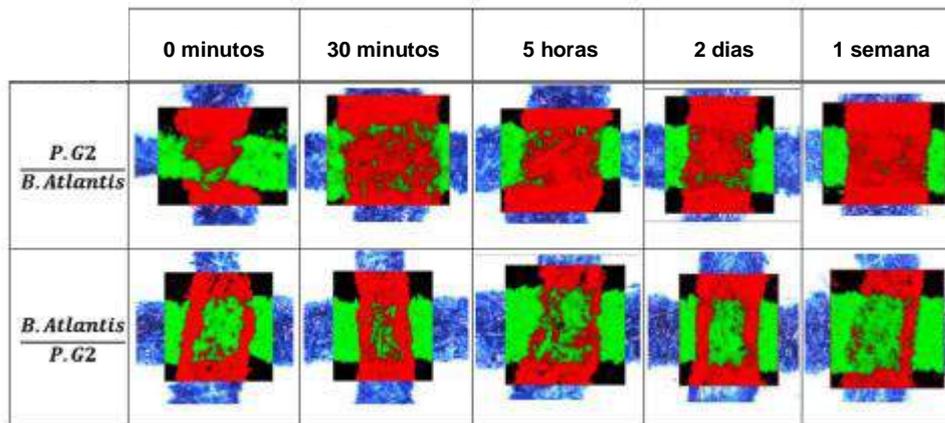
assim como a metodologia de análise dos dados (análise univariada e análise multivariada, respectivamente).

Ainda em 2014, o uso de outro tipo de imagem hiperespectral, as imagens hiperespectrais da espectrometria de massas de tempo de voo de íons secundários (ToF-SIMS, do inglês *time of flight - secondary ion mass spectrometry*), foi proposto juntamente com as imagens hiperespectrais do infravermelho médio (LEE, J. et al., 2014). Imagens RGB falsas dos picos espectrais característicos foram utilizadas para determinar a ordem correta dos traços, baseando-se na continuidade dos traços. Outro estudo de Lee et al. (2016) utilizou a mesma metodologia, mas ao invés de canetas de tinta preta, foram utilizadas canetas de tinta vermelha. Essa metodologia foi eficiente na análise de cruzamentos entre canetas do tipo *ballpoint* e tinta de impressora, mas ineficiente na análise de tintas que penetram mais no papel, o que foi explicado como sendo resultante da contribuição dos espectros do papel. Goacher, Difonzo e Lesko (2017) também propuseram o uso dessa metodologia, mas aliada à análise multivariada. A análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) e MCR foram as técnicas utilizadas para a análise das imagens. Essa metodologia possibilitou uma discriminação clara entre as três tintas de caneta preta utilizadas e foi possível determinar a ordem dos traços de alguns dos cruzamentos. Alguns resultados, contudo, foram inconclusivos e houve, também, determinações incorretas. É necessário, portanto, um estudo mais aprofundado da metodologia antes da difusão do seu uso. É importante ressaltar que os autores defendem o uso de imagens hiperespectrais em casos onde apenas um cruzamento de traços está sendo avaliado tanto pelo fato dos espectros dos *pixels* do cruzamento servirem como replicatas, vantagem em relação aos métodos de análise baseados em apenas um espectro, quanto pelo fato de imagens serem mais fáceis de serem utilizadas no convencimento de juízes do que espectros.

Braz, López-López e García-Ruiz (2015) propuseram o uso de imagens hiperespectrais do Raman e análise multivariada para a análise de 90 cruzamentos de traços feitos com canetas de tinta azul de diferentes tipos (*ballpoint*, gel e líquida), com variação do tempo de aplicação da segunda tinta (imediatamente e após 30 minutos, 5 horas, 2 dias e 1 semana) e utilização de diferentes papéis. Assim como no trabalho de Silva et al. (2014), a MCR foi a técnica utilizada para a análise das imagens. Imagens RGB falsas foram utilizadas para visualizar a distribuição das tintas e, assim, determinar a ordem dos traços, o que foi feito analisando-se a continuidade

dos traços e a tinta predominante na região do cruzamento. Nos testes cegos, foi possível determinar corretamente a ordem dos traços em 61% a 69% dos cruzamentos. Exemplos de cruzamentos cuja determinação da ordem dos traços foi bem-sucedida estão apresentados na Figura 4, na qual se pode observar a continuidade do último traço (vermelho). O fato de, no segundo cruzamento, alguns *pixels* do cruzamento terem sido marcados como pertencentes ao primeiro traço (em verde) não interfere na correta determinação da ordem dos traços, uma vez que a observação da continuidade das extremidades dos traços (bordas) é suficiente para identificar o traço que foi feito por último.

Figura 4 – Imagens RGB falsas da região do cruzamento de cruzamentos entre canetas com tinta à base de gel em diferentes tempos de separação entre a aplicação do primeiro e do último traço, onde a linha horizontal (verde) corresponde ao primeiro traço e a vertical (vermelha) ao segundo.

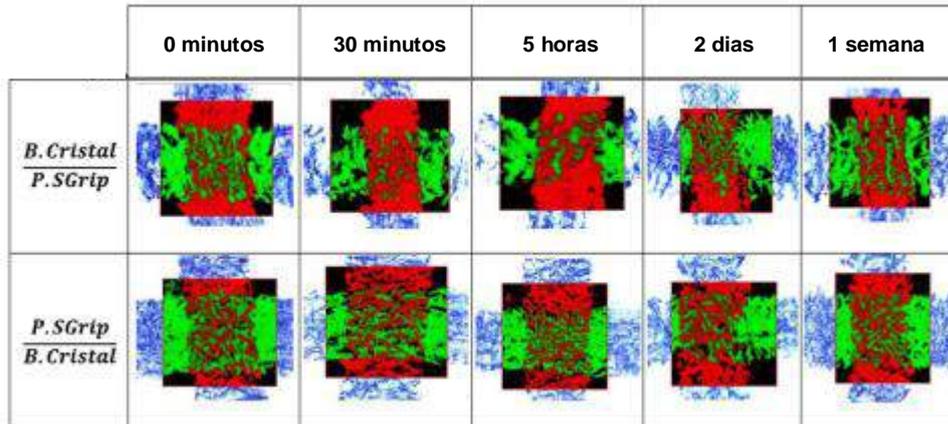


Fonte: adaptada de Braz, López-López e García-Ruiz, 2015.

É importante observar, contudo, que a análise das imagens (interpretação dos resultados) permanece visual e subjetiva e, em alguns cruzamentos, houve dúvida e não foi possível determinar a ordem dos traços (Figura 5). Além disso, houve casos em que a ordem dos traços foi determinada incorretamente (Figura 6), pois foi observada a continuidade do primeiro traço, como se a tinta do segundo traço não houvesse se depositado ou tivesse sido absorvida pelo papel. Apesar desses resultados (inconclusivos e incorretos) e do fato da determinação da ordem dos traços ainda ser baseada na análise visual dos mapas de concentração, o que confere um caráter subjetivo à análise, há maior objetividade na discriminação das tintas, a qual é feita utilizando as propriedades químicas das mesmas e a análise multivariada, e

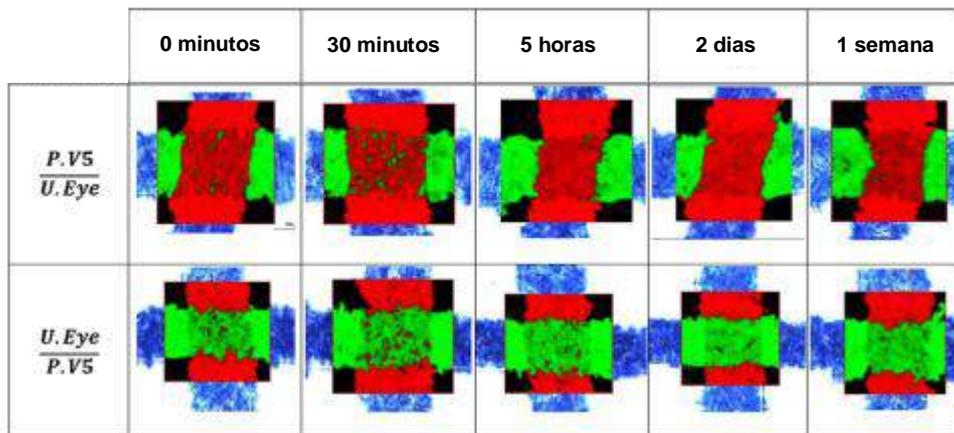
maior representatividade da área analisada do cruzamento quando comparado com as análises pontuais propostas em trabalhos anteriores.

Figura 5 – Imagens RGB falsas da região do cruzamento de cruzamentos entre canetas com tinta à base de óleo em diferentes tempos de separação entre a aplicação do primeiro e do último traço, onde a linha horizontal (verde) corresponde ao primeiro traço e a vertical (vermelha) ao segundo.



Fonte: adaptada de Braz, López-López e García-Ruiz, 2015.

Figura 6 – Imagens RGB falsas da região do cruzamento de cruzamentos entre canetas com tinta à base de água (líquida) em diferentes tempos de separação entre a aplicação do primeiro e do último traço, onde a linha horizontal (verde) corresponde ao primeiro traço e a vertical (vermelha) ao segundo.



Fonte: adaptada de Braz, López-López e García-Ruiz, 2015.

Em 2017, foi proposto o uso de imagens hiperespectrais do Raman e análise multivariada para análises em profundidade, o que representou um aprimoramento das metodologias propostas por Gomes e Sercheli (2011) e Claybourn e Ansell (2000),

nas quais espectros pontuais das tintas e da região do cruzamento foram comparados (BORBA et al., 2017). A resolução multivariada de curvas foi a técnica utilizada para a análise das imagens. Imagens a diferentes profundidades (80 a 140µm com intervalos de 20µm) foram obtidas e a análise visual dos mapas de concentração permitiu determinar a ordem dos traços. A principal desvantagem desse trabalho é o fato de uma quantidade muito reduzida de cruzamentos, apenas 2, terem sido analisados. Além disso, a interpretação é visual e subjetiva e a determinação da ordem dos traços não é tão clara como os autores sugerem.

Os trabalhos discutidos retratam a evolução das metodologias de análise ao longo dos anos, a qual está representada, resumidamente, na Figura 7. A evolução dos métodos sugere um aumento na objetividade das análises, mas as interpretações finais da ordem dos traços permanecem subjetivas, dependentes da experiência do analista e, portanto, suscetíveis a resultados variáveis e inconclusivos. Essa subjetividade é um problema em muitas outras áreas das Ciências Forenses e é a principal fonte de erros nos resultados e, conseqüentemente, nas conclusões obtidas. A experiência do perito pode, por exemplo, levá-lo a uma tomada de decisão antecipada e sem fundamentação científica ou, ainda, levá-lo a negligenciar alguns dos resultados obtidos.

Figura 7 – Linha do tempo com as principais metodologias e avanços científicos na determinação da ordem dos cruzamentos de traços em análises de documentos.



Fonte: adaptada de Brito et al., 2017.

É importante observar que algumas metodologias foram propostas e utilizadas por muitos anos (algumas até hoje), ainda que outras mais “modernas” foram sendo

desenvolvidas, como é o caso da análise visual dos cruzamentos utilizando a microscopia. Ao mesmo tempo, outras, como as baseadas nas imagens hiperespetrais do infravermelho e Raman, apresentam grande potencial além da possibilidade de se tornarem mais objetiva.

3.3 INFRAVERMELHO PRÓXIMO

A radiação na região do NIR está localizada na faixa de energia de $2,65 \cdot 10^{-19}$ a $7,96 \cdot 10^{-20}$ J, a qual corresponde à faixa de 750 a 2.500 nm ou 13.300 a 4.000 cm^{-1} (PASQUINI, 2003). Por ter baixa energia, a radiação no NIR é capaz de promover, apenas, transições vibracionais, o que faz com que a espectroscopia no NIR seja um tipo de espectroscopia vibracional.

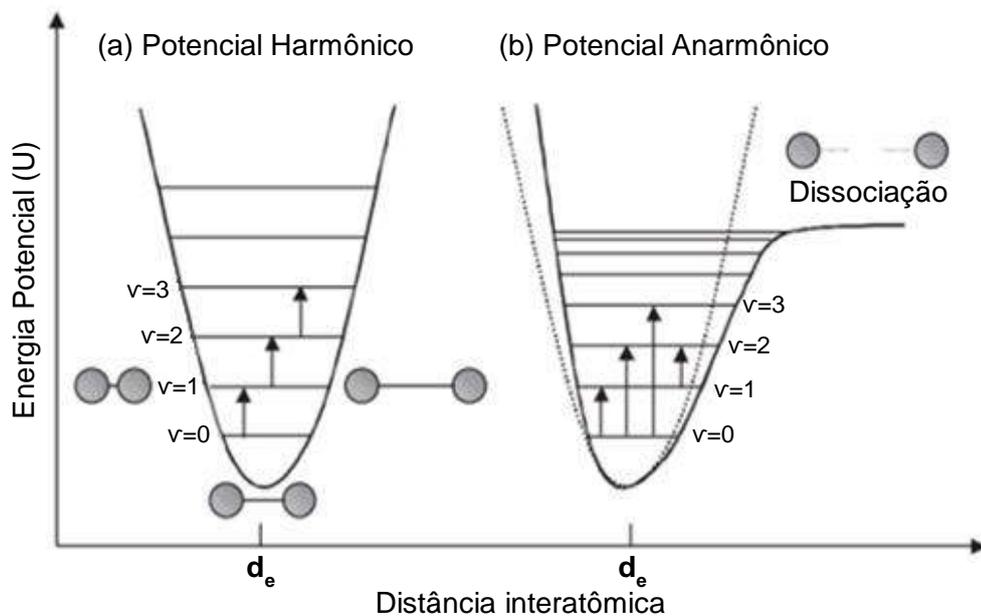
Para que a radiação do NIR seja capaz de promover essas transições vibracionais, o campo elétrico da radiação deve interagir com a molécula (PASQUINI, 2003). Entretanto, para que isso ocorra é necessário que o movimento dos átomos na vibração produza uma variação no momento de dipolo da ligação, o que faz com que as transições só sejam observadas em algumas ligações.

Uma ligação molecular entre dois átomos pode ser descrita de forma simplificada como sendo a conexão de duas massas esféricas através de uma mola. O modelo clássico utilizado para explicar o movimento dessas duas massas ao longo do seu eixo da ligação (aproximação do movimento das vibrações de estiramento) é o modelo do oscilador harmônico simples (Figura 8a) (PASQUINI, 2003). Esse modelo falha, contudo, quando é usado para explicar sistemas moleculares, pois: i) esses sistemas assumem níveis discretos de energia e não um perfil de energia contínuo como o do modelo do oscilador harmônico simples, ii) sua energia potencial aumenta mais rapidamente do que a descrita pelo modelo no momento da aproximação dos átomos, por conta das repulsões das nuvens eletrônicas e iii) há uma estabilização da energia potencial no momento do afastamento dos átomos decorrente da quebra da ligação. Além disso, segundo o modelo harmônico: i) os níveis de energia adjacentes estão igualmente espaçados, ii) apenas as transições entre níveis vibracionais adjacentes ($\Delta v=1$) são possíveis e iii) as vibrações são independentes, não podendo haver combinações entre elas.

O modelo anarmônico (Figura 8b), por outro lado, ainda que também se baseie no modelo das duas massas esféricas ligadas através de uma mola, considera os

comportamentos não ideais resultantes da repulsão eletrônica e da quebra da ligação (PASQUINI, 2003). Esse modelo prevê, por exemplo, que os níveis de energia adjacentes não estão igualmente espaçados (a diferença de energia diminui com o aumento da distância interatômica) e a existência de bandas resultantes tanto de transições com $\Delta v=2$ ou maiores (sobretons) quanto da combinação de vibrações, que são os dois tipos de bandas de absorção mais comuns na região do NIR. Trata-se, portanto, de um modelo mais adequado para descrever os sistemas moleculares.

Figura 8 – Representação esquemática do modelo do oscilador (a) harmônico e (b) anarmônico para a variação de energia potencial (U) de moléculas diatômicas.



Fonte: adaptada de Pasquini, 2003.

Algumas características da espectroscopia do NIR são i) a rapidez das análises, ii) o alto poder de penetração da radiação, iii) não ser destrutiva, iv) ser aplicada na análise de uma grande quantidade de moléculas (moléculas contendo ligações C-H, N-H, S-H e O-H) e v) de demandar pouco ou nenhum preparo de amostra (PASQUINI, 2003). Apesar de todas essas vantagens, a espectroscopia no NIR não foi usada por muitos anos pelo fato dos seus espectros não poderem ser analisados de forma direta, como é feito no caso dos espectros na região do infravermelho médio, e por apresentarem bandas fracas (10 a 1.000 vezes menos intensas do que as bandas das vibrações fundamentais), largas e sobrepostas (PASQUINI, 2003). Com o passar dos anos e com o desenvolvimento de ferramentas

matemáticas capazes de extrair as informações espectrais (técnicas de análise multivariada ou quimiometria), a espectroscopia NIR passou a ter diversas aplicações, algumas delas, inclusive, nas Ciências Forenses.

Os espectros na região do NIR podem ser obtidos de diferentes formas, entre elas a absorvância ou transmitância, refletância difusa e transflctância. Na forma de refletância, desde que se disponha de uma câmara hiperespectral, é possível obter os espectros de uma superfície inteira de uma amostra e, assim, obter informações espectrais e espaciais dessa amostra (imagens hiperespectrais).

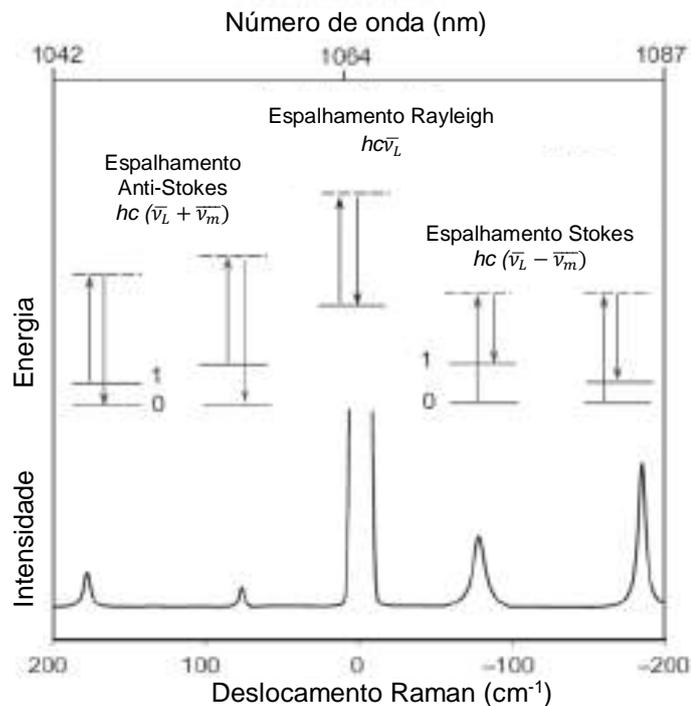
3.4 RAMAN

A espectroscopia Raman, assim com a espectroscopia no NIR, é um tipo de espectroscopia vibracional. A diferença é que, enquanto a espectroscopia no NIR se baseia na absorção da radiação, a espectroscopia Raman se baseia no seu espalhamento. Assim como as bandas do NIR só são observadas quando há variação no momento de dipolo das vibrações, as bandas do Raman só são observadas quando há variação na polarizabilidade (deformação na nuvem eletrônica da molécula) durante a vibração, o que faz com que nem todas as vibrações sejam ativas (LARKIN, 2011). Pode-se dizer que a espectroscopia Raman e do infravermelho são complementares, pois apesar de algumas vibrações serem ativas em ambas, quando as moléculas são centro-simétricas, as vibrações que forem ativas em uma delas não serão ativas na outra. Além disso, a primeira é melhor na análise de vibrações simétricas ou em fase de grupos não polares e a segunda na análise de vibrações assimétricas ou fora de fase de grupos polares (LARKIN, 2011). Uma vantagem da espectroscopia Raman quando comparada à do NIR é que ela não é afetada pela presença do papel como acontece com a última, na qual há elevada absorção da radiação pela celulose do papel (BRUNELLE; CRAWFORD, 2003).

O fenômeno do espalhamento da radiação é observado quando fótons provenientes do feixe de radiação, que pode ser, por exemplo, um laser monocromático, interagem com a amostra, são temporariamente absorvidos e sofrem uma transição para um estado excitado virtual e novos fótons são gerados e espalhados (LARKIN, 2011). Trata-se, então, de um fenômeno envolvendo dois fótons, um fóton incidente e um outro fóton espalhado, o qual pode ter energia igual, maior ou menor do que o primeiro dependendo se a molécula que sofreu a colisão

sofreu variação na sua energia vibracional e se, tendo havido variação, ela diminuiu ou aumentou. Quando não há diferença de energia entre os fótons tem-se o chamado espalhamento elástico da radiação (espalhamento Rayleigh) e quando há diferença tem-se o espalhamento inelástico (espalhamento Raman), que pode ser do tipo Stokes (os fótons espalhados têm frequência menor do que os incidentes) ou anti-Stokes (os fótons espalhados têm frequência maior do que os incidentes), como pode ser visto na Figura 9 (LARKIN, 2011).

Figura 9 – Esquema dos espalhamentos Rayleigh, Stokes e anti-Stokes onde as linhas tracejadas indicam os estados virtuais.



Fonte: adaptada de LARKIN, 2011.

A maioria dos fótons sofre espalhamento Rayleigh, assim, o efeito Raman é um efeito relativamente fraco, principalmente quando comparado com outros fenômenos como, por exemplo, a fluorescência, cujo efeito é um dos principais interferentes nos espectros Raman por resultar em bandas largas (VANDENABEELE, 2013). Assim, é necessário evitar ou eliminar o efeito da fluorescência, o que pode ser feito, por exemplo, através da escolha dos parâmetros de aquisição dos espectros (ex. tipo e potência do laser e tempo de exposição) e de correções matemáticas (pré-processamentos) dos espectros.

Nos espectros Raman, os quais são representados em função da diferença do número de onda da radiação espalhada e da incidente (deslocamento Raman), existe uma diferença de intensidade nas bandas relacionadas aos espalhamentos Stokes e Anti-Stokes. As bandas do espalhamento Stokes são mais intensas em virtude do fato de, na temperatura ambiente, a população do estado fundamental (estado inicial do espalhamento Stokes) ser maior do que a dos estados excitados (estado inicial do espalhamento Anti-Stokes).

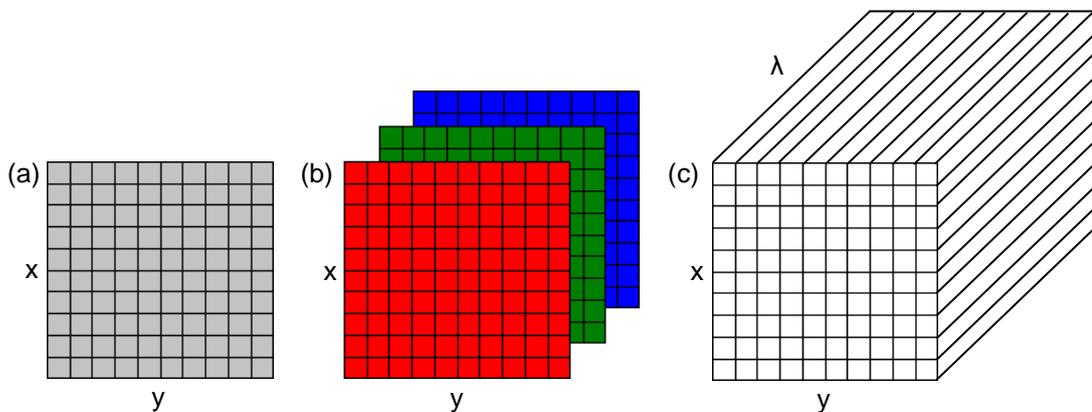
Para a aquisição de espectros Raman, alguns parâmetros devem ser definidos, tais como: tipo, potência e tempo de exposição do laser e número de acumulações (BRAZ, 2015). No que diz respeito ao tipo, os lasers podem ter fonte de radiação nas regiões do ultravioleta (ex. 248 e 364 nm), visível (ex. 458, 514, 532, 633 e 685) ou NIR (ex. 785, 830 e 1.064 nm). Dependendo do tipo do laser, há variação da intensidade. Os lasers com radiação na região do ultravioleta e visível são mais intensos do que os com radiação na região do NIR, contudo podem promover o efeito da fluorescência. Quanto à sua potência, a qual pode ser medida em miliwatts (mW), tem-se que ela é diretamente proporcional à intensidade do sinal. Uma potência muito elevada, contudo, pode levar à queima e, conseqüentemente, destruição da amostra. O tempo de exposição, medido em segundos (s) ou milissegundos (ms), é o tempo que a amostra é exposta ao laser. Utilizar um tempo de exposição alto, da mesma forma que utilizar uma potência muito elevada, pode resultar na queima e destruição da amostra. Além da queima, tempos de exposição e potências elevadas podem levar à saturação do sinal pelo detector. O número de acumulações, por sua vez, é a quantidade de exposições da amostra ao laser, as quais combinadas correspondem à obtenção de um espectro. Utilizar um grande número de acumulações leva à uma melhoria da razão sinal/ruído, contudo, aumenta o tempo de análise.

Muitos espectrômetros Raman são equipados com microscópios que permitem, através do uso objetivas de maiores magnificações, focar regiões bem pequenas da amostra (BRAZ, 2015). Além disso, alguns equipamentos são capazes de realizar um mapeamento automático da superfície das amostras através da obtenção de espectros de diferentes pontos da mesma. O resultado desses mapeamentos são as imagens hiperespectrais do Raman.

3.5 IMAGENS HIPERESPECTRAIS

Imagens são representações espaciais de objetos cuja menor parte são os *pixels* (imagens de duas dimensões espaciais ou 2D) ou *voxels* (imagens de três dimensões espaciais ou 3D obtidas quando se analisa diferentes camadas de um objeto) (PRATS-MONTALBÁN; DE JUAN; FERRER, 2011). Além das suas dimensões espaciais (x e y no caso das imagens 2D e x, y e z no caso das imagens 3D), as imagens têm uma dimensão adicional que pode ser composta por um único valor ou canal (ex. imagens em escala de cinza), três canais (ex. imagens RGB, nas quais há um canal vermelho, um verde e um azul) ou diversos canais (ex. imagens multiespectrais e hiperespectrais, dependendo da quantidade de canais), como pode ser visto na Figura 10.

Figura 10 – Imagem (a) em escala de cinza, (b) RGB e (c) multiespectral ou hiperespectral.



Fonte: da autora.

As imagens hiperespectrais são aquelas nas quais cada *pixel* é representado por um espectro, de forma que ela é composta por n canais, onde n é a quantidade de comprimentos ou números de onda do espectro. No que diz respeito aos espectros, eles podem ser de diferentes tipos, dependendo do tipo de informação que se deseja extrair, podendo ser, por exemplo, um espectro na região do NIR ou Raman. Uma vez que as imagens hiperespectrais possuem 3 ou 4 dimensões (2 ou 3 dimensões espaciais e 1 dimensão espectral), elas têm uma estrutura de cubo (3D) ou hipercubo (4D) e são compostas por uma grande quantidade de dados. A grande vantagem dessas imagens é o fato de aliarem a informação espacial com a informação espectral,

permitindo obter informações não só sobre a composição química das amostras, mas também sobre a distribuição dos componentes na superfície da mesma (DE JUAN, 2009; PRATS-MONTALBÁN; DE JUAN; FERRER, 2011).

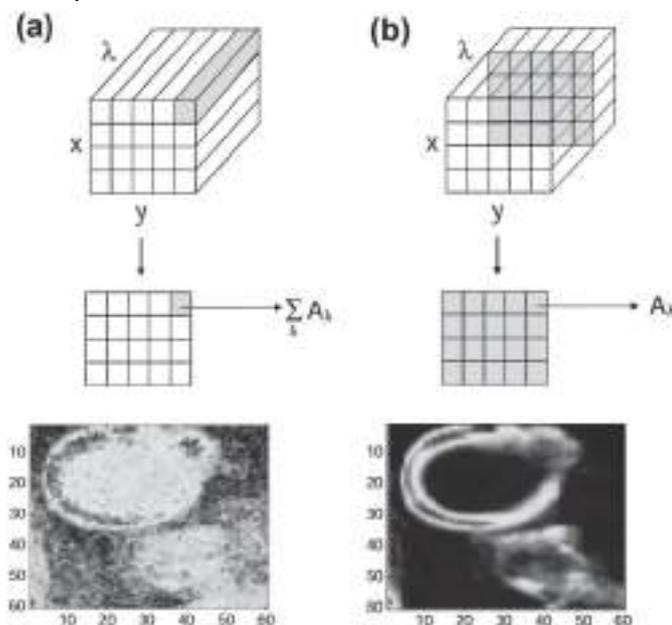
A forma de aquisição das imagens varia de um equipamento para outro, podendo ser de três tipos: *point scanning* (mapeamento), *line scanning* (varredura linear) e *focal plane scanning* (GELADI; GRAHN; BURGUER, 2007). No sistema de *point scanning* tem-se que a amostra é analisada ponto a ponto; primeiramente obtém-se o espectro de um ponto (*pixel*) e, em seguida, ela é reposicionada nos eixos x e y de forma a obter um novo espectro em outro ponto. O processo se repete até que toda a área desejada seja analisada. A desvantagem dessa forma de obtenção das imagens é que ela é demorada, quando comparada às demais, pela necessidade de reposicionar a amostra a cada medida. No sistema de *line scanning*, também chamado de *push broom*, um detector bidimensional posicionado perpendicularmente à superfície da amostra permite que a amostra seja analisada linha a linha. Nesse caso, os espectros dos pontos (*pixels*) de uma linha da amostra são obtidos e, em seguida, ela é reposicionada em apenas um dos eixos de forma a obter os espectros da linha seguinte. Esse sistema tem a vantagem de ser mais rápido do que o anterior, e as imagens podem ser adquiridas em questão de segundos. É importante observar que essas duas primeiras formas de aquisição das imagens, as quais envolvem a movimentação da amostra, também são chamadas de mapeamento, sendo a *line scanning* um mapeamento linear (GRIFFITHS, 2009). No sistema de *focal plane scanning*, no qual o detector está posicionado paralelamente à superfície da amostra, a amostra é mantida fixa enquanto todos os pontos (*pixels*) são mapeados, um comprimento de onda por vez. Nessa forma de aquisição das imagens o tempo de análise depende da quantidade de comprimentos de onda, podendo ser maior ou menor do que os anteriores.

As imagens hiperespectrais têm sido cada vez mais usadas nas diversas áreas do conhecimento como, por exemplo, na área de alimentos, farmacêutica, médica e de controle de qualidade (VIDAL; AMIGO, 2012). Elas também têm sido usadas nas Ciências Forenses, por exemplo, na análise de documentos (BRAZ, LÓPEZ-LÓPEZ e GARCÍA-RUIZ, 2015; PEREIRA et al., 2017), sêmen, fluidos vaginais e urina (ZAPATA, ORTEGA-OJEDA e GARCÍA-RUIZ, 2017; SILVA et al., 2017), medicamentos falsificados (SACRÉ et al., 2011), resíduos de disparos de armas de fogo (CARVALHO et al., 2018) e resíduos de explosivos (DE LA OSSA; AMIGO;

GARCÍA-RUIZ, 2014). Essa expansão se deve, principalmente, ao desenvolvimento de novos equipamentos, além de computadores e softwares mais modernos e capazes de lidar com a grande quantidade de informação que essas imagens representam.

Há diferentes formas de se visualizar as imagens, algumas delas independentes da realização de quaisquer metodologias de análise multivariada, como é o caso da imagem global (Figura 11a) e do mapa de distribuição de um determinado canal espectral (Figura 11b). Uma imagem global pode ser obtida, por exemplo, somando-se, *pixel a pixel*, os valores de intensidade de todos os canais espectrais ou calculando seu valor médio de forma que cada *pixel* seja representado por um único valor (DE JUAN, 2009). Esse tipo de imagem, apesar de não permitir a obtenção de informações químicas da amostra, pode permitir a observação de algumas características espaciais como, por exemplo, a existência de regiões do fundo que devem ser eliminadas. No caso dos mapas de distribuição obtidos para um único canal espectral, por outro lado, é possível obter tanto informações espaciais quanto químicas, caso o comprimento ou número de onda escolhido permita, por exemplo, distinguir os diferentes componentes da amostra.

Figura 11 – Imagem hiperespectral Raman de uma camada de emulsão. (a) Imagem global e (b) Mapa de distribuição em um determinado comprimento de onda.



Fonte: adaptada de DE JUAN, 2009.

Apesar de ser possível visualizar as imagens e extrair algumas informações das mesmas sem o uso da quimiometria, seu uso é indispensável na análise das imagens hiperespectrais, pois somente através dela é possível extrair informações espaciais e espectrais das imagens (DE JUAN, 2009). Isso ocorre porque tanto a espectroscopia no NIR quanto a espectroscopia Raman fornecem espectros ricos em bandas espectrais que permitem a diferenciação dos diversos componentes das amostras, mas a complexidade desses espectros, principalmente quando vários componentes estão presentes, torna necessário o uso de técnicas de análise multivariada para a extração das informações. Através da análise multivariada é possível obter, por exemplo, espectros puros e mapas de concentração dos componentes.

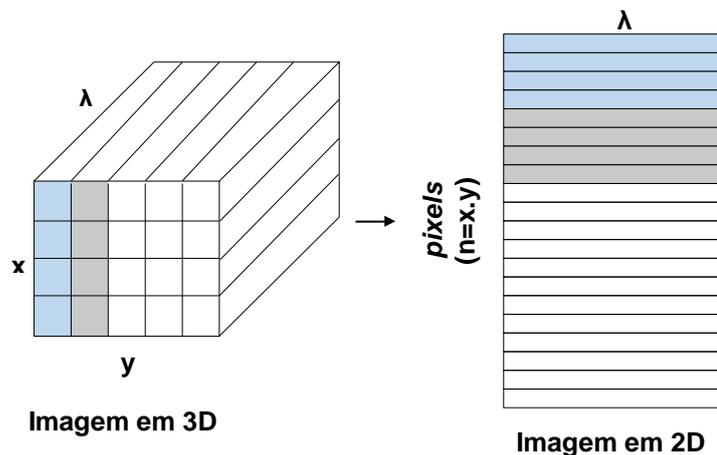
3.5 TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS DE ANÁLISE DE IMAGENS

A análise das imagens pode ser dividida, basicamente, em três subáreas: o pré-processamento, a compressão e a análise propriamente dita (PRATS-MONTALBÁN; DE JUAN; FERRER, 2011). A etapa de pré-processamento consiste tanto na correção dos espectros (ex. redução dos ruídos e correção da linha de base) quanto na correção dos defeitos das imagens (ex. eliminação de *pixels* anômalos), sendo, portanto, uma etapa necessária na análise das imagens (VIDAL; AMIGO, 2012). A etapa de compressão, por outro lado, não é sempre necessária, devendo ser usada apenas quando se deseja reduzir o tempo de análise, pois ela promove uma redução do tamanho das imagens no que diz respeito à memória utilizada. A etapa de análise propriamente dita é a etapa usada para extrair as informações das amostras, as quais podem ser qualitativas (ex. identificação dos componentes presentes na amostra) ou quantitativas (ex. determinação da concentração dos compostos). Existem diversas técnicas de análise de imagens, entre elas as técnicas de segmentação e de resolução. É importante ressaltar que os resultados das análises podem estar na forma de números (ex. valores de concentração), vetores (ex. espectros puros dos componentes ou histogramas) ou novas imagens (ex. imagens dos escores ou mapas de concentração e previsão) (GELADI; GRAHN; BURGUER, 2007).

3.5.1 Técnicas de pré-processamento espectral

As técnicas de pré-processamento utilizadas no tratamento de dados espectrais clássicos podem ser facilmente aplicadas ao pré-processamento dos espectros das imagens desde que, previamente, a matriz de dados 3D (cubo) seja reorganizada (desdobrada) em uma matriz de dados 2D, nas quais os espectros de cada *pixel* estão dispostos nas linhas. Nesse caso, cada linha representa um *pixel* ou espectro e cada coluna um comprimento ou número de onda (canal espectral). No software MATLAB, o desdobramento pode ser feito usando a função *reshape*, cuja decomposição é feita de cima para baixo e da esquerda para a direita, como pode ser visto na Figura 12. É importante ressaltar que, atualmente, já existem pacotes de funções que permitem analisar as imagens sem essa etapa prévia de desdobramento, como é o caso do pacote de funções HYPER-Tools, no qual o desdobramento faz parte das rotinas dos algoritmos¹.

Figura 12 – Desdobramento da matriz de dados segundo a função *reshape*.



Fonte: da autora.

No caso de espectros no NIR, alguns dos pré-processamentos comumente utilizados são a variação normal padrão (SNV, do inglês *standard normal variate*), a correção do espalhamento multiplicativo (MSC, do inglês *multiplicative scatter correction*), as derivadas e a suavização. Os três primeiros buscam corrigir os desvios

¹ Pacote de funções gratuito desenvolvido por José Manuel Amigo. Disponível para download em: <<http://www.models.life.ku.dk/HYPERTools/>>.

de linha de base, comumente encontrados em espectros no NIR devido ao espalhamento da radiação, enquanto o último busca reduzir os ruídos espectrais e, conseqüentemente, aumentar a razão sinal/ruído.

A SNV corrige os espectros fazendo um autoescalamento nas amostras. Nessa técnica, a média dos valores das variáveis (a_0) é subtraída de cada uma das variáveis do espectro e o resultado é, então, dividido pelo desvio padrão do espectro (a_1), como pode ser visto na Equação 1 (RINNAN; BERG; ENGELSEN, 2009).

$$\mathbf{X}_{SNV} = \frac{\mathbf{x}_{original} - a_0}{a_1} \quad (1)$$

Enquanto a SNV corrige os espectros individualmente de forma independente, a MSC faz a correção com base em um espectro de referência que é, em geral, o espectro médio (RINNAN; BERG; ENGELSEN, 2009). Na MSC, são calculados os coeficientes (b_0 e b_1) e o erro (e), parâmetros que relacionam o espectro original com o de referência (Equação 2). A correção é feita, então, através da subtração do coeficiente b_0 seguida da divisão pelo coeficiente b_1 (Equação 3).

$$\mathbf{X}_{original} = b_0 + b_1 \cdot \mathbf{x}_{referência} + e \quad (2)$$

$$\mathbf{x}_{MSC} = \frac{\mathbf{x}_{original} - b_0}{b_1} \quad (3)$$

Dentre as derivadas, uma das mais usadas é a derivada com filtro de Savitzky-Golay, a qual corrige os espectros ajustando um polinômio a uma janela do espectro e substituindo o valor do ponto central dessa janela pelo valor da derivada do polinômio nesse ponto. A utilização do filtro de Savitzky-Golay tem como objetivo reduzir a quantidade de ruídos dos espectros, uma vez que a derivada pode resultar no aumento dessa e, conseqüentemente, na diminuição da razão sinal/ruído (VIDAL; AMIGO, 2012). Nessa técnica, é necessário definir o grau do polinômio, a ordem da derivada e o tamanho da janela, quantidade de pontos contida na mesma. A primeira derivada corrige os espectros quanto aos efeitos aditivos e a segunda corrige os espectros tanto quanto aos efeitos aditivos quanto aos efeitos multiplicativos (RINNAN; BERG; ENGELSEN, 2009). Assim, a ordem do polinômio é escolhida dependendo do objetivo da correção espectral.

A suavização com filtro de Savitzky-Golay corrige os espectros de forma semelhante à derivada com filtro de Savitzky-Golay, pois ajusta um polinômio a uma janela do espectro e substitui o valor do ponto central dessa janela pelo valor do polinômio nesse ponto. A diferença é que a substituição é pelo valor do polinômio e não da sua derivada. Da mesma forma que é feito com a derivada, é necessário definir o grau do polinômio e o tamanho da janela. Ao utilizar a suavização, é importante ter cuidado com a seleção do tamanho da janela, de forma que ela não seja muito grande e resulte em perda de informações espectrais relevantes ou muito pequena e resulte na não remoção dos ruídos.

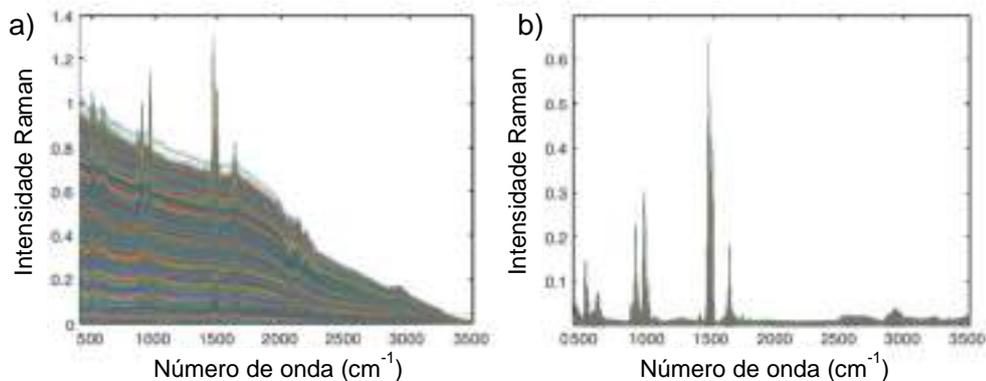
No caso de espectros Raman, alguns dos pré-processamentos comumente utilizados são a correção da linha de base pelos mínimos quadrados assimétricos (AsLS, do inglês *asymmetric least squares*), as normalizações e as derivadas.

