Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Determinação de Pb, Ba e Sb em resíduos de disparos de armas de fogo por ET AAS e SEM-EDS, visando ao diagnóstico de falso-positivo

Brian Cardoso Ferreira

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: **Química**.

RIBEIRÃO PRETO - SP

2017

Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Determinação de Pb, Ba e Sb em resíduos de disparos de armas de fogo por ET AAS e SEM-EDS, visando ao diagnóstico de falso-positivo

Brian Cardoso Ferreira

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Márcia Andreia Mesquita Silva da Veiga

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: **Química**.

RIBEIRÃO PRETO - SP

2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Ferreira, Brian Cardoso

Determinação de Pb, Ba e Sb em resíduos de disparos de armas de fogo por ET AAS e SEM-EDS, visando ao diagnóstico de falso-positivo. Ribeirão Preto, 2017.

96 p. :25 il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP - Área de concentração: Química.

Orientadora: da Veiga, Márcia Andreia Mesquita Silva

1. Espectrometria de absorção atômica. 2. Resíduos de disparos de armas de fogo. 3. Falso-positivo. 4. Testemunha ocular. 5. Profissionais automotivos.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Brian Cardoso Ferreira

Título: Determinação de Pb, Ba e Sb em resíduos de disparos de armas de fogo por ET AAS e SEM-EDS, visando ao diagnóstico de falso-positivo

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: **Química**.

Aprovado em Ribeirão Preto, _____ de _____ de 2017.

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico esta dissertação

à minha mãe, Silvia, que me deu suporte e ensinou a nunca desistir, por mais difícil que a jornada pudesse parecer. Obrigado. Amo você.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, meus irmãos e minhas sobrinhas pelo apoio incondicional desde que optei por encarar os desafios intrínsecos ao estudo e pesquisa em Química.

À Prof.^a Dr.^a Márcia da Veiga, por todos os ensinamentos, desde a iniciação científica, que muito contribuíram para o meu desenvolvimento enquanto pesquisador; pela paciência, confiança no meu trabalho e disponibilidade em resolver problemas. Muito obrigado.

Ao Prof. Dr. Jesus, que foi fundamental para que este projeto pudesse ser executado, desde a idealização até a execução do mesmo. Sou muito grato pelo seu trabalho excelente como professor e profissional da área forense.

Ao Fernando, por me ajudar na etapa de coleta de amostras; por ter sido uma fonte indispensável de apoio durante a etapa final deste projeto e sempre acreditar no meu potencial; pela paciência e por me elevar em todos os momentos de dificuldade; por toda a felicidade que você trouxe a minha realidade; por ter se tornado essencial a todos os meus dias, em um curto espaço de tempo. Muito obrigado por tudo.

Ao meu amigo ou irmão, Igor, que sempre me incentivou a seguir em frente. Agradeço por ter me ajudado a coletar amostras e lavado as mãos de Jesus mais de 40 vezes; por todas as broncas devidas e tudo que aprendi contigo, enquanto Ser Humano incrível que é; pelos melhores momentos de distração e companhia; pela sua capacidade de se tornar, sem muito esforço, fundamental em minha vida.

À Marina, pela assistência artística em imagens utilizadas nesta dissertação e amizade, que resiste à distância física; pelos conselhos, por acreditar no meu trabalho e sempre me acompanhar nos momentos difíceis.

À Djenane, por ter aceitado de pronto a me ajudar com o longo procedimento de coleta de amostras. Agradeço pela compreensão e amizade, que resistiu ao tempo, em virtude de sermos extremamente parecidos em muitos aspectos. Continue sendo sublime e iluminada.

À Bruna, Carol, Giovana, Kodak, Maike e Tuany pelo companheirismo e por terem contribuído com o trabalho ao participarem da coleta de amostras.

Aos meus amigos: Bruna, Bruno, Flávia, Geisa, Giovana, Julia, Naira, Natália, Peterson, Pimenta, Tatá e Tati por todos os momentos compartilhados, pela paciência com minhas neuroses nas adversidades e pelo incentivo constante. Muito obrigado. Amo vocês.

A todos os integrantes e ex-integrantes do LQAIA, em especial à Fernanda, Lilian, Melina, Natália (eterna coorientadora de IC) e Taís, pelas discussões científicas enriquecedoras e, acima de tudo, pela amizade, compreensão e “conclaves”, que tornaram a caminhada muito mais leve; ao Xicó, que me auxiliou em absorção atômica e na solução de problemas. À Brenda, Luis Eduardo, Luiza, Maíke, Maísa, Maycon, Peruquetti, Thaís, e a todos os estagiários e ICs do nosso laboratório.

Aos professores que contribuíram para a minha formação enquanto Bacharel em Química com Habilitação em Forense e pesquisador, em especial à Adalgisa, Ana Paula, Celso, Délia e Rogéria. Destaco a Aline Thaís Bruni, excelente profissional e pessoa, que contribuiu muito com os procedimentos quimiométricos empregados neste projeto. Sou muito grato a tudo que aprendi com cada um de vocês.

Aos colegas do laboratório: da Prof.^a Dr.^a Yassuko, Lucas, Douglas e Fabrício, por terem cedido o banho ultrassônico diversas vezes; da Prof.^a Dr.^a Ana Paula, Marco e Marcos Antônio, por terem gentilmente fornecido água Milli-Q.

Aos funcionários do departamento de química: aos técnicos, principalmente à Aline, Cláudio e Olímpia; ao Rodrigo, pela eficiência com que desempenha as análises no microscópio eletrônico de varredura; à Josi e Lâmia, secretárias da graduação e pós-graduação, respectivamente; aos funcionários responsáveis pela limpeza do laboratório.

A todos que de alguma maneira contribuíram para que este trabalho pudesse ser conduzido e concluído: minha gratidão.

Ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo e ao Departamento de Química por conceder a estrutura necessária para a execução do projeto.

À Pró-Reitoria de Pós-Graduação da USP pela bolsa concedida e oportunidade de ser estagiário no Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE).

À CAPES, pela bolsa de Mestrado concedida durante esse período; ao CNPq e à FAPESP pelo apoio financeiro destinado ao nosso laboratório para o desenvolvimento de pesquisa.

*“Não se preocupe em entender. Viver ultrapassa
todo entendimento. Renda-se como eu me rendi.
Mergulhe no que você não conhece como eu
mergulhei. Eu sou uma pergunta.”*

(Clarice Lispector)

RESUMO

A análise de resíduos de disparos de armas de fogo (GSR) se tornou muito frequente nas atividades desenvolvidas pela perícia forense devido ao emprego constante desses artefatos em infrações penais. Quando um disparo é efetuado com emprego de munições comuns, a combustão das substâncias presentes na mistura iniciadora e na pólvora é responsável por originar agregados de partículas residuais, compostos essencialmente por Pb, Ba e Sb. Nesse contexto, este projeto de pesquisa objetivou diagnosticar falso-positivos para disparos de revólver calibre .38 SPL e pistola calibre .380 em testemunhas oculares de disparos e profissionais automotivos, os quais podem apresentar partículas características de GSR. Para esse propósito, os elementos Pb, Ba e Sb foram determinados por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (ET AAS) e as partículas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia de raios-X por energia dispersiva (SEM-EDS) nas amostras. Nas análises por ET AAS, as amostras foram coletadas por meio de esfregaços com *swabs* secos, na mão e mucosa nasal de atirador e testemunhas oculares, bem como na mão de profissionais automotivos. A extremidade dos *swabs* foi submetida a um procedimento otimizado de extração dos analitos em meio de HNO_3 2% v v⁻¹, com emprego de banho ultrassônico e termostatizado, sucedidos por centrifugação. Para a caracterização de partículas, as amostras foram coletadas em *stubs*, pressionados 40 vezes sobre a mão direita de atirador, testemunhas oculares e profissionais automotivos. As concentrações de Pb, Ba e Sb determinadas por ET AAS nas amostras revelaram a ausência de um parâmetro específico de proporção elementar para GSR em atirador; não foi diagnosticado caso de falso-positivo para disparo das armas de fogo avaliadas, resultado esse fundamentado estatisticamente por análise de componentes principais (PCA), a qual indicou que é possível identificar o atirador e diferenciá-lo de testemunhas oculares e profissionais automotivos por ET AAS, desde que a amostragem seja conduzida em mão ou mucosa nasal (revólver) e exclusivamente em mão (pistola) de suspeitos. Com relação às análises por SEM-EDS, foram detectadas partículas características de GSR na mão de testemunhas oculares e diagnosticados falso-positivos para disparo de revólver e pistola; em amostras de profissionais automotivos, não foram verificados falso-positivos para disparo das armas estudadas, embora tenham sido encontradas partículas semelhantes às de GSR oriundos de disparos efetuados com munições *lead free*. Destarte, a análise de GSR por ET AAS exibiu um aspecto promissor para a identificação de atirador, inclusive em dinâmicas criminosas com testemunha ocular de disparo.

ABSTRACT

Gunshot residue (GSR) analysis has become frequent in activities conducted by forensic expertise, due to the constant employment of firearms in crimes. When a gunshot is fired with common ammunition, the combustion of mix primer and powder substances is responsible for the formation of residual particles composed essentially of Pb, Ba e Sb elements. In this context, the aim of this study is to diagnose false positives for shots of .38 SPL revolver and .380 pistol on gunshot eyewitnesses and automotive professionals, who could exhibit GSR characteristic particles. For this purpose, Pb, Ba and Sb were determined by electrothermal atomic absorption spectrometry (ET AAS) and the particles characterized by scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDS). With regards to ET AAS determination, the samples were collected with dry swabs rubbed in hands and nasal mucus of shooter and gunshot eyewitnesses, as well as in the hand of automotive professionals. The cotton tip of swabs was submitted to an optimized procedure of analytes extraction, in 2% v v⁻¹ HNO₃ medium, with ultrasonic and thermostated baths, followed by centrifugation. For particle characterization, the samples were collected in stubs pressed 40 times in the right hand of the shooter, gunshot eyewitnesses and automotive professionals. The results of Pb, Ba and Sb determination by ET AAS in the shooter samples revealed the absence of specific parameter of elemental ratio for GSR. In addition, no case of false positive for gunshot was diagnosed, considering the firearms evaluated. This result was statistically based on principal component analysis (PCA), which indicates that it is possible to identify and distinguish the shooter from eyewitnesses and automotive professionals by ET AAS, since the sampling in suspects be conducted on hands or nasal mucus, for revolver shot, and exclusively on hands, for pistol shot. Regarding SEM-EDS analysis, characteristic GSR particles were detected on eyewitness's hand, so that false positives were diagnosed for revolver and pistol gunshot. In samples of automotive professionals, no case of false positives was verified for the firearms evaluated, although GSR-like characteristic particles from shots made with non-toxic or lead free ammunition were found. Thus, the GSR analysis by ET AAS demonstrated a promising aspect for shooter identification, even in crime dynamics with gunshot eyewitness.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Principais componentes externos do mecanismo de disparo de um revólver comum. Neste tipo de arma, as munições são armazenadas no tambor. Adaptado de [6].	21
Figura 2. Número de óbitos que tiveram como causa básica disparo de armas de fogo, no período de 1985 a 2014, considerando a população total do Brasil. Adaptado de [10].	23
Figura 3. Porcentagem de homicídios do número total de óbitos que tiveram como causa básica disparo de armas de fogo, no período de 1985 a 2014, considerando a população total do Brasil. Adaptado de [10].	23
Figura 4. Reação química do teste colorimétrico conduzido com o íon rodizonato, empregado na identificação de Pb em GSR por meio da formação do complexo vermelho-rosado de C_6O_6Pb . Adaptado de [16].	25
Figura 5. Representação esquemática dos principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica. Adaptado de [47].	32
Figura 6. (A) Forno de grafite e (B) forno de grafite com plataforma, desenvolvidos por L'vov e utilizados como atomizador na técnica ET AAS. Adaptado de [51].	34
Figura 7. Principais componentes do equipamento empregado em HR-CS AAS: (1) lâmpada de arco curto de Xe; (2) lâmpada de catodo oco (opcional); (3) espelhos elipsoidais; (4) atomizador: chama ou forno de grafite; (5) fenda de entrada; (6) espelhos parabolóides; (7) prisma; (8) fenda intermediária; (9) rede de difração Echelle e (10) detector CCD. Adaptado de [55].	36
Figura 8. (A) Revólver calibre .38 SPL e (B) pistola calibre .380 utilizados na amostragem de GSR.	49
Figura 9. Disposição de (A) atirador e (B) testemunhas oculares durante os disparos efetuados com revólver calibre .38 SPL e pistola calibre .380 para amostragem de GSR. A linha pontilhada é definida como a linha de tiro.	51