Os efeitos da fluorescência, causados pelo substrato ou amostra (Figura 13a), resultam em desvios de linha de base nos espectros Raman. O algoritmo do AsLS corrige a linha de base dos espectros de forma iterativa através do ajuste de uma linha de base aos dados (FELTEN et al., 2015). Trata-se de uma metodologia rápida, fácil de ser aplicada e automática que depende, apenas, da seleção de dois parâmetros (λ e p). O parâmetro λ determina quão próximo é o ajuste da linha de base aos dados. Quanto maior for o valor de λ , mais linear é a linha de base, e quanto menor, mais curvilínea (maior o ajuste aos dados), como pode ser visto na Figura 14. O parâmetro p , por sua vez, dá diferentes pesos aos pontos do espectro de forma que, ao serem ajustados à linha de base, eles apresentam valores de resíduos positivos, os quais indicam a existência de bandas espectrais, e negativos. Uma vez que espectros vibracionais não contêm bandas negativas, o valor de resíduos negativos deve ser mantido baixo. Um exemplo de correção de espectros Raman com esse método está apresentado na Figura 13b (PIQUERAS, 2011).

As condições experimentais da espectroscopia Raman (ex. potência e intensidade do laser e tempo de análise) podem variar e, conseqüentemente, a intensidade do sinal obtido também pode variar. A normalização é uma opção quando se deseja comparar os formatos dos espectros e minimizar as variações das intensidades dos sinais (DE JUAN, 2009). Há diferentes tipos de normalização como, por exemplo, a normalização pelo máximo e a normalização vetorial (do inglês, *unit vector normalization*). A normalização pelo máximo corrige os espectros dividindo os valores de cada comprimento ou número de onda pelo valor absoluto máximo do

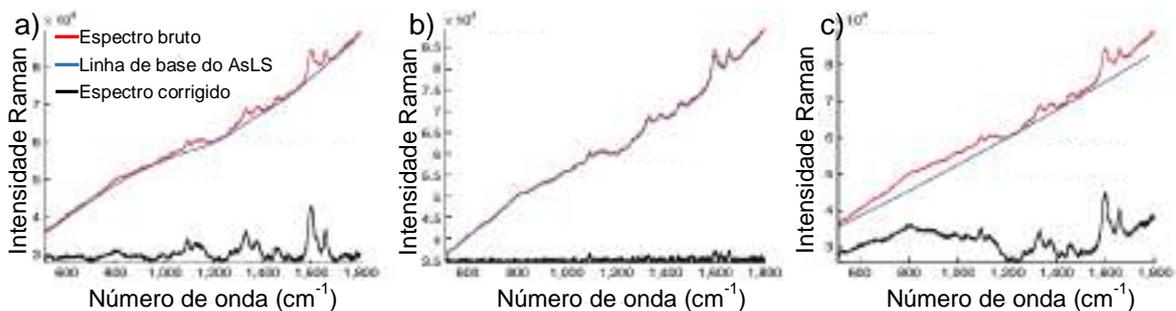
espectro, fazendo com que a intensidade máxima do espectro passe a ser igual a 1. A normalização vetorial, por outro lado, corrige os espectros dividindo os valores de cada comprimento ou número de onda pela norma do espectro, fazendo com que ele passe a ser um vetor unitário (vetor de norma 1).

Figura 13 – Espectros (a) brutos e (b) pré-processados com AsLS de um cálculo renal.



Fonte: adaptada de PIQUERAS, 2011.

Figura 14 – Efeito de diferentes valores de λ em um espectro de uma célula de fibra de álamo, sendo λ igual a (a) 30.000, (b) 0 e (c) 1×10^9 .



Fonte: adaptada de FELTEN et al., 2015.

Na espectroscopia Raman, as derivadas costumam ser usadas não só para corrigir efeitos na linha de base, mas também para melhorar a resolução dos picos quando há sobreposição. A utilização das derivadas, contudo, além de aumentar a quantidade de ruídos, torna a interpretação espectral difícil (HUANG; ROMERO-TORRES; MOSHGBAR, 2010).

É importante ressaltar que, algumas vezes, os espectros precisam ser corrigidos utilizando mais de um pré-processamento e, portanto, é preciso combiná-los. A seleção do melhor pré-processamento vai depender dos efeitos que se deseja corrigir e da qualidade dos resultados obtidos na análise.

3.5.2 Técnicas de segmentação de imagens

As técnicas de segmentação, as quais buscam identificar grupos de *pixels* similares, podem ser de dois tipos: supervisionadas e não-supervisionadas (DE JUAN, 2009). As técnicas supervisionadas dependem de um conhecimento prévio das amostras, o qual pode ser, por exemplo, o conhecimento da identidade dos seus componentes. As técnicas não-supervisionadas, por outro lado, são exploratórias e independem desse conhecimento prévio. A PCA e as técnicas de análise de *clusters* (ex. *k-means*) são exemplos de técnicas não supervisionadas. É importante ressaltar que a PCA não é uma técnica de segmentação propriamente dita, mas pode ser utilizada com essa finalidade uma vez que *pixels* com composição semelhante devem possuir valores de escores similares. A PLS-DA, por outro lado, é uma técnica supervisionada na qual são utilizados conjuntos de espectros de cada uma das classes para construir o modelo que será, então, utilizado na determinação das classes dos *pixels* da imagem (DE JUAN, 2009).

3.5.2.1 Análise de componentes principais

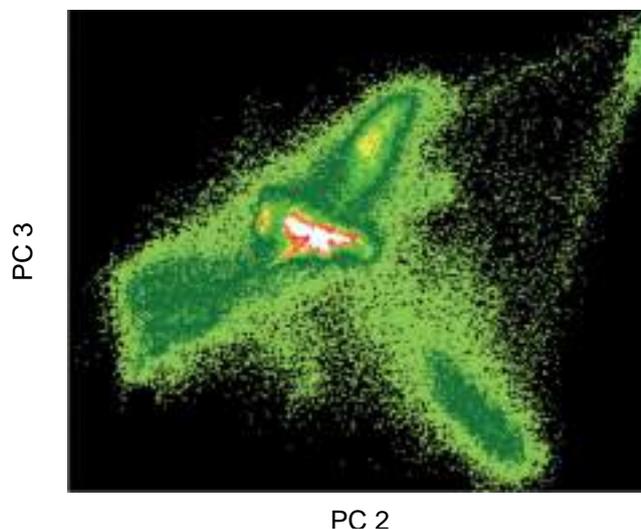
A PCA pode ser aplicada à análise de imagens hiperespectrais com diferentes objetivos, desde a redução da dimensionalidade dos dados (compressão) até a identificação de regiões nas quais os *pixels* tenham propriedades semelhantes. A PCA é feita através da decomposição da matriz de dados em três novas matrizes (Equação 4): a matriz dos escores (**T**), a matriz dos pesos ou *loadings* (**P**) e a matriz dos resíduos (**E**), a qual é composta, basicamente, por ruído (GELADI; GRAHN; BURGUER, 2007). A matriz **T** é uma matriz ortogonal composta pelas coordenadas dos *pixels* nas novas variáveis, as chamadas componentes principais (PCs, do inglês *principal components*), e a matriz **P** é uma matriz, também ortogonal, composta pelos valores da contribuição de cada variável original para cada uma das PCs, uma vez que as PCs são combinações lineares das variáveis originais.

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{P}^T + \mathbf{E} \quad (4)$$

Os valores dos escores resultantes da PCA tanto podem ser reorganizados na forma de novas imagens, as chamadas imagens dos escores, quanto podem ser

usados na construção de gráficos de dispersão (do inglês, *score plots*). Nas imagens dos escores, aos *pixels* com valores iguais ou próximos podem ser atribuídas as mesmas cores, de forma que seja possível identificar, por exemplo, *pixels* com propriedades químicas semelhantes. As imagens dos escores podem representar, portanto, uma forma simples de visualizar a imagem, pelo fato de serem imagens nas quais as informações relevantes foram preservadas (DE JUAN, 2009). Nos gráficos de dispersão, por outro lado, as cores são, em geral, usadas para diferenciar as densidades dos *pixels* nos valores de escores, de forma que seja possível visualizar os valores de escores atribuídos a uma maior quantidade de *pixels* (regiões de maior densidade). Na Figura 15, por exemplo, a cor branca foi usada para identificar os pontos de maior densidade e a cor verde clara para identificar os pontos de menor densidade (GELADI; GRAHN; BURGUER, 2007).

Figura 15 – Gráfico de dispersão (PC 3 x PC 2).



Fonte: adaptada de GELADI; GRAHN; BURGUER, 2007.

3.5.2.2 *k-means*

Pode-se definir os *clusters* como sendo grupos de espectros ou *pixels* no caso das imagens hiperespectrais, que apresentam propriedades similares. Um *cluster* pode ser composto, por exemplo, por *pixels* nos quais esteja presente apenas um componente ou uma mistura de determinados componentes.

Uma das técnicas de análise de *clusters* disponível é o *k-means*. Nessa técnica, cada espectro ou *pixel*, é atribuído a um único *cluster*, sendo uma metodologia chamada de *hard clustering* (DE JUAN, 2009). Nas imagens falsas geradas após a

análise pelo *k-means*, a cada *cluster* é atribuída uma cor, o que torna a análise das imagens simples.

Cada *pixel* da imagem é atribuído ao *cluster* cujo centro estiver mais próximo, de forma a minimizar o valor de J na Equação 5, na qual $x_{mn}^{(k)}$ é mn -ésimo *pixel* e m_k é o centro do *cluster* (AMIGO et al., 2008). Primeiramente, define-se o número de *clusters* para, em seguida, esses *clusters* serem gerados e seus centros calculados. Após a geração dos *clusters*, cada *pixel* é atribuído a um deles e, em seguida, o valor de J é calculado. Os centros dos *clusters* são, então, recalculados e o processo se repete até que o critério de convergência seja atingido.

$$J = \sum_{k=1}^K \sum_{mn=1}^{MN} \left\| \mathbf{x}_{mn}^{(k)} - \mathbf{m}_k \right\|^2 \quad (5)$$

3.5.2.3 Análise discriminante pelos mínimos quadrados parciais

A PLS-DA é uma metodologia derivada da regressão pelos mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês *partial least squares*). O algoritmo da PLS-DA relaciona a matriz de dados (\mathbf{X}) com o vetor de classes (\mathbf{c}), o qual é equivalente ao vetor de concentrações na regressão. A diferença entre a matriz de concentrações e a matriz de classes é que enquanto a primeira é composta por valores de concentração dos componentes da amostra, a última consiste em valores que indicam se a amostra pertence ou não a uma determinada classe (BRERETON, 2009). Esses valores podem ser, por exemplo, 1 para o caso em que a amostra pertence a uma determinada classe e 0 para o caso dela não pertencer.

Apesar das equações da PCA (Equação 4) e PLS-DA (Equações 7 e 8) serem semelhantes, enquanto a PCA modela apenas a matriz de dados \mathbf{X} , buscando explicar o máximo da variância dos dados, a PLS-DA modela as matrizes \mathbf{X} e o vetor \mathbf{c} simultaneamente de forma a maximizar a correlação entre elas. Outra diferença entre os dois algoritmos é que, na PLS-DA as variáveis são chamadas de variáveis latentes e não PCs. Assim como na PCA, os valores dos escores da matriz \mathbf{T} são normalizados, contudo, os valores dos pesos (\mathbf{P} e \mathbf{q}) não são (BRERETON, 2009).

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{P}^T + \mathbf{E} \quad (7)$$

$$\mathbf{c} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{q} + \mathbf{f} \quad (8)$$

Quando mais de uma classe é modelada, tem-se que o vetor \mathbf{c} se transforma em uma matriz \mathbf{C} , na qual há tantas colunas quanto classes. Para a modelagem de várias classes, o algoritmo utilizado é o PLS2, o qual modela as classes simultaneamente e de forma iterativa, ao invés de modelar uma classe de cada vez como o PLS1 (BRERETON, 2009).

Para a construção do modelo da PLS-DA, os conjuntos de espectros de cada uma das classes (conjuntos de treinamento), os quais podem ser extraídos da própria imagem, são relacionados com a matriz de classes, cujos valores (0 ou 1) determinam se eles pertencem ou não à determinada classe (DE JUAN, 2009). Após a construção do modelo, ele pode ser usado para prever as classes dos *pixels* da imagem. Idealmente, o resultado da aplicação do modelo seriam valores 0 ou 1, mas na realidade o que se obtém são valores entre 0 e 1 e valores um pouco menores do que 0 e maiores do que 1.

Um critério simples que pode ser utilizado para definir as classes das amostras a partir dos valores de resposta é estabelecer um valor limite (*threshold*), para cada classe, acima do qual elas sejam consideradas como pertencentes a essa classe. Esse limite pode ser, por exemplo, 0,5 (valor intermediário entre 0 e 1) ou o valor definido pelo PLS_Toolbox, *software* utilizado para a construção de modelos de PLS no MATLAB. O PLS_Toolbox determina esse *threshold* com base na distribuição dos valores de previsão das amostras de treinamento de forma a minimizar a probabilidade de classificações incorretas em previsões futuras, assumindo, para isso, que os valores de previsão para cada classe apresentam, aproximadamente, uma distribuição normal. Tendo-se definido os *thresholds* de cada classe, as amostras cujos valores de resposta forem superiores ao mesmo são consideradas como pertencentes à determinada classe e aquelas cujos valores forem inferiores são consideradas como não pertencentes à classe.

A partir dos valores de previsão dos *pixels* das imagens, é possível reorganizar os dados na forma de imagens (mapas de previsão), nas quais cada *pixel* é representado pelo seu valor de previsão. Nessas imagens, uma vez que são atribuídas cores semelhantes a valores de previsão semelhantes, é possível observar a distribuição dos componentes da amostra. Os mapas de previsão podem ser analisados separadamente para cada classe ou de forma conjunta, nesse caso são

construídas imagens RGB falsas nas quais cada canal espectral seja atribuído a uma classe (ex. canal vermelho atribuído à classe A, verde à classe B e azul à classe C). Nesse caso, só é possível construir imagens para modelos com até três classes. Outra forma de visualizar os resultados na forma de imagens é através da construção de imagens falsas, nas quais aos *pixels* relativos a cada classe sejam atribuídas cores distintas ou se atribua cor (ex. preto) apenas aos *pixels* de determinada classe, de forma a discriminá-la das demais.

3.5.3 Técnicas de resolução de imagens

As técnicas de resolução buscam recuperar, simultaneamente, as informações espaciais (mapas de distribuição ou concentração) e químicas (espectros puros) dos componentes da imagem (DE JUAN, 2009). A MCR-ALS é um exemplo desse tipo de técnica.

3.5.3.1 Resolução multivariada de curvas pelos mínimos quadrados alternados

A MCR-ALS é uma técnica derivada da lei de Beer-Lambert que promove a decomposição da matriz de dados (**X**) em três novas matrizes (Equação 9): a matriz das concentrações (**C**), a matriz dos espectros puros (**S**) e a matriz dos resíduos (**E**). É importante ressaltar que o algoritmo da MCR-ALS é um algoritmo iterativo que realiza a decomposição através da otimização das matrizes **C** e **S** (DE JUAN, 2009).

$$\mathbf{X} = \mathbf{C} \cdot \mathbf{S}^T + \mathbf{E} \quad (9)$$

Nessa técnica, além da matriz de dados, uma estimativa da matriz **C** ou **S** deve ser usada como dado de entrada, para que a partir dela o algoritmo seja capaz de realizar a otimização, obtendo sucessivos valores de **C** e **S** através das Equações 10 e 11 até que o processo chegue ao fim. No que diz respeito aos espectros puros dos componentes, esses podem ser conhecidos previamente ou obtidos na própria imagem através de algoritmos como o SIMPLISMA (do inglês, *simple-to-use interactive self-modeling mixture analysis*). Além desses dados de entrada, restrições podem ser introduzidas a fim de melhorar a resolução e evitar ambiguidades, pois podem haver diversas soluções para o modelo (diferentes valores de **C** e **S**^T) e

restrições vão limitar a quantidade de soluções possíveis. Essas restrições podem ser de diferentes tipos como, por exemplo, a não negatividade das concentrações e dos espectros, a qual impõe que os valores de **C** e **S** devem ser sempre positivos e a unimodalidade, a qual impõe que cada perfil de concentração só pode possuir um máximo, restrição essa que é aplicada em perfis de processos e não de imagens (DE JUAN, 2009). Outras informações também podem ser incluídas, pode-se, por exemplo, fazer com que os espectros puros de alguns dos componentes permaneçam inalterados enquanto os demais espectros são otimizados.

$$\hat{\mathbf{C}} = \mathbf{X}\mathbf{S}(\mathbf{S}^T\mathbf{S})^{-1} \quad (10)$$

$$\mathbf{S}^T = (\mathbf{C}^T\mathbf{C})^{-1}\mathbf{C}^T\mathbf{X} \quad (11)$$

É importante ressaltar que o processo de otimização pode chegar ao fim de diferentes formas como, por exemplo, quando a porcentagem de variação do ajuste dos dados entre os ciclos atinge um determinado valor preestabelecido ou quando o número de ciclos, também previamente estabelecido, for atingido (DE JUAN, 2009).

Quando se dispõe dos espectros puros previamente, uma forma de avaliar o grau de otimização do algoritmo é através da análise dos coeficientes de correlação desses espectros com os respectivos espectros otimizados, pois caso o espectro otimizado apresente um baixo valor de correlação tem-se a indicação de que houve algum problema no processo.

Quando se dispõe de várias imagens de uma mesma amostra, de diferentes camadas da mesma, ou de várias amostras contendo os mesmos componentes, é possível analisá-las conjuntamente de forma a obter melhores resultados. Nesse caso, tem-se a chamada MCR-ALS aumentada na direção das concentrações (Equação 12). Nessa forma aumentada, tem-se apenas uma matriz de espectros puros, o que assegura uma maior consistência nos resultados pelo fato de que um determinado componente estará sempre associado a um mesmo espectro puro (DE JUAN, 2009).

$$\begin{bmatrix} X^1 \\ X^2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} C^1 \\ C^2 \end{bmatrix} S^T + \begin{bmatrix} E^1 \\ E^2 \end{bmatrix} \quad (12)$$

A MCR-ALS aumentada pode ser usada, também, quando se dispõe de imagens nas quais nem todos os componentes estejam presentes, desde que essa

informação seja introduzida na forma de uma restrição adicional (DE JUAN, 2009). Por exemplo, quando se dispõe de quatro imagens, das quais uma contém 3 componentes (A, B e C) e três contêm, cada uma, apenas 1 dos componentes, é possível analisá-las conjuntamente introduzindo, na análise, uma matriz de correspondência das imagens (Equação 13). Nessa matriz, a qual tem tantas linhas quantas sejam as imagens e tantas colunas quantos sejam os componentes, os componentes presentes em cada imagem são identificados pelo número 1 e os ausentes pelo número 0 (zero) (JAUMOT et al., 2005).

$$\text{Matriz de correspondência} = \begin{matrix} & \begin{matrix} A & B & C \end{matrix} \\ \begin{matrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{matrix} & \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \end{matrix} \quad (13)$$

Na análise de imagens, após a obtenção da matriz de concentrações é possível reorganizar os dados na forma de novas imagens (mapas de concentração), de forma a permitir a visualização da distribuição dos componentes na imagem da mesma forma como pode ser feito com os mapas de previsão da PLS-DA.

4 INFRAVERMELHO PRÓXIMO

4.1 METODOLOGIA

4.1.1 Preparo das amostras

Para o preparo das amostras, foi adquirido um total de 33 canetas de tintas azul e preta de diferentes marcas, modelos e tipos de tinta (óleo, gel e líquida), como pode ser visto na Tabela 1.

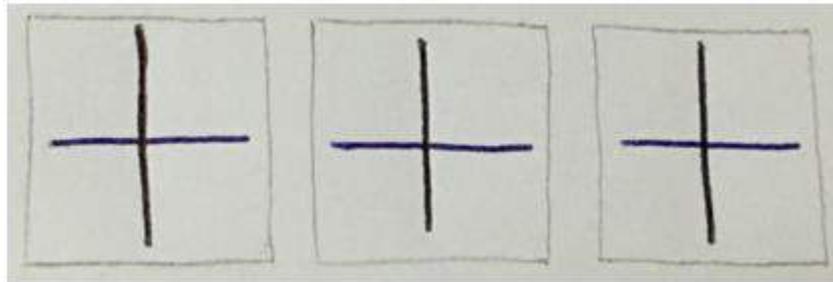
Tabela 1 – Canetas separadas quanto à marca, modelo, tipo e cor da tinta.

Marca e modelo	Tipo de tinta	Cor da tinta
Bic Atlantis	Gel	Azul
Bic Cristal Gel + Medium	Gel	Azul
Bic Pro +	Gel	Azul
Pilot G2	Gel	Azul
Uni-ball Signo	Gel	Azul
Sheaffer Classic Rollerball	Líquida	Azul
Bic Cristal	Óleo	Azul
Paper mate kilometrica 100	Óleo	Azul
Bic Atlantis	Gel	Preta
Bic Cristal Gel + Medium	Gel	Preta
Bic Pro +	Gel	Preta
Bic Velocity Gel	Gel	Preta
Pentel EnerGel Metal Tip	Gel	Preta
Pilot G2	Gel	Preta
Schneider TopBall 857	Gel	Preta
Uni-ball Signo	Gel	Preta
Bic Grip Roller	Líquida	Preta
Paper Mate	Líquida	Preta
Staedtler Triplus Fineliner	Líquida	Preta
Bic Cristal	Óleo	Preta
Bic Cristal Ultrafine	Óleo	Preta
Cello Cis Work	Óleo	Preta
Compactor 07	Óleo	Preta
Faber-Castell ponta fina	Óleo	Preta
Paper mate kilometrica 100	Óleo	Preta
Paper mate kilometrica RT	Óleo	Preta
Pentel BK-420	Óleo	Preta
Pentel RSVP BK-90 Fine	Óleo	Preta
Pentel WOW! BK437-A	Óleo	Preta
Pilot BP-1 RT	Óleo	Preta
Pilot BPS	Óleo	Preta
Pilot BPS Grip	Óleo	Preta
Uni-ball Power Tank	Óleo	Preta

Fonte: da autora.

Foram preparados cruzamentos de traços tanto entre canetas de tinta da mesma cor (azul x azul e preta x preta) quanto entre canetas de tintas de cores diferentes (azul x preta), sempre nas duas ordens de aplicação (traço da caneta A por cima do traço da caneta B e o contrário). Todos os cruzamentos foram preparados no mesmo tipo de papel (sulfite branco) e em triplicata (Figura 16).

Figura 16 – Amostras de cruzamentos para análise no NIR.



Fonte: da autora

O procedimento de preparo dos cruzamentos consistiu em fazer o primeiro traço na horizontal da esquerda para a direita, deixar a tinta secar por 2 dias em condições normais e fazer o segundo traço, perpendicular ao primeiro, de cima para baixo. Como pode ser visto na Figura 16, uma moldura quadrada feita com lápis grafite foi feita para facilitar a identificação do local do cruzamento na etapa de tratamento das imagens.

Foram preparados, inicialmente, cruzamentos entre todas as canetas de tinta azul e preta. Posteriormente, foram selecionadas 6 canetas de tinta preta à base de óleo e gel (Tabela 2) e 30 novos cruzamentos foram preparados utilizando-se apenas essas canetas. Desses 30 cruzamentos, 18 foram entre canetas de tinta à base de óleo e gel (óleo x gel), 6 entre canetas de tinta à base de gel (gel x gel) e 6 entre canetas de tinta à base de óleo (óleo x óleo).

Tabela 2 – Canetas selecionadas.

Marca e modelo	Tipo de tinta
Bic Cristal Gel +	Gel
Bic Velocity Gel	Gel
Uni-ball Signo	Gel
Compacktor 07	Óleo
Pentel BK-420	Óleo
Uni-ball Power Tank	Óleo

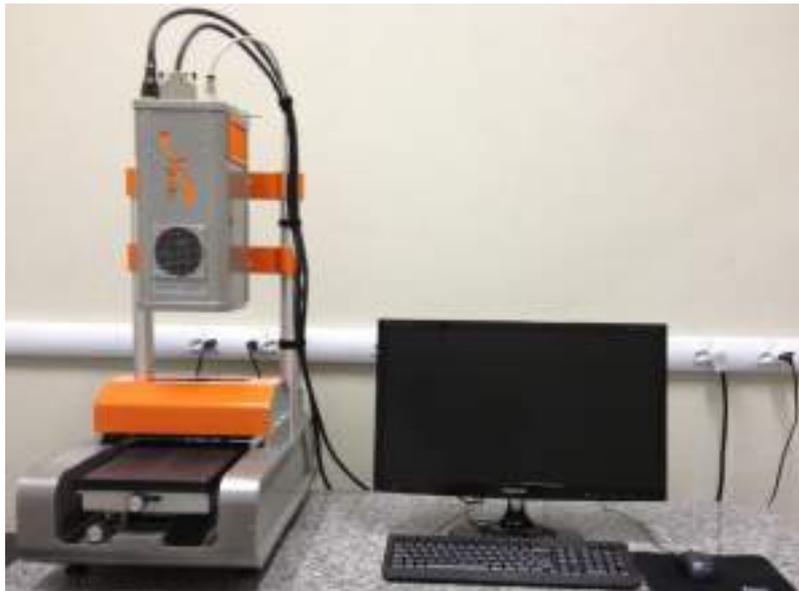
Fonte: da autora.

Vale ressaltar que a pressão da escrita não foi controlada durante o preparo das amostras, mas todos os cruzamentos foram realizados pela mesma pessoa, usando a sua pressão normal de escrita e assegurando-se que a tinta fluía livremente da caneta, de forma a evitar falhas no traço ou a distribuição desigual da tinta, o que poderia influenciar nos resultados.

4.1.2 Instrumentação e aquisição das imagens

As imagens hiperespectrais na região do NIR foram adquiridas utilizando-se a câmera hiperespectral SisuCHEMA SWIR da Specim Spectral Imaging Ltd. (Figura 17) equipada com a macrolente, cujos *pixels* têm dimensões de $30 \times 30 \mu\text{m}^2$. O modo de aquisição das imagens desse equipamento é o *line scanning*. A faixa espectral utilizada foi de 928 a 2.524 nm e a resolução espectral de 6,3 nm, totalizando 256 comprimentos de onda.

Figura 17 – Câmera hiperespectral SisuCHEMA SWIR.



Fonte: da autora

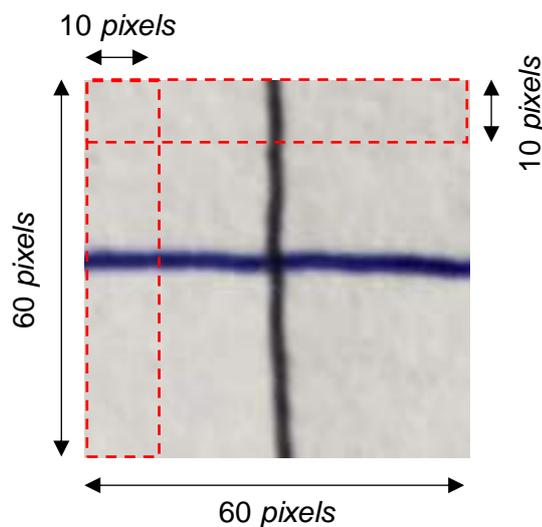
4.1.3 Pré-processamento espectral e tratamento das imagens

Primeiramente, os dados de refletância obtidos foram convertidos para pseudoabsorbância utilizando o software Evince 2.7.0 (UmBio). Esse software foi utilizado, também, para reduzir o tamanho das imagens, de forma a conter apenas as

áreas delimitadas pelo lápis grafite, e convertê-las para o formato de arquivo MATLAB. O software MATLAB® R2010a 7.10.0.499 (MathWorks) foi utilizado para o pré-processamento e tratamento dos dados, tendo-se utilizado o MCR-ALS *toolbox*², o pacote de funções HYPER-Tools e rotinas desenvolvidas pela própria autora.

As imagens foram cortadas no formato de um quadrado contendo toda a área do cruzamento e apenas partes dos traços separadamente (Figura 18), o que resultou em matrizes de dados com dimensões de 60 *pixels* x 60 *pixels* x 256 canais espectrais.

Figura 18 – Imagem RGB da região do cruzamento com as regiões contendo apenas uma das canetas marcadas.



Fonte: da autora

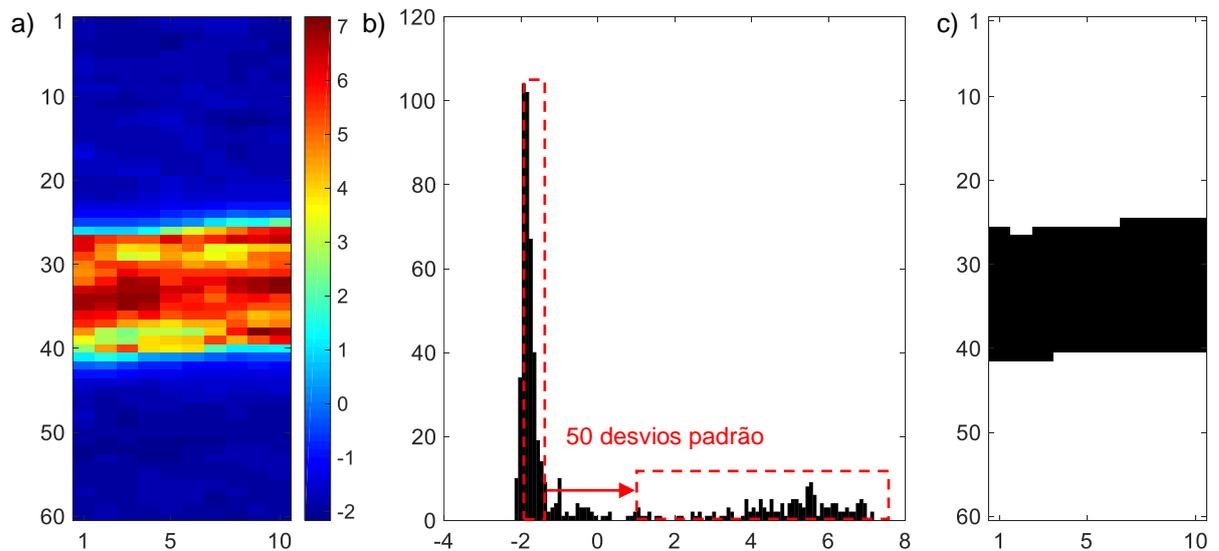
Para a análise dos dados, foram selecionadas, inicialmente, partes das imagens contendo apenas uma das tintas e papel, regiões marcadas em vermelho na Figura 18, e foram realizadas PCAs apenas nessas regiões. Foram testados, então, vários pré-processamentos espectrais, tais como redução da faixa espectral, SNV, MSC e derivadas com filtro de Savitzky Golay. Apesar de terem sido testados vários pré-processamentos, optou-se por realizar a PCA utilizando-se os espectros brutos (sem pré-processamento).

Os espectros puros de cada tinta foram, então, extraídos a partir dos histogramas dos valores dos escores da PC1. A rotina desenvolvida para essa finalidade consistiu em três etapas: i) construção dos vetores dos histogramas

² *Toolbox* gratuito desenvolvido por Romà Tauler, Anna de Juan e Joaquim Jaumot. Disponível para download em: <<http://www.mcrals.info/>>.

(vetores contendo os intervalos dos valores dos escores da PC1 e o número de *pixels* em cada intervalo), ii) cálculo do desvio padrão dos valores dos escores localizados entre o máximo do histograma e o seu lado simétrico (região marcada à esquerda da Figura 19b) e iii) definição do limite dos escores acima ou abaixo do qual os *pixels* terão seus espectros extraídos. O valor limite foi definido como sendo o valor do máximo acrescido ou diminuído de uma determinada quantidade de desvios padrões, como por exemplo, o valor do máximo acrescido de 50 vezes o valor do desvio padrão calculado (região marcada à direita da Figura 19b). Considerando-se a variação desses valores de uma tinta para a outra, a determinação do desvio padrão foi feita de forma individual e foram testados diferentes valores para cada imagem até se encontrar o valor ideal, aquele em que fosse selecionada uma maior quantidade de *pixels* referentes ao traço e uma menor quantidade de *pixels* do papel. Esse procedimento foi feito visualmente comparando-se as imagens falsas, nas quais os *pixels* selecionados foram marcados em preto e os demais em branco (Figura 19c), com as imagens dos escores da PC1 (Figura 19a).

Figura 19 – a) Imagem dos escores da PC1, b) Histograma dos valores dos escores da PC1 e c) Imagem falsa com os *pixels* selecionados de um traço feito com uma caneta de tinta preta (Bic Velocity Gel).



Fonte: da autora

Após a seleção dos *pixels* e, conseqüentemente, extração dos espectros das duas tintas de cada cruzamento, foram selecionados 100 espectros puros do papel (localizados na região de 10 *pixels* x 10 *pixels* marcada em vermelho no canto superior esquerdo da Figura 18).

Após a extração dos espectros das duas tintas e do papel, as médias desses foram utilizadas como espectros puros na análise com a MCR-ALS. É importante ressaltar que, novamente, foram testados, vários pré-processamentos espectrais. Na análise com a MCR-ALS foram utilizadas as restrições de não-negatividade das concentrações e dos espectros (no caso dos espectros brutos) e a normalização pelo comprimento. Além disso, a MCR-ALS foi realizada na sua forma aumentada, na qual a matriz utilizada foi a imagem desdobrada acrescida dos espectros de cada componente (tintas e papel) extraídos das imagens, cuja quantidade foi igual para os três componentes (tinta 1, tinta 2 e papel). Essa quantidade foi definida como sendo o mínimo de espectros extraídos dos componentes, por exemplo, se em um dado cruzamento forem extraídos 44 espectros de uma tinta e 148 espectros da outra, 44 espectros de cada tinta e de papel (132 espectros no total) devem ser acrescidos à matriz da imagem.

No que diz respeito à determinação da ordem dos traços, os resultados foram avaliados com base na análise visual dos mapas de concentração (interpretação visual dos resultados), nos quais foram observadas características como a continuidade dos traços e a uniformidade e intensidade dos *pixels* na região do cruzamento.

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foram preparados cruzamentos de traços apenas entre canetas com tinta à base de óleo (*ballpoint*), por se tratar do tipo de cruzamento mais comum e mais difícil de resolver, segundo os peritos. Algumas dificuldades foram encontradas, contudo, e outros cruzamentos entre canetas com tinta à base de gel e líquida também foram testados, como já foi mencionado. No que diz respeito à cor das tintas das canetas, foram escolhidas, primeiramente, canetas de tinta preta, pelo fato de haver uma carência de resultados com essas canetas nos trabalhos já publicados. Por esse mesmo motivo, cruzamentos entre canetas de tinta azul e pretas também foram testados.

No que diz respeito ao intervalo de tempo de 2 dias entre o primeiro e o segundo traço, tem-se que ele foi utilizado de forma a reduzir a possibilidade de ocorrência de mistura entre as tintas e aumentar, assim, a possibilidade de formação da dupla

camada, o que facilita as análises. É importante ressaltar que em casos reais, esse intervalo de tempo é desconhecido e pode ser maior ou menor do que 2 dias.

As amostras dos cruzamentos foram sempre preparadas nas duas ordens de aplicação para que o par de amostras envolvendo as mesmas canetas pudesse ser analisado conjuntamente e seus resultados comparados entre si. Além disso, os cruzamentos foram preparados sempre da mesma forma (primeiro traço na horizontal e segundo na vertical), de forma a facilitar a sua comparação.

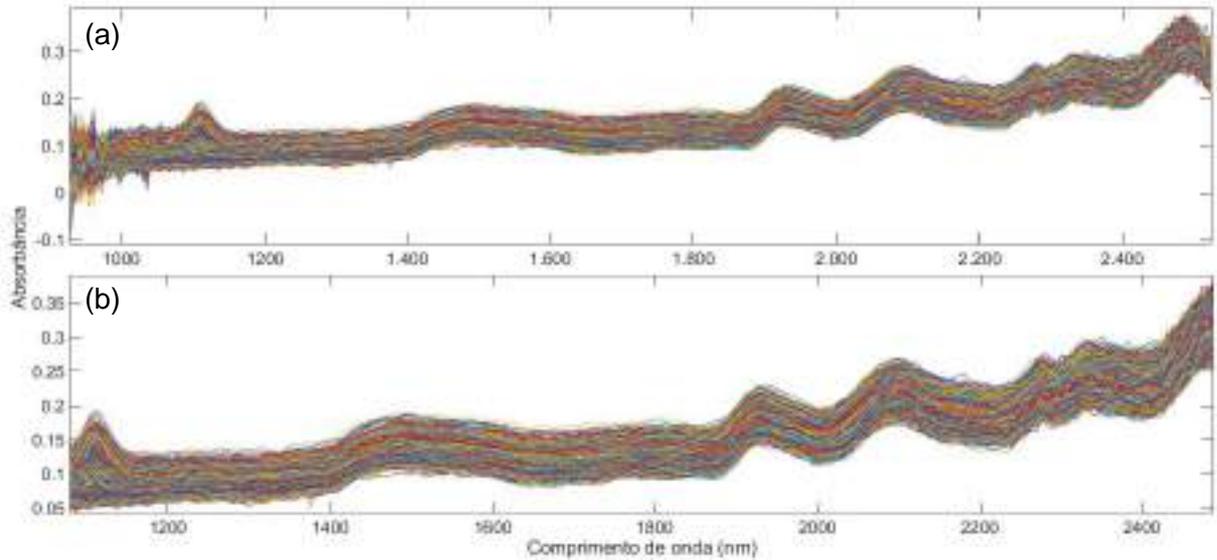
Para a aquisição das imagens, procurou-se obter imagens de toda a região do cruzamento e, também, de parte dos traços de cada tinta separadamente. Isso foi feito para permitir a análise da continuidade dos traços na região do cruzamento e, assim, determinar a ordem dos traços no cruzamento, o que foi feito segundo a metodologia proposta por Braz, López-López e García-Ruiz (2015). Segundo essa metodologia, o último traço é aquele que apresenta continuidade na região do cruzamento, ainda que apenas nas suas bordas, e cujos *pixels* predominam nessa região. Assim, deve-se analisar a continuidade dos traços e a quantidade de *pixels* referente a cada uma das tintas na região do cruzamento.

Na aquisição das imagens, optou-se por utilizar a macrolente por ela fornecer uma resolução espacial maior do que as outras lentes disponíveis e, ainda assim, permitir a obtenção de imagens contendo a região do cruzamento e parte dos traços de cada tinta separadamente

Analisando-se os espectros brutos (sem pré-processamento) completos de um cruzamento entre as canetas Pentel BK-420 (preta) e Bic Cristal Gel (azul) (Figura 20a), observou-se que as regiões inicial (928 a 1.073 nm) e final (2.493 a 2.524 nm) apresentavam muito ruído. Assim, essas regiões espectrais foram eliminadas, restando a região compreendida entre 1.080 e 2.487 nm (Figura 20b), composta por 226 comprimentos de onda.

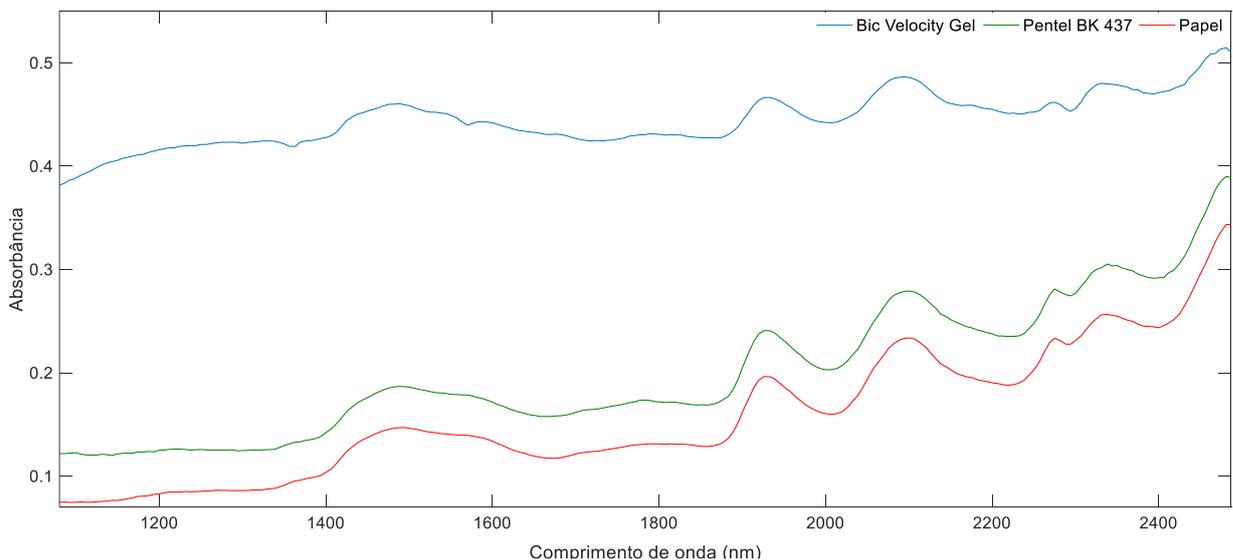
A comparação visual inicial dos espectros das tintas das canetas mostrou que apenas alguns se diferenciavam dos espectros do papel, sendo a maioria muito semelhante. A Figura 21 ilustra essas duas situações, pois enquanto o espectro da tinta da caneta Bic Velocity Gel (espectro em azul) se diferencia um pouco do espectro do papel (espectro em vermelho) na região inicial do espectro (até 1.400 nm e entre 1.500 e 1.600 nm), o espectro da tinta da caneta Pentel BK437 (espectro em verde) é, aparentemente, idêntico ao do papel, desconsiderando-se o desvio de linha de base.

Figura 20 – Espectros brutos (a) completos e (b) sem as regiões ruidosas de um cruzamento entre as canetas Pentel BK-420 (preta) e Bic Cristal Gel (azul) .



Fonte: da autora

Figura 21 – Espectros médios das tintas das canetas Bic Velocity Gel e Pentel BK 437 e do papel.