Figura 10. Fluxograma do mecanismo de ação proposto para MR, empregados como modificadores químicos permanentes em plataforma de forno de grafite pirolítico. Adaptado de [53].	56
Figura 11. Representação esquemática do mecanismo de ação proposto para os MGP como modificadores químicos permanentes [53], [75]. M_xO_y = óxido do metal; A_zO_w = óxido do analito; $M_xA_zO_{(w+y)}$ = composto de intercalação estabilizante; M = metal; A = analito; O = oxigênio.	57
Figura 12. Curvas de pirólise para os analitos em GSR coletados em <i>swabs</i> . (Pb): plataforma de grafite, 5 uL de Pd 1 g L ⁻¹ /Mg 0,1 g L ⁻¹ e atomização a 1900 °C; (Sb): plataforma de grafite com <i>end cap</i> , 5 uL de Pd 1 g L ⁻¹ /Mg 0,1 g L ⁻¹ e atomização a 2100 °C. (Ba): plataforma de grafite modificada permanentemente com W (250 ug) e Rh (200 ug), 5 uL de Ca 1 g L ⁻¹ e atomização a 2400 °C.	61
Figura 13. Curvas de atomização para os analitos em GSR coletados em <i>swabs</i> . (Pb): plataforma de grafite, 5 uL de Pd 1 g L ⁻¹ /Mg 0,1 g L ⁻¹ e pirólise a 1100 °C; (Sb): plataforma de grafite com <i>end cap</i> , 5 uL de Pd 1 g L ⁻¹ /Mg 0,1 g L ⁻¹ e pirólise a 1300 °C. (Ba): plataforma de grafite modificada com W (250 ug) e Rh (200 ug), 5 uL de Ca 1 g L ⁻¹ e pirólise a 900 °C.	62
Figura 14. Sinal transiente de (A) absorção e (B) fundo da determinação de Ba por ET AAS em GSR, obtido em 553,6 nm, de acordo com o programa de aquecimento otimizado descrito na Tabela 6. Empregou-se 5 µL de Ca 1 g L ⁻¹ como modificador químico em plataforma de grafite termicamente modificada com W (250 µg) e Rh (200 µg).	63
Figura 15. Estudo da influência da distância de testemunhas oculares em relação ao atirador na contaminação das mesmas com GSR, considerando a deposição de Pb em mucosa nasal após disparo de revólver calibre .38 SPL com munição comum.	72
Figura 16. Estudo da influência da distância de testemunhas oculares em relação ao atirador na contaminação das mesmas com GSR, considerando a deposição de Pb em mucosa nasal após disparo de pistola calibre .380 com munição comum.	73

- Figura 17.** Gráficos de (A) *scores*, com três *outliers* evidentes, e (B) *loadings*, construídos com base no modelo de PCA aplicado às concentrações de Pb, Ba e Sb em: GSR coletados de atirador^A, testemunha ocular do sexo feminino^{T.F} e masculino^{T.M}; amostras provenientes de profissionais automotivos^P.76
- Figura 18.** Gráficos de (A) *scores* e (B) *loadings*, construídos desconsiderando os *outliers* e com base no modelo de PCA aplicado às concentrações de Pb, Ba e Sb em: GSR coletados de atirador^A, testemunha ocular do sexo feminino^{T.F} e masculino^{T.M}; amostras provenientes de profissionais automotivos^P.77
- Figura 19.** Gráficos de (A) *scores* e (B) *loadings*, construídos desconsiderando os *outliers* e com base no modelo de PCA aplicado às concentrações de Pb, Ba e Sb nas amostras, tomando como parâmetros: revólver^{Rev} ou pistola^{Pist} empregados como fontes de GSR, coletados de atirador^A e testemunhas oculares^T; amostras provenientes de profissionais automotivos^P.78
- Figura 20.** Gráficos de (A) *scores* e (B) *loadings*, construídos desconsiderando os *outliers* e com base no modelo de PCA aplicado às concentrações de Pb, Ba e Sb nas amostras, tomando como parâmetros: revólver^{Rev} ou pistola^{Pist} empregados como fontes de GSR, coletados em mão^m e mucosa nasalⁿ de atirador^A e testemunhas oculares^T; amostras provenientes de profissionais automotivos^P.78
- Figura 21.** Fotomicrografias de SEM de partículas características de GSR oriundas de único disparo de revólver calibre .38 SPL e coletadas de: atirador (A) com ampliação de 1 k vezes e (B) 20 k vezes, (C) espectro de EDS da partícula demarcada em (A); testemunha ocular (D) com ampliação de 1 k vezes e (E) 20 k vezes, (F) espectro de EDS da partícula demarcada em (D).81
- Figura 22.** Fotomicrografias de SEM de partículas de GSR oriundas de único disparo de pistola calibre .380 e coletadas de: atirador (A) com ampliação de 1 k vezes e (B) 5 k vezes, (C) espectro de EDS da partícula demarcada em (A); testemunha ocular (D) com ampliação de 1 k vezes e (E) 20 k vezes, (F) espectro de EDS da partícula demarcada em (D).82

Figura 23. Fotomicrografias de SEM de amostra proveniente de frentista automotivo (1F, vide Tabela 19), com ampliação de 1 k vezes das partículas encontradas nas regiões mostradas em (A), (B) e (C). Espectros de EDS (D), (E) e (F) das partículas irregulares demarcadas em (A), (B) e (C), respectivamente. 85

Figura 24. Fotomicrografias de SEM de amostra proveniente de mecânico automotivo (1M, vide Tabela 19), com ampliação de 1 k vezes das partículas encontradas nas regiões mostradas em (A), (B) e (C). Espectros de EDS (D), (E) e (F) das partículas irregulares demarcadas em (A), (B) e (C), respectivamente. 86

Figura 25. Fotomicrografias de SEM de amostra proveniente de eletricista automotivo (1E, vide Tabela 19), com ampliação de 1 k vezes das partículas encontradas nas regiões mostradas em (A), (B) e (C). Espectros de EDS (D), (E) e (F) das partículas esféricas demarcadas em (A), (B) e (C), respectivamente. 87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies inorgânicas presentes no cano da arma de fogo, cartucho, pólvora, <i>primer</i> e projétil, as quais podem constituir partículas de GSR [5]	22
Tabela 2. Composição elementar e classificação das partículas de GSR provenientes de munições comuns [34], [36], [39]	28
Tabela 3. Características morfológicas de partículas de GSR compostas pelos elementos Pb, Ba e Sb.....	29
Tabela 4. Parâmetros instrumentais do espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 800 (PerkinElmer) para as determinações de Pb, Ba e Sb	44
Tabela 5. Programa de aquecimento do espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 800 (PerkinElmer) empregado nas determinações de Pb	44
Tabela 6. Programa de aquecimento do espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 800 (PerkinElmer) empregado nas determinações de Ba.....	45
Tabela 7. Programa de aquecimento do espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 800 (PerkinElmer) empregado nas determinações de Sb	45
Tabela 8. Parâmetros instrumentais do espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua contrAA 700 (Analytik Jena AG) para a determinação de Ba por meio de absorção molecular (BaF).....	48
Tabela 9. Programa de aquecimento do espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua contrAA 700 (Analytik Jena AG) empregado na determinação de Ba por meio de absorção molecular (BaF)	48
Tabela 10. Especificações das armas de fogo empregadas na amostragem de GSR.....	49
Tabela 11. Resposta dos níveis reais e codificados dos fatores avaliados na otimização multivariada (2^3 + ponto central) para a extração de Pb, Ba e Sb em <i>swabs</i> de GSR.....	59