Fonte: da autora

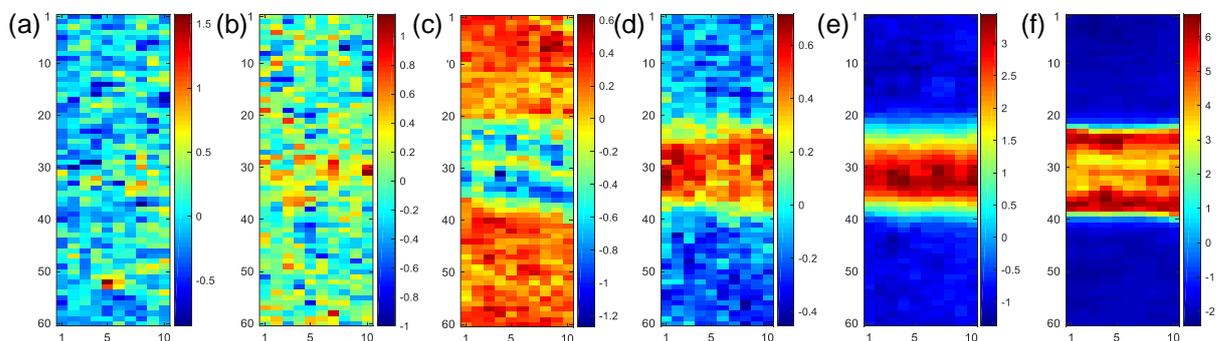
A semelhança entre os espectros da maioria das tintas e os espectros do papel pode ser atribuída à elevada absorção das fibras da celulose (principal constituinte do papel) associada ao alto poder de penetração da radiação NIR no papel e, também, à baixa absorção das tintas das canetas. O resultado é que as bandas espectrais das tintas são sobrepostas pelas bandas relativas ao papel, sendo difícil diferenciar os espectros na maioria dos casos.

A sobreposição das bandas das tintas pelas bandas do papel pode ser confirmada através da atribuição das mesmas às vibrações das ligações da celulose, as quais foram descritas por Cséfalvayová et al. (2010), Li et al. (2015) e Schwanninger, Rodrigues e Fackler (2011).

De forma a tentar evidenciar a informação das tintas cujos espectros eram muito parecidos com os do papel, optou-se por realizar a PCA, utilizando-se os espectros brutos, apenas nas regiões dos cruzamentos que contivessem apenas uma das tintas. Os espectros brutos foram utilizados pelo fato dos efeitos físicos do espalhamento da radiação, desvios de linha de base, realçarem as diferenças entre os espectros das tintas das canetas e do papel.

Mesmo selecionando-se essa região e utilizando-se os espectros brutos, contudo, só foi possível diferenciar claramente a tinta do papel, nas imagens dos escores, em poucos casos (Figura 22e-f). Em alguns casos, apesar de ter sido possível diferenciar a tinta do papel (Figura 22c-d), alguns *pixels* relativos à tinta se confundiram com os *pixels* relativos ao papel. Na maioria dos casos, contudo, não foi possível sequer identificar a presença da tinta (Figura 22a-b), impossibilitando, assim, a extração dos espectros da tinta e, conseqüentemente, a análise pela MCR-ALS.

Figura 22 – Imagens dos escores da PC1 na PCA realizada nas regiões contendo apenas o papel e a tinta da caneta: (a) Bic Grip Roller, (b) Schneider TopBall 857, (c) Pentel BK 437, (d) Pilot BPS Grip, (e) Compactor 07 e (f) Bic Velocity Gel.

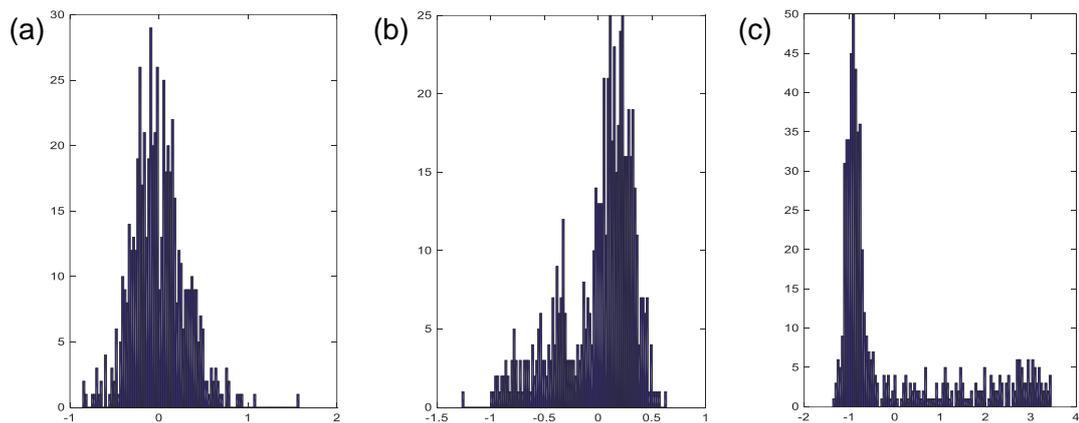


Fonte: da autora

Diante da dificuldade de se selecionar os *pixels* e, conseqüentemente, extrair os espectros referentes a cada tinta através da análise visual das imagens dos escores, adotou-se outra estratégia para a seleção dos *pixels*, a qual foi baseada nos histogramas dos valores dos escores da PC1, como detalhado no item 1.3. É importante ressaltar que essa metodologia requer que os histogramas sejam bimodais (uma moda referente ao papel e outra à tinta) ou, pelo menos, assimétricos. Isso só

acontece, contudo, quando os *pixels* da tinta se distinguem dos do papel. Analisando-se os histogramas dos valores dos escores (Figura 23), pode-se observar que apenas nos dois últimos casos os histogramas são assimétricos ou bimodais e os valores dos escores dos *pixels* relativos à tinta são suficientemente diferentes dos *pixels* do papel. Assim, dessas três canetas cujos histogramas foram apresentados, apenas os espectros relativos às tintas das duas últimas podem ser extraídos utilizando a metodologia desenvolvida.

Figura 23 – Histogramas dos valores dos escores da PC1 da PCA realizada nas regiões contendo apenas o papel e a tinta das canetas (a) Bic Grip Roller, (b) Pentel BK 437e (c) Compactor 07.

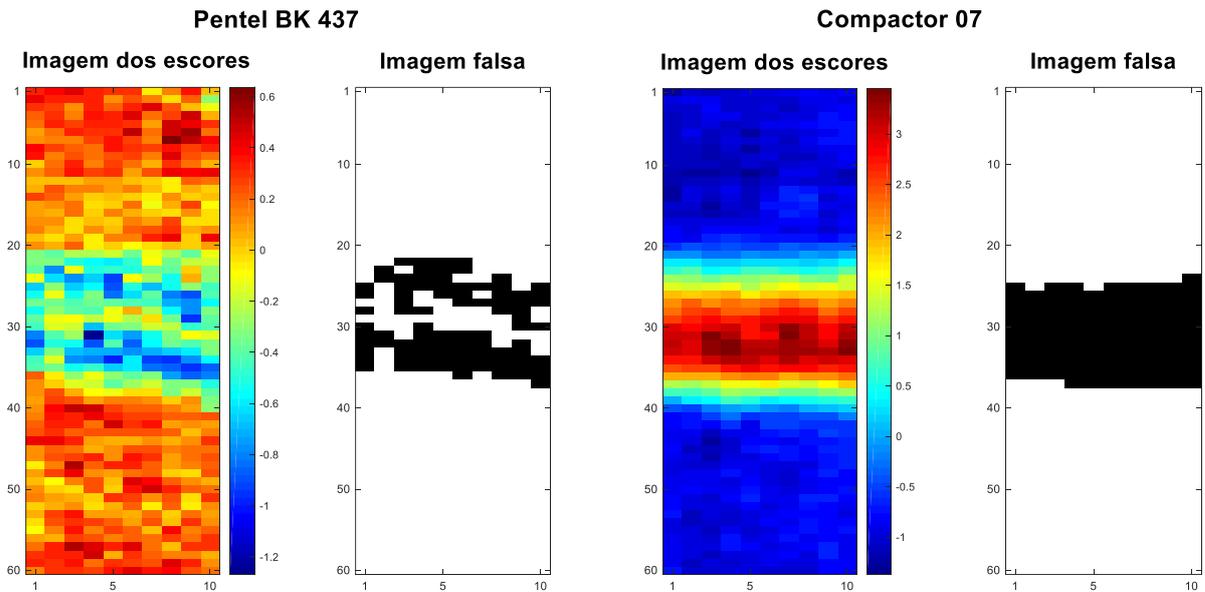


Fonte: da autora

Na Figura 24, estão apresentadas as imagens dos escores da PC1 e as imagens falsas com os *pixels* selecionados (*pixels* marcados em preto). É importante ressaltar que, para cada imagem, a quantidade de desvios padrão utilizada na rotina e a quantidade de espectros extraídos de cada tinta variou. No caso ilustrado, por exemplo, foram usados 5 e 25 desvios padrão e foram extraídos 89 e 126 espectros, respectivamente.

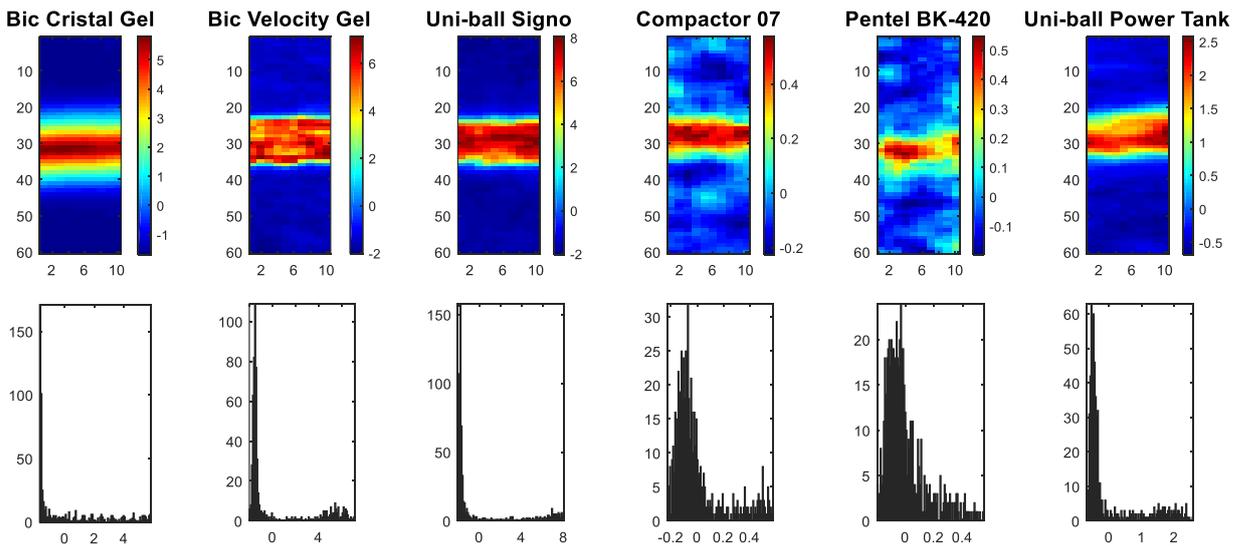
Como não foi possível discriminar, de forma eficiente, os *pixels* das tintas dos *pixels* do papel na maioria dos cruzamentos analisados, conseqüentemente, não foi possível determinar a ordem dos traços nesses casos. Assim, procedeu-se à seleção de 6 canetas de tinta preta (3 com tinta à base de óleo e 3 com tinta à base de gel) cujas imagens dos escores da PC1 (Figura 25) permitiam a diferenciação dos *pixels* das tintas dos *pixels* do papel. Os espectros brutos de cada tinta e do papel estão apresentados na Figura 26.

Figura 24 – Imagens dos escores da PC1 da PCA realizada nas regiões contendo apenas o papel e a tinta de uma caneta e imagens falsas com os *pixels* selecionados através dos histogramas das canetas Pentel BK 437 e Compactor 07.



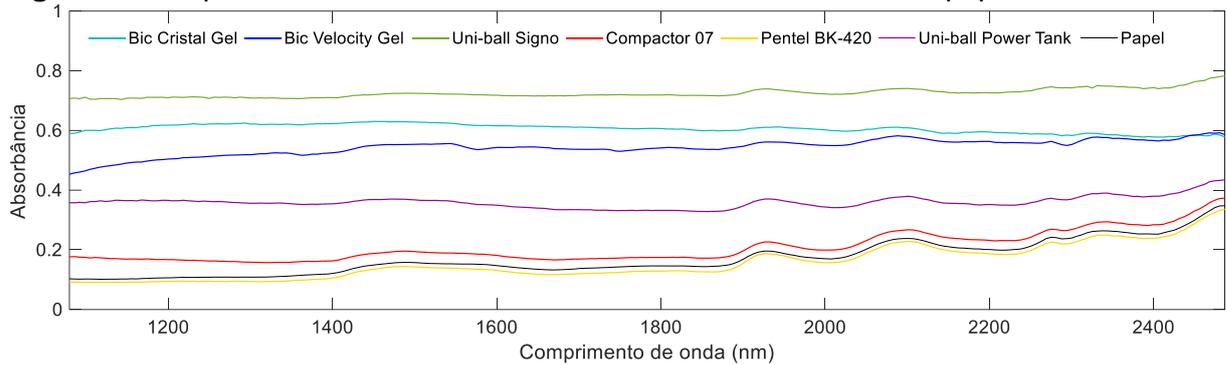
Fonte: da autora

Figura 25 – Imagens dos escores e histogramas dos valores dos escores da PC1 da PCA realizada nas regiões contendo apenas papel e a tinta das canetas selecionadas.



Fonte: da autora

Como pode ser visto na Figura 26, os espectros das tintas de 4 das canetas (Bic Cristal Gel, Bic Velocity Gel, Uni-ball signo e Uni-ball Power Tank) se diferenciam um pouco do espectro do papel (espectro em preto), enquanto que os espectros das tintas das 2 canetas restantes (Compactor 07 e Pentel BK-420), ambas à base de óleo (canetas do tipo *ballpoint*), são bastante similares ao do papel.

Figura 26 – Espectros brutos das tintas das canetas selecionadas e do papel.

Fonte: da autora

Utilizando-se essas 6 canetas, foram preparados 30 cruzamentos, 12 entre canetas com o mesmo tipo de tinta (gel x gel e óleo x óleo) e 18 com tipos diferentes (gel x óleo), nas duas ordens de aplicação (Tabela 3).

Tabela 3 – Cruzamentos entre as canetas pretas selecionadas.

Nº do cruzamento	Tipo de tinta	1º traço	2º traço
01	Gel x Óleo	Uni-ball Power Tank	Bic Velocity Gel
02		Bic Velocity Gel	Uni-ball Power Tank
03		Uni-ball Power Tank	Bic Cristal Gel
04		Bic Cristal Gel	Uni-ball Power Tank
05		Uni-ball Power Tank	Uni-ball Signo
06		Uni-ball Signo	Uni-ball Power Tank
07		Compactor 07	Bic Velocity Gel
08		Bic Velocity Gel	Compactor 07
09		Compactor 07	Bic Cristal Gel
10		Bic Cristal Gel	Compactor 07
11		Compactor 07	Uni-ball Signo
12		Uni-ball Signo	Compactor 07
13		Pentel BK-420	Bic Velocity Gel
14		Bic Velocity Gel	Pentel BK-420
15		Pentel BK-420	Bic Cristal Gel
16		Bic Cristal Gel	Pentel BK-420
17		Pentel BK-420	Uni-ball Signo
18		Uni-ball Signo	Pentel BK-420
19	Gel x Gel	Bic Velocity Gel	Uni-ball Signo
20		Uni-ball Signo	Bic Velocity Gel
21		Bic Cristal Gel	Uni-ball Signo
22		Uni-ball Signo	Bic Cristal Gel
23		Bic Velocity Gel	Bic Cristal Gel
24	Bic Cristal Gel	Bic Velocity Gel	
25	Óleo x Óleo	Compactor 07	Pentel BK-420
26		Pentel BK-420	Compactor 07
27		Compactor 07	Uni-ball Power Tank
28		Uni-ball Power Tank	Compactor 07
29		Uni-ball Power Tank	Pentel BK-420
30		Pentel BK-420	Uni-ball Power Tank

Em seguida, foram selecionados os *pixels* do papel e de cada uma das tintas em cada imagem e seus espectros foram extraídos. A Tabela 4 apresenta o número de espectros extraídos de cada tinta nos cruzamentos entre as canetas selecionadas.

Como se pode ver, os valores variaram de 12 (tinta da caneta Pentel BK-420 no cruzamento 29) a 156 (tintas das canetas Uni-ball Signo e Bic Cristal Gel nos cruzamentos 20 e 23). Essa variação é resultante do fato dos *pixels* referentes a algumas tintas apresentarem valores de escores mais diferentes dos valores de escores do papel, fazendo com que seja mais fácil discriminá-las do papel e, assim, extrair seus espectros. Além disso, por conta da maior fluidez das tintas à base de gel, seus traços tendem a ser mais espessos do que os das tintas à base de óleo, fazendo com que o número de espectros extraídos das tintas à base de gel seja maior.

Tabela 4 – Número de espectros extraídos de cada traço nos cruzamentos entre as canetas pretas selecionadas

Nº do cruzamento	1º traço	Nº de espectros extraídos	2º traço	Nº de espectros extraídos
01	Uni-ball Power Tank	98	Bic Velocity Gel	122
02	Bic Velocity Gel	141	Uni-ball Power Tank	116
03	Uni-ball Power Tank	139	Bic Cristal Gel	144
04	Bic Cristal Gel	141	Uni-ball Power Tank	77
05	Uni-ball Power Tank	155	Uni-ball Signo	141
06	Uni-ball Signo	121	Uni-ball Power Tank	104
07	Compactor 07	88	Bic Velocity Gel	148
08	Bic Velocity Gel	106	Compactor 07	66
09	Compactor 07	44	Bic Cristal Gel	121
10	Bic Cristal Gel	148	Compactor 07	51
11	Compactor 07	72	Uni-ball Signo	141
12	Uni-ball Signo	120	Compactor 07	89
13	Pentel BK-420	48	Bic Velocity Gel	152
14	Bic Velocity Gel	129	Pentel BK-420	51
15	Pentel BK-420	35	Bic Cristal Gel	137
16	Bic Cristal Gel	141	Pentel BK-420	38
17	Pentel BK-420	64	Uni-ball Signo	142
18	Uni-ball Signo	127	Pentel BK-420	24
19	Bic Velocity Gel	67	Uni-ball Signo	153
20	Uni-ball Signo	156	Bic Velocity Gel	150
21	Bic Cristal Gel	102	Uni-ball Signo	137
22	Uni-ball Signo	147	Bic Cristal Gel	148
23	Bic Velocity Gel	67	Bic Cristal Gel	156
24	Bic Cristal Gel	153	Bic Velocity Gel	150
25	Compactor 07	58	Pentel BK-420	68
26	Pentel BK-420	39	Compactor 07	135
27	Compactor 07	56	Uni-ball Power Tank	155
28	Uni-ball Power Tank	91	Compactor 07	47
29	Uni-ball Power Tank	140	Pentel BK-420	12
30	Pentel BK-420	18	Uni-ball Power Tank	133

Fonte: da autora.

Após a extração, os espectros médios foram utilizados como espectros puros na MCR-ALS e uma quantidade igual de espectros de cada uma das tintas e do papel

foi acrescentada às matrizes das imagens, de forma a se realizar a MCR-ALS na forma aumentada.

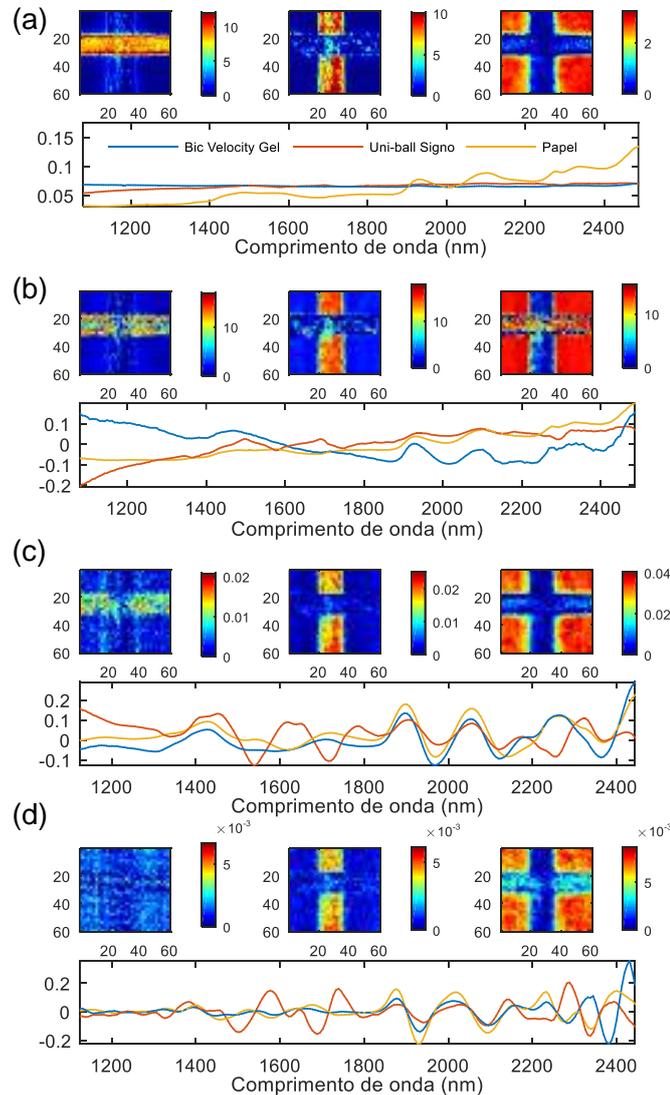
A análise dos mapas de concentração foi feita com base na análise visual dos mapas de concentração. As figuras que mostram os mapas de concentração dos cruzamentos estão organizadas da seguinte forma: a coluna da esquerda corresponde aos mapas das tintas dos primeiros traços (na horizontal), a coluna do meio corresponde aos mapas das tintas dos segundos (na vertical) e a coluna da direita corresponde ao papel.

A MCR-ALS foi realizada, primeiramente, utilizando os espectros brutos, nos quais as diferenças entre os espectros das tintas e do papel ficam realçadas pelos efeitos físicos do espalhamento da radiação (desvios de linha de base), contudo, optou-se por testar a aplicação de alguns pré-processamentos de forma a comparar os resultados obtidos. Assim, a MCR-ALS foi realizada, também, utilizando os espectros pré-processados com SNV e derivadas com filtro de Savitzky-Golay (primeira e segunda derivadas com janelas de 15 pontos). Os resultados obtidos para o cruzamento 19, entre as canetas Bic Velocity Gel e Uni-ball Signo (gel x gel), estão apresentados na Figura 27. Como pode ser visto nessa figura, o pré-processamento resulta em uma piora na discriminação dos *pixels*, principalmente para a tinta da caneta do primeiro traço (Bic Velocity Gel), fazendo com que os *pixels* da tinta não sejam completamente distinguidos dos *pixels* do papel.

É importante ressaltar que a diferença na análise das imagens com os espectros brutos e pré-processados foi apenas no que diz respeito às restrições utilizadas. No primeiro caso utilizou-se a restrição de não negatividade para as concentrações e espectros enquanto que nos demais casos apenas a não negatividade foi utilizada, apenas, para as concentrações, pelo fato dos espectros pré-processados apresentarem valores negativos.

Devido à piora que foi observada na discriminação dos *pixels*, apenas a correção com SNV foi utilizada para os demais cruzamentos. Nas Figuras 28 e 29, relativas, respectivamente, aos cruzamentos 07, entre as canetas Compactor 07 e Bic Velocity Gel (óleo x gel), e 28, entre as canetas Uni-ball Power Tank e e Compactor 07 (óleo x óleo), é possível comparar os resultados utilizando os espectros brutos e pré-processados com SNV. Como pode ser visto nessas figuras, o pré-processamento faz com que os espectros das tintas se tornem mais parecidos com os espectros do papel, da mesma forma que foi observado na Figura 27.

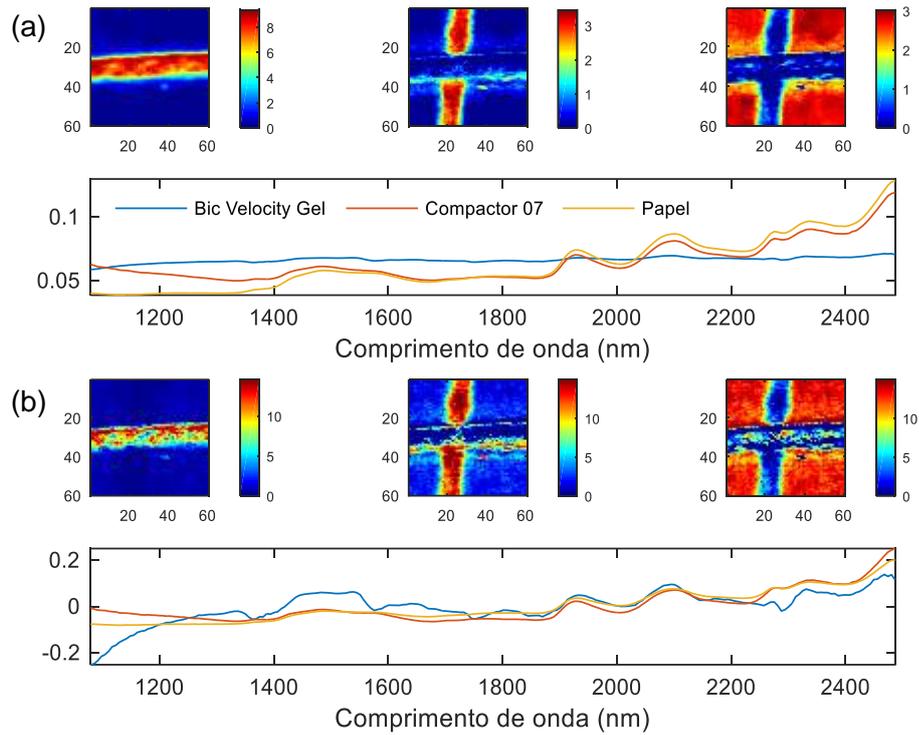
Figura 27 – Mapas de concentração e espectros otimizados do cruzamento 19. Espectros (a) brutos e pré-processados com (b) SNV, (c) primeira e (d) segunda derivada com filtro de Savitzky-Golay e janela de 15 pontos.



Fonte: da autora

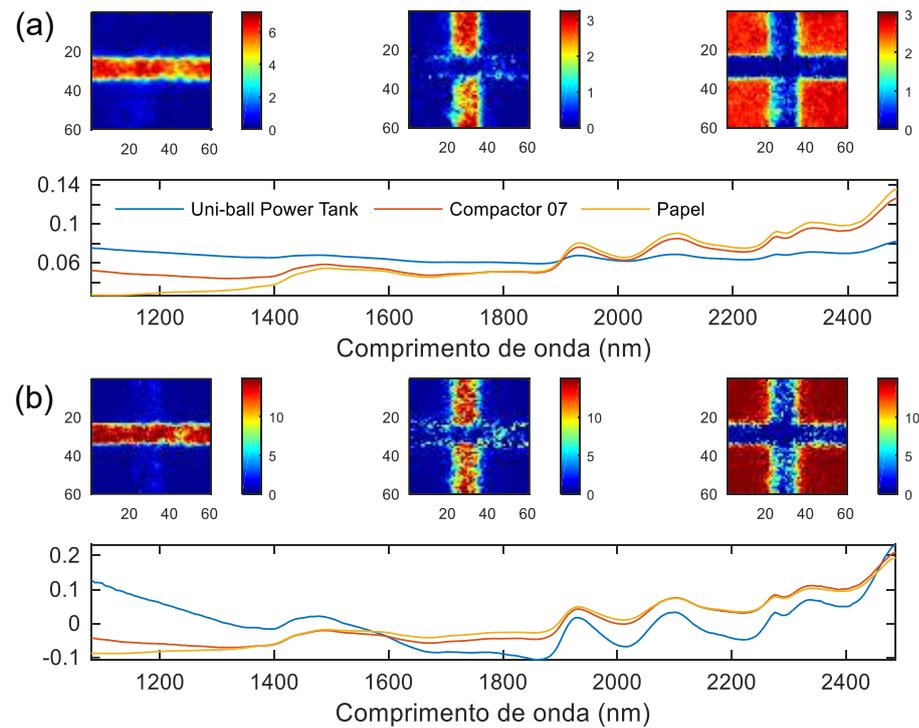
Esses dois cruzamentos foram escolhidos por serem exemplos de cruzamentos nos quais a ordem dos traços seria determinada incorretamente, pois há continuidade do primeiro traço e não do segundo, como seria esperado. O que se pode concluir, então, é que as análises utilizando os pré-processamentos não permitiram a determinação correta da ordem dos traços de cruzamentos cuja ordem dos traços foi determinada incorretamente na análise utilizando os espectros brutos. É possível concluir, também, que, os efeitos físicos contribuem significativamente para discriminar entre as tintas das canetas e o papel.

Figura 28 – Mapas de concentração e espectros otimizados do cruzamento 07. Espectros (a) brutos e (b) pré-processados com SNV.



Fonte: da autora

Figura 29 – Mapas de concentração e espectros otimizados do cruzamento 28. Espectros (a) brutos e (b) pré-processados com SNV.



Fonte: da autora

A partir da análise visual dos mapas de concentração (Apêndice A), cujos resultados estão mostrados na Tabela 5, observou-se que apenas em um par de cruzamentos (cruzamentos 23 e 24) foi possível determinar a ordem correta dos traços em ambos os cruzamentos. A análise dos mapas de concentração desses cruzamentos (Figura 30) permitiu identificar a presença de uma descontinuidade no primeiro traço e a continuidade do segundo traço em ambos os cruzamentos, como era esperado. É importante observar que os espectros dessas duas tintas são bastante diferentes dos espectros do papel (Figura 26) e ambas apresentam valores de escores elevados, como pode ser visto nas imagens dos escores (Figura 25a-b).

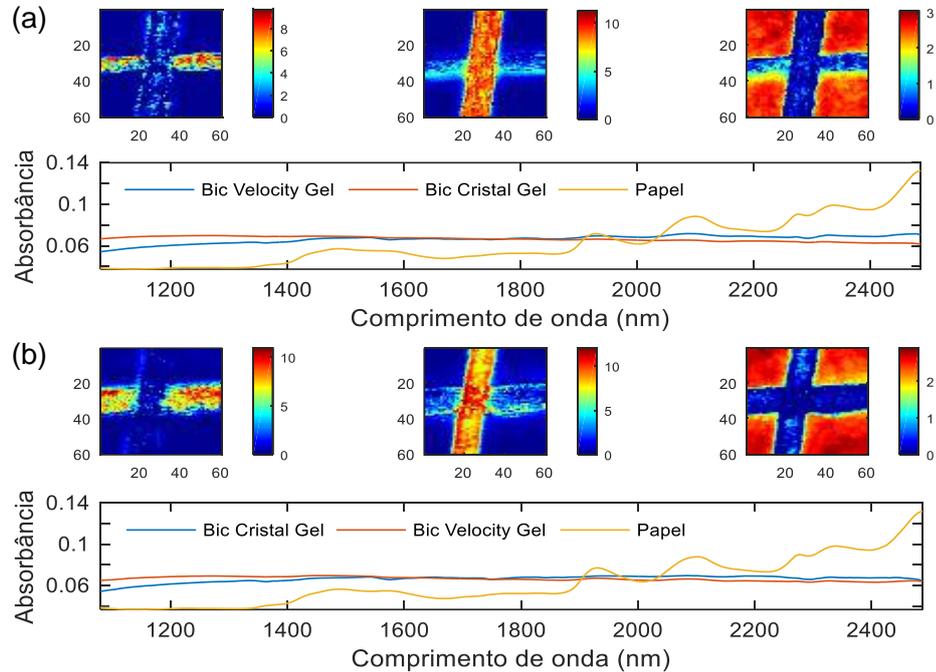
Tabela 5 – Resultados das análises dos cruzamentos entre as canetas pretas selecionadas onde ✓ corresponde a uma determinação correta e X a uma determinação incorreta.

Nº do cruzamento	Tipo de tinta	Resultado
01	Gel x Óleo	✓
02		X
03		✓
04		X
05		X
06		X
07		✓
08		X
09		✓
10		X
11		✓
12		X
13		✓
14		X
15		✓
16		X
17		✓
18		X
19	Gel x Gel	X
20		X
21		X
22		X
23		✓
24		✓
25	Óleo x Óleo	X
26		✓
27		✓
28		X
29		X
30		✓

Todos os outros acertos que foram observados correspondem a pares de cruzamentos nos quais apenas um dos cruzamentos do par teve sua ordem determinada corretamente. Nesses casos, o traço de uma das tintas, cujo espectro era mais diferente do espectro do papel, apresentou continuidade independente da

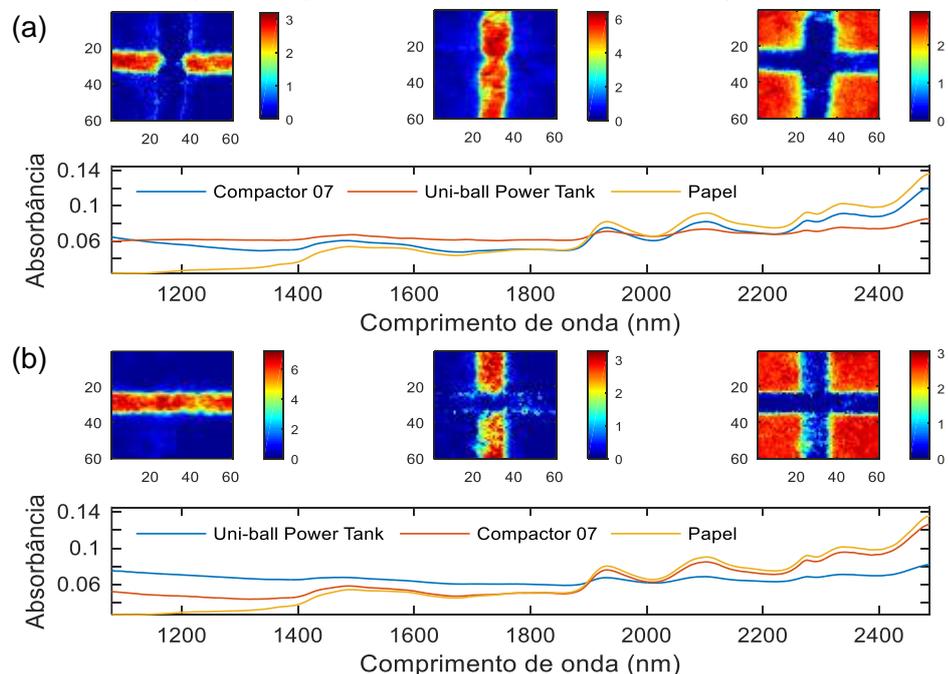
sua ordem de aplicação, como pode ser visto na Figura 31, relativa aos cruzamentos 27 e 28, entre as canetas Uni-ball Power Tank e Compactor 07 (óleo x óleo), nos quais o traço da caneta Uni-ball Power Tank apresentou continuidade independente da ordem de aplicação.

Figura 30 – Mapas de concentração e espectros otimizados dos cruzamentos (a) 23 e (b) 24 da análise feita com os espectros brutos.



Fonte: da autora

Figura 31 – Mapas de concentração e espectros otimizados dos cruzamentos (a) 27 e (b) 28 da análise feita com os espectros brutos.



Fonte: da autora

Esses resultados foram obtidos utilizando-se tanto os espectros brutos quanto os pré-processados com SNV, os quais não foram mostrados, o que evidência uma limitação da espectroscopia no NIR na determinação da ordem de cruzamentos entre canetas.

4.3 CONCLUSÕES

A maior dificuldade encontrada diz respeito à discriminação dos espectros das tintas dos espectros do papel. Por conta disso, optou-se por utilizar os espectros brutos para extrair a informação das tintas nas amostras de cruzamentos analisadas, para realçar as diferenças espectrais entre as tintas. Contudo, vale ressaltar que, dessa forma, as diferenças resultantes dos efeitos físicos do espalhamento da radiação é que estão sendo evidenciadas e não as diferenças químicas. É possível que esses efeitos físicos, os quais são aleatórios, possam variar, por exemplo, com o tipo de caneta e papel, a pressão e ângulos de escrita, mas é necessário investigar mais a fundo essa questão. A rotina de extração desenvolvida, baseada nos histogramas dos valores dos escores da PC1 da PCA, permitiu a extração de, pelo menos, 12 espectros de cada tinta, os quais foram utilizados como dados de entrada na MCR-ALS. Contudo, ainda que tenha sido possível extrair esses espectros puros, a análise dos mapas de concentração obtidos a partir da MCR-ALS aumentada utilizando-se tanto os espectros brutos quanto pré-processados com SNV permitiu determinar, apenas, a ordem correta dos traços em um par de cruzamentos, envolvendo as canetas Bic Velocity Gel e Bic Cristal Gel (gel x gel).

O fato de a MCR-ALS não ter fornecido resultados satisfatórios pode ser atribuído a várias razões, dentre elas a similaridade dos espectros do papel e das tintas, a qual pode ser resultado da elevada absorção da celulose associada com o alto poder de penetração da radiação NIR no papel, tratando-se, portanto de uma limitação da técnica.

5 RAMAN

5.1 METODOLOGIA

5.1.1 Preparo das amostras

Para o preparo das amostras, foram adquiridas 9 canetas de tintas do tipo gel de diferentes marcas e modelos, sendo 5 de tinta azul e 4 de tinta preta (Tabela 6).

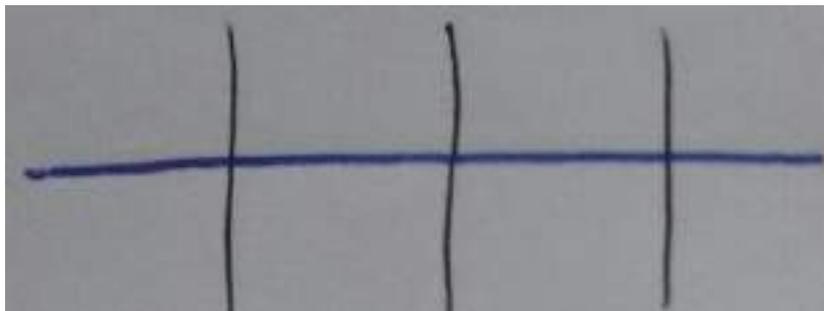
Tabela 6 – Canetas separadas quanto à marca, modelo e cor da tinta.

Marca e modelo	Cor da tinta
Bic Atlantis	Azul
Bic Cristal Gel	Azul
Bic Pro	Azul
Pilot G2	Azul
Uni-ball Signo	Azul
Bic Pro	Preta
Pilot G2	Preta
Uni-ball Signo	Preta
Pentel Energel	Preta

Fonte: da autora.

Foram preparados um total 57 cruzamentos de traços, sendo 13 entre canetas de tinta azul (azul x azul), 12 entre canetas de tinta preta (preta x preta) e 32 entre canetas de tinta azul e preta (azul x preta), sempre nas duas ordens de aplicação (traço da caneta A por cima do traço da caneta B e o contrário). É importante ressaltar que a caneta Bic Atlantis foi utilizada, apenas, para preparar um cruzamento com a caneta Bic Cristal Gel, aqui denominado de “cruzamento teste”, o qual serviu, apenas, para otimizar as condições experimentais e de tratamento dos dados. Todos os cruzamentos foram preparados no mesmo tipo de papel (sulfite branco) e em triplicata (Figura 32).

Figura 32 – Amostras de cruzamentos para análise no Raman



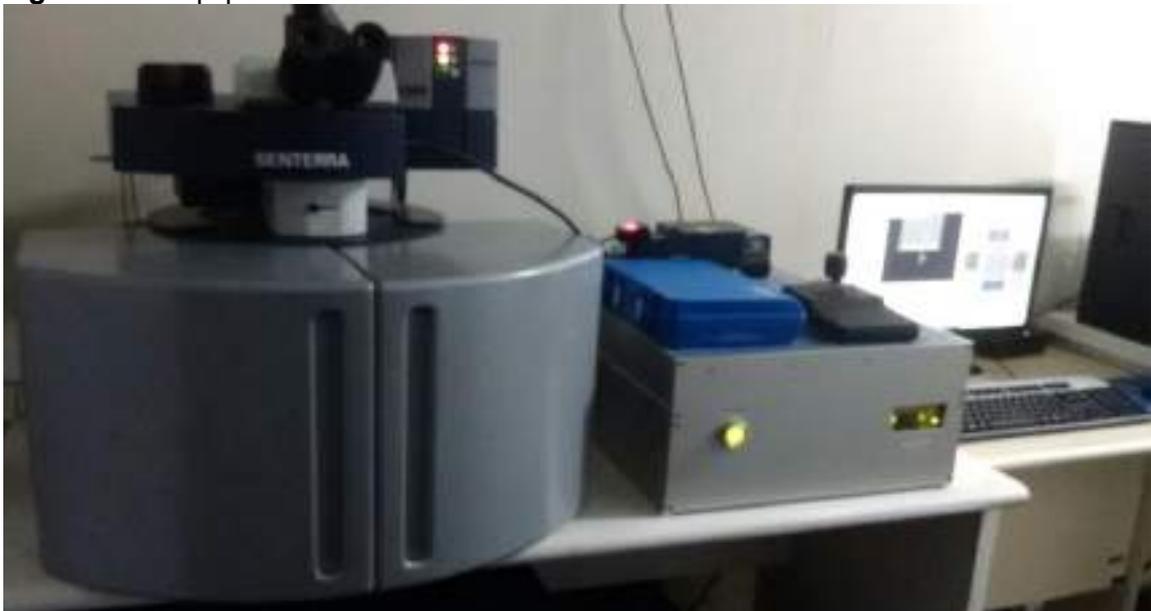
Fonte: da autora

O procedimento de preparo dos cruzamentos foi similar ao utilizado nas análises por imagem no NIR, consistindo em fazer o primeiro traço na horizontal da esquerda para a direita, deixar a tinta secar por 2 dias em condições normais e fazer o segundo traço, perpendicular ao primeiro, de cima para baixo. A pressão da escrita não foi controlada durante o preparo das amostras, mas todos os cruzamentos foram realizados pela mesma pessoa, usando a sua pressão normal de escrita e assegurando-se que a tinta fluía livremente da caneta, de forma a evitar falhas no traço ou a distribuição desigual da tinta, o que poderia influenciar nos resultados.