Tabela 12. Análise da variância no planejamento fatorial ($2^3 + 5$ replicatas do ponto central; intervalo de confiança de 95%) para os elementos Pb, Ba e Sb em amostras de GSR	60
Tabela 13. Parâmetros analíticos da determinação por ET AAS de Pb, Ba e Sb, extraídos de <i>swabs</i> em amostras de GSR e profissionais automotivos.....	65
Tabela 14. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em <i>swabs</i> de esfregaços de mão isenta de GSR e com <i>spike</i> . As incertezas ² são baseadas em um nível de confiança de 95%	66
Tabela 15. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras de GSR coletadas de atirador no tempo zero, após único disparo de revólver calibre .38 SPL.....	67
Tabela 16. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras de GSR coletadas de atirador no tempo zero, após único disparo de pistola calibre .380.....	67
Tabela 17. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras de GSR coletadas de testemunhas oculares dispostas a diferentes distâncias em relação ao atirador, após único disparo de revólver calibre .38 SPL.....	70
Tabela 18. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras de GSR coletadas de testemunhas oculares dispostas a diferentes distâncias em relação ao atirador, após único disparo de pistola calibre .380	71
Tabela 19. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras coletadas da mão direita de profissionais automotivos, durante a execução de suas atividades ocupacionais.....	75
Tabela 20. Análise semiquantitativa por EDS de partículas de GSR coletadas de atirador e testemunhas oculares, após único disparo de revólver calibre .38 SPL (Figura 21) e pistola calibre .380 (Figura 22) com munições comuns.....	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS – Espectrometria de absorção atômica (*atomic absorption spectrometry*)

ASTM – Sociedade Americana de Testes e Materiais (*American Society for Testing and Materials*)

EDS – Espectroscopia de raios-X por energia dispersiva (*energy dispersive X-ray spectroscopy*)

ET AAS – Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (*electrothermal atomic absorption spectrometry*)

GSR – Resíduos de disparos de armas de fogo (*gunshot residues*)

HCL – Lâmpadas de cátodo oco (*hollow cathode lamp*)

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência (*high-performance liquid chromatography*)

HR-CS AAS – Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (*high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry*)

HR-CS MAS – Espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (*high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry*)

ICP-MS – Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (*inductively coupled plasma mass spectrometry*)

ICP OES – Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (*inductively coupled plasma optical emission spectrometry*)

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

LD – Limite de detecção

LIBS – Espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (*laser induced breakdown spectroscopy*)

LQ – Limite de quantificação

MR – Metais refratários

MGP – Metais do grupo da platina

OFSR – Resíduos orgânicos de disparo de armas de fogo (*organic gunshot residues*)

PC – Componente principal (*principal component*)

PCA – Análise de componentes principais (*principal component analysis*)

RSD – Desvio padrão relativo (*relative standard deviation*)

SEM – Microscopia eletrônica de varredura (*scanning electron microscopy*)

SEM-EDS – Microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia de raios-X por energia dispersiva (*scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy*)

TEM – Microscopia eletrônica de transmissão (*transmission electron microscopy*)

XRF – Espectrometria de fluorescência de raios-X (*X-ray fluorescence spectrometry*)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 Resíduos de disparos de armas de fogo	20
1.2 Métodos de detecção de GSR	24
1.3 Classificação e morfologia de partículas de GSR.....	27
1.4 Falso-positivos para disparos de armas de fogo.....	29
1.5 Espectrometria de absorção atômica.....	32
1.5.1 Espectrometria de absorção atômica ou molecular de alta resolução com fonte contínua	35
1.5.2 Aplicações da AAS a amostras de GSR.....	39
2 OBJETIVOS	41
3 MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.1 Materiais e reagentes	42
3.2 Instrumentação.....	43
3.2.1 Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS	43
3.2.1.1 Modificadores químicos para Ba	45
3.2.1.2 Modificador químico permanente de W-Rh	46
3.2.2 Determinação de Ba por HR-CS MAS.....	47
3.2.3 Análise de amostras por SEM-EDS	48
3.3 Amostragem.....	49
3.3.1 Atirador	50
3.3.2 Testemunhas Oculares.....	50
3.3.3 Profissionais automotivos.....	51
3.3.4 Amostras para análise por SEM-EDS	51
3.4 Extração dos analitos	52

3.4.1 Otimização da extração	52
3.5 Procedimentos quimiométricos de tratamento dos dados	53
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1 Determinação de Ba por HR-CS MAS	54
4.2 Modificadores químicos para Ba	54
4.2.1 Mecanismo de ação dos modificadores W-Rh e Ca	55
4.3 Otimização da extração dos analitos	58
4.4 Curvas de pirólise e atomização	61
4.5 Interferentes na determinação de Sb por ET AAS	64
4.6 Parâmetros analíticos	64
4.6.1 Avaliação da exatidão dos métodos de determinação	65
4.7 Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS	66
4.7.1 GSR em atirador	67
4.7.2 GSR em testemunhas oculares	70
4.7.3 Profissionais automotivos	74
4.8 Análises quimiométricas	76
4.9 Caracterização de partículas por SEM-EDS	80
4.9.1 Amostras de GSR	80
4.9.2 Amostras de profissionais automotivos	84
5 CONCLUSÕES	88
REFERÊNCIAS	90

1 INTRODUÇÃO

1.1 Resíduos de disparos de armas de fogo

A Criminalística consiste na organização multidisciplinar de conhecimentos, os quais são aplicados por meio de procedimentos técnico-científicos na elucidação, obtenção de provas e identificação de autores de infrações penais com a finalidade de apresentar respostas às questões formuladas pela Justiça. Dentre todos os segmentos que compõem a Criminalística, a Química Forense e a Balística Forense são responsáveis pela identificação de substâncias ou elementos oriundos de crimes praticados com o emprego de armas de fogo [1].

As armas de fogo são artefatos que utilizam uma expansão gasosa como força motriz para propelir projéteis. As munições ou cartuchos são constituídas por um estojo externo de material metálico, o qual contém o projétil na extremidade superior, o propelente ou pólvora armazenada no interior e espoleta na extremidade inferior. A expansão gasosa é decorrente da combustão da pólvora, a qual é deflagrada pela carga de inflamação ou mistura iniciadora, que é armazenada na espoleta e comumente denominada *primer* [2].