5.1.2 Instrumentação e aquisição das imagens

As imagens hiperespectrais no Raman foram adquiridas no equipamento Raman SENTERRA II confocal da Bruker (Figura 33), que é controlado pelo software OPUS. O modo de aquisição das imagens desse equipamento é o *point scanning*, sendo o mapeamento feito da esquerda para a direita e de baixo para cima. As seguintes condições experimentais foram utilizadas: o laser verde de 532 nm operando na potência de 2 mW; a rede de difração de 1.200 linhas/mm; a objetiva de 4x; a faixa espectral de 280 a 1.740 cm^{-1} ; a resolução espectral de 3 a 5 cm^{-1} ; o tempo de exposição de 5 segundos e 3 acumulações (totalizando 15 segundos por ponto).

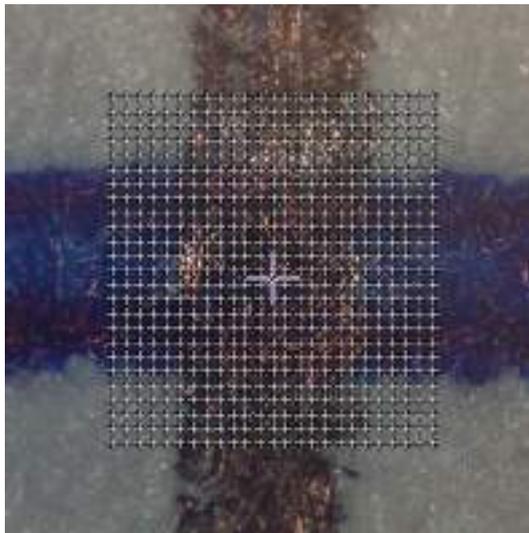
Figura 33 – Equipamento Raman SENTERRA II confocal.



Fonte: da autora

A região selecionada para o mapeamento foi uma área quadrada contendo o cruzamento e partes dos traços separadamente. Essa área pode ser dividida em uma grade com diferentes pontos. Foram comparadas as grades de 15x15 pontos (total de 225 espectros) e de 25x25 pontos (total de 625 espectros), tendo-se selecionado a última, cujo tempo de aquisição das imagens era de 198 minutos. A Figura 34 ilustra um dos cruzamentos utilizando a grade de 25x25 pontos.

Figura 34 – Imagem RGB de um cruzamento com a região selecionada e a grade de 25x25 pontos. Os pontos são adquiridos da esquerda para a direita e de baixo para cima.



Fonte: da autora

Além das imagens hiperespectrais, foram adquiridos 10 espectros puros de cada uma das tintas utilizando-se as mesmas condições da aquisição das imagens hiperespectrais.

5.1.3 Pré-processamento espectral e tratamento das imagens

Os dados obtidos foram salvos em formato de arquivo MATLAB e exportados para o software MATLAB® R2010a 7.10.0.499 (MathWorks), onde foram tratados. As matrizes 2D obtidas, cujas colunas correspondem aos espectros de cada pixel, foram reorganizadas em matrizes 3D (cubos) usando a função *reshape*. Além disso, foi necessário transpor a matriz uma vez que a função *reshape* altera a ordem dos *pixels*,

resultando na inversão dos traços na imagem final (Figura 35b). Ao transpor os dados (Figura 35c), os traços na imagem ficam de acordo com o original (Figura 35a), em que o primeiro traço é o horizontal e o segundo ou último é o vertical.

Figura 35 – Esquema da ordem dos espectros da imagem no Raman após o (a) mapeamento, (b) montagem do hiper cubo e (c) transposição da matriz da imagem no Raman.

13	14	15	16
9	10	11	12
5	6	7	8
1	2	3	4

1	5	9	13
2	6	10	14
3	7	11	15
4	8	12	16

1	2	3	4
5	6	7	8
9	10	11	12
13	14	15	16

Fonte: da autora

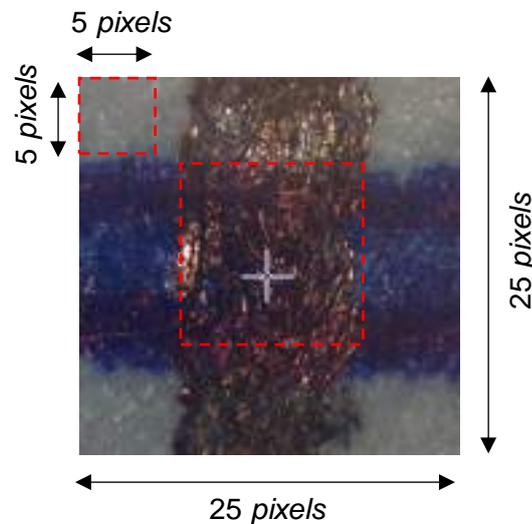
Foram testadas diferentes técnicas de pré-processamento no cruzamento teste, tais como a correção de linha de base, suavização e normalização. Para a correção de linha de base, foi usado o algoritmo AsLS, como sugerido por Felten et al. (2015, p. 219). Nesse algoritmo, foram avaliados os valores dos parâmetros λ e ρ , os quais foram variados de 10^7 a 1 e de 0,0001 a 0,1, respectivamente. Para a suavização, foi utilizado o filtro de Savitzky-Golay com polinômio de 2º grau e foram avaliadas janelas com diferentes quantidades de pontos (9, 15, 21 e 31 pontos). No que diz respeito à normalização, foram testados dois tipos a normalização vetorial e a normalização pelo máximo. A ordem desses pré-processamentos também foi avaliada. Para a seleção da melhor técnica de pré-processamento, foram comparados e avaliados os mapas de concentração do cruzamento teste.

Os dados foram analisados com *k-means*, MCR-ALS, utilizando-se o MCR-ALS *toolbox*, e PLS-DA, utilizando-se o PLS_Toolbox. Na análise com *k-means*, a quantidade de clusters indicada foi 3. Na análise com a MCR-ALS foram utilizadas as restrições de não-negatividade das concentrações e dos espectros e a normalização dos espectros pelo comprimento. Na análise com a PLS-DA, utilizou-se a validação cruzada (do inglês, *cross-validation*), de modo que diferentes quantidades de variáveis latentes, as quais variaram de 2 a 3, foram utilizadas.

Foram selecionados espectros puros do papel em cada uma das imagens, os quais foram definidos como sendo os espectros localizados no ponto (1,1), nas

imagens de 15x15 pontos, e os 25 espectros localizados no canto superior esquerdo (área de 5x5 *pixels*), nas imagens de 25x25 pontos, como está mostrado na Figura 36. As médias desses espectros e dos espectros adquiridos de cada uma das tintas foram utilizadas como espectros puros na análise com a MCR-ALS. No que diz respeito ao conjunto de treinamento da análise com a PLS-DA, foram utilizados 10 desses espectros selecionados do papel e os 10 espectros adquiridos de cada uma das tintas.

Figura 36 – Imagem RGB de um cruzamento com as regiões contendo apenas o papel e o cruzamento marcadas em vermelho.



Fonte: da autora

A região do cruzamento que foi selecionada (área de aproximadamente 10x10 *pixels*) para ser utilizada na análise objetiva dos resultados também está mostrada na Figura 36.

No que diz respeito à determinação da ordem dos traços, os resultados foram avaliados, primeiramente, com base na análise visual das imagens falsas (*k-means*), mapas de concentração (MCR-ALS) e mapas de previsão (PLS-DA). Nesse caso, foram observadas características como a continuidade dos traços e a uniformidade e quantidade de tinta (baseada nos valores de intensidade dos *pixels* nos mapas de concentração e previsão) na região do cruzamento.

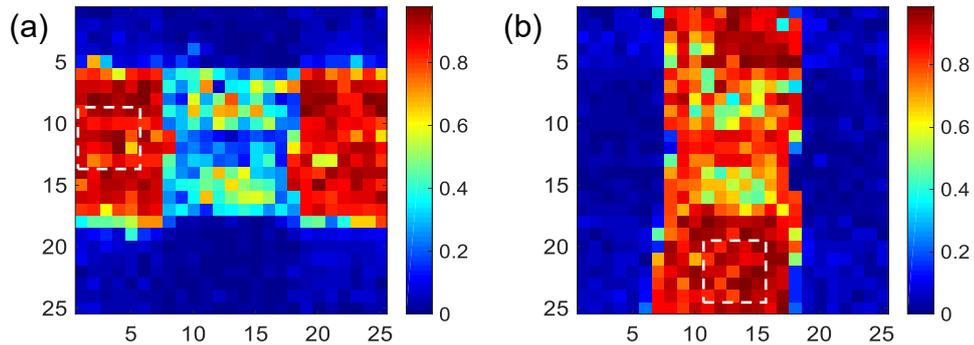
Além da análise visual dos resultados (interpretação subjetiva dos resultados), foi desenvolvida, para os resultados das análises com a MCR-ALS e PLS-DA, uma

metodologia de análise objetiva baseada na quantidade de *pixels* de cada uma das tintas na região do cruzamento. Essa metodologia consistiu em calcular a quantidade de *pixels*, nos mapas de concentração e previsão, cujos valores de intensidade eram iguais ou maiores do que um valor limite que foi estabelecido. Primeiramente, selecionou-se, em cada mapa, a região do cruzamento, uma área de aproximadamente 10x10 *pixels* como mostrado anteriormente na Figura 36. Em seguida, os *pixels* dessa região foram convertidos em *pixels* preto e branco, sendo os *pixels* pretos aqueles cujos valores de concentração (MCR-ALS) e previsão (PLS-DA) eram iguais ou maiores do que o limite. Depois, calculou-se a quantidade de *pixels* de cada tinta na região do cruzamento (*pixels* pretos) e os valores de percentual desses *pixels* foram comparados. O traço considerado como sendo o segundo foi aquele com maior percentual.

No que diz respeito aos valores limites, esses foram diferentes para a análise dos mapas de concentração (MCR-ALS) e previsão (PLS-DA). Para os mapas de concentração (MCR-ALS), os valores limites foram determinados com base nas médias e desvios padrões dos valores de concentração dos *pixels* de cada tinta. Primeiramente, foram selecionados 25 *pixels* dos mapas de concentração de cada uma das tintas em regiões contendo apenas uma delas, como está mostrado na Figura 37 (regiões marcadas em branco). Em seguida, foi calculada a média (\bar{x}) e o desvio padrão (s) dos valores de concentração desses *pixels*. Por fim, foram determinados os seguintes limites: i) média (\bar{x}), ii) média subtraída do desvio padrão ($\bar{x}-s$), iii) média subtraída de 1,96 vezes desvio padrão ($\bar{x}-1,96s$) e iv) média subtraída de 2,575 vezes o desvio padrão ($\bar{x}-2,575s$). Os dois últimos valores ($\bar{x}-1,96s$ e $\bar{x}-2,575s$) correspondem aos limites inferiores dos intervalos de confiança de 95% e 99% para os valores de concentração. Para os mapas de previsão (PLS-DA), os valores limites foram dois: i) o valor padrão (0,5) e ii) o *threshold* de cada classe definido pelo PLS_Toolbox.

Como os mapas de concentração (MCR-ALS) e previsão (PLS-DA) de cada tinta são analisados separadamente, é possível que alguns *pixels* sejam identificados como contendo ambas as tintas, caso apresentem valores de concentração ou previsão acima dos limites estabelecidos para ambas as tintas. Da mesma forma, é possível que alguns *pixels* sejam identificados como não contendo nenhuma das tintas, caso apresentem valores de concentração ou previsão abaixo dos limites estabelecidos.

Figura 37 – Mapas de concentração de um cruzamento entre as canetas Bic Cristal Gel (azul) e Bic Pro (azul) com as regiões selecionadas de cada tinta marcadas em branco.



Fonte: da autora

Os resultados obtidos para cada cruzamento foram comparados com a ordem correta dos traços. Foram classificados como acertos (✓) aqueles cuja ordem determinada coincidia com a real, erros (✗) aqueles cuja ordem determinada era a oposta, inconclusivos (INC.) aqueles cuja ordem não foi determinada por incerteza (apenas nas análises visuais) e indeterminados (IND.) aqueles em que não era possível discriminar as duas tintas ou a quantidade de *pixels* selecionada das duas tintas era igual (apenas nas análises objetivas). É importante ressaltar que, em alguns casos, nenhum *pixel* foi selecionado para nenhuma das tintas e esses resultados também foram classificados como indeterminados. Os resultados relacionados com cada tipo de situação possível estão organizados na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados obtidos para cada situação.

Resultado	Situação
Acerto (✓)	Determinação correta
Erro (✗)	Determinação incorreta
Inconclusivo (INC.)	Houve incerteza (dúvida) na determinação
Indeterminado (IND.)	Não foi possível discriminar as tintas A quantidade de <i>pixels</i> selecionada das duas tintas foi igual Nenhum <i>pixel</i> foi selecionado

5.1.4 Testes cegos

Testes cegos, em Ciências Forenses, são os experimentos nos quais os participantes desconhecem o resultado correto. Trata-se de uma forma de validar a eficácia do método e avaliar a introdução de resultados tendenciosos. No caso de testes cegos de análises de cruzamentos de traços utilizando a microscopia óptica,

método de referência, os analistas não sabem a ordem correta dos traços e devem determiná-la através da observação dos cruzamentos e das características físicas das tintas.

A microscopia óptica foi escolhida para a realização dos testes cegos pelo fato de ser utilizada até hoje pelos documentoscopistas, apesar do desenvolvimento de tantas outras metodologias baseadas na informação química das tintas. Por conta do seu uso recorrente e por se tratar de um método de referência, torna-se importante avaliar a confiabilidade das determinações baseadas na microscopia e comparar os seus resultados com os de novas metodologias.

Da mesma forma que foram preparados os cruzamentos de traços para a análise no Raman, foram preparados cruzamentos, também em triplicata, para serem analisados utilizando o microscópio óptico do equipamento Raman. Esses cruzamentos foram preparados e codificados por uma pessoa não envolvida no estudo e foram analisados por dois analistas utilizando a objetiva de 10x.

Na determinação da ordem dos traços foram observadas características como a continuidade dos traços e a uniformidade e quantidade de tinta, da mesma forma que foi feito na análise visual das imagens falsas e mapas de concentração e previsão, além do brilho das tintas.

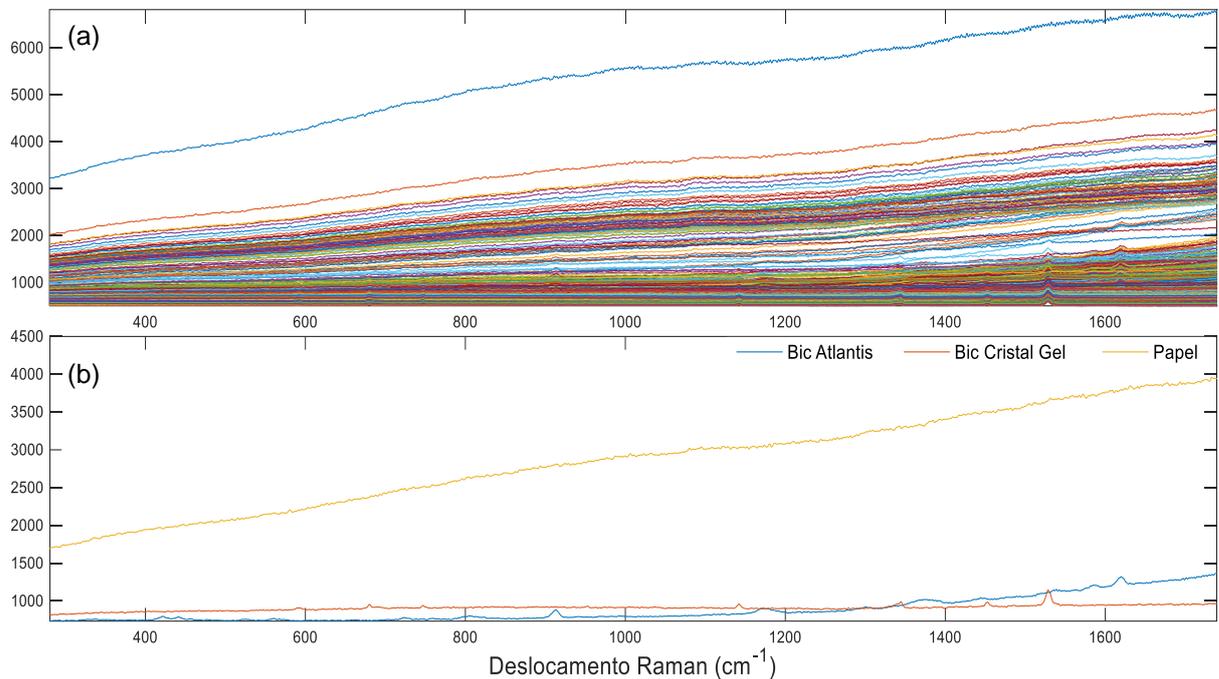
Com base nessas características, os analistas determinaram qual traço estava por cima (segundo traço). Em alguns casos, contudo, houve incerteza na determinação e o resultado foi considerado inconclusivo. Os resultados obtidos para cada cruzamento foram, então, comparados com a sua ordem correta e foram classificados como acertos (✓), erros (✗) e inconclusivos, de acordo com os resultados obtidos na maioria das triplicatas. Por exemplo, caso se obtenha dois acertos e um resultado inconclusivo para um determinado cruzamento, tem-se que o resultado é classificado como acerto.

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros brutos do cruzamento teste bem como os espectros das tintas das canetas e do papel puros estão apresentados na Figura 38. Como pode ser observado, os espectros apresentam diferenças de intensidade e uma inclinação acentuada, principalmente o espectro do papel (Figura 38b), provavelmente resultantes do efeito da fluorescência. Esse efeito interfere fortemente nos espectros

quando se usa lasers com comprimento de onda na região do visível e deve ser eliminado através de correções matemáticas (pré-processamentos) (BRAZ, 2015; VANDENABEELE, 2013).

Figura 38 – (a) Espectros brutos do cruzamento e (b) espectros puros das tintas e do papel do cruzamento teste.

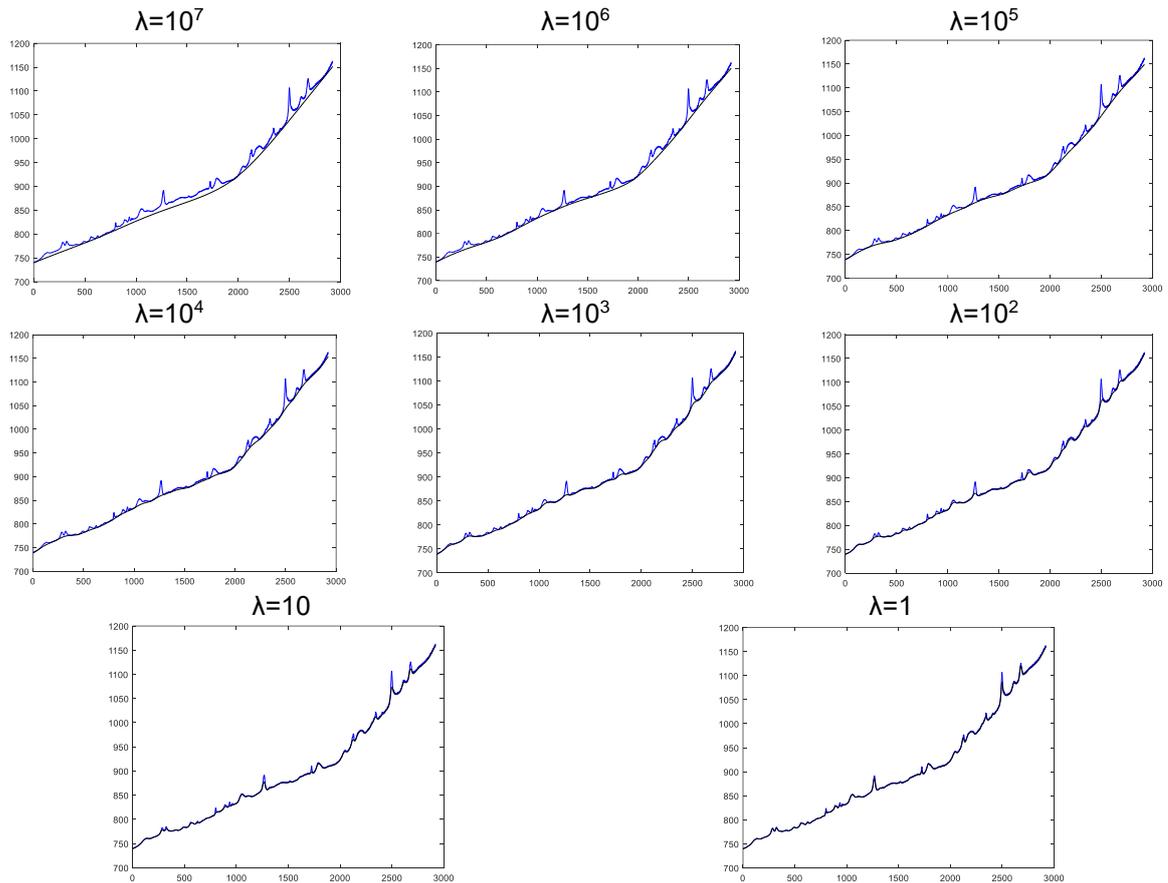


Fonte: da autora

O pré-processamento dos espectros consistiu na correção de linha de base usando o algoritmo AsLS, suavização e normalização. Para otimizar o AsLS, variou-se o valor do parâmetro λ de 10^7 a 1, mantendo p fixo em 0,001, e, depois, variou-se o valor do parâmetro p de 0,0001 a 0,1, mantendo λ fixo em 10^5 , como mostram as Figuras 39 e 40), respectivamente. O que se pode observar na Figura 39 é que à medida que o valor de do parâmetro λ diminui, maior é o ajuste da curva ao gráfico, de forma que informações espectrais vão sendo perdidas. O resultado oposto foi observado para o parâmetro p (Figura 40), pois à medida que seu valor aumenta, um maior ajuste é obtido. Dessa forma, tem-se que os valores desses parâmetros que permitem corrigir o desvio causado pela fluorescência, sem perder informação espectral, são $\lambda=10^5$ e $p=0,001$, valores padrão do algoritmo.

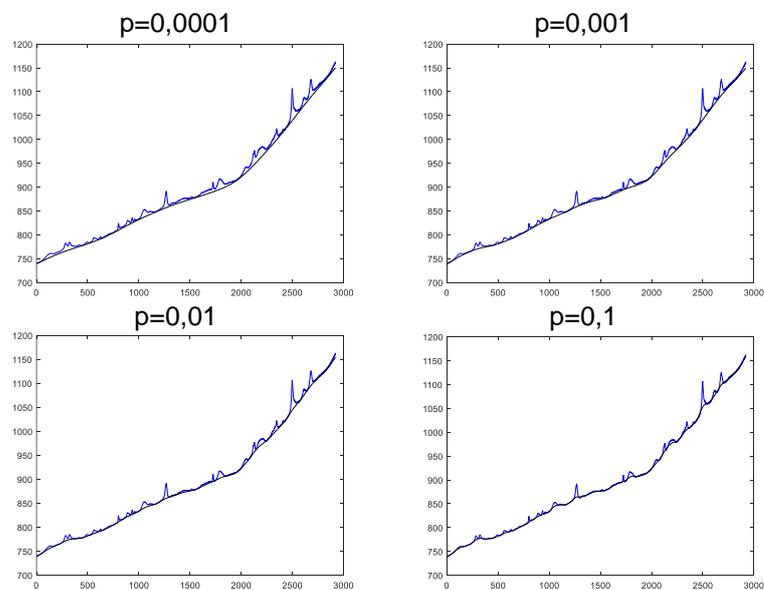
No que diz respeito à normalização, foram testados dois tipos a normalização vetorial e a normalização pelo máximo. A Figura 41 mostra os espectros das tintas das canetas e do papel no cruzamento teste com diferentes préprocessamentos.

Figura 39 – Ajuste do algoritmo AsLS variando o valor de λ de 10^7 a 1 e mantendo-se o valor de p fixo em 0,001.



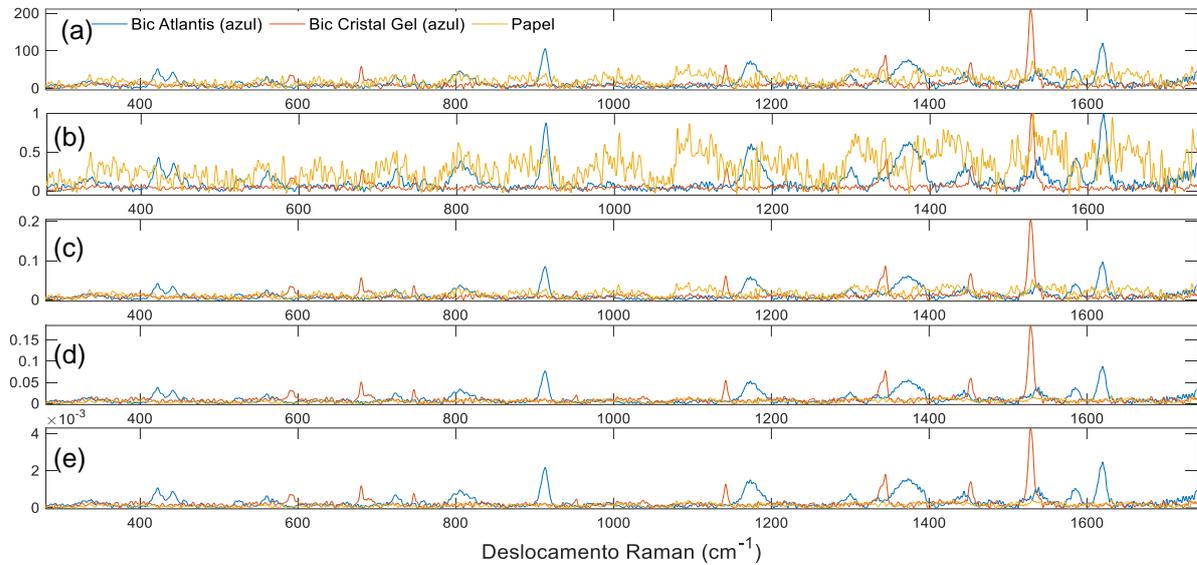
Fonte: da autora

Figura 40 – Ajuste do algoritmo AsLS variando o valor de p de 0,0001 a 0,1 e mantendo-se o valor de λ fixo em 10^5 .



Fonte: da autora

Figura 41 – Espectros das tintas e papel no cruzamento teste com diferentes pré-processamentos: (a) AsLS, (b) AsLS seguido da normalização pelo máximo, (c) AsLS seguido da normalização vetorial, (d) normalização pelo máximo seguida do AsLS e (e) normalização vetorial seguida do AsLS.



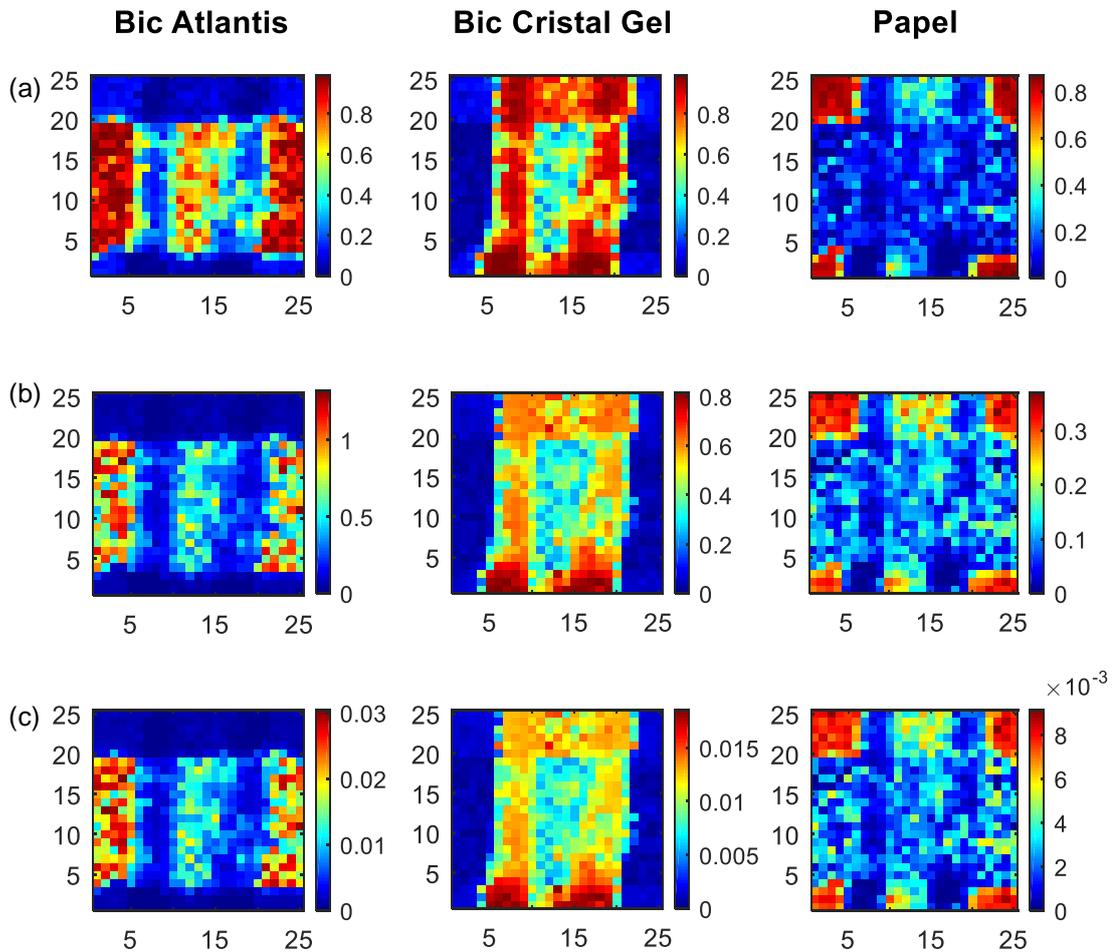
Fonte: da autora

Como pode ser observado na Figura 41, o pré-processamento utilizando o AsLS apenas (Figura 41a) ou seguido da normalização pelo máximo (Figura 41b) resultaram em espectros muito ruidosos, principalmente os do papel, e foram desconsiderados. Assim, foram construídos modelos MCR-ALS com o cruzamento teste para avaliar a melhor combinação de pré-processamento dentre os restantes (AsLS seguido da normalização vetorial, normalização pelo máximo seguida do AsLS e normalização vetorial seguida do AsLS) (Figura 42).

Como se pode observar nos mapas de concentração da Figura 42, o resultado no qual os pixels das tintas das canetas apresentaram maiores valores de intensidade e se diferenciam mais uns dos outros e do papel foi aquele obtido para a combinação de AsLS seguido da normalização vetorial (Figura 42a).

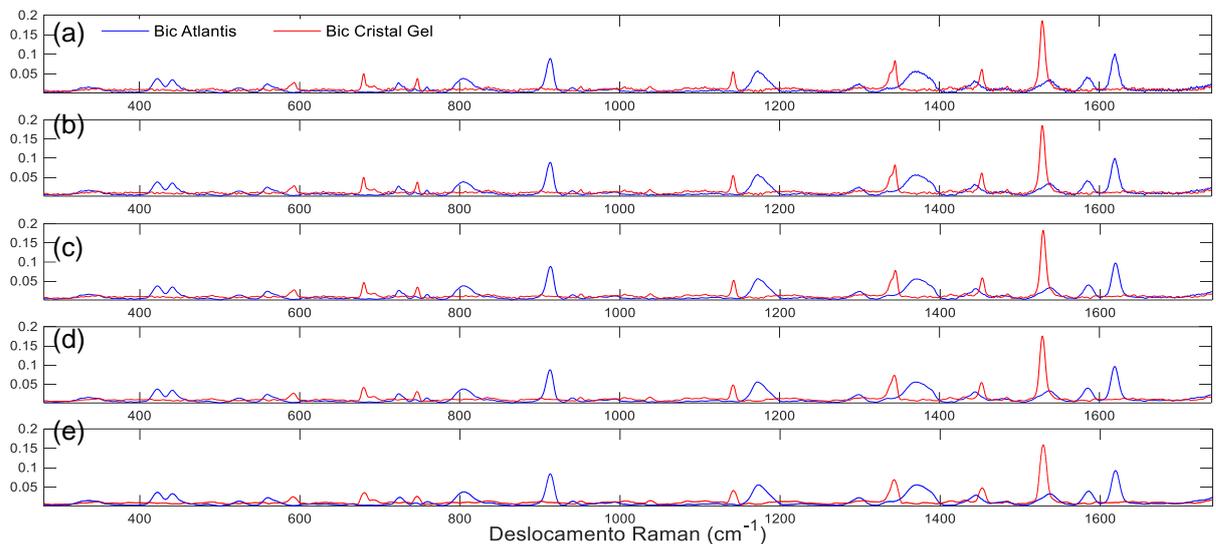
Devido à presença de ruído nos espectros, testou-se, ainda, a utilização da suavização com filtro de Savitzky-Golay. Foi usado o polinômio de 2º grau e foram testadas janelas com diferentes quantidades de pontos (9, 15, 21 e 31 pontos). A Figura 43 mostra os espectros das tintas das canetas no cruzamento teste usando as diferentes janelas.

Figura 42 – Mapas de concentração de cada tinta e papel do cruzamento teste com diferentes pré-processamentos: (a) AsLS seguido da normalização vetorial, (b) normalização pelo máximo seguida do AsLS e (c) normalização vetorial seguida do AsLS.



Fonte: da autora

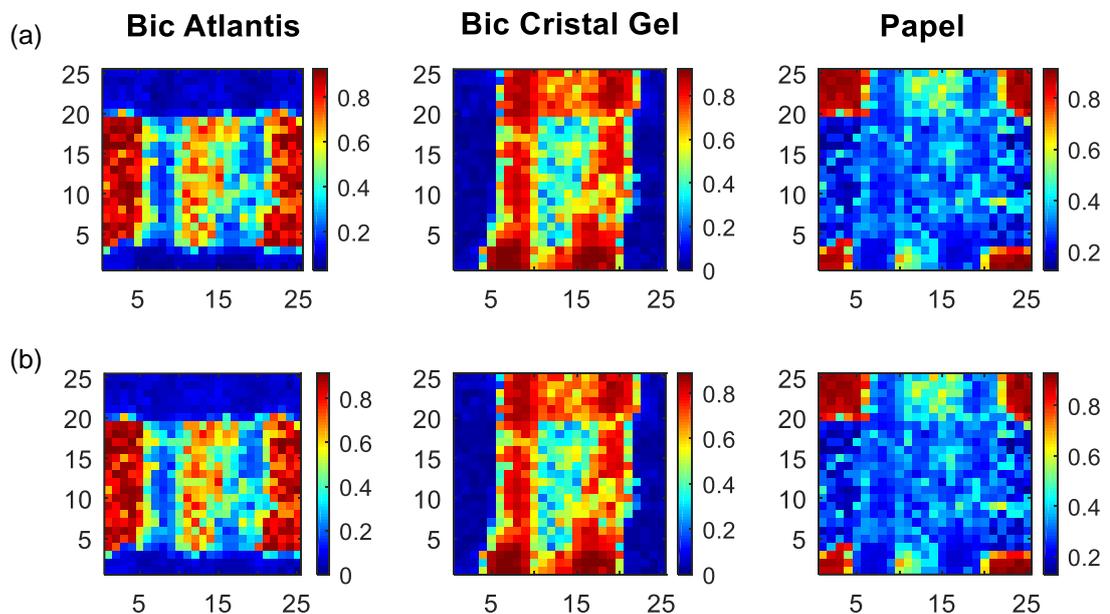
Figura 43 – Espectros das tintas e papel no cruzamento teste corrigidos com AsLS, normalização vetorial e (a) sem suavização e com suavização com filtro de Savitzky-Golay com polinômio de 2° grau e janela de (b) 9, (c) 15, (d) 21 e (e) 31 pontos.



Fonte: da autora

Visualmente, a suavização eliminou grande parte do ruído sem perda de bandas informativas das tintas das canetas, mesmo com a maior janela (31 pontos), e não houve diferenças significativas entre os espectros suavizados com as janelas de diferentes tamanhos. A fim de comparar o efeito da suavização nos resultados, foram construídos, para o cruzamento teste, mapas de concentração com os espectros pré-processados sem a suavização e com a suavização utilizando a maior janela (Figura 44). Uma vez que não se observou uma melhoria aparente na qualidade dos resultados com a suavização, optou-se por não suavizar os espectros de forma a simplificar a metodologia.

Figura 44 – Mapas de concentração da MCR-ALS do cruzamento teste corrigidos com AsLS, normalização vetorial e (a) sem suavização e (b) com suavização com filtro de Savitzky-Golay com polinômio de 2º grau e janela de 31 pontos.



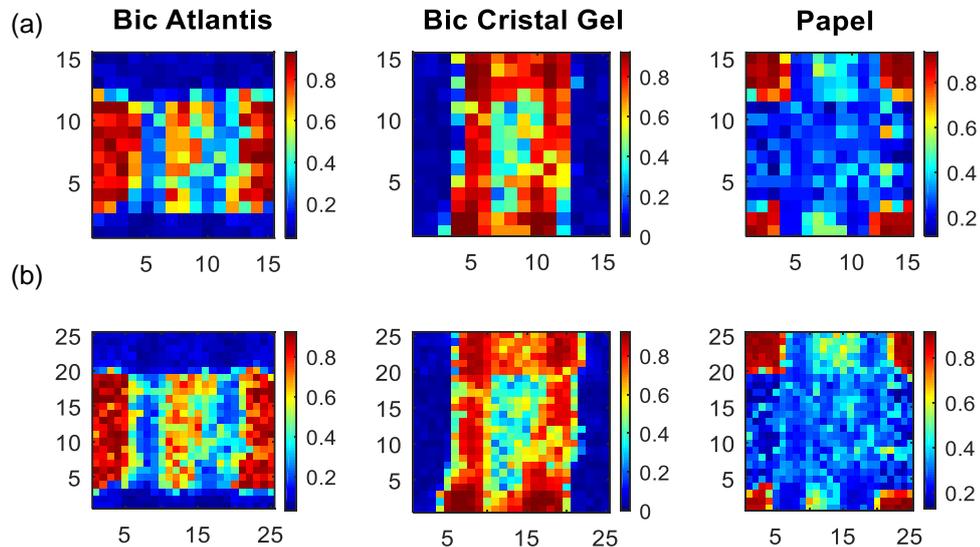
Fonte: da autora

Tendo-se definido o melhor pré-processamento (AsLS seguido da normalização vetorial), foram comparados os mapas de concentração do cruzamento teste analisado com grades de diferentes tamanhos, 15x15 pontos e 25x25 pontos (Figura 45).

Como se pode observar na Figura 45, os mapas de concentração obtidos com a grade de 25x25 pontos (Figura 45b) apresentam uma melhor resolução, o que possibilita uma melhor visualização do cruzamento. Porém, o tempo de análise usando essa grade com mais pontos foi mais do que o dobro do tempo de análise usando a grade com menos pontos (71 min para a grade de 15x15 pontos e 198 min

para a grade de 25x25 pontos), o que pode ser uma limitação em análises de rotina. No entanto, para a finalidade da pesquisa, optou-se por analisar os 56 cruzamentos restantes usando a grade maior.

Figura 45 – Mapas de concentração de cada tinta e papel usados no cruzamento teste, pré-processados e analisados com diferentes grades: (a) 15x15 e (b) 25x25 pontos.



Fonte: da autora

Após todos os cruzamentos terem sido pré-processados utilizando a combinação selecionada (AsLS seguido da normalização vetorial), eles foram analisados com *k-means*, MCR-ALS e PLS-DA e os resultados obtidos foram comparados.

Uma vez que o *k-means* agrupa as amostras, nesse caso os pixels, com base na quantidade de *clusters*, a qual depende da quantidade de componentes esperada, tem-se que a quantidade indicada na análise dos cruzamentos foi de 3 *clusters*, correspondendo às tintas das duas canetas e ao papel. A análise das imagens falsas dos cruzamentos obtidas com o *k-means* foi feita com base na análise visual das características descritas na metodologia.