Existem dois tipos essenciais de pólvora: a negra, a qual é pouco usada atualmente e composta por nitrato de potássio, carvão e enxofre; e a sintética, que aumenta a vida útil da munição e contém aditivos específicos, tais como sulfato de potássio, nitrocelulose, glicerina, nitroglicerina, ftalato de dimetila ou butila e outros compostos orgânicos. O *primer* é uma mistura explosiva sensível a choques mecânicos e sua composição varia de acordo com o tipo de munição. Nas munições comuns, os *primers* consistem, principalmente, na mistura de estifnato de chumbo (explosivo), nitrato de bário (oxidante), sulfeto de antimônio (combustível), trinitrotolueno e tetraceno (sensibilizantes), resinas celofane (aglutinantes), dentre outras substâncias [3].

Quando o gatilho de uma arma de fogo (Figura 1) é acionado, o cão atinge a espoleta da munição com um choque mecânico, que culmina na ignição do *primer*, com subsequente aumento rápido da temperatura e pressão no interior do cano. Em poucos milissegundos, a temperatura resultante é alta o suficiente para fundir os componentes do *primer* e vaporizá-los. A inflamação do *primer* inicia a combustão da pólvora, que conduz a níveis de temperatura e pressão ainda mais drásticos. Finalmente, a expansão gasosa oriunda da explosão da pólvora faz com o que o projétil seja expelido do cano da arma. As partículas que

participam desse processo, submetidas a condições extremas de temperatura e pressão, são sujeitas a um rápido resfriamento, que culmina na formação de gotículas que se solidificam para formar as partículas que compõem os resíduos de disparos de armas de fogo (GSR – do inglês, *Gunshot residues*) [1], [4], [5].

Figura 1. Principais componentes externos do mecanismo de disparo de um revólver comum. Neste tipo de arma, as munições são armazenadas no tambor. Adaptado de [6].

A expansão gasosa decorrente de um disparo ocorre em todas as direções, com liberação de gases através da região frontal do cano e de outros orifícios da arma. Além da liberação de gás carbônico e óxido de nitrogênio devido à combustão, substâncias sólidas que compõem a espoleta, pólvora, interior do cano e projétil são arrastados e formam uma série de resíduos orgânicos e inorgânicos [1]. Os GSR apresentam alguns metais característicos em sua composição inorgânica, tais como Pb, Ba e Sb (munições comuns) ou Al, Ca, Cu, K, Mg, Si e Sr (isentas de Pb ou, do inglês, *lead free*), ao passo que sua composição orgânica inclui nitrocelulose, nitroglicerina, difenilamina, centralina e outras substâncias [7], [8]. Os principais constituintes inorgânicos que podem estar presentes em GSR são apresentados na Tabela 1.

Wolten and Nesbitt [4] estudaram a formação de GSR provenientes de munições comuns e sugeriram que as partículas formadoras desses resíduos podem ser divididas em duas classes principais, denominadas partículas de *primer* e partículas de projétil. As partículas de *primer* compreendem os resíduos formados principalmente por óxidos e sulfetos metálicos, tais como o meta-antimoniato de bário – $\text{Ba}(\text{SbO}_3)_2$ – e sulfato de chumbo mineral – $\text{Pb}_2(\text{SO}_4)\text{O}$ –. O grupo das partículas do projétil engloba as demais partículas, as quais são

formadas por aglomerados de elementos na forma metálica. As denominações são oriundas do fato de que os aglomerados metálicos não podem ser formados pelos metais oxidados e presentes em compostos oriundos do *primer*, pois o ambiente oxidante resultante da ignição do disparo não favorece processos de redução de elementos a forma metálica.

Tabela 1. Espécies inorgânicas presentes no cano da arma de fogo, cartucho, pólvora, *primer* e projétil, as quais podem constituir partículas de GSR [5]

Fonte	Componentes inorgânicos
Cano	Fe
Cartucho	Al, As, Bi, Cu, Ni, P, Sb, Zn
Pólvora	Ba(NO ₃) ₂ , CaCO ₃ , KNO ₃ , Na ₂ SO ₄ , S
<i>Primer</i>	Al ₂ S ₃ , Au, Ba(NO ₃) ₂ , BaO ₂ , B, CaSi ₂ , CuSCN, Hg, KCl, KNO ₃ , Mg, NaNO ₃ , Na ₂ SO ₄ , Pb(N ₃) ₂ , PbO ₂ , Pb(NO ₃) ₂ , C ₆ H ₉ N ₃ O ₈ Pb, Pb(SCN) ₂ , Sb ₂ (SO ₃) ₅ , Sb ₂ S ₅ , Sb ₂ S ₃ , Si, Sr, Sr(NO ₃) ₂ , Ti, Zn, ZnO ₂ , Zr
Projétil	Sb, Cr, Cu, Fe, Pb, W

Os GSR são lançados no ar e depositados em superfícies de objetos, tecidos e pele. A presença desses resíduos no corpo e vestimentas de suspeitos representa uma evidência determinante para tribunais, no que se refere à elucidação da dinâmica e circunstâncias do evento, definição do tipo de crime e identificação de atiradores em infrações cominadas no Código Penal (homicídio, roubo, lesão corporal e etc.) e no Estatuto do Desarmamento (posse irregular de artefato de uso permitido) [1], [9]. Waiselfsiz [10] avaliou em seu trabalho os números de óbitos provocados por disparo de armas de fogo, distribuídos em suicídio, homicídio, acidentes e causas indeterminadas, considerando a população total do Brasil em 2014. De acordo com os dados, nos últimos 30 anos, houve um aumento de 415% no número de óbitos causados por armas de fogo; nos últimos 10 anos, em média, ocorreram 40 mil mortes por ano que tiveram como causa básica disparo de armas de fogo, sendo 94% dessas homicídios, como mostrado nos gráficos das Figuras 2 e 3. Tendo em vista os índices crescentes de crimes envolvendo armas de fogo, inclusive a nível internacional, métodos de determinação de GSR foram desenvolvidos e aprimorados ao longo dos anos.

Figura 2. Número de óbitos que tiveram como causa básica disparo de armas de fogo, no período de 1985 a 2014, considerando a população total do Brasil. Adaptado de [10].

Figura 3. Porcentagem de homicídios do número total de óbitos que tiveram como causa básica disparo de armas de fogo, no período de 1985 a 2014, considerando a população total do Brasil. Adaptado de [10].