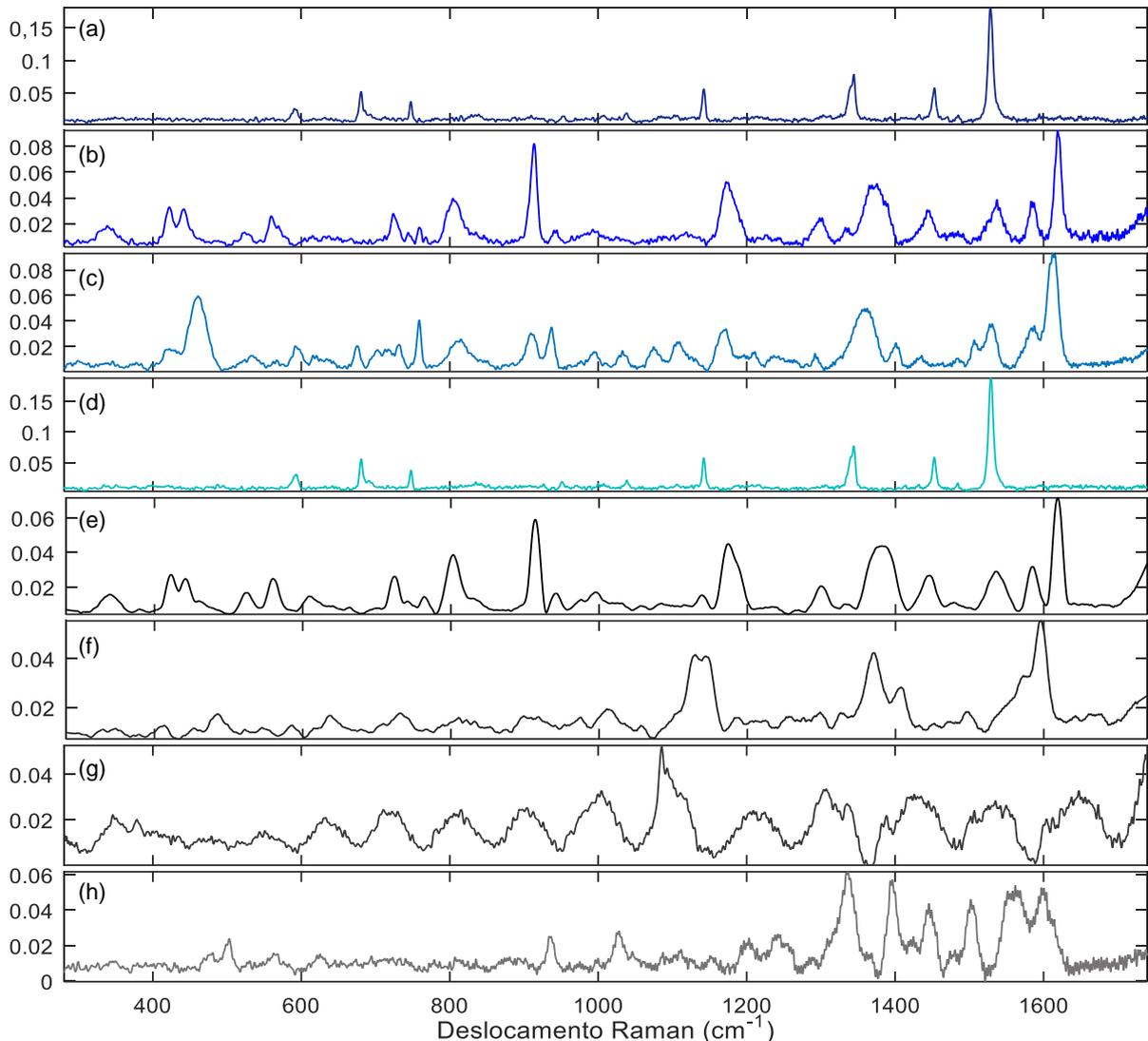
A análise dos mapas de concentração foi feita com base tanto na análise visual quanto por meio da metodologia objetiva desenvolvida e descrita no item 1.3. As figuras que mostram os mapas de concentração dos cruzamentos estão organizadas da seguinte forma: a coluna da esquerda corresponde aos mapas das tintas dos primeiros traços (na horizontal), a coluna do meio corresponde aos mapas das tintas dos segundos (na vertical) e a coluna da direita corresponde às imagens falsas, as

quais foram apresentadas para facilitar a visualização de cada uma das tinta na região do cruzamento. Nessas imagens falsas, o primeiro traço está representado em vermelho e o segundo em verde.

As figuras dos mapas de previsão estão organizadas da mesma forma que as figuras dos mapas de concentração.

Os espectros puros, pré-processados, das tintas das canetas utilizadas no preparo dos cruzamentos, com exceção da Bic Atlantis que foi utilizada apenas no cruzamento teste, estão apresentados na Figura 46.

Figura 46 – Espectros puros, pré-processados, das tintas das canetas (a) Bic Cristal Gel, (b) Bic Pro (azul), (c) Pilot G2 (azul), (d) Uni-ball Signo (azul), (e) Bic Pro (preta), (f) Pilot G2 (preta), (g) Uni-ball Signo (preta) e (h) Pentel Energel.



Fonte: da autora

A discussão dos resultados foi organizada de acordo com os tipos de cruzamentos, os quais foram classificados no que diz respeito às cores das tintas das canetas utilizadas nos cruzamentos: i) cruzamentos do tipo azul x azul, aqueles envolvendo apenas canetas de tinta azul, ii) cruzamentos do tipo preto x preto, aqueles envolvendo apenas canetas de tinta preta e iii) cruzamentos do tipo azul x preto, aqueles nos quais um traço foi feito com caneta de tinta azul e o outro com caneta de tinta preta.

5.2.1 Cruzamentos do tipo azul x azul

Foram preparados 12 cruzamentos entre as canetas de tinta azul nas duas ordens de aplicação (Tabela 8).

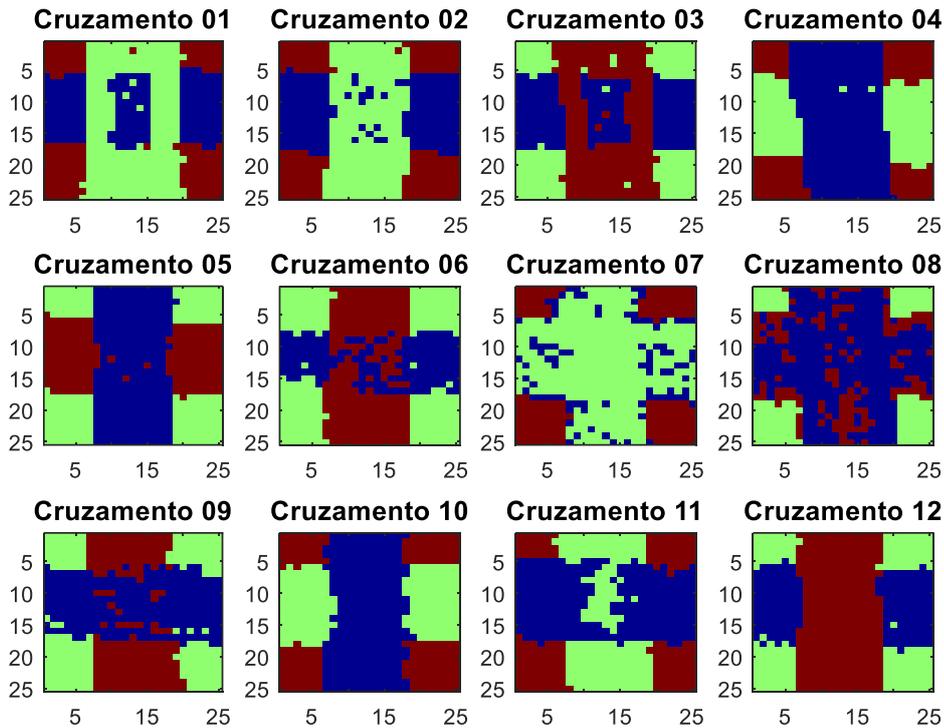
Tabela 8 – Cruzamentos entre as canetas de tinta azul.

Nº do cruzamento	1º traço	2º traço
01	Bic Pro	Bic Cristal Gel
02	Bic Cristal Gel	Bic Pro
03	Pilot G2	Bic Cristal Gel
04	Bic Cristal Gel	Pilot G2
05	Pilot G2	Bic Pro
06	Bic Pro	Pilot G2
07	Bic Cristal Gel	Uni-ball Signo
08	Uni-ball Signo	Bic Cristal Gel
09	Bic Pro	Uni-ball Signo
10	Uni-ball Signo	Bic Pro
11	Pilot G2	Uni-ball Signo
12	Uni-ball Signo	Pilot G2

Os cruzamentos com tintas de caneta da mesma cor são particularmente difíceis de analisar visualmente, uma vez que ilusões de óptica podem induzir o perito ao erro (BRAZ; LÓPEZ-LÓPEZ; GARCÍA-RUIZ, 2015). Por essa razão, torna-se necessário realizar a sua análise usando técnicas que discriminem as tintas com base em diferenças objetivas (características físico-químicas) a fim de reduzir as chances de erro.

A Figura 47 mostra as imagens falsas dos cruzamentos tratados com o *k-means*, nas quais as cores são atribuídas aleatoriamente a cada um dos *clusters*.

Figura 47 – Imagens falsas dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul obtidas com o k-means.

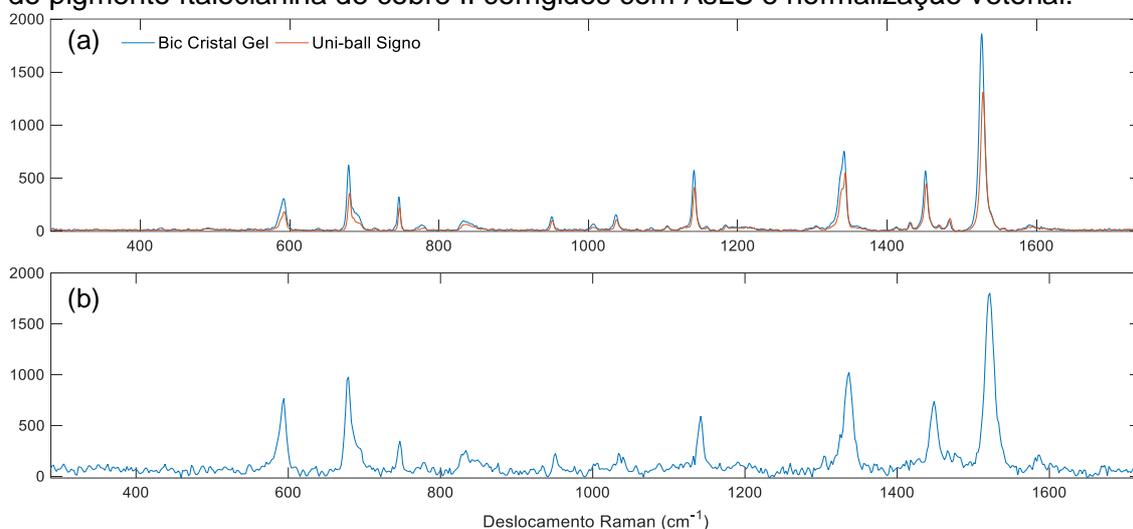


Fonte: da autora.

Na maioria dos cruzamentos, os espectros das tintas são suficientemente distintos, o que permitiu que o algoritmo discriminasse os dois traços. Apesar disso, baseando-se na quantidade de tinta na região do cruzamento e na continuidade dos traços não foi possível determinar a ordem correta de todos os cruzamentos. No cruzamento 09, por exemplo, o traço que parece estar por cima (segundo traço) é o horizontal, o que não coincide com a ordem correta. Esse resultado, portanto, foi considerado como um erro. Nesse caso, apesar da análise ter permitido discriminar as duas tintas, a ordem dos traços observada foi diferente da esperada. Uma vez que esse resultado não foi observado no cruzamento 10, o qual foi feito com as mesmas canetas, supôs-se que ele se deva às características das tintas. Uma possibilidade é que a tinta da caneta Uni-ball Signo tenha sido mais absorvida pelo papel, o que fez com que ela ficasse por baixo independente da ordem de aplicação. Além disso, em dois cruzamentos (cruzamentos 06 e 11), houve dúvida quanto à determinação da ordem dos traços, uma vez que foram observados *pixels* relativos a ambas as tintas na região do cruzamento e não foi observada continuidade dos traços. Uma vez que não foi possível determinar com certeza a ordem dos traços, os resultados desses cruzamentos foram considerados como inconclusivos. Em dois dos cruzamentos

(cruzamentos 07 e 08), devido à similaridade dos espectros das tintas das canetas Bic Cristal Gel e Uni-ball Signo (Figura 48a), o algoritmo não foi capaz de discriminar as tintas, o que tornou impossível a determinação da ordem dos traços. Essa similaridade dos espectros, cuja correlação foi de 0,9394, pode ser atribuída à presença do mesmo pigmento, pois como pode ser visto na Figura 48b as principais bandas do pigmento ftalocianina de cobre II (593, 678, 746, 833, 950, 1.034, 1.141, 1.336, 1.449, 1.466, 1.478, 1.521 e 1.586 cm^{-1}) são observadas nos espectros das duas tintas. Trata-se, portanto, de uma limitação da técnica, que não conseguiu discriminar componentes com composição química semelhante, e esses resultados foram considerados como indeterminados.

Figura 48 – Espectros puros (a) das tintas das canetas Bic Cristal Gel e Uni-ball Signo e (b) do pigmento ftalocianina de cobre II corrigidos com AsLS e normalização vetorial.



Fonte: da autora.

No espectro Raman da ftalocianina de cobre II (Figura 48b), as bandas observadas são, basicamente, resultantes das deformações das ligações C-H dos anéis aromáticos e das vibrações do grupo indol (anel benzênico acoplado a um anel de pirrol) (TOUKA et al., 2012). São observadas, por exemplo, vibrações de estiramento das ligações dos anéis aromáticos (1.466 e 1.521 cm^{-1}), deformações dos anéis de pirrol (1.336 cm^{-1}) e vibrações associadas às ligações C-H (593, 678, 833, 950 e 1.034 cm^{-1}) (HARBECK e MACK, 2013).

A análise visual dos mapas de concentração e de previsão apresentaram os mesmos resultados que com o algoritmo do *k-means* (Apêndices A e B) e estão mostrados na Tabela 8, juntamente com os resultados das análises objetivas dos

mapas de concentração e previsão. Os resultados detalhados dos valores limites utilizados e dos percentuais de *pixels* selecionados estão apresentados nos Apêndices C a E.

Como se pode observar na Tabela 9, a análise objetiva utilizando os mapas de concentração e o limite inferior do intervalo de confiança de 99% apresentou o maior percentual de acertos (75,0%). Utilizando-se esse limite, houve apenas 1 determinação incorreta (cruzamento 09) e não foi possível determinar a ordem dos traços em 2 cruzamentos (cruzamentos 07 e 08), resultados esses que já haviam sido obtidos na análise visual. Além disso, com esse limite foi possível determinar a ordem correta dos cruzamentos 06 e 11, cruzamentos esses que tiveram resultados inconclusivos na análise visual. Esses resultados representam uma resolução de 100% dos casos de dúvida (resultados inconclusivos) da análise visual, demonstrando uma vantagem dessa abordagem na análise de cruzamentos do tipo azul x azul. A análise utilizando o limite do intervalo de confiança de 95% também apresentou um bom resultado, com um percentual de acerto de 66,7%. A diferença entre esse resultado e o anterior foi apenas na análise do cruzamento 05, cujo resultado foi indeterminado devido ao fato de ter sido selecionada uma mesma quantidade de *pixels* relativos às duas tintas.

Tabela 9 – Resultados das análises dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul.

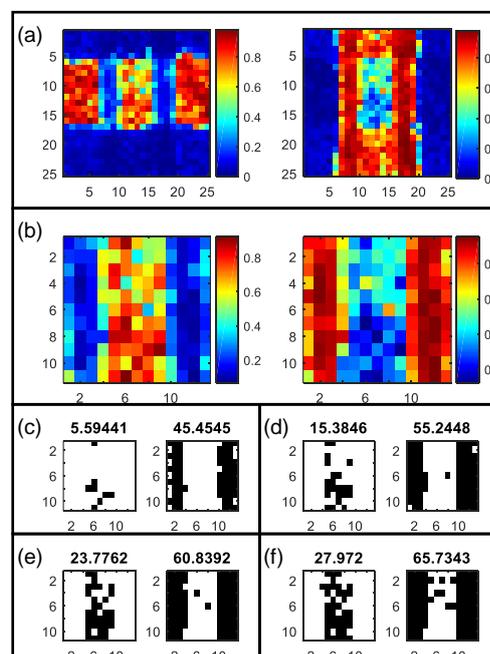
Nº do cruzamento	<i>k-means</i> , MCR-ALS e PLS-DA (visual)	MCR-ALS				PLS-DA	
		\bar{x}	$\bar{x} - s$	$\bar{x} - 1,96s$ (95%)	$\bar{x} - 2,575s$ (99%)	Valores limite do PLS_Toolbox	Valor limite padrão (0.5)
01	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X
02	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
03	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
04	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
05	✓	X	X	IND.	✓	✓	✓
06	INC.	✓	✓	✓	✓	X	✓
07	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.
08	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.
09	X	X	X	X	X	X	X
10	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
11	INC.	IND.	IND.	✓	✓	X	X
12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
% Acertos							
	58,3	58,3	58,3	66,7	75,0	58,3	58,3
% Erros							
	8,3	16,7	16,7	8,3	8,3	25,0	25,0
% Inconclusivos							
	16,7	0	0	0	0	0	0
%							
	16,7	25,0	25,0	25,0	16,7	16,7	16,7

As demais análises apresentaram o mesmo percentual de acerto (58%), contudo, as abordagens utilizando PLS-DA apresentaram um percentual de erros mais elevado (25%) que a análise visual (8%). Em uma situação real, é preferencial obter resultados inconclusivos ou indeterminados do que erros, portando, nesse caso, seria melhor utilizar a análise visual dos mapas de previsão do que a análise objetiva.

Os resultados das análises objetivas dos cruzamentos 01, 05, 06, 09 e 11 utilizando os mapas de concentração podem ser visualizados nas Figuras 49 a 53, nas quais é possível visualizar os *pixels* que foram selecionados de cada uma das tintas (*pixels* em preto) e o seu percentual (indicado acima de cada imagem).

No cruzamento 01 (Figura 49), apesar de haver *pixels* da tinta do primeiro traço na região do cruzamento foi possível determinar a ordem correta dos traços na análise visual baseando-se na continuidade das bordas dos traços. Além disso, também foi possível determinar a ordem correta na análise objetiva utilizando qualquer um dos limites, pois em todos o percentual de *pixels* do segundo traço na região do cruzamento foi maior.

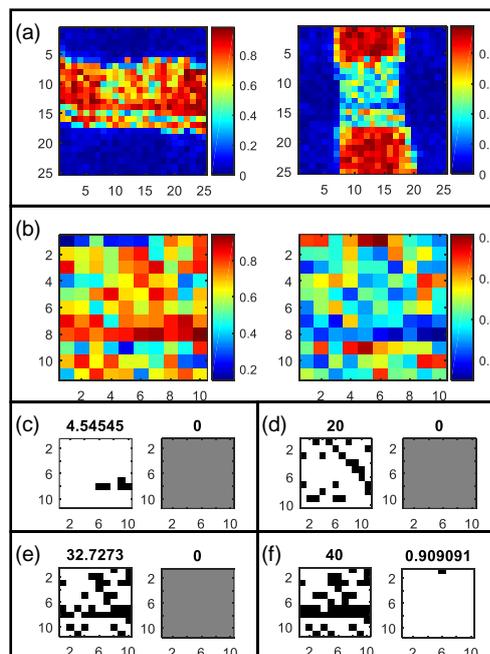
Figura 49 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 01 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os *pixels* contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.



Fonte: da autora

No cruzamento 09 (Figura 50), por outro lado, observou-se o comportamento oposto, tendo-se obtido resultados incorretos em todas as análises (visual e objetiva) pelo fato de ter sido observada a continuidade do primeiro traço e apenas utilizando o limite inferior do intervalo de confiança de 99% algum *pixel* do segundo traço foi selecionado.

Figura 50 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 09 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.

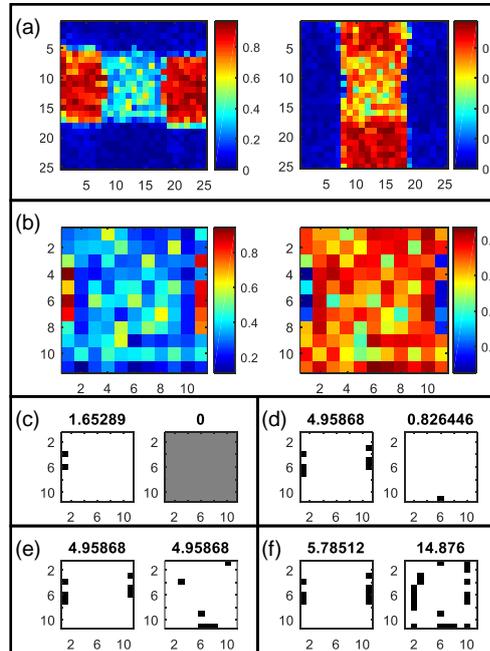


Fonte: da autora

No cruzamento 05 (Figura 51), cujo resultado na análise visual foi um acerto, só foi possível determinar a ordem correta dos traços utilizando o limite inferior do intervalo de confiança de 99%.

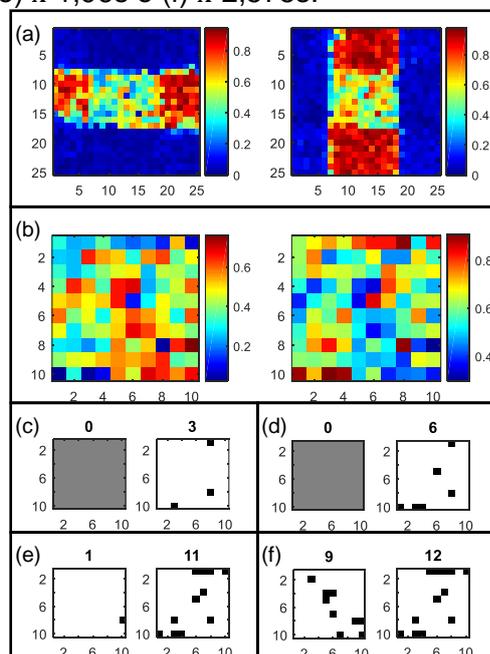
Nos cruzamentos 06 (Figura 52) e 11 (Figura 53), cujos resultados na análise visual foram considerados como inconclusivos devido à presença de *pixels* relativos a ambas as tintas na região do cruzamento, foi possível determinar a ordem correta dos traços utilizando qualquer um dos limites (cruzamento 06) e utilizando os limites inferiores dos intervalos de confiança de 95 e 99% (cruzamento 11).

Figura 51 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 05 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.



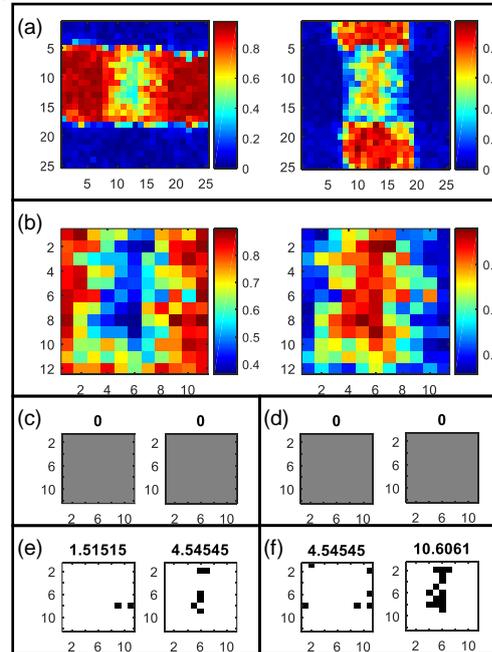
Fonte: da autora

Figura 52 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 06 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.



Fonte: da autora

Figura 53 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 11 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.



Fonte: da autora

5.2.2 Cruzamentos do tipo preto x preto

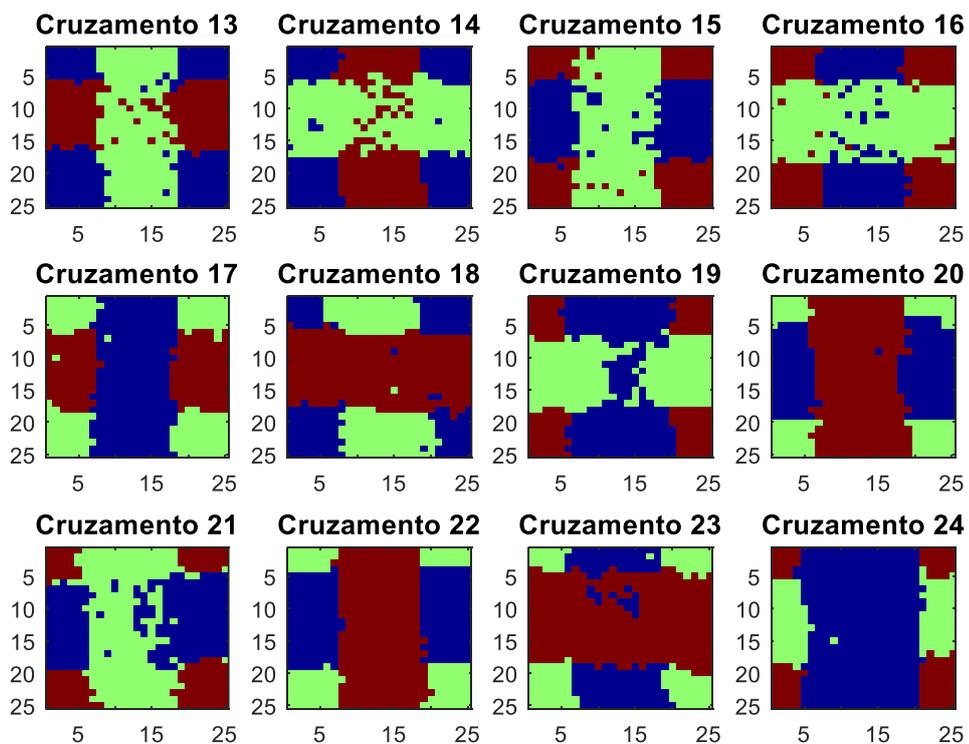
Foram preparados 12 cruzamentos entre as canetas de tinta preta nas duas ordens de aplicação (Tabela 10).

Tabela 10 – Cruzamentos entre as canetas de tinta preta.

Nº do cruzamento	1º traço	2º traço
13	Pentel Energel	Bic Pro
14	Bic Pro	Pentel Energel
15	Pentel Energel	Pilot G2
16	Pilot G2	Pentel Energel
17	Bic Pro	Uni-ball Signo
18	Uni-ball Signo	Bic Pro
19	Pilot G2	Uni-ball Signo
20	Uni-ball Signo	Pilot G2
21	Pentel Energel	Uni-ball Signo
22	Uni-ball Signo	Pentel Energel
23	Pilot G2	Bic Pro
24	Bic Pro	Pilot G2

A Figura 54 mostra as imagens falsas dos cruzamentos tratados com o *k-means*. Como se pode observar nessa Figura, foi possível discriminar as duas tintas e, conseqüentemente, os dois traços em todos os cruzamentos, não tendo sido obtido nenhum resultado inconclusivo como ocorreu nos cruzamentos entre as canetas de tinta azul. Em alguns cruzamentos (cruzamentos 13, 14, 15, 16, 19, 21 e 23), contudo, foram observadas falhas no traço cuja tinta predominava no cruzamento, mas apenas no cruzamento 19 não foi possível determinar a ordem dos traços (resultado inconclusivo). É importante observar que em apenas um dos pares de cruzamentos (cruzamentos 21 e 22) a ordem dos traços foi determinada corretamente nas duas ordens de aplicação da tinta. Nos demais pares de cruzamentos, excetuando-se o dos cruzamentos 19 e 20 no qual foi obtido um resultado inconclusivo, a ordem de um dos cruzamentos de cada par foi determinada incorretamente (cruzamentos 14, 16, 18 e 23).

Figura 54 – Imagens falsas dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta obtidas com o *k-means*.



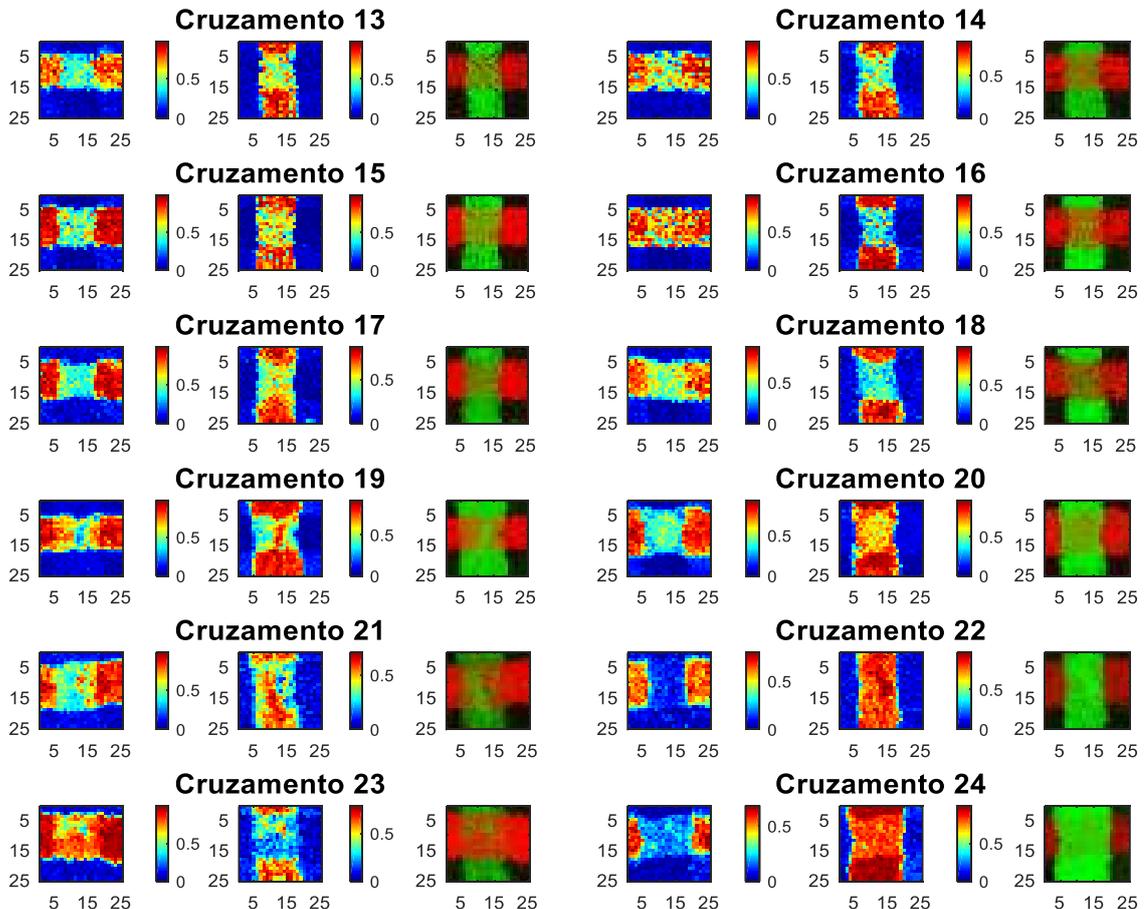
Fonte: da autora.

Analisando-se os cruzamentos e as canetas utilizadas em cada um, tem-se que, nas imagens falsas, as tintas de todas as canetas ficaram por cima em pelo

menos um dos cruzamentos, o que pode significar que não é a composição de uma delas especificamente que explica esses erros e sim a sua combinação, que faz com que uma penetre mais no papel do que outra. Nos cruzamentos 13, 14, 15 e 16, por exemplo, a tinta da caneta Pentel Energel ficou por baixo da tinta das canetas Bic Pro e Pilot G2 independente da sua ordem de aplicação, contudo, nos cruzamentos 21 e 22 entre a caneta Pentel Energel e Uni-ball Signo a ordem foi determinada corretamente nas duas ordens de aplicação. Nos cruzamentos com a caneta Pilot G2 (cruzamentos 15, 16, 19, 20, 23 e 24), por outro lado, a tinta da caneta Pilot G2 ficou por cima em praticamente todos os cruzamentos com exceção o cruzamento 19, cujo resultado foi inconclusivo.

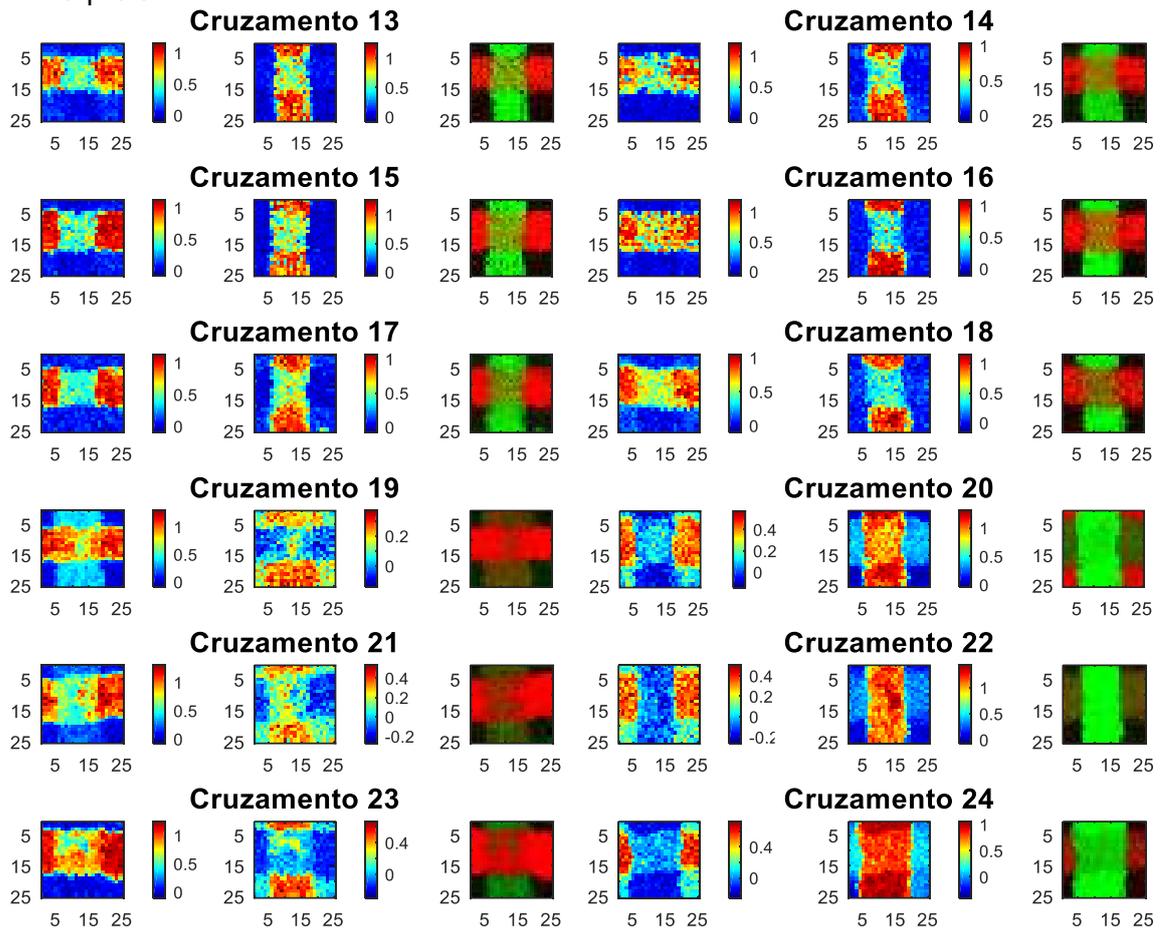
As Figuras 55 e 56 mostram os mapas de concentração e de previsão obtidos com a MCR-ALS e PLS-DA, respectivamente.

Figura 55 – Mapas de concentração e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta preta.



Fonte: da autora.

Figura 56 – Mapas de previsão e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta preta.



Fonte: da autora.

Como se pode observar nos mapas de concentração (Figura 55), em alguns dos cruzamentos (cruzamentos 13, 14, 15, 17, 18, 19 e 21) foi observada a presença de *pixels* relativos a ambas as tintas, com intensidades baixas, na região do cruzamento. A presença desses *pixels* nos dificultou a análise, mas observando-se as imagens falsas foi possível determinar a ordem correta dos traços nos cruzamentos 15, 17, 19 e 21. Nos cruzamentos 13, 14 e 18, contudo, mesmo analisando-se as imagens falsas não foi possível determinar a ordem dos traços, houve dúvida, e esses resultados foram considerados como inconclusivos. Nos cruzamentos 16, 20, 22, 23 e 24, por outro lado, não houve dúvida na determinação dos traços, mas em dois desses cruzamentos (cruzamentos 16 e 23) a ordem dos traços observada foi diferente da esperada e esses resultados foram considerados como erros.

A análise dos mapas de previsão (Figura 56) resultou em resultados similares aos obtidos com os mapas de concentração, contudo, uma quantidade maior de erros (cruzamentos 16, 18, 19 e 23) foi obtida. Além disso, observou-se que nos cruzamentos

19 a 24, alguns *pixels* relativos ao papel (*pixels* nas extremidades das imagens) foram identificados como pertencentes a uma das tintas, o que indica que a técnica (PLS-DA) não foi completamente eficiente na discriminação dos componentes. Esses resultados comprometeram a determinação correta da ordem dos traços nos cruzamentos 19 e 21, nos quais os *pixels* do papel foram identificados como sendo relativos à tinta do segundo traço.

Os resultados das análises visuais das imagens falsas e dos mapas de concentração e previsão estão mostrados na Tabela 11. É importante observar que os cruzamentos 16 e 23 tiveram sua ordem determinada incorretamente em todas as análises, pelo fato de ter sido observada a continuidade do primeiro traço, feito com a caneta Pilot G2. Uma possível explicação para esses resultados é que a tinta da caneta Pilot G2 tenha sido menos absorvida pelo papel, o que fez com que ela ficasse por cima independente da ordem de aplicação. Essa hipótese é corroborada pelo fato de que no cruzamento 19, no qual o primeiro traço também foi feito com a caneta Pilot G2, a região do cruzamento é praticamente dominada por *pixels* relativos a essa tinta.

Tabela 11 – Resultados das análises visuais dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta.

Nº do cruzamento	<i>k-means</i>	MCR-ALS	PLS-DA
13	✓	INC.	INC.
14	X	INC.	INC.
15	✓	✓	✓
16	X	X	X
17	✓	✓	INC.
18	X	INC.	X
19	INC.	✓	X
20	✓	✓	✓
21	✓	✓	INC.
22	✓	✓	✓
23	X	X	X
24	✓	✓	✓
<hr/>			
% Acertos	58,3	58,3	33,3
% Erros	33,3	16,7	33,3
% Inconclusivos	8,3	25,0	33,3

Os resultados das análises objetivas estão apresentados na Tabela 12. Os resultados detalhados dos valores limites utilizados e dos percentuais de *pixels* selecionados estão apresentados nos Apêndices F a H.

Como se pode observar na Tabela 12, a análise objetiva utilizando os mapas de concentração e os limites inferiores dos intervalos de confiança de 95% e 99%

apresentaram o maior percentual de acertos (66,7%). Utilizando-se esses limites, foi possível determinar a ordem correta do cruzamento 13, cujo resultado foi inconclusivo na análise visual dos mapas de concentração. Nos outros dois cruzamentos cujos resultados também foram inconclusivos (cruzamentos 14 e 18), contudo, a ordem dos traços foi determinada incorretamente. No que diz respeito aos cruzamentos cuja ordem dos traços foi determinada incorretamente na análise visual (cruzamentos 16 e 23), tem-se que foi possível determinar a ordem correta do cruzamento 23. É importante observar que cruzamento 16 teve sua ordem determinada incorretamente em todas as análises (visual e objetiva). Comparando-se os resultados utilizando os dois limites tem-se que com o limite inferior do intervalo de confiança de 95% houve um resultado indeterminado (cruzamento 24), devido ao fato de nenhum *pixel* ter sido selecionado para nenhuma das tintas. Além disso, utilizando o limite do intervalo de confiança de 99% o cruzamento 19, cuja ordem foi determinada corretamente na análise visual e na análise objetiva utilizando os demais limites, teve sua ordem determinada incorretamente. Em uma situação real, é preferencial obter resultados indeterminados do que erros, portando, nesse caso, seria melhor utilizar o limite do intervalo de confiança de 95%.

Tabela 12 – Resultados das análises objetivas dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta.

Nº do cruzamento	MCR-ALS				PLS-DA	
	\bar{x}	$\bar{x} - s$	$\bar{x} - 1,96s$ (95%)	$\bar{x} - 2,575s$ (99%)	Valores limite do PLS_Toolbox	Valor limite padrão (0.5)
13	X	X	✓	✓	✓	✓
14	✓	IND.	X	X	X	X
15	✓	✓	✓	✓	✓	✓
16	X	X	X	X	X	X
17	X	✓	✓	✓	✓	✓
18	IND.	IND.	X	X	X	X
19	✓	✓	✓	X	X	X
20	✓	✓	✓	✓	✓	✓
21	✓	✓	✓	✓	X	X
22	✓	✓	✓	✓	✓	✓
23	✓	✓	✓	✓	X	X
24	IND.	IND.	IND.	✓	✓	✓
% Acertos						
	58,3	58,3	66,7	66,7	50,0	50,0
% Erros						
	25,0	16,7	25,0	33,3	50,0	50,0
% Indeterminados						
	16,7	25,0	8,3	0	0	0

As análises objetivas utilizando os mapas de previsão apresentaram resultados melhores do que a análise visual, contudo, percentuais de acertos e erros de 50% não são confiáveis.

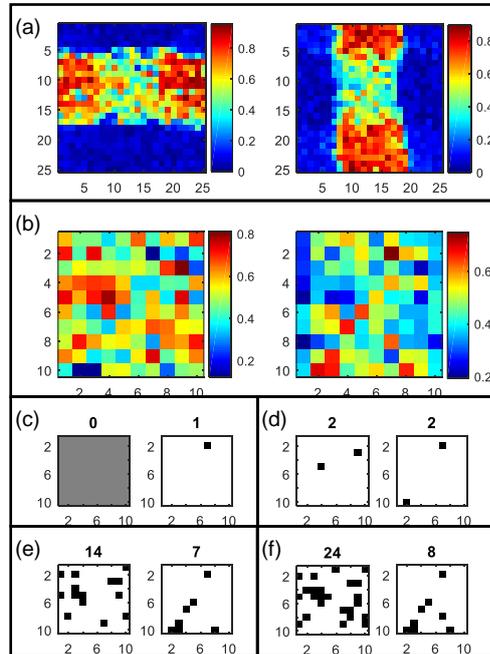
Os resultados das análises objetivas dos cruzamentos 14, 19 e 24 utilizando os mapas de concentração podem ser visualizados nas Figuras 57 a 59, nas quais é possível visualizar os *pixels* que foram selecionados de cada uma das tintas (*pixels* em preto) e o seu percentual (indicado acima de cada imagem).