1.2 Métodos de detecção de GSR

A detecção de GSR é uma das atividades comuns na rotina da polícia, que exige procedimentos analíticos rápidos, precisos e exatos. São relatados na literatura 136 resíduos orgânicos de disparos de armas de fogo (OGSR – do inglês, *organic gunshot residues*), analisáveis por testes colorimétricos, espectroscopia no infravermelho, cromatografia líquida e gasosa, espectrometria de massas e eletroforese capilar [11]–[13]. Embora os OGSR possam ser encontrados na face, rosto, roupas e cabelos de suspeitos, esses resíduos são analisados com menos frequência, uma vez que os mesmos apresentam baixa estabilidade, alta velocidade de degradação e baixo poder de discriminação, pois podem ser oriundos de outras fontes, tais como cosméticos; com exceção dos estabilizantes à base de centralina, que são aplicados unicamente a munições [14], [15]. Contudo, a determinação de OGSR é fundamental nos casos em que são efetuados disparos com munições *lead free*, pois os elementos constituintes (Al, Ca, Cu, Mg, Si, Sr e Zn) de GSR provenientes dessas munições são facilmente encontrados em fontes ocupacionais, como mecânicos automotivos, e podem conduzir a falso-positivos. Nesse sentido, a análise de OGSR é comumente empregada como complementar às análises de resíduos inorgânicos, as quais são amplamente utilizadas devido a melhor confiabilidade para identificação de GSR [8], [16].

Para a presunção da autoria de disparos em infrações penais, um teste colorimétrico para detecção de Pb foi desenvolvido com o emprego do íon rodizonato. O mesmo reage com os íons Pb^{2+} de amostras de GSR provenientes das mãos ou roupas de suspeitos, o que resulta na formação de um complexo de coloração vermelho-rosada (Figura 4); esse mesmo teste, quando aplicado em amostras que contém Ba em concentração suficiente, origina coloração vermelho-escura. Embora esse teste tenha baixo custo, o mesmo apresenta baixa especificidade para identificação de GSR, uma vez que é sujeito a falso-positivos causados pela presença de Pb proveniente de fontes ocupacionais e ambientais [16]–[19]. Sendo assim, métodos instrumentais de determinação elementar em amostras de GSR foram desenvolvidos com o intuito de abranger elementos mais específicos e com menos probabilidade de conduzirem a falso-positivos.

Figura 4. Reação química do teste colorimétrico conduzido com o íon rodizonato, empregado na identificação de Pb em GSR por meio da formação do complexo vermelho-rosado de C_6O_6Pb . Adaptado de [16].

A determinação instrumental da tríade elementar característica (Pb, Ba e Sb) em amostras de GSR permitiu o estudo detalhado de fatores relativos à dinâmica de crimes que empregam armas de fogo, tais como casos de suicídio [20], número [21] e distância de disparos [22], além de investigações da autoria de disparos. A coleta de GSR para finalidades elucidativas requer um procedimento minucioso, embora simples. As amostras podem ser coletadas de cabelo [23], mucosa nasal [24], tecido epitelial, tecidos de vestimentas [25] e superfícies em geral. Geralmente, em supostos atiradores, as partículas de GSR são coletadas das mãos, nas regiões dorsal, palmar e entre os dedos indicador e polegar. A amostragem pode ser conduzida com emprego de fitas e colas adesivas ou esfregaços com *swabs*, os quais compreendem baixo custo, além de garantir um método prático e rápido de coleta; suas extremidades de algodão podem ser secas ou embebidas em solução de EDTA. Os *swabs* de amostras são posteriormente submetidos a um processo simples de extração, que emprega uma solução ácida, banho ultrassônico e termostatizado [5], [26].

Vanini et al. [27] avaliaram a influência da região das mãos na coleta de GSR, bem como o emprego de fita adesiva, *swabs* embebidos em solução de EDTA e *swabs* secos para essa mesma finalidade, por meio da determinação de Pb, Ba e Sb por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES – do inglês, *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*). As regiões das mãos que apresentaram concentrações mais altas dos elementos analisados foram a dorsal e palmar, entre os dedos indicador e polegar, considerando as amostras coletadas após um único disparo. As concentrações de Pb, Ba e Sb nessas duas regiões variaram de 336 a 959, 22 a 30 e 9 a 18 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os limites de detecção obtidos foram, em $\mu\text{g L}^{-1}$, 4,97 (Pb), 0,50 (Ba) e 15,97 (Sb). Com relação ao método de coleta, o uso de *swabs* conduziu a uma maior

sensibilidade do que a fita adesiva. Além disso, concentrações mais elevadas de Ba e Sb foram obtidas com emprego de *swabs* secos, embora a concentração de Pb tenha sido comparativamente maior com emprego de *swabs* embebidos em EDTA.

A maior sensibilidade obtida para Pb, quando *swab* com EDTA é empregado em coletas de GSR, em detrimento da menor sensibilidade para Ba e Sb, tendo como referência a concentração desses elementos em coletas conduzidas com *swabs* secos, pode ser explicada quimicamente por meio da constante de formação do complexo de EDTA com Pb^{2+} (18,04), a qual é quase 2,5 vezes superior a de Ba^{2+} (7,76). Embora a constante de formação de Sb^{3+} (24,80) seja a maior entre esses elementos, o ambiente ácido e oxidante, ao qual a amostra é submetida durante o procedimento de coleta, favorece a oxidação das espécies de Sb para a forma Sb^{5+} , a qual não complexa com EDTA nas condições ácidas comumente empregadas na coleta de GSR [28], [29].

A determinação dos elementos presentes em GSR requer técnicas instrumentais suficientemente sensíveis, uma vez que os mesmos estão presentes em concentrações da ordem de μg . Para essa finalidade, são reportadas na literatura as técnicas ICP OES [30], espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS – do inglês, *inductively coupled plasma mass spectrometry*) [16], [31], espectrometria de absorção atômica (AAS – do inglês, *atomic absorption spectrometry*) [24], [32], e espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS – do inglês, *laser induced breakdown spectroscopy*) [33]. As técnicas de determinação mencionadas resultam em baixos limites de detecção e quantificação, os quais são suficientes para a análise elementar nessas amostras.

A necessidade de tornar a determinação de GSR mais robusta e exata introduziu novos métodos de análise desses resíduos, os quais permitem realizar um mapeamento dos padrões elementares dessas amostras. A presença característica de Pb, Ba e Sb em GSR provenientes de armas de fogo que empregam munições comuns pode ser observada pela técnica espectrometria de fluorescência de raios-X (XRFS – do inglês, *X-ray fluorescence spectrometry*), a qual proporciona uma análise multielementar, qualitativa e quantitativa. Ainda, quando aplicada a amostras de GSR em tecidos, permite determinar a distância da qual um disparo foi efetuado por meio da distribuição residual de Pb, o que contribui efetivamente para a elucidação da dinâmica de crimes nos quais armas de fogo são empregadas [3], [17].

1.3 Classificação e morfologia de partículas de GSR

Os estudos das análises de amostras de GSR tiveram seu avanço mais considerável por meio do emprego da microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia de raios-X por energia dispersiva (SEM-EDS – do inglês, *scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy*). Essa técnica não destrutiva fornece imagens de estruturas da ordem de nm, que permitem a caracterização semiquantitativa da composição química e análise morfológica de amostras coletadas em fitas adesivas; além disso, as amostras podem ser submetidas ao processo de pulverização catódica (do inglês, *sputtering*) para revestimento com uma camada fina de carbono ou ouro, capaz de aumentar a condutividade elétrica e melhorar a resolução das imagens obtidas [34].

As condições de elevadas pressão e temperatura, proporcionadas pela combustão da pólvora em um disparo, originam microesferas compostas pelos elementos presentes no *primer* da munição e projétil. Experimentos realizados por meio da microscopia eletrônica de transmissão (TEM – do inglês, *transmission electron microscopy*) evidenciaram que essas partículas são formadas por nanocristais (de dimensões de até 10 nm) de óxidos metálicos, sulfato de chumbo, carbonato de bário, Pb e Sb metálicos, que se agregam entre si e com materiais amorfos gerados pela combustão em estruturas de 100 a 200 nm, a fim de diminuir a energia de superfície e, enfim, em partículas micrométricas maiores [35].

As composições elementares características e consistentes com partículas de GSR (Tabela 2) foram estabelecidas de acordo com resultados obtidos por SEM-EDS. Elementos adicionais podem ser encontrados agregados às microesferas de Pb, Ba e Sb em GSR, sendo eles: Ca, Cl, Cu, K, Ni, P, Si, Zn, Zr, Fe e S, sendo os dois últimos em concentrações traço; bem como Al e Sn, encontrados nas partículas características de GSR descritas por Hannigan e colaboradores [25]. A existência da maioria desses elementos secundários em GSR é questionável, ao menos que a presença dos mesmos seja justificada pela composição específica do *primer* da munição utilizada no crime, tendo em vista que esses elementos são recorrentes em atividades ambientais e ocupacionais sujeitas a casos de falso-positivos para disparos de armas de fogo [36], [37].

As munições com baixa toxicidade ou *lead free* contém um revestimento de liga de Cu na totalidade de sua superfície externa e diferem dos padrões de composição elementar de munições comuns. A combustão dos *primers* de munições do tipo *lead free*, que não são amplamente comercializadas no Brasil, originam partículas residuais com ausência de padrões

morfológicos e compostas principalmente por Al, Zn, Cu e Sr, os quais podem conduzir a falso-positivos devido à ocorrência desses elementos em áreas ocupacionais e ambientais; além de conter elementos secundários como Ca, Cl, Fe, K, Mg, Mo, Na, S, Ti, incluindo Pb, Ba e Sb em baixas concentrações. Desse modo, esse tipo de composição não pode ser considerado característico de GSR, pois a ausência de um marcador específico torna as investigações criminais inexatas [7], [16]. Weber e colaboradores [38] propuseram o uso de dois marcadores luminescentes em munições *lead free*, com vida útil de 9 h e permanência nas mãos após 16 lavagens. Foi possível detectar o marcador, por meio de radiação ultravioleta direta em 254 nm, espectroscopia Raman e SEM-EDS, a 9 m de distância do atirador; na porta e assentos de carro, bem como foi possível obter correlação seletiva entre vítima e atirador.

Tabela 2. Composição elementar e classificação das partículas de GSR provenientes de munições comuns [34], [36], [39]

Característica	Consistente
Pb-Ba-Sb	Ba-Ca-Si ¹
	Pb-Sb
	Pb-Ba
	Ba-Sb ²
	Ba-Al ¹
	Ba ¹
	Pb ³
	Sb ³

1. Com ou sem S em concentrações traço;

2. Fe e S presentes, no máximo, em concentrações traço;

3. Somente na presença de outros tipos de partículas consistentes ou características.

Procedimentos padrão para análise de GSR por SEM-EDS foram estabelecidos com o emprego de critérios de identificação baseados na composição química e morfologia de partículas, embora o último parâmetro seja considerado secundário, de acordo com o Padrão 2010 de análise de GSR por SEM-EDS da Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM – do inglês, *American Society for Testing and Materials*). Com relação à morfologia de partículas, são consideradas consistentes com as condições de formação de GSR as não

cristalinas, que apresentam estrutura tridimensional esférica ou globular, com a superfície lisa e isenta de crateras, de 0,5 a 5 μm de diâmetro. Porém, alguns tipos de munições podem gerar partículas de composição elementar característica de GSR, com forma irregular ou esférica, de 1 a 100 μm de diâmetro [4], [36]. Na Tabela 3, são mostradas as características morfológicas das partículas de GSR.

Tabela 3. Características morfológicas de partículas de GSR compostas pelos elementos Pb, Ba e Sb [36]

Parâmetro	Descrição
Estrutura tridimensional	Esférica ou globular; Irregular [*]
Superfície	Lisa; com crateras [*]
Diâmetro	0,5 a 5 μm ; 1 a 100 μm [*]

*: características morfológicas menos frequentes.

A técnica de SEM-EDS é a mais usada e aceita pelos especialistas na determinação de GSR, já que compreende especificidade e sensibilidade suficientes para a análise dos componentes inorgânicos que compõem esses resíduos. Contudo, a técnica apresenta custos elevados, muitas vezes inacessíveis ao orçamento da polícia, limitação na quantidade de amostras que são processadas por unidade de tempo, com baixa frequência analítica (entre 1 a 6 h por amostra), e demanda alto grau de especialização técnico-profissional para operação do equipamento. Além disso, considerando a existência de partículas semelhantes às de GSR, mas provenientes de meios ambientais e ocupacionais, a técnica está sujeita a casos de falso-positivos reportados na literatura, nos quais a diferenciação entre partículas é bastante complexa [40].

1.4 Falso-positivos para disparos de armas de fogo

Nos últimos anos, foram detectados agregados dos elementos Pb, Ba e Sb provenientes de fontes ocupacionais não relacionadas a armas de fogo. Tendo em vista a descoberta dessas partículas, análises por SEM-EDS foram conduzidas com a finalidade de introduzir a

distribuição espacial dos elementos como parâmetro de distinção entre as partículas de GSR e as geradas por fontes ambientais ou ocupacionais [39], [41].