No cruzamento 14 (Figura 57), cujo resultado na análise visual foi inconclusivo devido à presença de *pixels* relativos a ambas as tintas na região do cruzamento, a ordem dos traços foi determinada incorretamente utilizando-se os limites dos intervalos de confiança de 95% e 99%, uma vez que o percentual de *pixels* do segundo traço na região do cruzamento foi menor. É importante observar que a ocorrência de erros na análise objetiva não significa que a metodologia falhou, pois podem haver casos em que a ordem de deposição das tintas, devido às suas propriedades, seja oposta à esperada. A tinta do segundo traço pode, por exemplo, ser mais absorvida pelo papel, fazendo que com a tinta do primeiro traço (depositada mais na superfície) aparente estar por cima. Outra situação que pode ocorrer e resultar em erros é que, as duas tintas sendo imiscíveis, a tinta do segundo traço não se deposite sobre a tinta do primeiro, o qual aparentará estar por cima.

No cruzamento 19 (Figura 58), apenas a análise utilizando o valor limite do intervalo de confiança de 99% resultou em uma determinação incorreta. É importante observar, entretanto, que a diferença entre as quantidades de *pixels* selecionados foi pequena (3 *pixels*), tendo-se selecionado 17 *pixels* do primeiro traço e 14 do segundo.

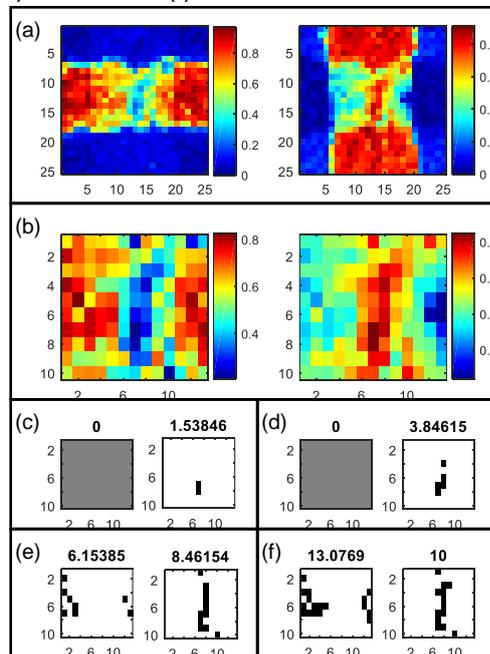
No cruzamento 24 (Figura 59), cuja ordem dos traços foi determinada corretamente na análise visual, apenas a análise utilizando o valor limite do intervalo de confiança de 99% resultou em uma determinação correta. É importante observar que, utilizando-se os demais limites, nenhum *pixel* foi selecionado e apenas com esse limite um *pixel* relativo ao segundo traço foi selecionado. Uma possível explicação para esses resultados, pode ser o fato da diferença entre a concentração dos *pixels* dos traços e da região do cruzamento ser muito grande, fazendo com que os valores de concentração na região do cruzamento sejam inferiores aos limites estabelecidos. Esse resultado demonstra a necessidade de se realizar, simultaneamente, as análises visual e objetiva, de forma a evitar este tipo de erro e se obter um resultado mais confiável.

Figura 57 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 14 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.



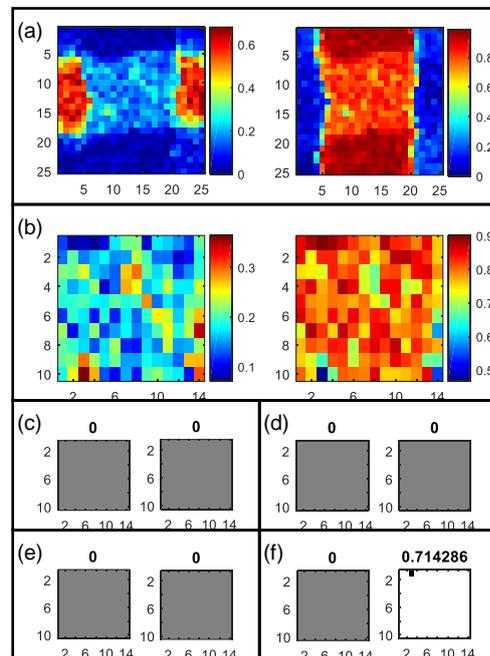
Fonte: da autora

Figura 58 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 19 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.



Fonte: da autora

Figura 59 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 24 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.



Fonte: da autora

5.2.3 Cruzamentos do tipo azul x preto

Foram preparados 32 cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta nas duas ordens de aplicação (Tabela 13).

Os cruzamentos com tintas de caneta de cores diferente também podem induzir o perito ao erro devido às ilusões de óptica, uma vez que as tintas mais escuras (pretas) aparentam estar por cima das mais claras (azuis) independente da ordem de aplicação (BRAZ; LÓPEZ-LÓPEZ; GARCÍA-RUIZ, 2013).

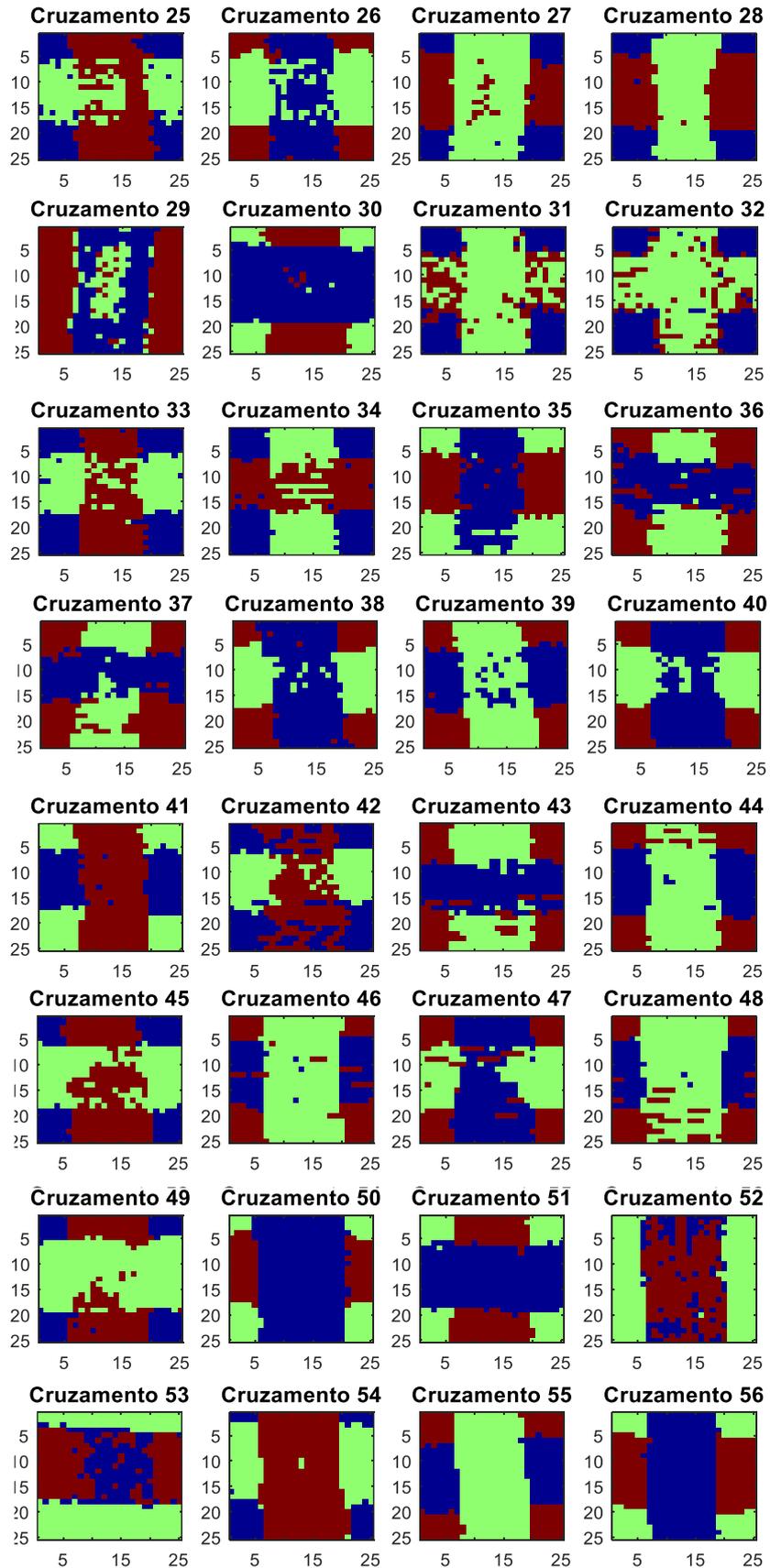
A Figura 60 mostra as imagens falsas dos cruzamentos tratados com o *k-means*.

Tabela 13 – Cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta.

Nº do cruzamento	1º traço	2º traço
25	Bic Pro Preta	Bic Cristal Gel Azul
26	Bic Cristal Gel Azul	Bic Pro Preta
27	Pilot G2 Preta	Bic Cristal Gel Azul
28	Bic Cristal Gel Azul	Pilot G2 Preta
29	Pentel Energel Preta	Bic Cristal Gel Azul
30	Bic Cristal Gel Azul	Pentel Energel Preta
31	Bic Pro Preta	Bic Pro Azul
32	Bic Pro Azul	Bic Pro Preta
33	Pilot G2 Preta	Bic Pro Azul
34	Bic Pro Azul	Pilot G2 Preta
35	Pentel Energel Preta	Bic Pro Azul
36	Bic Pro Azul	Pentel Energel Preta
37	Bic Pro Preta	Pilot G2 Azul
38	Pilot G2 Azul	Bic Pro Preta
39	Pilot G2 Preta	Pilot G2 Azul
40	Pilot G2 Azul	Pilot G2 Preta
41	Pentel Energel Preta	Pilot G2 Azul
42	Pilot G2 Azul	Pentel Energel Preta
43	Bic Pro Preta	Uni-ball Signo Azul
44	Uni-ball Signo Azul	Bic Pro Preta
45	Pilot G2 Preta	Uni-ball Signo Azul
46	Uni-ball Signo Azul	Pilot G2 Preta
47	Pentel Energel Preta	Uni-ball Signo Azul
48	Uni-ball Signo Azul	Pentel Energel Preta
49	Uni-ball Signo Azul	Uni-ball Signo Preta
50	Uni-ball Signo Preta	Uni-ball Signo Azul
51	Bic Pro Azul	Uni-ball Signo Preta
52	Uni-ball Signo Preta	Bic Pro Azul
53	Pilot G2 Azul	Uni-ball Signo Preta
54	Uni-ball Signo Preta	Pilot G2 Azul
55	Bic Cristal Gel Azul	Uni-ball Signo Preta
56	Uni-ball Signo Preta	Bic Cristal Gel Azul

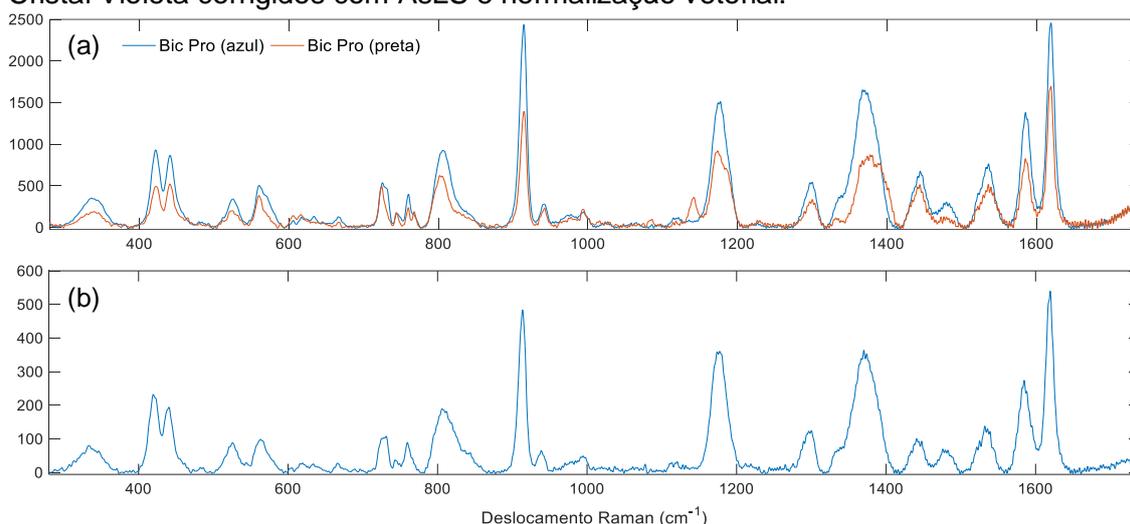
Como pode ser visto na Figura 60, não foi possível discriminar as duas tintas em alguns dos cruzamentos (cruzamentos 31 e 32). Esse resultado decorre da similaridade dos espectros das tintas das canetas (Figura 61a), as quais, apesar de serem de cores diferentes, são da mesma marca e modelo (Bic Pro). Essa similaridade dos espectros, cuja correlação foi de 0.9551, pode ser atribuída à presença do mesmo corante, pois como pode ser visto na Figura 61b as principais bandas do corante Cristal Violeta (334, 420, 442, 525, 561, 724, 760, 809, 916, 939, 1.175, 1.300, 1.372, 1.442, 1.477, 1.533, 1.584 e 1.617 cm^{-1}) são observadas nos espectros das duas tintas (BRAZ, LÓPEZ-LÓPEZ e GARCIA-RUIZ, 2014).

Figura 60 – Imagens falsas dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta obtidas com o *k-means*.



Fonte: da autora

Figura 61 – Espectros puros (a) das tintas das canetas Bic Pro azul e preta e (b) do corante Cristal Violeta corrigidos com AsLS e normalização vetorial.



Fonte: da autora.

Três tipos de vibração são observados no espectro Raman do Cristal Violeta: vibrações associadas ao carbono central (abaixo de 400 cm^{-1}), vibrações associadas aos átomos de nitrogênio (entre 1.350 e 1.400 cm^{-1}) e vibrações associadas aos anéis aromáticos (entre 400 e 1.300^{-1} e acima de 1.400 cm^{-1}) (SMITHA et al., 2013). A banda em 916 cm^{-1} pode ser atribuída às vibrações do esqueleto do anel aromático, a banda em 1.175 cm^{-1} pode ser atribuída ao dobramento no plano das ligações C-H, a banda em 1.372 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento da ligação N-C do anel aromático e as bandas em 1.533 , 1.584 e 1.617 cm^{-1} podem ser atribuídas aos estiramentos das ligações C-C dos anéis aromáticos.

Além disso, em outros cruzamentos (cruzamentos 29, 52 e 53) não foi possível discriminar as tintas pretas do papel. É importante ressaltar que, apesar dessas tintas (tintas das canetas Pentel Energel e Uni-ball Signo) não terem sido discriminadas do papel nesses cruzamentos, o mesmo não foi observado nos outros cruzamentos entre as mesmas canetas (cruzamentos 30, 51 e 54) na ordem de aplicação oposta, o que pode indicar a existência de falhas no preparo das amostras e não uma limitação da técnica. Para esses cinco cruzamentos, os resultados foram considerados como indeterminados, uma vez que não foi possível determinar a ordem dos traços.

Nos demais cruzamentos, foi possível discriminar os dois traços nos demais cruzamentos e determinar a ordem correta da maioria. Em apenas seis dos cruzamentos (cruzamentos 30, 36, 37, 43, 49 e 51). a ordem foi determinada incorretamente e em dois deles (cruzamentos 34 e 45) houve dúvida (resultado

inconclusivo) pela presença de *pixels* relativos a ambas as tintas na região do cruzamento.

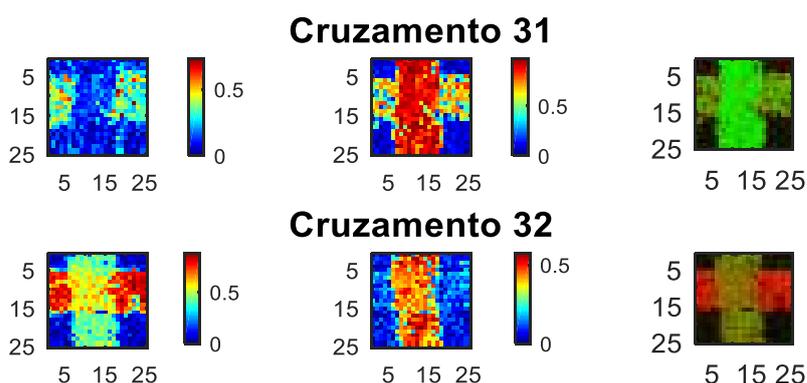
Os resultados da análise visual das imagens falsas, bem como dos mapas de concentração e previsão estão mostrados na Tabela 14.

Tabela 14 – Resultados das análises visuais dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta.

Nº do cruzamento	<i>k-means</i>	MCR-ALS	PLS-DA
25	✓	✓	INC.
26	✓	✓	✓
27	✓	✓	✓
28	✓	✓	✓
29	IND.	✓	✓
30	X	X	X
31	IND.	✓	INC.
32	IND.	✓	INC.
33	✓	INC.	INC.
34	INC.	INC.	INC.
35	✓	✓	✓
36	X	X	X
37	X	X	X
38	✓	✓	✓
39	✓	INC.	INC.
40	✓	✓	✓
41	✓	✓	INC.
42	✓	INC.	INC.
43	X	X	X
44	✓	✓	✓
45	INC.	INC.	INC.
46	✓	✓	✓
47	✓	INC.	INC.
48	✓	✓	✓
49	X	X	X
50	✓	✓	✓
51	X	X	X
52	IND.	✓	✓
53	IND.	INC.	X
54	✓	✓	✓
55	✓	✓	✓
56	✓	✓	✓
% Acertos	59,4	59,4	46,9
% Erros	18,8	18,8	21,9
% Inconclusivos	6,3	21,9	31,3
% Indeterminados.	15,6	0	0

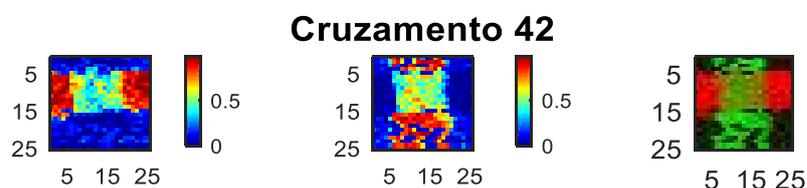
Através da análise visual dos mapas de concentração (APÊNDICE I), foi possível determinar a ordem dos traços da maioria dos cruzamentos. É importante ressaltar que a análise dos mapas de concentração dos cruzamentos 31 e 32 (Figura 62), cujo resultado foi indeterminado na análise visual das imagens falsas obtidas com o *k-means*, permitiu determinar a ordem correta dos traços, pois apesar da discriminação das tintas não ter sido completamente eficiente e de terem sido observados *pixels* relativos a uma tinta no mapa de concentração da outra, os *pixels* do segundo traço (vertical) apresentaram maiores intensidades na região do cruzamento. Esse resultado decorre da similaridade dos espectros das tintas das canetas, como foi visto na Figura 61. Em outros cruzamentos (cruzamentos 33, 34, 39, 42, 45, 47 e 53), a presença de *pixels* relativos a ambas as tintas, com intensidades baixas, na região do cruzamento dificultou a determinação da ordem dos traços gerando dúvida, como pode ser visto nos mapas de concentração do cruzamento 42 (Figura 63). A análise das imagens falsas desses cruzamentos também geraram dúvida e, portanto, os resultados foram considerados como inconclusivos.

Figura 62 – Mapas de concentração e imagens falsas dos cruzamentos 31 e 32.



Fonte: da autora

Figura 63 – Mapas de concentração e imagem falsa do cruzamento 42.



Fonte: da autora

A análise visual dos mapas de previsão (APÊNDICE J) gerou resultados similares aos obtidos com a análise dos mapas de concentração, contudo, o percentual de acertos foi menor devido à uma maior quantidade de resultados inconclusivos, como pode ser visto na Tabela 14.

Os resultados das análises objetivas estão apresentados na Tabela 14. Os resultados detalhados dos valores limites utilizados e dos percentuais de *pixels* selecionados estão apresentados nos Apêndices K a M.

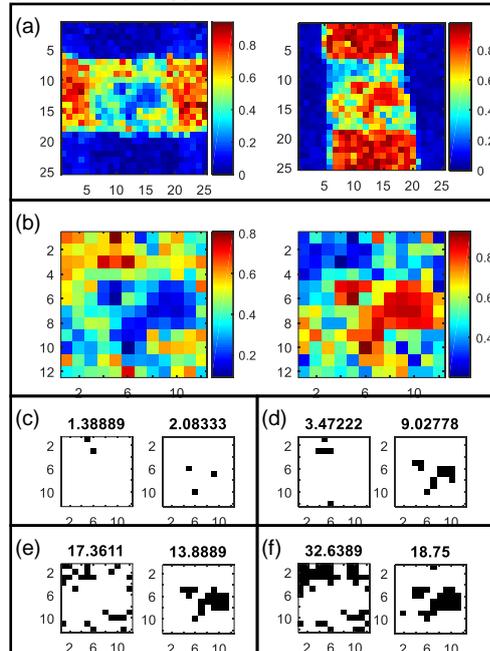
Como se pode observar na Tabela 15, com a análise objetiva obteve-se um percentual maior de determinações corretas, tendo os melhores resultados sido obtidos com a MCR-ALS usando como limite a média subtraída de um desvio-padrão e o limite inferior do intervalo de confiança de 95%. A diferença entre esses dois resultados foi que se utilizando o segundo limite obteve-se um percentual de erros maior, com a determinação incorreta do cruzamento 45, o qual teve sua ordem corretamente determinada utilizando-se o primeiro limite, como pode ser visto na Figura 64. Além disso, utilizando-se o primeiro limite obteve-se um percentual de indeterminações maior, pois não foi possível determinar a ordem do cruzamento 42, o qual foi corretamente determinado utilizando-se o segundo limite, como pode ser visto na Figura 65.

É importante observar que alguns dos cruzamentos (cruzamentos 27, 28, 38, 40, 44, 46, 48, 50, 54, 55 e 56) tiveram sua ordem determinada corretamente em todos os métodos de análise avaliados e outros cruzamentos (cruzamentos 30, 36, 37, 43 e 51) tiveram sua ordem determinada incorretamente em todos os métodos, da mesma forma que aconteceu nos cruzamentos produzidos apenas com canetas de tinta azul ou preta. No caso das determinações incorretas, é possível que esses resultados se devam às características das tintas, as quais podem ser mais ou menos absorvidas pelo papel o que leve a uma distribuição realmente diferente da esperada. Uma investigação mais aprofundada é necessária para que se possa tirar conclusões desse tipo de resultado.

Tabela 15 – Resultados das análises objetivas dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta.

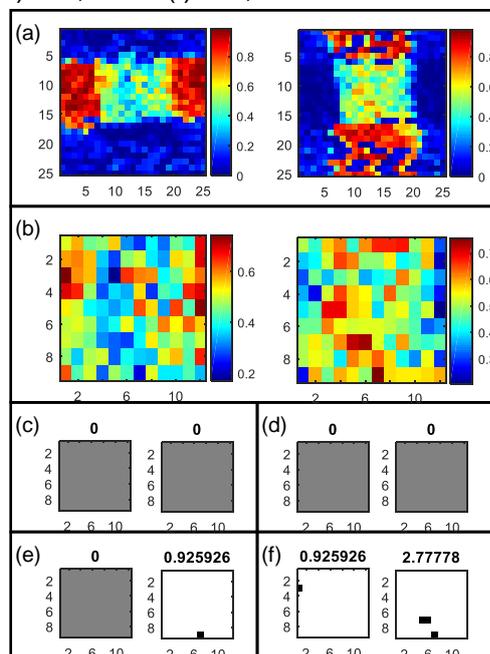
Nº do cruzamento	MCR-ALS				PLS-DA	
	\bar{x}	$\bar{x} - s$	$\bar{x} - 1,96s$ (95%)	$\bar{x} - 2,575s$ (99%)	Valores limite do PLS_Toolbox	Valor limite padrão (0.5)
25	✓	✓	✓	IND.	✓	X
26	IND	✓	✓	✓	✓	✓
27	✓	✓	✓	✓	✓	✓
28	✓	✓	✓	✓	✓	✓
29	✓	✓	✓	✓	✓	✓
30	X	X	X	X	X	X
31	✓	✓	✓	✓	✓	✓
32	✓	✓	✓	✓	✓	X
33	X	✓	✓	✓	✓	✓
34	✓	✓	✓	X	✓	X
35	IND	✓	✓	✓	✓	✓
36	X	X	X	X	X	X
37	X	X	X	X	X	X
38	✓	✓	✓	✓	✓	✓
39	✓	✓	✓	✓	✓	✓
40	✓	✓	✓	✓	✓	✓
41	IND	IND.	IND.	IND.	✓	✓
42	IND	IND.	✓	✓	X	✓
43	X	X	X	X	X	X
44	✓	✓	✓	✓	✓	✓
45	✓	✓	X	X	X	X
46	✓	✓	✓	✓	✓	✓
47	✓	✓	✓	✓	✓	✓
48	✓	✓	✓	✓	✓	✓
49	✓	✓	✓	✓	X	X
50	✓	✓	✓	✓	✓	✓
51	X	X	X	X	X	X
52	✓	✓	✓	✓	✓	✓
53	IND	✓	✓	✓	X	X
54	✓	✓	✓	✓	✓	✓
55	✓	✓	✓	✓	✓	✓
56	✓	✓	✓	✓	✓	✓
% Acertos						
	65,6	78,1	78,1	71,9	71,9	65,6
% Erros						
	18,8	15,6	18,8	21,9	28,1	34,4
% Indeterminações.						
	15,6	6,3	3,1	6,3	0	0

Figura 64 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 45 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.



Fonte: da autora

Figura 65 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 42 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.

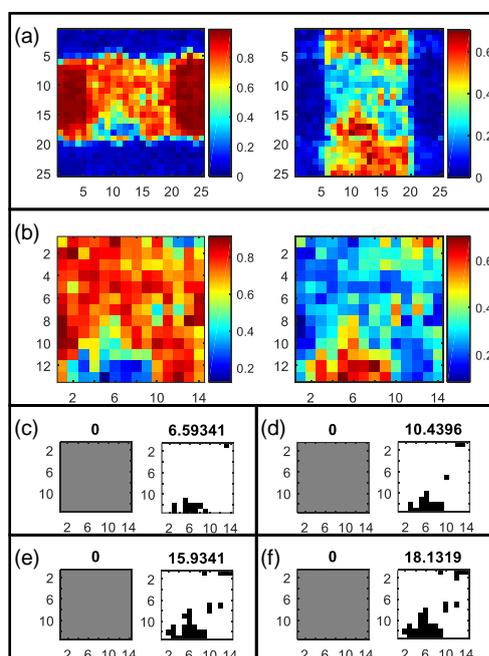


Fonte: da autora

A análise objetiva com a PLS-DA não gerou resultados indeterminados, tendo inclusive sido obtida uma determinação correta, independente do limite utilizado, no cruzamento 41, o qual teve resultado indeterminado (nenhum *pixel* foi selecionado) utilizando-se todos os limites na análise com a MCR-ALS. Por outro lado, a ordem de vários cruzamentos (cruzamentos 25, 32,34, 42, 45, 49 e 53) que havia sido determinada corretamente na análise com a MCR-ALS utilizando-se pelo menos um dos limites foi determinada incorretamente. Esse resultado indica que a PLS-DA foi menos eficiente que a MCR-ALS.

A análise objetiva, demonstrou ter um maior potencial para determinar a ordem de cruzamentos que a análise visual, pois por levar em conta as intensidades dos *pixels* de cada tinta individualmente obtém-se um resultado mais fidedigno. No cruzamento 49 (Figura 66), por exemplo, visualmente o traço da horizontal está por cima, contudo, ao se considerar a intensidade dos *pixels* dos traços na região do cruzamento em relação à intensidade e variação (desvio-padrão) das mesmas na região contendo apenas uma das tinta tem-se que o traço da vertical é considerado como sendo o por cima. Apenas no traço da vertical foram selecionados *pixels* na análise objetiva, resultando na determinação correta da ordem do cruzamento.

Figura 66 – Mapas de concentração das tintas das canetas do cruzamento 49 na (a) imagem completa e (b) apenas na região do cruzamento e imagens falsas da região dos cruzamentos com os pixels contendo as tintas marcados em preto utilizando como limite: (c) \bar{x} , (d) $\bar{x}-s$, (e) $\bar{x}-1,96s$ e (f) $\bar{x}-2,575s$.



Fonte: da autora

Cruzamentos cuja diferença de concentração entre as tintas nos mapas de concentração é significativamente grande, como no caso do cruzamento 49, tendem a gerar determinações incorretas na análise visual. Na análise objetiva, por outro lado, uma vez que são levadas em conta as concentrações relativas de cada tinta, esses erros tendem a ser minimizados. Por isso, propõe-se que, ainda que se faça a determinação com base na análise visual, se verifique se há diferenças significativas entre as intensidades dos *pixels* das duas tintas e, se faça, também, a determinação com a análise objetiva.

O que se conclui dos resultados das análises objetivas utilizando os mapas de concentração é que eles representam uma melhora nas determinações corretas independentemente do tipo de cruzamento analisado. Comparando-se os valores de percentual obtidos para cada tipo de cruzamento separadamente e juntos considerando-se apenas a análise com base na MCR-ALS (Tabela 16), com a qual se obteve os melhores resultados, tem-se que diferentes limites resultaram nos melhores resultados (maior percentual de acertos e menor percentual de erros).

Tabela 16 – Percentual de acertos, erros e resultados indeterminados das análises objetivas utilizando os mapas de concentração de todos os tipos de cruzamentos de traços analisados.

Tipo do cruzamento	Resultado	MCR-ALS			
		\bar{x}	$\bar{x} - s$	$\bar{x} - 1,96s$ (95%)	$\bar{x} - 2,575s$ (99%)
Azul x Azul	Acertos	58,3	58,3	66,7	75,0
	Erros	16,7	16,7	8,3	8,3
	Indeterminados	25,0	25,0	25,0	16,7
Preto x Preto	Acertos	58,3	58,3	66,7	66,7
	Erros	25,0	16,7	25,0	33,3
	Indeterminados	16,7	25,0	8,3	0
Azul x Preto	Acertos	65,6	78,1	78,1	71,9
	Erros	18,8	15,6	18,8	21,9
	Indeterminados	15,6	6,3	3,1	6,3
Total	Acertos	62,5	69,6	73,2	71,5
	Erros	19,7	16,0	17,9	21,4
	Indeterminados	17,9	14,4	8,9	7,2

Para os cruzamentos do tipo azul x azul, o melhor limite foi o limite inferior do intervalo de confiança de 99%, para os do tipo preto x preto o limite inferior do intervalo de confiança de 95% e para os do tipo azul x preto a média subtraída do desvio-padrão ($\bar{x}-s$). Isso porque, para esse último tipo de cruzamento, apesar do percentual de acertos ser o mesmo do obtido com o valor inferior do intervalo de confiança de 95%

($\bar{x}-1,96s$), deve-se buscar minimizar o percentual de erros, ainda que isso represente um aumento no percentual de resultados indeterminados, como foi o caso.

Caso seja necessário utilizar uma abordagem única para os três tipos de cruzamento, tem-se que a melhor abordagem é a análise objetiva com a MCR-ALS utilizando como valor limite o valor inferior do intervalo de confiança de 95% ($\bar{x}-1,96s$), cujo percentual de acerto foi de 73,2%, o que corresponde a 41 dos 56 cruzamentos tendo a ordem dos traços determinada corretamente. Quanto ao percentual de determinações incorretas, foi obtido um percentual de 17,9%, o que corresponde a 10. É importante ressaltar que o menor percentual de erros (16,1%) foi obtido para o valor limite da média subtraída de um desvio-padrão ($\bar{x}-1,96s$), mas a diferença foi de apenas uma determinação incorreta (9 cruzamentos em vez de 10) enquanto que houve diferença em duas determinações corretas (39 em vez de 41).

5.2.4 Microscopia óptica - Testes cegos

Os testes cegos foram realizados para avaliar a eficiência e confiabilidade da análise visual, utilizando-se a microscopia óptica (método de referência), para determinar a ordem dos traços nos cruzamentos e comparar os resultados obtidos com aqueles obtidos com a nova metodologia proposta. Uma vez que todos os cruzamentos foram preparados pela mesma pessoa, reduziu-se a influência da variação da escrita. Além disso, uma vez que todas as amostras foram codificadas e misturadas, garantiu-se a aleatoriedade das análises.

Uma vez que os 56 cruzamentos foram preparados em triplicata, tem-se que um total de 168 amostras foram analisadas por cada analista. Nas análises, as quais não foram realizadas em um único dia, utilizou-se um mesmo microscópio, nas mesmas condições de iluminação e aumento, e foram consideradas as mesmas características físicas dos traços.

Os resultados dos testes cegos estão apresentados, de acordo com o tipo de cruzamento nas Tabelas 17 a 19 e as imagens RGB dos cruzamentos, obtidas com o microscópio, estão apresentadas nos Apêndices N a P, também de acordo com o tipo de cruzamento.

Como pode ser visto na Tabela 17, a maioria dos resultados dos cruzamentos entre canetas de tinta azul foram inconclusivos e houve discrepância entre os dois analistas. O analista A determinou a ordem de oito cruzamentos, mas só conseguiu

determinar corretamente a ordem de quatro deles (cruzamentos 02, 04, 10 e 12), o analista B, por outro lado, determinou a ordem de apenas um cruzamento (cruzamento 10) e acertou. Nesses cruzamentos, as determinações foram feitas com base no brilho das tintas. Contudo, em muitos cruzamentos ambas as tintas apresentavam brilho, o que resultou em tantos resultados inconclusivos. Além disso, o fato do analista A ter considerado que uma tinta apresentava mais brilho do que a outra resultou em várias determinações incorretas. Estes resultados demonstram que a análise visual não é eficiente para determinar a ordem dos traços de cruzamentos entre canetas de tinta azul.

Tabela 17 – Resultados dos testes cegos dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul.

Nº do cruzamento	Analista	
	A	B
01	X	INC.
02	✓	INC.
03	INC.	INC.
04	✓	INC.
05	INC.	INC.
06	X	INC.
07	X	INC.
08	INC.	INC.
09	X	INC.
10	✓	✓
11	INC.	INC.
12	✓	INC.
% Acertos	33,3	8,3
% Erros	33,3	0
% Inconclusivos	33,3	91,7

Como pode ser visto na Tabela 18, apenas dois dos resultados dos cruzamentos entre canetas de tinta preta foram inconclusivos (cruzamentos 21 e 22), ao contrário dos cruzamentos entre canetas de tinta azul. Além disso, os percentuais de acertos foram maiores (50,0% e 58,3%) e os resultados dos dois analistas foram mais consistentes, tendo havido discrepância em apenas um dos cruzamentos (cruzamento 14). Nesses cruzamentos, as determinações também se basearam no brilho das tintas. No entanto, observou-se que, quando apenas uma das tintas apresentava brilho, a ordem dos traços era determinada corretamente em apenas um dos cruzamentos do par, como aconteceu com os pares de cruzamentos 15 e 16, 17 e 18 e, também, 23 e 24. Da mesma forma que aconteceu com os cruzamentos entre canetas de tinta azul, quando ambas as tintas apresentavam brilho, como aconteceu

no par de cruzamentos 21 e 22, não foi possível determinar a ordem dos traços (resultados inconclusivos). A falta de um padrão nos resultados demonstra que esse tipo de análise não é eficiente para determinar a ordem dos traços de cruzamentos entre canetas de tinta preta.

Tabela 18 – Resultados dos testes cegos dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta.

Nº do cruzamento	Analista	
	A	B
13	✓	✓
14	X	✓
15	✓	✓
16	X	X
17	✓	✓
18	X	X
19	✓	✓
20	✓	✓
21	INC.	INC.
22	INC.	INC.
23	✓	✓
24	X	X
% Acertos	50,0	58,3
% Erros	33,3	25,0
% Inconclusivos	16,7	16,7

Como pode ser visto na Tabela 19, a maioria dos resultados dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta foram acertos (68,8% e 84,4%), além disso, os resultados dos dois analistas foram consistentes, tendo havido discrepância em apenas cinco cruzamentos (cruzamento 25, 33, 37, 43 e 52). Enquanto o analista B não classificou nenhum resultado como inconclusivo e fez cinco determinações incorretas (cruzamentos 30, 31, 36, 42 e 48), o analista A classificou três resultados como inconclusivos (cruzamentos 25, 33 e 52) e fez sete determinações incorretas, sendo cinco delas as mesmas do analista A. Quanto aos resultados inconclusivos, é importante observar que esses cruzamentos tiveram sua ordem determinada corretamente pelo analista B. Nesses cruzamentos, além de ter sido observado o brilho das tintas, como nos cruzamentos anteriores, levou-se em conta, também, a quantidade de tinta depositada no papel. No que diz respeito ao brilho, foi observado um brilho intenso rosa na região do cruzamento de muitas amostras cujo segundo traço foi feito com uma caneta de tinta azul, brilho esse que não foi observado no cruzamento na ordem oposta (traço da caneta preta por cima). Esses resultados sugerem que o brilho rosa seja característico de cruzamentos de traços de tintas que

brilham, sendo que apenas quando o traço da caneta de tinta azul está por cima de um traço de caneta de tinta preta. É importante observar que, em alguns cruzamentos (cruzamentos 25, 33 e 52), a maior espessura e quantidade de tinta do traço feito com a caneta de tinta preta gerou alguns resultados inconclusivos.

Tabela 19 – Resultados dos testes cegos dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta.

Nº do cruzamento	Analista	
	A	B
25	INC.	✓
26	✓	✓
27	✓	✓
28	✓	✓
29	✓	✓
30	X	X
31	X	X
32	✓	✓
33	INC.	✓
34	✓	✓
35	✓	✓
36	X	X
37	X	✓
38	✓	✓
39	✓	✓
40	✓	✓
41	✓	✓
42	X	X
43	X	✓
44	✓	✓
45	✓	✓
46	✓	✓
47	✓	✓
48	X	X
49	✓	✓
50	✓	✓
51	✓	✓
52	INC.	✓
53	✓	✓
54	✓	✓
55	✓	✓
56	✓	✓
% Acertos		
	68,8	84,4
% Erros		
	21,8	15,6
% Inconclusivos		
	9,4	0

No cruzamento 31, observou-se que ambas as tintas brilhavam, mas o brilho da tinta preta era mais intenso e contínuo. Como o brilho rosa não foi observado, os

analistas foram induzidos ao erro e consideraram que o traço da caneta de tinta preta estava sobre o da azul. No outro cruzamento do par (cruzamento 32), por outro lado, o brilho contínuo do traço de tinta preta permitiu determinar a ordem corretamente. Vale ressaltar que os cruzamentos 31 e 32 foram preparados com canetas da mesma marca e modelo (Bic Pro), apenas de cores diferentes.

Nos cruzamentos 30, 36, 42 e 48, cujos resultados foram determinações incorretas para ambos os analistas, tem-se que os segundos traços foram feitos com a mesma caneta de tinta preta (Pentel Energel) e apresentaram maiores espessuras e quantidade de tinta. Nesses cruzamentos o erro se deu devido ao fato de ter sido observado um tênue brilho rosa na região do cruzamento, brilho esse que foi definido como sendo característico de cruzamentos nos quais a tinta azul estava por cima. Esses resultados demonstram que, apesar de ser mais fácil determinar a ordem dos traços de cruzamentos entre canetas de tintas de cores diferentes, não se têm um padrão quanto às características observadas e elas são subjetivas. Além disso, esse tipo de análise está sujeito a ilusões de óptica que podem induzir o analista ao erro.

Os resultados dos testes cegos demonstraram a variabilidade decorrente da subjetividade da análise, a qual é fortemente dependente da experiência do analista.

5.2.5 Comparação dos resultados dos testes cegos e do Raman

Quando os resultados dos testes cegos são comparados com os resultados das análises visuais e objetivas usando a espectroscopia Raman para os cruzamentos de traços entre canetas de tinta azul (Tabela 20) observou-se que foram obtidos percentuais de acertos significativamente menores nos testes cegos (33,3% e 8,3%). É importante observar que na análise objetiva utilizando a MCR-ALS, apenas os resultados utilizando os limites inferiores dos intervalos de confiança de 95% e 99% foram considerados, por terem sido os melhores. As análises objetivas permitiram determinar corretamente a ordem dos traços de cruzamentos cujos resultados nos testes cegos foram inconclusivos ou erros (cruzamentos 01 e 06). Os cruzamentos 07 e 08, contudo, não tiveram sua ordem determinada por nenhum dos métodos e o cruzamento 09 teve sua ordem determinada incorretamente, com exceção do resultado inconclusivo do analista B, por todos os métodos. Analisando-se esses resultados conjuntamente, conclui-se que a análise dos cruzamentos utilizando-se a espectroscopia Raman, mais especificamente a análise objetiva utilizando a MCR-

ALS e o limite inferior do intervalo de confiança de 99%, é melhor metodologia para a análise desse tipo de cruzamento.

Tabela 20 – Resultados dos testes cegos e das análises visuais e objetivas usando a espectroscopia Raman dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul.

Nº do cruzamento	Testes cegos		<i>k-means</i>		MCR-ALS		PLS-DA		
	Analista		visual	visual	$\bar{x} - 1,96s$ (95%)	$\bar{x} - 2,575s$ (99%)	visual	Valores limite do PLS_Toolbox	Valor limite padrão (0.5)
	A	B							
01	X	INC.	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X
02	✓	INC.	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
03	INC.	INC.	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
04	✓	INC.	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
05	INC.	INC.	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓
06	X	INC.	INC.	INC.	✓	✓	INC.	X	✓
07	X	INC.	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.
08	INC.	INC.	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.	IND.
09	X	INC.	X	X	X	X	X	X	X
10	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
11	INC.	INC.	INC.	INC.	✓	✓	INC.	X	X
12	✓	INC.	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<hr/>									
% Acertos	33,3	8,3	58,3	58,3	66,7	75,0	58,3	58,3	58,3
% Erros	33,3	0	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3	25,0	25,0
% Inconclusivos.	33,3	91,7	16,7	16,7	0	0	16,7	0	0
% Indeterminados	0	0	16,7	16,7	25,0	16,7	16,7	16,7	16,7

No que diz respeito aos resultados dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta (Tabela 21), tem-se que os percentuais de acertos obtidos nos testes cegos (50,0% e 58,3%) foram similares aos obtidos nas análises visuais e, também, nas análises objetivas utilizando-se a PLS-DA. Os resultados das análises objetivas utilizando a MCR-ALS, contudo, foram melhores, tendo-se obtido um percentual de acertos de 66,7%. Os cruzamentos 16 e 18 tiveram sua ordem determinada incorretamente, com exceção do resultado inconclusivo da análise visual dos mapas de concentração, por todos os métodos. Por outro lado, os cruzamentos 15 e 20 tiveram sua ordem determinada corretamente por todos os métodos. É importante observar que os cruzamentos 14 e 24, cuja ordem dos traços foi determinada incorretamente por pelo menos um dos analistas nos testes cegos, e os cruzamentos 21 e 22, cujos resultados nos testes cegos foram inconclusivos, tiveram sua ordem determinada corretamente utilizando-se pelo menos uma das metodologias utilizando a espectroscopia Raman. Analisando-se esses resultados conjuntamente, conclui-se que a análise dos cruzamentos utilizando-se a espectroscopia Raman, mais especificamente a análise objetiva utilizando a MCR-ALS e o limite inferior do intervalo de confiança de 95%, também é a melhor metodologia para a análise desse tipo de cruzamento.

Tabela 21 – Resultados dos testes cegos e das análises visuais e objetivas usando a espectroscopia Raman dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta.

Nº do cruzamento	Testes cegos		<i>k-means</i>	MCR-ALS			PLS-DA		
	Analista		visual	visual	$\bar{x} - 1,96s$ (95%)	$\bar{x} - 2,575s$ (99%)	visual	Valores limite do PLS_Toolbox	Valor limite padrão (0.5)
	A	B							
13	✓	✓	✓	INC.	✓	✓	INC.	✓	✓
14	X	✓	X	INC.	X	X	INC.	X	X
15	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
16	X	X	X	X	X	X	X	X	X
17	✓	✓	✓	✓	✓	✓	INC.	✓	✓
18	X	X	X	INC.	X	X	X	X	X
19	✓	✓	INC.	✓	✓	X	X	X	X
20	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
21	INC.	INC.	✓	✓	✓	✓	INC.	X	X
22	INC.	INC.	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
23	✓	✓	X	X	✓	✓	X	X	X
24	X	X	✓	✓	INC.	✓	✓	✓	✓
% Acertos									
	50,0	58,3	58,3	58,3	66,7	66,7	33,3	50,0	50,0
% Erros									
	33,3	25,0	33,3	16,7	25,0	33,3	33,3	50,0	50,0
% Inconclusivos									
	16,7	16,7	8,3	25,0	0	0	33,3	0	0
% Indeterminados									
	0	0	0	0	8,3	0	0	0	0

Por fim, no que diz respeito aos resultados dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta (Tabela 22), tem-se que os percentuais de acertos obtidos nos testes cegos (68,8% e 84,4%) foram superiores aos resultados das análises visuais e similares, chegando a ser maior no caso do resultado do analista B, aos resultados das análises objetivas. É importante observar que dos cinco cruzamentos cuja ordem foi determinada incorretamente pelo analista B (cruzamentos 30, 31, 36, 42 e 48), três tiveram sua ordem determinada corretamente pelos dois métodos de análise objetiva utilizando-se a MCR-ALS (cruzamentos 31, 42 e 48). Também é importante ressaltar que dos cinco cruzamentos que tiveram sua ordem determinada incorretamente pelos dois métodos de análise objetiva utilizando-se a MCR-ALS (cruzamentos 30, 36, 37, 43 e 51), três tiveram sua ordem determinada corretamente pelo analista B (cruzamentos 37, 43 e 51).

Esses resultados comprovam a necessidade de se combinar as análises visual, tanto a análise através da microscopia quanto dos mapas de concentração ou previsão, e objetiva, aliando a experiência do analista aos resultados objetivos. Nas análises visuais, contudo, deve-se ter um cuidado maior quanto à tomada de decisões, pois é melhor um resultado inconclusivo do que incorreto.

5.3 CONCLUSÕES

Na análise das imagens hiperespectrais do Raman, diferentes técnicas de análise foram avaliadas (*k-means*, MCR-ALS e PLS-DA) e foi possível determinar a ordem correta dos traços na maioria dos cruzamentos analisados. Além da análise

visual dos resultados, a qual já havia sido proposta anteriormente em alguns trabalhos, foi proposta a análise objetiva dos mapas de concentração e previsão, a qual representou uma melhora nas determinações corretas independentemente do tipo de cruzamento analisado.

Tabela 22 – Resultados dos testes cegos e das análises visuais e objetivas usando a espectroscopia Raman dos cruzamentos entre as canetas de tinta azul e preta.

Nº do cruzamento	Testes cegos		<i>k-means</i>		MCR-ALS		PLS-DA		
	Analista		visual	visual	$\bar{x} - 1,96s$ (95%)	$\bar{x} - 2,575s$ (99%)	visual	Valores limite do PLS_Toolbox	Valor limite padrão (0.5)
	A	B							
25	INC.	✓	✓	✓	✓	IND.	INC.	✓	X
26	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
27	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
28	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
29	✓	✓	IND.	✓	✓	✓	✓	✓	✓
30	X	X	X	X	X	X	X	X	X
31	X	X	IND.	✓	✓	✓	INC.	✓	✓
32	✓	✓	IND.	✓	✓	✓	INC.	✓	X
33	INC.	✓	✓	INC.	✓	✓	INC.	✓	✓
34	✓	✓	INC.	INC.	✓	X	INC.	✓	X
35	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
36	X	X	X	X	X	X	X	X	X
37	X	✓	X	X	X	X	X	X	X
38	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
39	✓	✓	✓	INC.	✓	✓	INC.	✓	✓
40	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
41	✓	✓	✓	✓	IND.	IND.	INC.	✓	✓
42	X	X	✓	INC.	✓	✓	INC.	X	✓
43	X	✓	X	X	X	X	X	X	X
44	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
45	✓	✓	INC.	INC.	X	X	INC.	X	X
46	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
47	✓	✓	✓	INC.	✓	✓	INC.	✓	✓
48	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
49	✓	✓	X	X	✓	✓	X	X	X
50	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
51	✓	✓	X	X	X	X	X	X	X
52	INC.	✓	IND.	✓	✓	✓	✓	✓	✓
53	✓	✓	IND.	INC.	✓	✓	X	X	X
54	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
55	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
56	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
% Acertos	68,8	84,4	59,4	59,4	78,1	71,9	46,9	71,9	65,6
% Erros	21,9	15,6	18,8	18,8	18,8	21,9	21,9	28,1	34,4
% Inconclusivos.	9,4	0	6,3	21,9	0	0	31,3	0	0
% Indeterminados	0	0	15,6	0	3,1	6,3	0	0	0

Os melhores resultados foram obtidos para a análise com a MCR-ALS, mais especificamente a análise objetiva utilizando-se os limites inferiores dos intervalos de confiança de 95% e 99%. Considerando-se todos os tipos de cruzamentos, foram obtidos percentuais de acertos de 73,2 e 71,5%, respectivamente, utilizando-se os limites dos intervalos de confiança de 95% e 99%. Considerando-se os tipos de cruzamentos separadamente, por outro lado, foram obtidos percentuais de acertos de 75,0% para os cruzamentos do tipo azul x azul (limites inferiores dos intervalos de confiança de 99%), 66,7% para cruzamentos do tipo preto x preto (limites inferiores dos intervalos de confiança de 95% e 99%) e 78,1% (limites inferiores dos intervalos

de confiança de 95%). Comprovada a eficiência da análise objetiva, uma vez que a maioria dos cruzamentos teve a ordem dos traços determinada corretamente, tem-se uma metodologia não-destrutiva e objetiva que pode ser implementada facilmente na rotina dos peritos.

No que diz respeito aos resultados dos testes cegos (análise por microscopia óptica), a maioria dos cruzamentos do tipo azul x azul não tiveram a ordem dos traços determinada (resultados inconclusivos) e apenas cerca de 50% dos cruzamentos do tipo preto x preto tiveram a ordem dos traços determinada corretamente. Os melhores resultados foram obtidos para os cruzamentos do tipo azul x preto, os quais tiveram a ordem dos traços determinada corretamente na maioria dos cruzamentos (68,8% e 84,4%). Os resultados demonstraram, contudo, que não só as características observadas são subjetivas e não se têm um padrão quanto a elas quanto esse tipo de análise está fortemente sujeito a ilusões de óptica, as quais podem induzir o analista ao erro. Uma vez que se busca tornar a análise o mais objetiva e independente da experiência dos analistas, tem-se que a análise por microscopia óptica não é a melhor opção.

Os resultados obtidos permitem concluir, portanto, que as imagens hiperespectrais do Raman ao serem associadas com técnicas de análise multivariada permitem a determinação da ordem correta dos traços em cruzamentos feitos com canetas com tinta à base de gel.

6 CONCLUSÕES GERAIS

Diante da problemática recorrente na Documentoscopia que é a determinação da ordem de traços em cruzamentos, nesse trabalho foram desenvolvidas metodologias analíticas não destrutivas para a análise de cruzamentos de traços. Duas técnicas de análise (imagens hiperespectrais no NIR e Raman) e diferentes técnicas de tratamento dos dados (*k-means*, MCR-ALS e PLS-DA) foram avaliadas e comparadas quanto à sua eficiência na determinação da ordem dos traços. Os resultados foram analisados tanto de forma subjetiva (interpretação visual dos resultados) quanto objetiva, sendo essa última forma de análise muito importante por tornar a análise cada vez menos dependente do analista.

As imagens hiperespectrais no infravermelho próximo não forneceram resultados satisfatórios, tendo-se determinado corretamente a ordem dos traços em apenas um par de cruzamentos entre canetas com tinta do tipo gel (Bic Velocity Gel e Bic Cristal Gel). Esses resultados podem ser atribuídos à forte absorção da celulose do papel, que fez com que os espectros das tintas apresentassem elevada similaridade com os espectros do papel não tendo sido possível, portanto, diferenciá-los. Ainda que se tenha buscado evidenciar as diferenças espectrais utilizando-se os espectros brutos, trata-se de uma limitação da técnica e esse problema não foi contornado. Conclui-se que essa técnica não é eficiente na determinação da ordem de traços em cruzamentos feitos com canetas.

As imagens hiperespectrais no Raman, por outro lado, não só permitiram determinar a ordem correta de muitos cruzamentos, como a análise dos resultados baseada na quantidade de *pixels* (valores percentuais) permitiu determinar, de forma objetiva e automática, a ordem correta de muitos cruzamentos. Os melhores resultados foram obtidos para a análise com a MCR-ALS, tendo-se obtido um percentual de acertos acima de 70% utilizando-se a análise objetiva com os limites inferiores dos intervalos de confiança de 95% e 99%. Além disso, os resultados obtidos com as imagens hiperespectrais no Raman foram comparados com os resultados das análises com a microscopia óptica e concluiu-se que a análise por microscopia óptica não é a melhor opção, pois, além da subjetividade da análise, apenas os cruzamentos do tipo azul x preto tiveram a ordem dos traços determinada corretamente na maioria dos cruzamentos.

Assim, conclui-se que a metodologia proposta, imagens hiperespectrais no Raman associadas com técnicas de análise multivariada, é eficiente na determinação da ordem dos traços em cruzamentos feitos com canetas com tinta à base de gel azuis e pretas. É importante observar que não se pode extrapolar esses resultados para outros tipos de cruzamentos, cruzamentos feitos com canetas com diferentes tipos de tinta, sendo necessários outros estudos.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Avaliar o efeito do tempo de secagem das tintas entre a aplicação do primeiro e do segundo traço;
- Estudar o comportamento do sistema papel-tinta-tinta de forma a avaliar como se dá a interação da tinta com o papel e de uma tinta com a outra;
- Avaliar o uso das imagens hiperespectrais no Raman na determinação da ordem de traços feitos com canetas de tintas à base de óleo e líquida;
- Desenvolver uma interface gráfica para a análise de cruzamentos de forma a facilitar a introdução da metodologia na rotina dos peritos criminais.

REFERÊNCIAS

- AMIGO, J. M. et al. Study of pharmaceutical samples by NIR chemical-image and multivariate analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 8, p. 696-713, 2008.
- BOJKO, K.; ROUX, C.; REEDY, B. J. An examination of the sequence of intersecting lines using attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectral imaging. **Journal of Forensic Sciences**, v. 53, p. 1458-1467, 2008.
- BORBA, F. S. L.; HONORATO, R. S.; DE JUAN, A. Use of Raman spectroscopy and chemometrics to distinguish blue ballpoint pen inks. **Forensic Science International**, v. 249, p. 73-82, 2015.
- BORBA, F. S. et al. Confocal Raman imaging and chemometrics applied to solve forensic document examination involving crossed lines and obliteration cases by a depth profiling study. **Analyst**, v. 142, i. 7, p. 1106-1118, 2017.
- BRAZ, A. **Investigating current challenges in forensic ink analysis by Raman spectroscopy**. 173 p. Tese de Doutorado. Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Engenharia Química, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares. 2015.
- BRAZ, A.; LÓPEZ-LÓPEZ, M.; GARCÍA-RUIZ, C. Studying the variability in the Raman signature of writing pen inks. **Forensic Science International**, v. 245, p. 38-44, 2014.
- BRAZ, A. LÓPEZ-LÓPEZ, M. GARCÍA-RUIZ, C. Raman imaging for determining the sequence of blue pen ink crossings. **Forensic Science International**, v. 249, p. 92-100, 2015.
- BRITO, L. R. et al. Critical review and trends in forensic investigations of crossing ink lines. **Trends in analytical Chemistry**, v. 94, p. 54-69, 2017.
- BRERETON, R. G. **Chemometrics for pattern recognition**. 1. ed. Reino Unido: Wiley, 2009. 522 p.
- BRUNELLE, R. L.; CRAWFORD, K. R. **Advances in the forensic analysis and dating of writing ink**. Estados Unidos da América: Charles C. Thomas, 2003. 215 p.
- CARVALHO, M. A. et al. NIR hyperspectral images for identification of gunshot residue from tagged ammunition. **Analytical Methods**, 2018.
- CHALMERS, J. M.; EDWARDS, H. G. M.; HARGREAVES, M. D. **Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science**. 1. ed. Reino Unido: Wiley, 2012. 646 p.
- CHENG, K. C. et al., A New Method of Identifying Writing Sequence with the Laser Scanning Confocal Microscope. **Journal of Forensic Sciences**, v. 43, p. 348-352, 1998.
- CLAYBOURN, M.; ANSELL, M. Using Raman spectroscopy to solve crime: inks, questioned documents and fraud. **Science & Justice**, v. 40, i. 4, p. 261-271, 2000.
- DA SILVA, V. A. G. et al. Discrimination of black pen inks on writing documents using visible reflectance spectroscopy and PLS-DA. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 9, p. 1552-1564, 2014a.

DA SILVA, V. A. G. et al. Non-destructive identification of different types and brands of blue pen inks in cursive writing by visible spectroscopy and PLS-DA for forensic analysis. **Microchemical Journal**, v. 116, p. 235-243, 2014b.

DE JUAN, A. et al. Chemometric Tools for Image Analysis. In: SALZER, R. e SIESLER, H. W. **Infrared and Raman Spectroscopic Imaging**.1. ed. Alemanha: Wiley-VCH, 2009. p. 65-109.

DE LA OSSA, M. A. F.; AMIGO, J. M.; GARCÍA-RUIZ, C. Detection of residues from explosive manipulation by near infrared hyperspectral imaging: A promising forensic tool. **Forensic Science International**, v. 242, p. 228-235, 2014.

FABIANSKA, E.; KUNICKI, M. Raman spectroscopy as a new technique for determining the sequence of intersecting lines. **Problems of Forensic Sciences**, v. 53, p. 60-73, 2003.

FELTEN, J. et al. Vibrational spectroscopic image analysis of biological material using multivariate curve resolution-alternating least squares (MCR-ALS). **Natural Protocols**, v. 10, n. 2, p. 217-240, 2015.

GELADI, P. L. M.; GRAHN, H. F.; BURGUER, J. E. Multivariate Images, Hyperspectral Imaging: Background and Equipment. In: GRAHN, H. F. e GELADI, P. **Techniques and Applications of Hyperspectral Image Analysis**.1. ed. Inglaterra: Wiley, 2007. p. 1-15.

GILES, A. Extending ESDA's capability: The determination of the order of writing and impressions using the technique of electrostatic detection. **Forensic Science International**, v. 59, p. 163-168, 1993.

GOACHER, R.E.; DIFONZO, L.G.; LESKO, K.C. Challenges determining the correct deposition order of different intersecting black inks by time-of-flight secondary ion mass spectrometry. *Analitical Chemistry*, v. 89, p. 759-766, 2017.

GOMES, J.A.; SERCHELI, M.S. Espectroscopia Raman: um novo método analítico para investigação forense em cruzamento de traços. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 1, n. 1, p. 22-30, 2011.

GRIFFITHS, P. R. Infrared and Raman Instrumentation for Mapping and Imaging. In: SALZER, R. e SIESLER, H. W. **Infrared and Raman Spectroscopic Imaging**.1. ed. Alemanha: Wiley-VCH, 2009. p. 3-64.

HATBECK, S. MACK, H-G. **Experimental and Theoretical Investigations on the IR and Raman Spectra for CuPc and TiOPc**. 2013. Disponível em: <https://publikationen.uni-tuebingen.de/xmlui/bitstream/handle/10900/49961/pdf/CuPc_TiOPc_IR_Raman_Okt2013.pdf;sequence=1>. Acesso em: 03 dez. 2018.

HUANG, J.; ROMERRO-TORRES, S.; MOSHGBAR, M. **Practical Considerations in Data Pre-treatment for NIR and Raman Spectroscopy**. *American Pharmaceutical Review*, 2010. Disponível em: <<http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/116330-Practical-Considerations-in-Data-Pre-treatment-for-NIR-and-Raman-Spectroscopy/>>. Acesso em: 16 ago. 2016.

IGOE, T. J.; REYNOLDS, B. L. A lifting process for determining the writing sequence of two intersecting ball-point pen strokes. **Forensic Science International**, v. 20, p. 201-205, 1982.

JASUJA, O.P.; SINGLA, A.K.; CHATTOPADHYAY, P.K. A simple method for determining the sequence of intersecting ball pen lines, **Journal of the Forensic Science Society**, v. 27, p. 227-230, 1987.

JAUMOT, J. et al. 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, 2005.

KOONS, R.D. Sequencing of intersecting lines by combined lifting process and Scanning Electron Microscopy. **Forensic Science International**, v. 27, p. 261-276, 1985.

LARKIN, P. J. **IR and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation**. 1. ed. Reino Unido: Elsevier, 2011. 230 p.

LEE, K. Y. et al. Sequence discrimination of heterogeneous crossing of seal impression and ink-printed text using adhesive tapes. **Forensic Science International**, v. 234, p. 120-125, 2014.

LEE, J. et al. Characterization and sequence determination of pen inks, red sealing inks, and laser toners by TOF-SIMS and ATR FTIR. **Surface and Interface Analysis**, v. 46, p. 317-321, 2014.

LEE, J. et al. TOF-SIMS analysis of red color inks of writing and printing tools on questioned documents. **Journal of Forensic Sciences**, v. 61, p. 815-822, 2016.

LEUNG, S.C.; LEUNG, Y.M. A systematic study of the lifting technique for determining the writing sequence of intersecting ball pen strokes. **Science & Justice**, v. 37, p. 197-206, 1997.

MATHYER, J.; PFISTER, R. The determination of sequence of crossing strokes by the "Kromekote" paper lifting process and by the scanning electron microscopic method. **Forensic Science International**, v. 24, i. 2, p. 113-124, 1984.

OZBEK, N.; BRAZ, A.; LÓPEZ-LÓPEZ, M.; GARCÍA-RUIZ, C. A study to visualize and determine the sequencing of intersecting ink lines. **Forensic Science International**, v. 234, p. 39-44, 2014.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, p. 198-219, 2003.

PEREIRA, J. F. Q. et al. Projection pursuit and PCA associated with near and middle infrared hyperspectral images to investigate forensic cases of fraudulent documents. **Microchemical Journal**, v. 130, p. 412-419, 2017.

PIQUERAS, S. et al. Resolution and segmentation of hyperspectral biomedical images by Multivariate Curve Resolution-Alternating Least Squares. **Analytica Chimica Acta**, v. 705, n. 1-2, p. 182-192, 2011.

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.

RADLEY, R.W. Determination of sequence of writing impressions and ball pen ink strokes using the ESDA technique. **Journal of the Forensic Science Society**, v. 33, p. 69–72, 1993.

RADLEY, R. Determination of sequence of intersecting ESDA impressions and porous tip, fibre tip and rollerball pen inks. **Science & Justice**, v. 35, p. 267-272, 1995.

RAZA, A.; SAHA, B. Application of Raman spectroscopy in forensic investigation of questioned documents involving stamp inks. **Science and Justice**, v. 53, p. 332-338, 2013.

RINNAN, Å.; BERG, F. V. D.; 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.

SACRÉ, P. Y. et al. Detection of counterfeit Viagra® by Raman microspectroscopy imaging and multivariate analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 56, p. 454-461, 2011.

SAINI, K.; KAUR, R.; SOOD, N. C. A study for establishing the sequence of superimposed lines: Inkjet versus writing instruments. **Forensic Science International**, v. 193, p. 14-20, 2009.

SCHWANNINGER, M.; RODRIGUES, J. C.; FACKLER, K. A review of band assignments in near infrared spectra of wood and wood components. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, 19, p. 287-308, 2011.

SILVA, C. S. et al. Classification of blue pen ink using infrared spectroscopy and linear discriminant analysis. **Microchemical Journal**, v. 109, p. 122-127, 2013.

SILVA, C. S. et al. Near infrared hyperspectral imaging for forensic analysis of document forgery. **Analyst**, v. 139, n. 20, p. 5176-5184, 2014.

SILVA, C. S. et al. Detecting semen stains on fabrics using near infrared hyperspectral images and multivariate models. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 95, p. 23-35, 2017.

SMITHA, S. L. et al. Size-dependent optical properties of Au nanorods. **Progress in Natural Science: Materials International**, v. 23, p. 36-43, 2013.

TOUKA, N. et al. Copper phthalocyanine nanocrystals embedded into polymer host: Preparation and structural characterization. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, v. 13, p. 52-56, 2013.

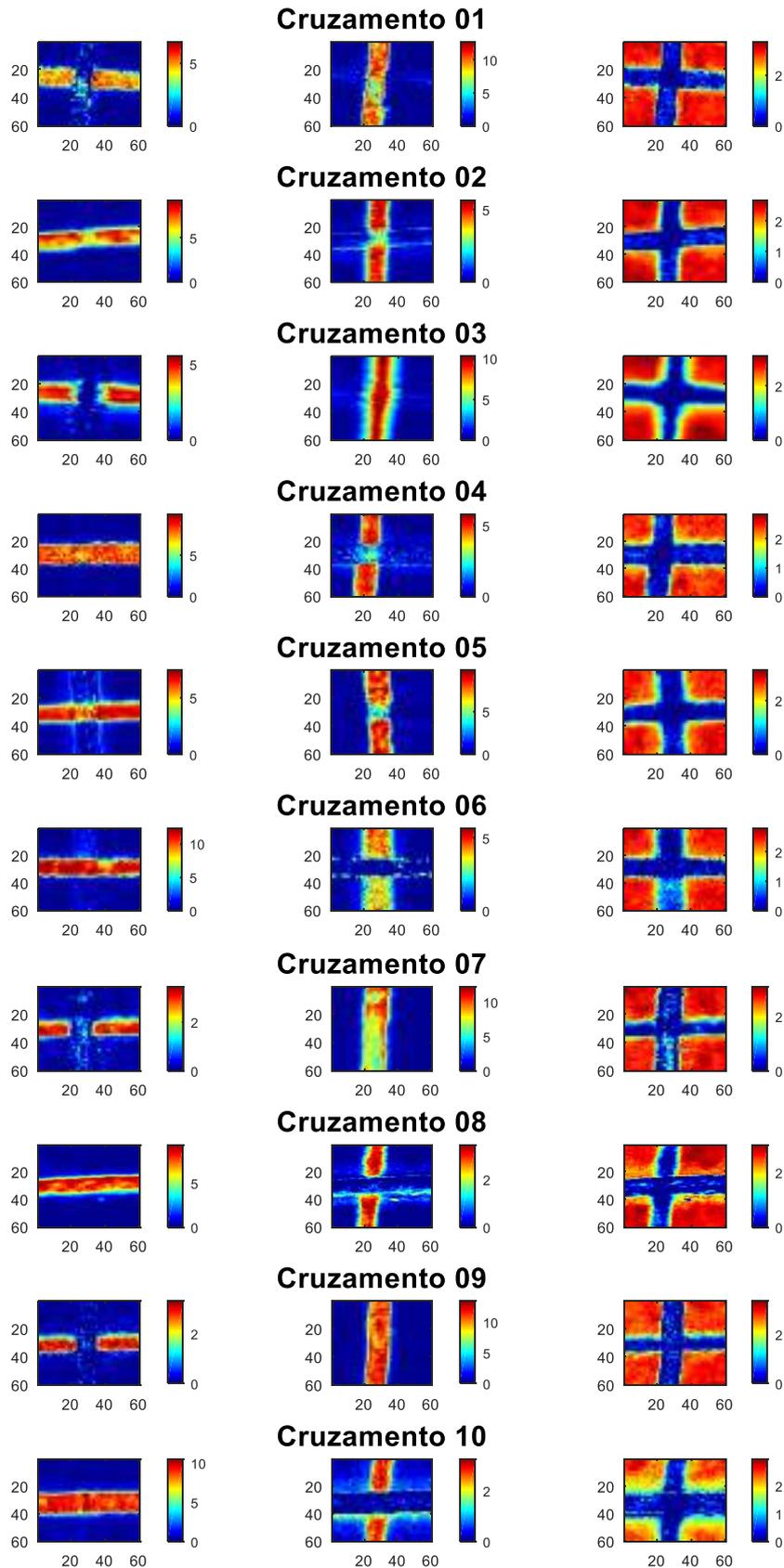
VAID, B. A.; RANA, R. S.; DHAWAN, C. Determination of sequence of strokes through reflection spectra. **Problems of Forensic Sciences**, v. 87, p. 193-203, 2011.

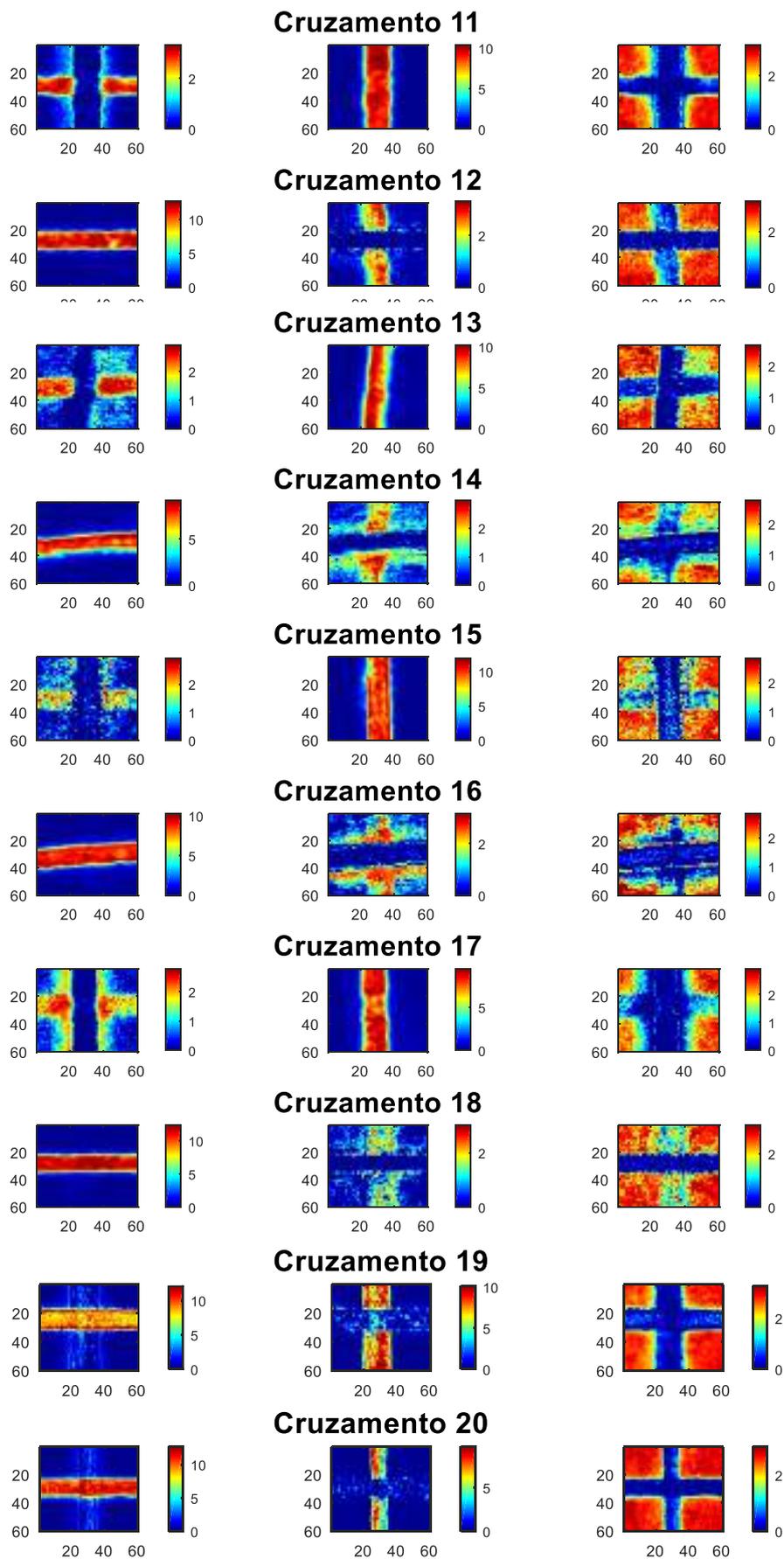
VANDENABEELE, P. **Practical Raman Spectroscopy: An introduction**. 1. ed. Reino Unido: Wiley, 2013. 192 p.

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, 2012.

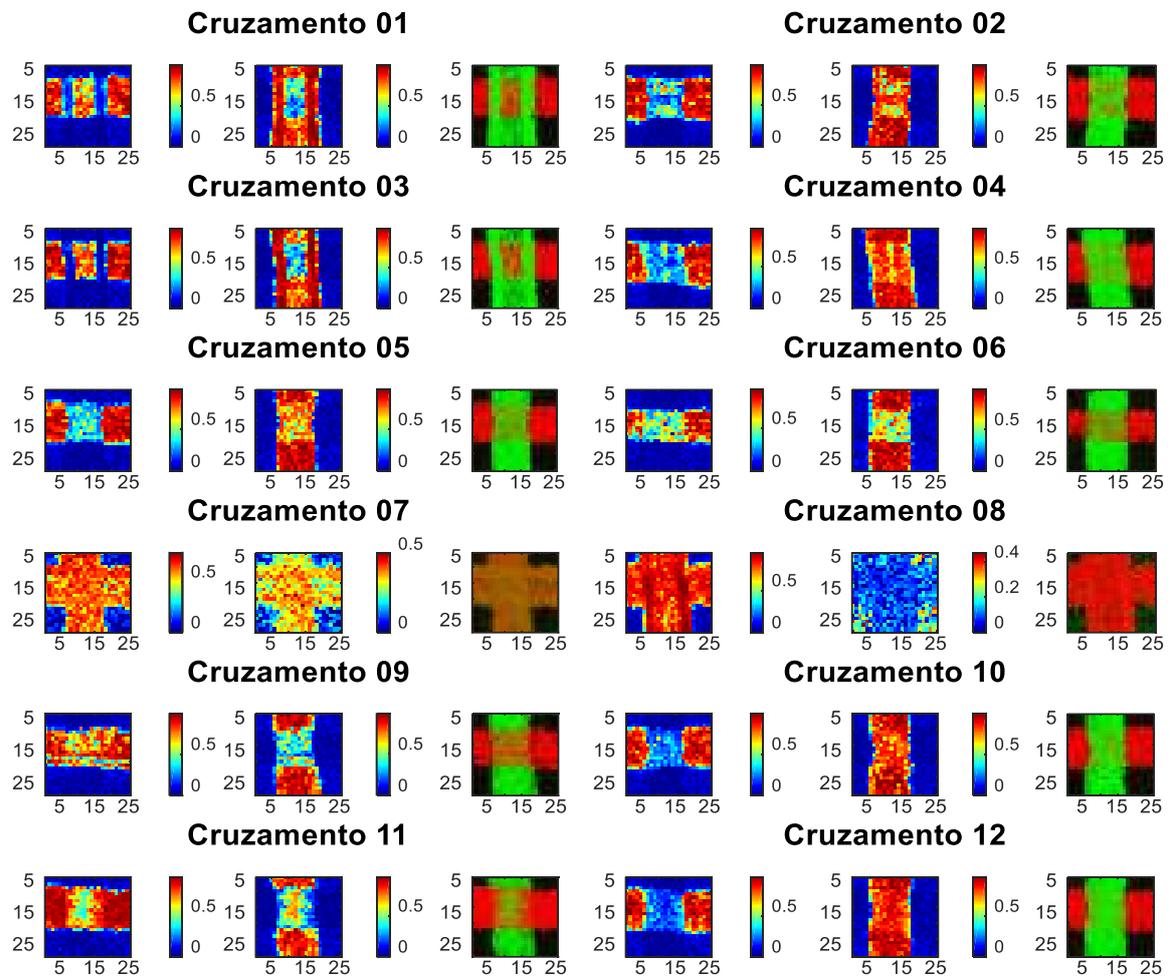
ZAPATA, F.; ORTEGA-OJEDA, F. E.; GARCÍA-RUIZ, C. Revealing the location of semen, vaginal fluid and urine in stained evidence through near infrared chemical imaging. **Talanta**, v. 166, p. 292-299, 2017.

APÊNDICE A - Mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre as canetas de tinta preta utilizando imagens hiperespectrais na região do NIR.

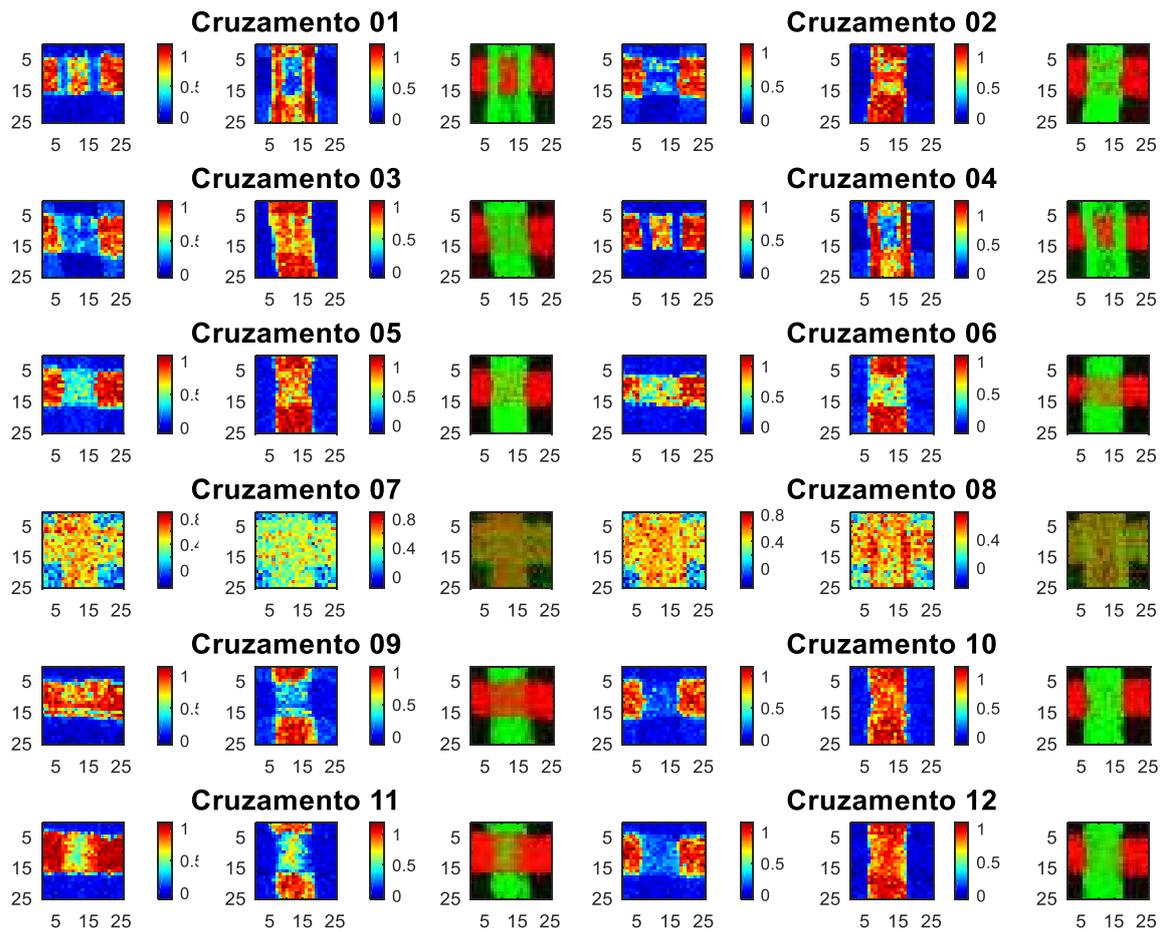




APÊNDICE B – Mapas de concentração (MCR-ALS) e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta azul utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.



APÊNDICE C – Mapas de previsão (PLS-DA) e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta azul utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.



APÊNDICE D – Valores limite utilizados na análise objetiva dos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.

Nº do cruzamento	Média (\bar{X})		Desvio Padrão (s)		Valores limite					
					$\bar{X}-s$		$\bar{X}-1,96s$ (95%)		$\bar{X}-2,575s$ (99%)	
	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço
01	0,8311	0,7622	0,0910	0,1097	0,7401	0,6525	0,6527	0,5472	0,5968	0,4798
02	0,8664	0,8918	0,0758	0,0734	0,7906	0,8184	0,7179	0,7479	0,6713	0,7027
03	0,8883	0,7729	0,0655	0,1022	0,8228	0,6707	0,7600	0,5725	0,7197	0,5097
04	0,8291	0,9034	0,0950	0,0262	0,7341	0,8772	0,6429	0,8520	0,5844	0,8359
05	0,8749	0,9054	0,0469	0,0439	0,8279	0,8614	0,7828	0,8192	0,7540	0,7922
06	0,8408	0,8850	0,0788	0,0486	0,7620	0,8399	0,6863	0,7933	0,6378	0,7634
07	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO
08	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO
09	0,8755	0,8990	0,0710	0,0353	0,8045	0,8637	0,6527	0,5472	0,6928	0,8082
10	0,8861	0,8935	0,0736	0,0899	0,8125	0,8036	0,7179	0,7479	0,6966	0,6620
11	0,9238	0,8363	0,0178	0,0644	0,9060	0,7719	0,7600	0,5725	0,8181	0,6706
12	0,8708	0,8986	0,0673	0,043	0,8034	0,8556	0,6429	0,8520	0,6974	0,7879

APÊNDICE E – Percentual de *pixels* selecionados nos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.

Nº do cruzamento	Percentual de <i>pixels</i> selecionados (%)							
	$X \geq \bar{X}$		$X \geq \bar{X}-s$		$X \geq \bar{X}-1,96s$ (95%)		$X \geq \bar{X}-2,575s$ (99%)	
	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço
01	5,6	45,4	15,4	55,2	23,8	60,8	28,0	65,7
02	0,8	4,2	1,7	32,5	2,5	50,0	5,8	65,8
03	0,8	48,5	8,3	51,5	20,4	56,1	28,0	59,8
04	0	0,9	0	4,5	1,8	15,4	1,8	20,9
05	1,7	0	5,0	0,8	5,0	5,0	5,8	14,9
06	0	3,0	0	6,0	1,0	11,0	9,0	12,0
07	-	-	-	-	-	-	-	-
08	-	-	-	-	-	-	-	-
09	4,5	0	20,0	0	32,7	0	40,0	0,9
10	0	6,4	0,9	46,4	1,8	81,8	1,8	86,4
11	0	0	0	0	1,5	4,5	4,5	10,6
12	0	8,3	0	29,8	0,8	48,8	1,7	57,0

APÊNDICE F – Valores limite utilizados na análise objetiva e percentual de *pixels* selecionados nos mapas de previsão (PLS-DA) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.

Nº do cruzamento	Valores limite do PLS_Toolbox			Percentual de <i>pixels</i> selecionados (%)			
				Valores limite do PLS_Toolbox		Valor limite padrão (0.5)	
	1º traço	2º traço	Papel	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço
01	0,3205	0,2468	0,7637	63,00	67,00	53,00	46,00
02	0,2275	0,3155	0,7676	47,50	98,33	8,33	92,5
03	0,3193	0,2223	0,8057	27,27	94,70	7,58	87,88
04	0,2255	0,4494	0,7600	54,55	58,18	46,36	53,64
05	0,4974	0,3220	0,7141	18,18	93,39	17,36	89,26
06	0,2605	0,4388	0,7518	89,00	82,00	57,00	66,00
07	0,5329	0,4062	0,4834	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO
08	0,3717	0,5337	0,4912	ERRO	ERRO	ERRO	ERRO
09	0,4424	0,4650	0,3654	89,09	14,55	84,55	11,82
10	0,3122	0,2157	0,8214	7,27	98,18	1,82	96,36
11	0,3089	0,2389	0,7933	100,00	65,29	84,30	33,06
12	0,3160	0,3820	0,7223	6,06	97,73	2,27	96,21

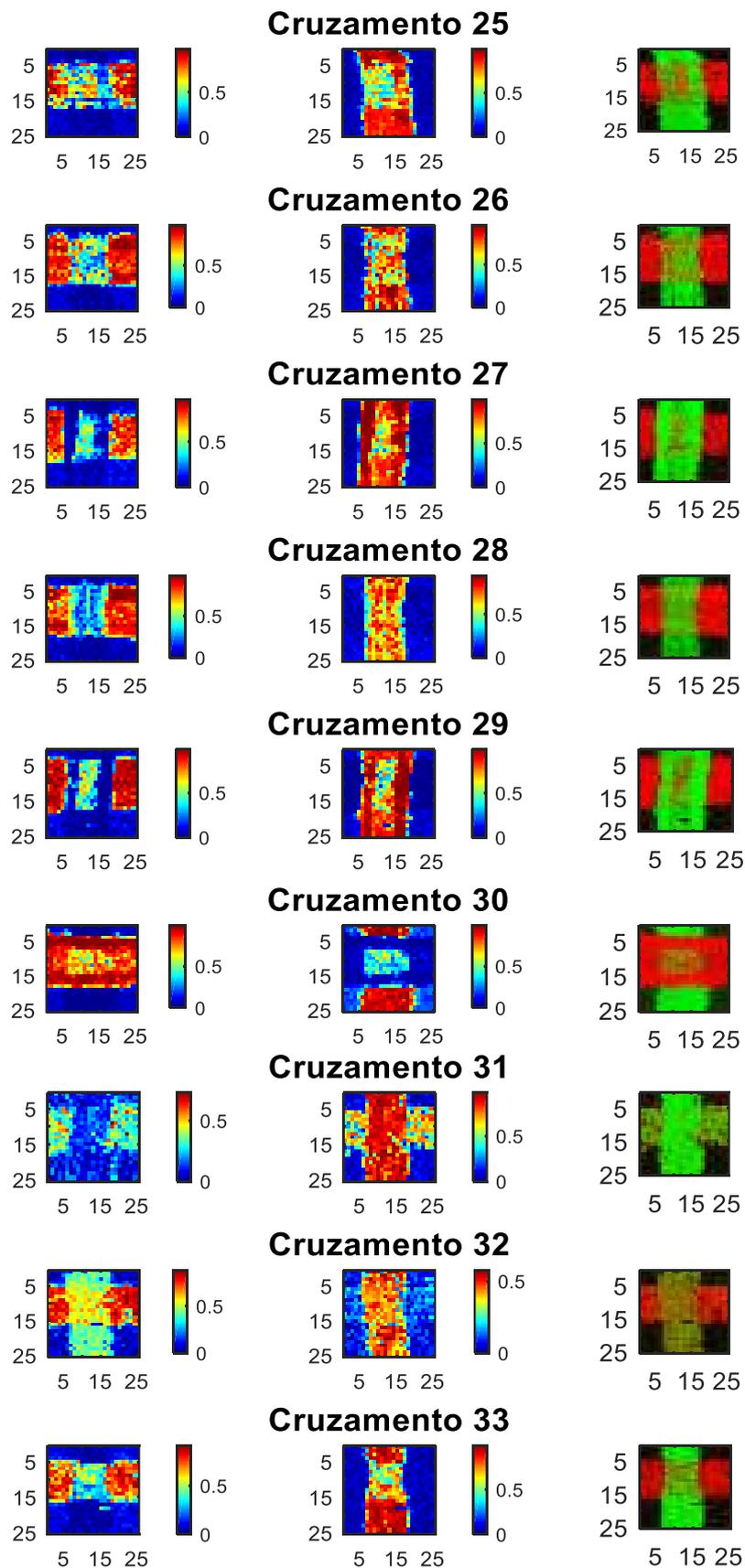
APÊNDICE G – Valores limite utilizados na análise objetiva dos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.

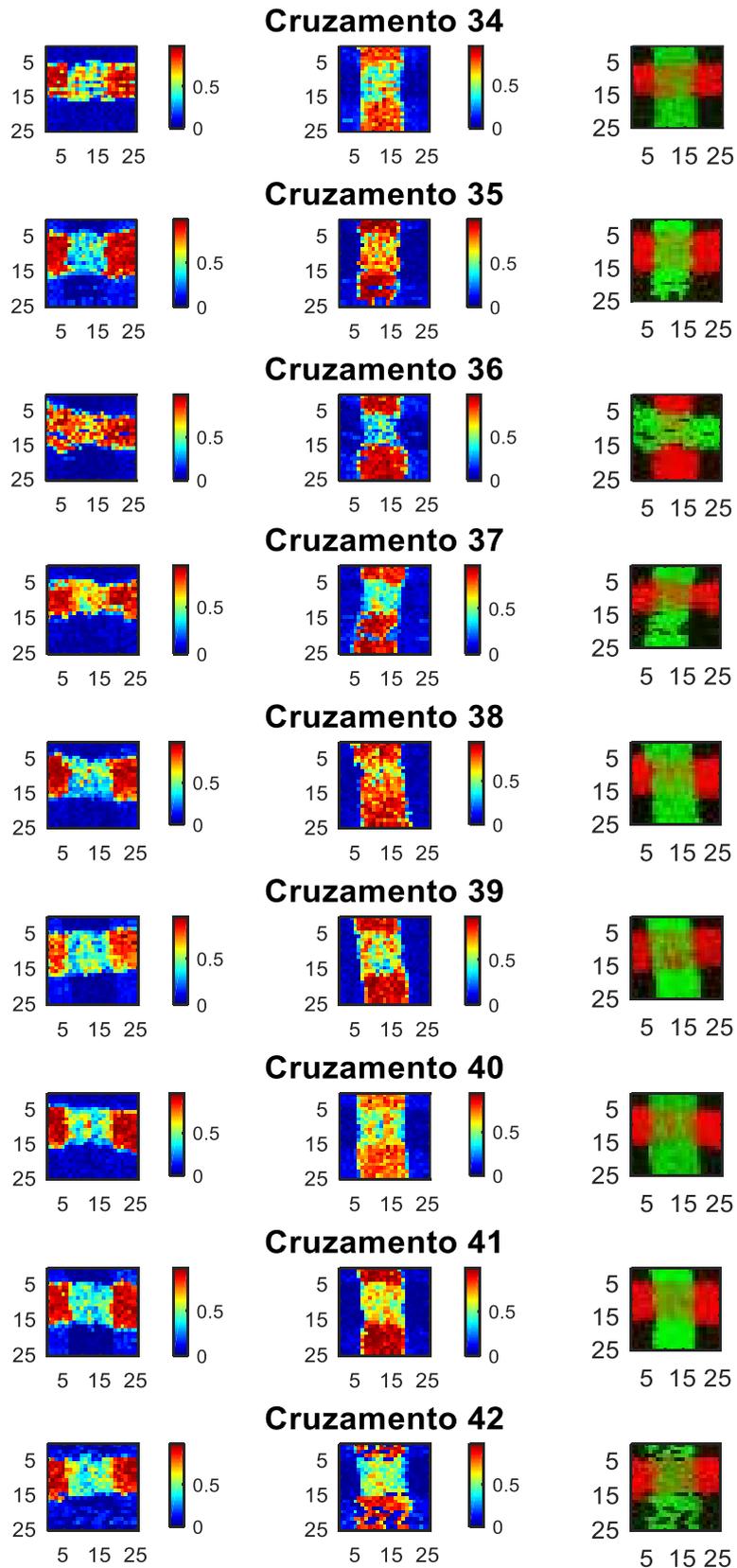
Nº do cruzamento	Média (\bar{X})		Desvio Padrão (s)		Valores limite					
					$\bar{X}-s$		$\bar{X}-1,96s$ (95%)		$\bar{X}-2,575s$ (99%)	
	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço
13	0,7437	0,8193	0,0973	0,0846	0,6464	0,7347	0,7828	0,8192	0,4931	0,6014
14	0,8400	0,7348	0,0827	0,0563	0,7574	0,6785	0,6863	0,7933	0,6272	0,5898
15	0,8858	0,7911	0,0335	0,1038	0,8522	0,6872	0,7364	0,8299	0,7994	0,5237
16	0,8105	0,8760	0,0988	0,0402	0,7117	0,8358	0,7418	0,7173	0,5560	0,7725
17	0,8785	0,7289	0,042	0,0473	0,8365	0,6815	0,8890	0,7101	0,7703	0,6070
18	0,7394	0,8622	0,0491	0,0747	0,6903	0,7875	0,7388	0,8143	0,6130	0,6699
19	0,8831	0,8084	0,0563	0,0364	0,8268	0,7720	0,5530	0,6534	0,7382	0,7148
20	0,8167	0,8702	0,0557	0,0507	0,7611	0,8194	0,6780	0,6244	0,6733	0,7396
21	0,8434	0,5641	0,0648	0,0521	0,7786	0,5120	0,8200	0,5875	0,6765	0,4299
22	0,6000	0,8121	0,0509	0,0567	0,5491	0,7554	0,6168	0,7972	0,4688	0,6662
23	0,9268	0,6097	0,0308	0,0847	0,8960	0,5250	0,7961	0,6361	0,8476	0,3916
24	0,5697	0,9448	0,0628	0,0213	0,5068	0,9234	0,6432	0,7159	0,4079	0,8899

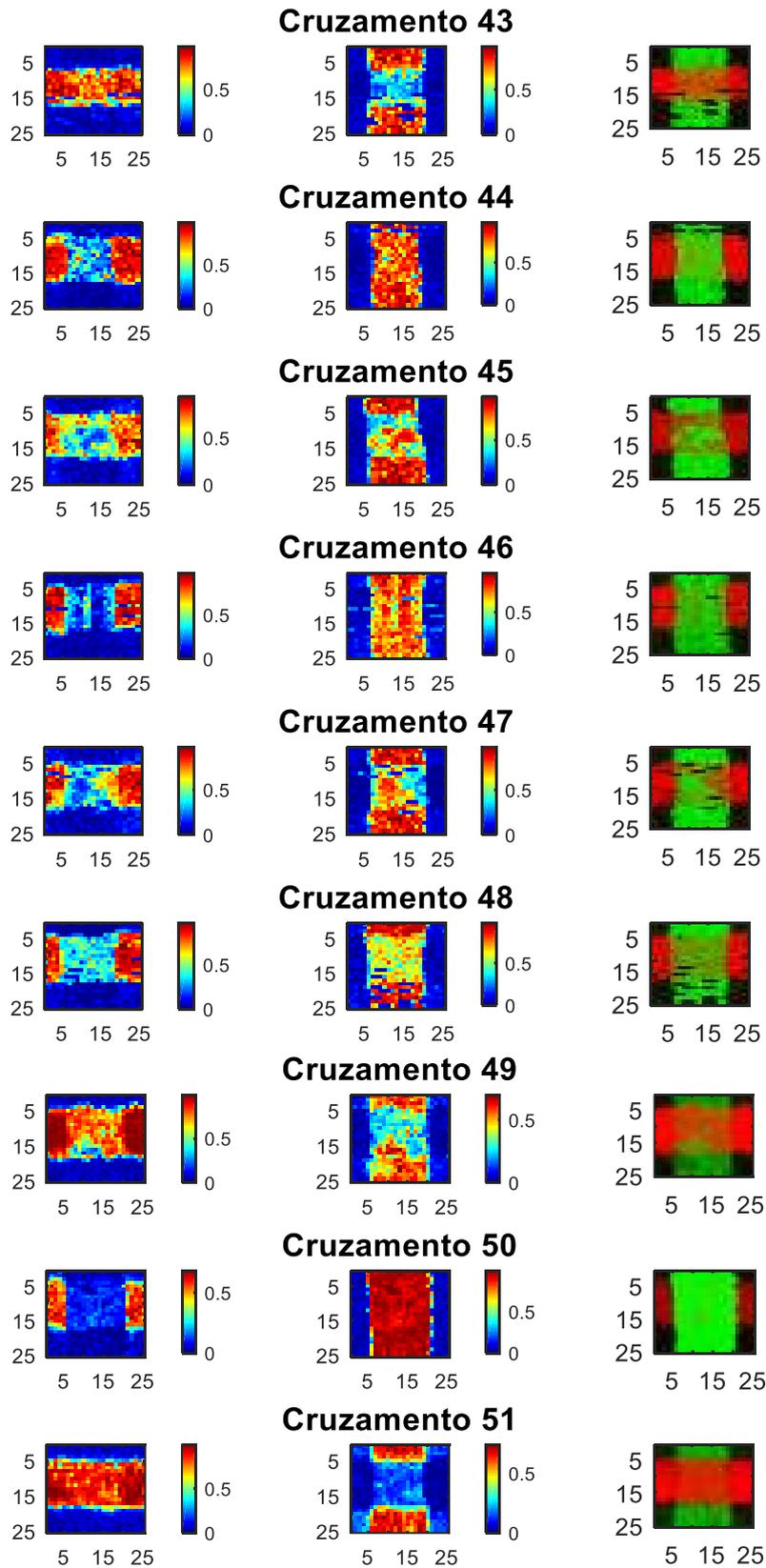
APÊNDICE I – Valores limite utilizados na análise objetiva e percentual de *pixels* selecionados nos mapas de previsão (PLS-DA) dos cruzamentos entre canetas de tinta preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.

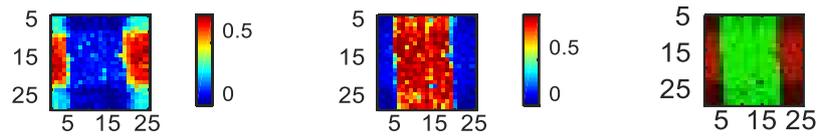
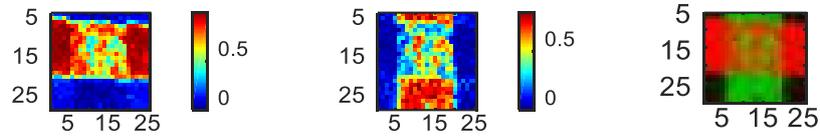
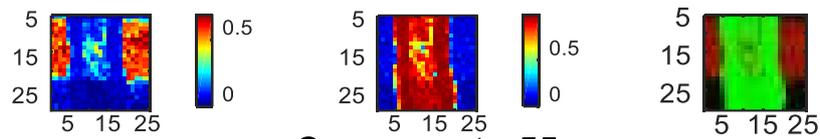
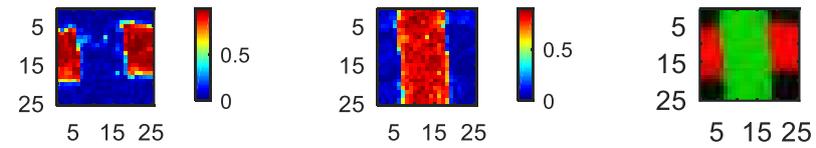
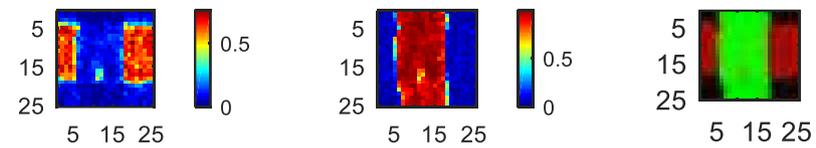
Nº do cruzamento	Valores limite do PLS_Toolbox			Percentual de <i>pixels</i> selecionados (%)			
				Valores limite do PLS_Toolbox		Valor limite padrão (0.5)	
	1º traço	2º traço	Papel	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço
13	0,3214	0,2475	0,6544	85,45	90,91	36,36	67,27
14	0,2536	0,3948	0,6547	95,00	66,00	62,00	36,00
15	0,3423	0,2642	0,6942	82,73	98,18	37,27	78,18
16	0,2529	0,3917	0,6594	96,21	31,06	77,27	19,70
17	0,4117	0,3666	0,5526	52,07	81,82	27,27	49,59
18	0,3500	0,4143	0,6076	98,35	28,10	71,07	9,92
19	0,2539	0,3823	0,5589	100,00	0,00	99,23	0,00
20	0,3775	0,2654	0,5697	0,00	100,00	0,00	99,39
21	0,3275	0,3272	0,5222	100,00	2,08	88,19	0,00
22	0,3134	0,2973	0,5942	0,00	100,00	0,00	100,00
23	0,3463	0,3524	0,5851	97,20	0,00	87,41	0,00
24	0,3969	0,6777	0,3301	0,00	90,00	0,00	98,57

APÊNDICE J - Mapas de concentração (MCR-ALS) e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.

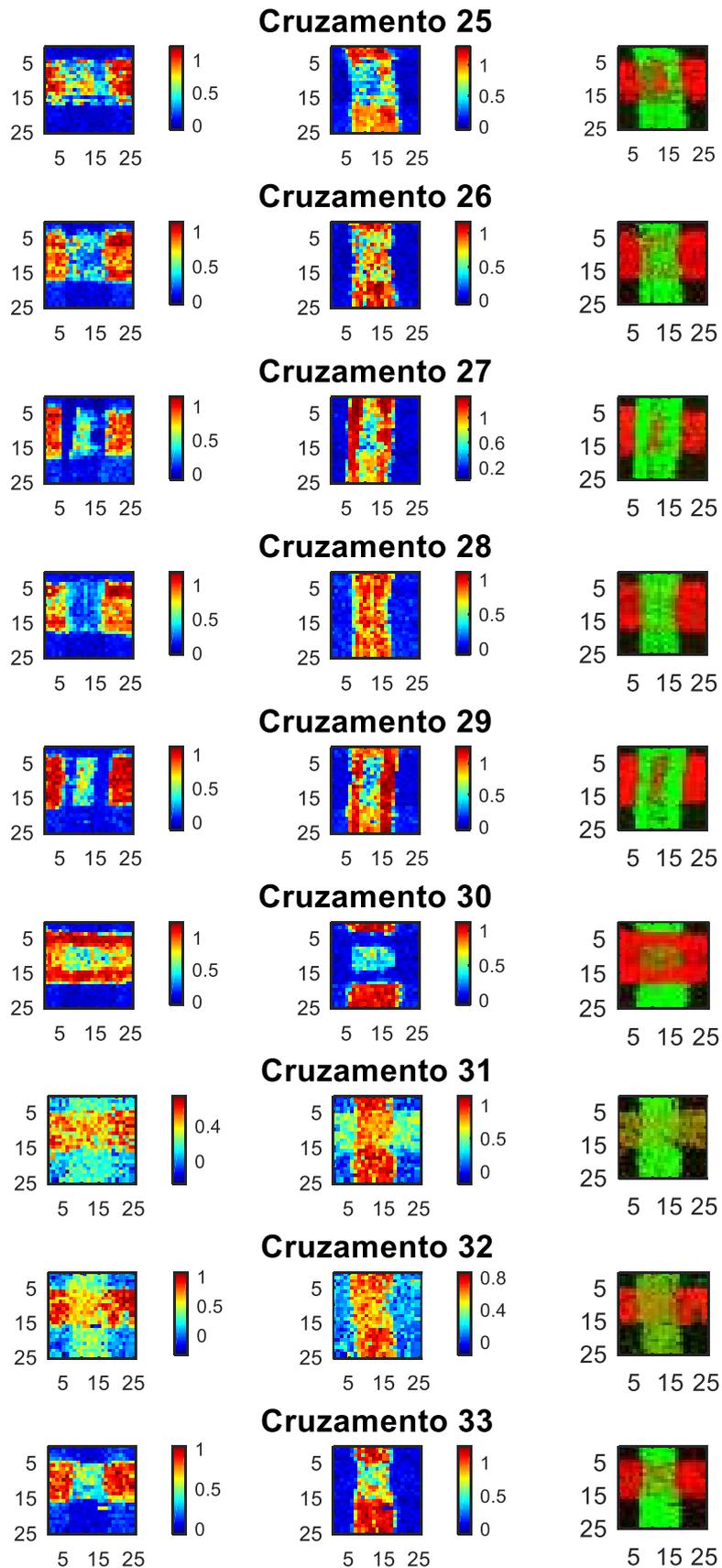


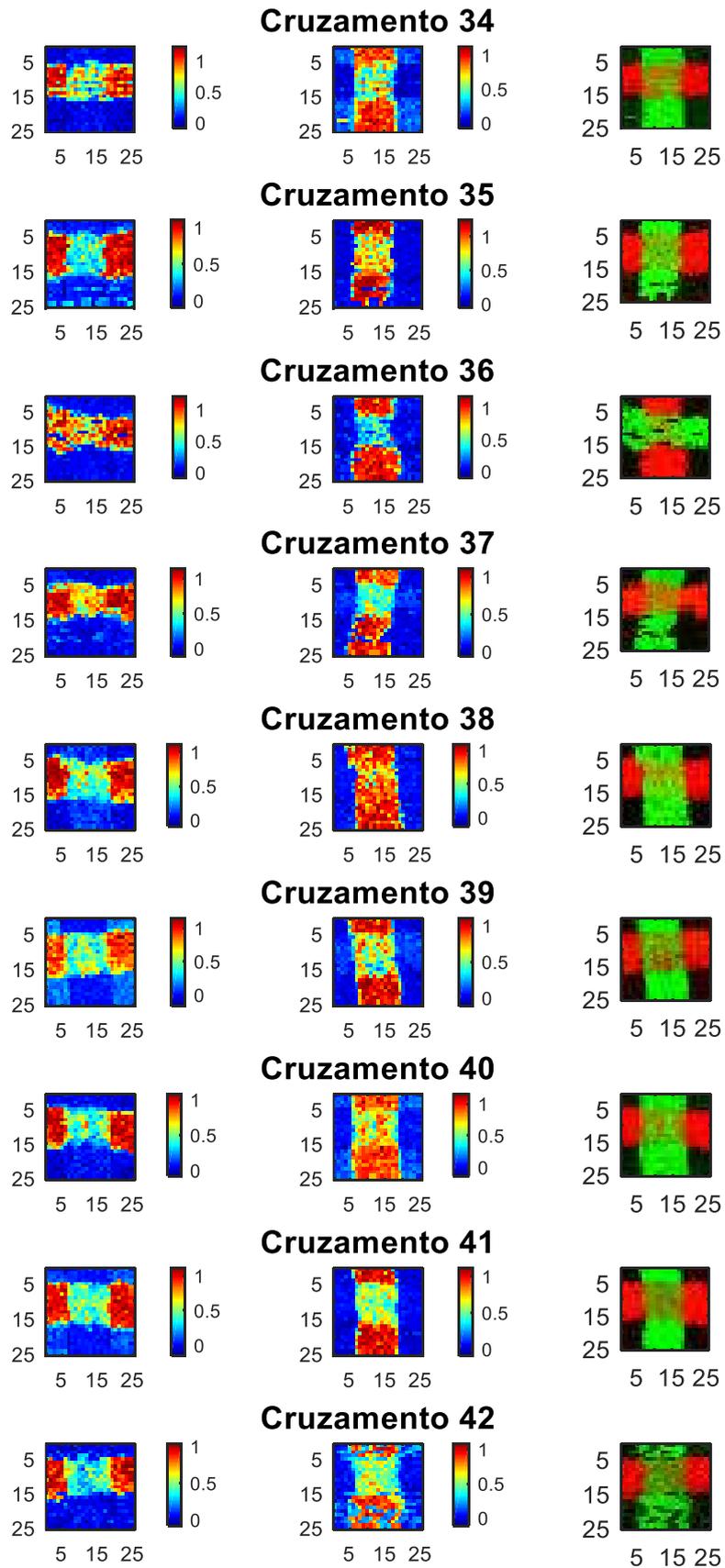




Cruzamento 52**Cruzamento 53****Cruzamento 54****Cruzamento 55****Cruzamento 56**

APÊNDICE K – Mapas de previsão (PLS-DA) e imagens falsas dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.





APÊNDICE L - Valores limite utilizados na análise objetiva dos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.

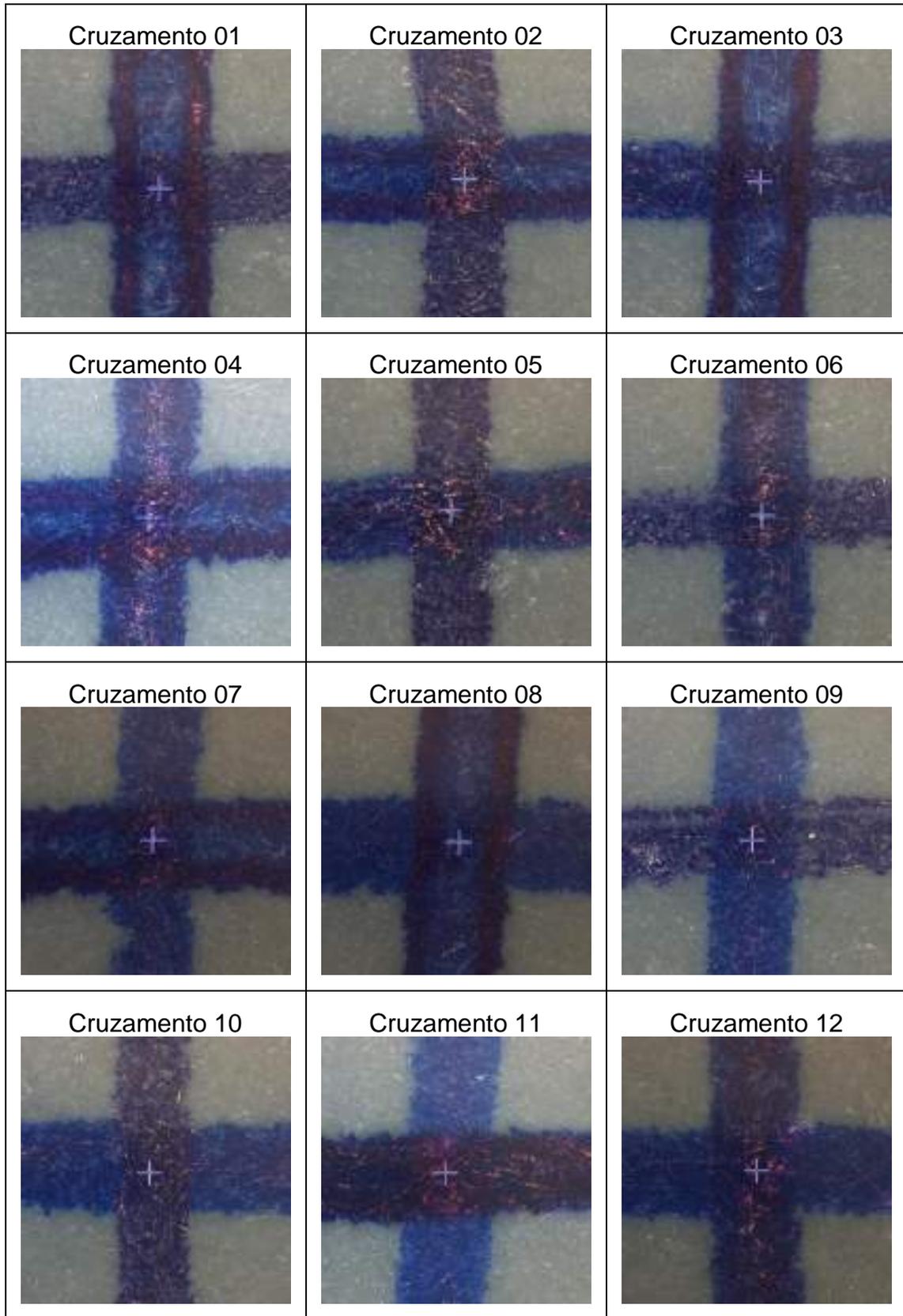
Nº do cruzamento	Média (\bar{X})		Desvio Padrão (s)		Valores limite					
					\bar{X} -s		\bar{X} -1,96s (95%)		\bar{X} -2,575s (99%)	
	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço
25	0,8505	0,8261	0,1023	0,0415	0,7482	0,7846	0,6501	0,7447	0,5872	0,7192
26	0,8341	0,8529	0,067	0,0863	0,7671	0,7666	0,7029	0,6838	0,6617	0,6307
27	0,8183	0,7997	0,047	0,0846	0,7713	0,715	0,7262	0,6338	0,6973	0,5817
28	0,8278	0,7168	0,0946	0,1148	0,7332	0,602	0,6424	0,4919	0,5842	0,4213
29	0,9009	0,8628	0,0583	0,0800	0,8426	0,7828	0,7866	0,7060	0,7507	0,6568
30	0,8406	0,8893	0,0649	0,0309	0,7757	0,8584	0,7134	0,8287	0,6735	0,8097
31	0,3651	0,8977	0,0800	0,0403	0,2852	0,8574	0,2084	0,8187	0,1593	0,7939
32	0,7640	0,4592	0,0501	0,0865	0,7139	0,3727	0,6658	0,2897	0,6350	0,2365
33	0,7476	0,8960	0,088	0,067	0,6595	0,8289	0,5750	0,7646	0,5209	0,7234
34	0,8775	0,7703	0,0956	0,0557	0,7819	0,7146	0,6901	0,6610	0,6313	0,6268
35	0,8887	0,9369	0,0356	0,0702	0,8531	0,8667	0,8189	0,7993	0,7971	0,7561
36	0,7382	0,9184	0,1919	0,0410	0,5463	0,8774	0,3620	0,8381	0,2440	0,8128
37	0,8499	0,8319	0,0478	0,0704	0,8021	0,7616	0,7563	0,6940	0,7269	0,6507
38	0,9115	0,8333	0,0407	0,0775	0,8709	0,7558	0,8318	0,6815	0,8068	0,6339
39	0,7529	0,8836	0,0698	0,0532	0,6831	0,8304	0,6161	0,7794	0,5732	0,7467
40	0,8894	0,7319	0,0461	0,0733	0,8433	0,6586	0,7991	0,5882	0,7707	0,5431
41	0,8923	0,9277	0,0350	0,0461	0,8574	0,8816	0,8238	0,8373	0,8023	0,8089
42	0,9017	0,8515	0,0617	0,0564	0,8400	0,7951	0,7808	0,7409	0,7429	0,7063
43	0,8650	0,8689	0,0612	0,0789	0,8038	0,7900	0,7450	0,7143	0,7074	0,6658
44	0,8755	0,8514	0,0386	0,0742	0,8369	0,7771	0,7998	0,7058	0,7760	0,6602
45	0,7608	0,8802	0,1016	0,0460	0,6592	0,8342	0,5616	0,7901	0,4991	0,7618
46	0,8092	0,7829	0,0628	0,1049	0,7464	0,6781	0,6861	0,5774	0,6475	0,5129
47	0,8660	0,8603	0,0608	0,0693	0,8053	0,7910	0,7469	0,7245	0,7096	0,6819
48	0,8437	0,8705	0,0813	0,0732	0,7624	0,7973	0,6843	0,7270	0,6343	0,6820
49	0,5562	0,9372	0,0623	0,0268	0,4939	0,9103	0,4341	0,8846	0,3958	0,8681
50	0,9689	0,5743	0,0108	0,0520	0,9581	0,5223	0,9477	0,4724	0,9410	0,4405
51	0,9261	0,6529	0,0456	0,0756	0,5937	0,7791	0,5499	0,7064	0,5218	0,6599
52	0,6393	0,8547	0,0704	0,0493	0,8558	0,6037	0,7882	0,5563	0,7449	0,5260
53	0,9414	0,7201	0,0616	0,0190	0,5306	0,9111	0,4715	0,8929	0,4336	0,8812
54	0,5922	0,9302	0,0320	0,0516	0,9094	0,6685	0,8788	0,6190	0,8591	0,5873
55	0,9415	0,8157	0,0387	0,0371	0,6003	0,8820	0,5632	0,8464	0,5394	0,8235
56	0,6389	0,9191	0,0192	0,0370	0,9223	0,7787	0,9038	0,7432	0,8920	0,7204

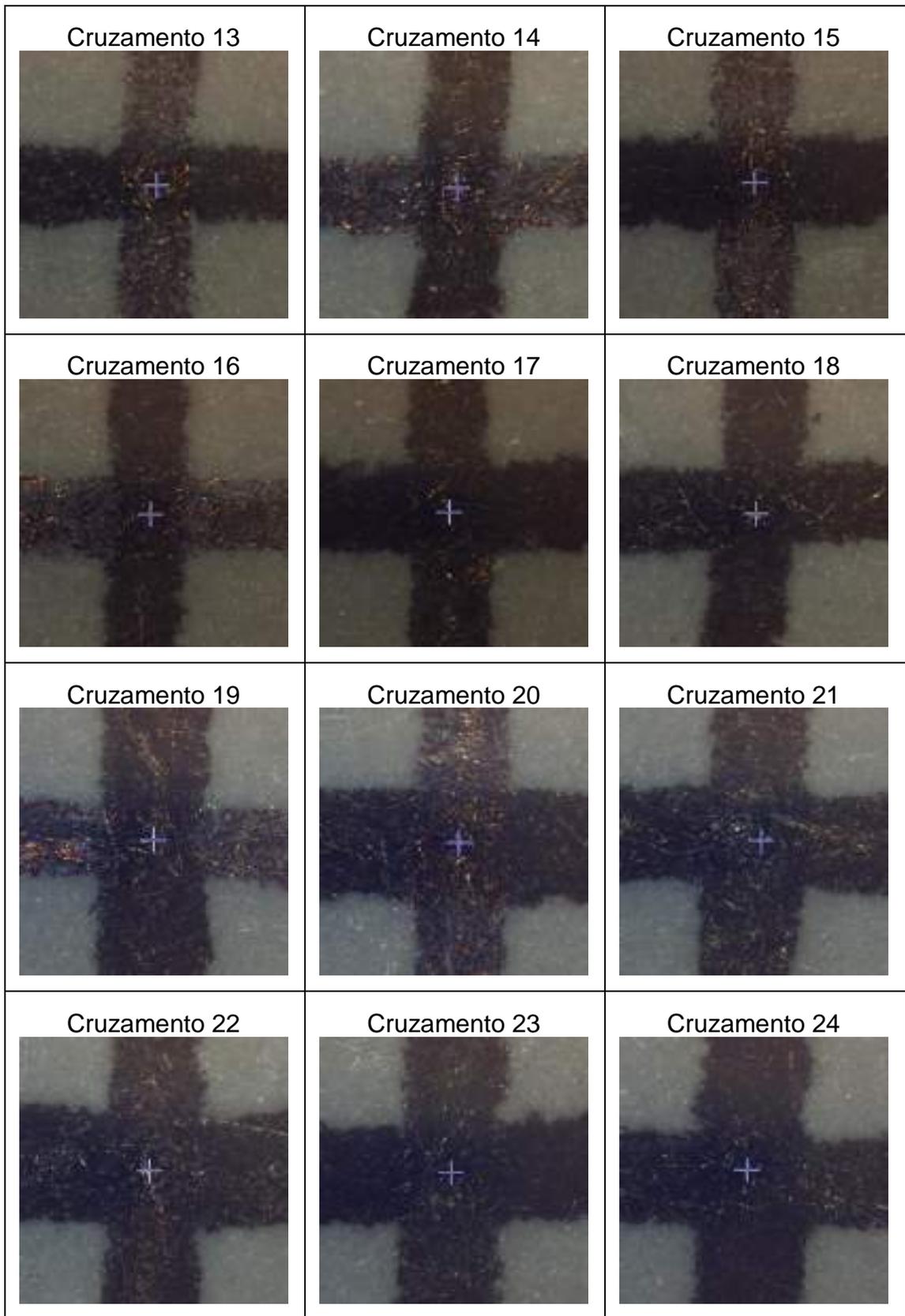
APÊNDICE M - Percentual de *pixels* selecionados nos mapas de concentração (MCR-ALS) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.

Nº do cruzamento	Percentual de <i>pixels</i> selecionados (%)							
	$X \geq \bar{X}$		$X \geq \bar{X}-s$		$X \geq \bar{X}-1,96s$ (95%)		$X \geq \bar{X}-2,575s$ (99%)	
	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço
25	0	12,7	9,1	20,0	20,0	27,3	30,0	30,0
26	4,9	4,9	6,3	18,2	10,5	34,3	16,1	43,4
27	0	57,6	0	66,7	0	78,5	0	84,0
28	0	34,3	0,7	64,3	3,6	80,0	7,1	90,0
29	0	48,2	0	55,4	0	61,9	0,6	67,9
30	48,3	0	56,7	0	65,6	0	71,7	0
31	3	29,0	7,0	51,0	14,0	72,0	32,0	79,0
32	0	15,0	3,0	79,0	6,0	92,0	8,0	95,0
33	1,1	0	3,3	7,8	5,6	15,6	17,8	22,2
34	0	1,8	4,5	7,3	13,6	20,0	24,5	23,6
35	0,8	0,8	0,8	6,7	0,8	28,3	0,8	40,0
36	42,1	1,1	76,1	1,1	83,0	2,3	85,2	2,3
37	1,4	0	7,1	0	12,9	2,9	15,7	5,7
38	1,7	2,5	1,7	22,3	1,7	47,9	2,5	62,8
39	0	0,9	0	2,7	1,8	10,0	7,3	11,8
40	0	4,9	1,4	20,3	2,1	36,4	4,2	47,6
41	0	0	0	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0,9	0,9	2,8
43	9,9	0	27,5	0	48,4	0	60,4	1,1
44	0	20,3	0	44,1	0	67,1	0,7	79,7
45	1,4	2,1	3,5	9,0	17,4	13,9	32,6	18,8
46	0	23,1	0,7	51,0	0,7	72,0	0,7	88,1
47	0	0,6	0	10,9	0	19,2	1,9	25,6
48	0	0,5	0	1,6	1,6	5,5	2,2	14,8
49	0	6,6	0	10,4	0	15,9	0	18,1
50	0	39,4	0	67,9	0	89,1	0	91,7
51	2,8	0	41,0	0	70,8	0	85,4	0
52	0	82,1	0	89,7	0	94,2	0	97,4
53	0,6	0,6	0,6	2,4	2,4	8,9	4,7	11,8
54	0	44,0	0	52,7	0	56,0	0	61,0
55	0	37,2	0	68,6	0	86,0	0	90,9
56	0	76,3	0	88,5	0	92,3	0	95,5

APÊNDICE N – Valores limite utilizados na análise objetiva e percentual de *pixels* selecionados nos mapas de previsão (PLS-DA) dos cruzamentos entre canetas de tinta azul e preta utilizando imagens hiperespectrais na região do Raman.

Nº do cruzamento	Valores limite do PLS_Toolbox			Percentual de <i>pixels</i> selecionados (%)			
				Valores limite do PLS_Toolbox		Valor limite padrão (0.5)	
	1º traço	2º traço	Papel	1º traço	2º traço	1º traço	2º traço
25	0,3190	0,2766	0,6137	69,09	80,91	45,45	42,73
26	0,2302	0,2800	0,7509	74,13	91,61	25,87	74,13
27	0,4864	0,2082	0,7602	14,58	99,31	13,89	85,42
28	0,2073	0,4470	0,7399	70,00	95,00	7,86	91,43
29	0,4369	0,2145	0,7426	22,62	94,05	13,69	76,79
30	0,2242	0,4527	0,7455	98,89	13,89	85,56	10,56
31	0,4471	0,5002	0,7666	28,00	97,00	16,00	97,00
32	0,4977	0,4499	0,7512	81,00	89,00	81,00	68,00
33	0,3404	0,2792	0,7059	57,78	96,67	25,56	71,11
34	0,2752	0,3462	0,7602	81,82	84,55	56,36	51,82
35	0,3703	0,2179	0,6886	44,17	99,17	15,00	90,00
36	0,2997	0,4755	0,6051	82,95	21,59	78,41	18,18
37	0,2531	0,3548	0,8106	98,57	77,14	91,43	27,14
38	0,3931	0,5999	0,3303	60,33	84,30	35,54	92,56
39	0,4653	0,4008	0,4735	49,09	79,09	34,55	69,09
40	0,3512	0,3474	0,6175	60,14	90,21	36,36	72,03
41	0,3291	0,2938	0,6023	80,00	99,00	24,00	71,00
42	0,3069	0,6930	0,2936	65,74	4,63	17,59	43,52
43	0,2075	0,2212	0,8047	97,80	42,86	96,70	3,30
44	0,2540	0,2571	0,7368	34,27	100,00	4,20	96,50
45	0,3603	0,4386	0,4690	69,44	54,86	47,92	43,75
46	0,2574	0,2991	0,7078	34,27	98,60	2,10	93,71
47	0,4413	0,2966	0,7522	31,41	71,15	24,36	41,67
48	0,2616	0,5415	0,5568	54,95	65,38	3,30	71,18
49	0,2416	0,4081	0,5832	97,80	8,79	85,71	3,30
50	0,4335	0,5917	0,3403	0,00	100,00	0,00	100,00
51	0,1946	0,3565	0,6250	100,00	0,00	98,61	0,00
52	0,3580	0,2160	0,6383	0,64	100,00	0,00	99,36
53	0,3691	0,2915	0,5935	98,82	7,69	88,17	0,00
54	0,3814	0,4137	0,4930	0,55	99,45	0,55	98,35
55	0,2748	0,2630	0,7565	0,00	100,00	0,00	100,00
56	0,3575	0,2764	0,6316	1,92	99,36	0,64	98,72

APÊNDICE O – Imagens RGB dos cruzamentos do tipo azul x azul.

APÊNDICE P – Imagens RGB dos cruzamentos do tipo preto x preto.

APÊNDICE Q – Imagens RGB dos cruzamentos do tipo azul x preto