O trabalho de Garofano et al. [39] consistiu no estudo por SEM-EDS de partículas características de ferramentas industriais de carga explosiva, motores, baterias, tintas, hardware, partes de rádio e TV, fogos de artifício, sucata de ferro, materiais de automóvel, encanamento, soldagem, fundição e acabamento de imóveis. A maioria das amostras não apresentou os elementos metálicos frequentemente encontrados em amostras de GSR. Porém, amostras de eletricitista e mecânico automotivo, atendente de posto de gasolina, manipuladores de fogos de artifício, discos de freio e baterias continham partículas compostas por Ba-Sb, no passado consideradas exclusivas de GSR. Foram detectadas também partículas de Pb-Ba e Pb-Sb, sendo essas encontradas na presença de S, Si, Cu, Zn e Fe (esse último em níveis de concentração majoritários ou traço), com estrutura morfológica irregular e as dimensões entre 2 e 40 μm . As ferramentas industriais apresentaram partículas de Pb-Ba-Sb, na ausência e presença de Fe, com estrutura morfológica esférica ou irregular e dimensões de 5 a 40 μm . Tendo em vista que muitas dessas partículas se enquadram como características ou indicativas de GSR, um exame minucioso deve ser conduzido a fim de diferenciar as partículas provenientes de outras fontes das geradas por disparos de armas de fogo e evitar casos de falso-positivos.

Cardinetti e colaboradores [9] analisaram amostras de lonas de freio e partículas de GSR em estojos de cartucho de diferentes marcas e calibres por SEM-EDS. Embora algumas partículas de pastilhas de freio tenham apresentado estrutura morfológica e composição elementar semelhantes às de GSR, estas não apresentaram uma distribuição de Pb, Ba e Sb em agregados. Isso, pois os elementos presentes em GSR são fundidos simultaneamente sob alta pressão e temperatura, ao contrário das partículas geradas por fontes ocupacionais, que contêm placas isoladas desses elementos em razão das condições insuficientes para a formação de agregados. Contudo, a interpretação desses resultados pode levar a diagnósticos inexatos, o que prejudica o discernimento entre os tipos de partículas questionados.

Por volta do ano 2000, o advento da ideia de falso-positivo para GSR fez com que a indústria automotiva reduzisse fontes de Pb desnecessárias presentes nos componentes de seus produtos. Tucker e colaboradores [42] analisaram 75 pastilhas de freio retiradas de carros e 12 foram selecionadas como representativas após análises conduzidas por XRFS. Nas análises por SEM-EDS de amostras representativas e de profissionais comumente expostos a pastilhas de freios não foram encontradas partículas compostas exclusivamente pela tríade Pb-

Ba-Sb, embora partículas contendo Ba e Sb tenham sido detectadas. Considerando a redução de Pb em componentes automotivos, os pesquisadores concluíram que é muito remota a chance de se encontrar partículas características de GSR nessas amostras, de modo que é possível a diferenciação entre resíduos provenientes de freios dos provenientes de armas de fogo.

A contaminação de testemunhas oculares de disparos com resíduos também é uma questão pertinente à perícia, que visa ao diagnóstico de falso-positivos. Experimentos realizados por Fojtášek e Kmječ [43] estabeleceram o tempo limite para que um atirador e uma testemunha ocular de disparo contenham concentrações suficientes de GSR depositadas em suas roupas e pele, pois os resíduos são lançados no ar e levam um tempo para aderirem a superfícies. Os disparos foram efetuados contra um anteparo em uma sala sem circulação de ar, com emprego de uma pistola calibre 9 mm e com um revólver calibre .38. À distância de 2 m do atirador, as amostras foram coletadas por um conjunto de amostradores cilíndricos empilhados, de 15 cm de diâmetro, contendo 100 fitas adesivas de carbono dispostas de modo padronizado para coleta de partículas residuais. Em intervalos de tempos definidos, um amostrador era removido da pilha, expondo o subsequente a partículas dispersas no ar. A análise das amostras evidenciou a possibilidade de contaminação com partículas de GSR em tempos de até 8 e 10 min após disparos de pistola e revólver, respectivamente.

Análises por SEM-EDS foram conduzidas por French e Morgan [44] com a finalidade de avaliar o potencial das partículas provenientes de GSR serem transferidas para testemunhas oculares de disparos de arma de fogo. As amostras foram coletadas das mãos de testemunhas oculares dispostas a 1 m do atirador durante três disparos. Em cada um dos disparos, a amostragem foi conduzida com emprego de *stubs* com fita adesiva de carbono em sua superfície. As amostras de GSR foram recobertas com carbono e as partículas com Pb, Ba e Sb em sua composição foram contabilizadas. Foram encontradas nas mãos de testemunhas oculares 21, 36 e 28 partículas características de GSR, com até 99,99 µm, no primeiro, segundo e terceiro disparos isolados, respectivamente. Nesse sentido, em crimes que empregam armas de fogo, além dos tempos de contaminação estabelecidos, a distância mínima que um indivíduo deve permanecer do atirador para exibir contaminação com GSR deve ser considerada com o objetivo de caracterizar como possíveis ou não, de acordo com a dinâmica do crime, alegações de investigados que se colocam como testemunha ocular e não como atiradores propriamente ditos.

1.5 Espectrometria de absorção atômica

A técnica espectrometria de absorção atômica (AAS – do inglês, *atomic absorption spectrometry*) consiste na absorção de radiação eletromagnética específica, proveniente de uma fonte espectral, por átomos livres no estado gasoso e fundamental. O processo de determinação e quantificação de elementos é baseado na Lei de Lambert-Beer e na grandeza absorvância. A técnica é quantitativamente empregada na determinação de metais, semimetais e alguns não metais em amostras de vários tipos, tais como as biológicas (fluidos e matéria tecidual), ambientais (águas, solos e plantas), tecnológicas (ligas metálicas), alimentares e etc. [45].

O espectrômetro de absorção atômica possui como componentes básicos: a fonte de radiação, responsável por emitir a radiação eletromagnética específica para um dado elemento, compreendendo as regiões do visível e ultravioleta; o atomizador, no qual os átomos gasosos são gerados, sendo os mais utilizados a chama (F AAS – do inglês, *flame atomic absorption spectrometry*) e o forno de grafite (ET AAS – do inglês, *electrothermal atomic absorption spectrometry*); sistema do monocromador, que separa a linha espectral de interesse das demais linhas do espectro eletromagnético; e o detector, que converte a energia radiante não absorvida em sinal elétrico [46], [47]. A Figura 5 apresenta os principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica.

Figura 5. Representação esquemática dos principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica. Adaptado de [47].

As fontes de radiação comumente empregadas na AAS são as lâmpadas de cátodo oco (HCL – do inglês, *hollow cathode lamp*). A HCL é constituída por um tubo de vidro preenchido com gás inerte (neônio ou argônio), com uma das extremidades fechada por uma janela de quartzo e outra composta por dois eletrodos: um cátodo do metal ou liga metálica revestida pelo elemento de interesse e um ânodo composto por um bastão de tungstênio ou

zircônio. A aplicação de uma diferença de potencial entre os eletrodos origina uma descarga no interior do tubo e provoca a ionização do gás inerte. Os cátions do gás são acelerados em direção à carga negativa do cátodo, o que culmina na liberação de átomos no estado de vapor do elemento de interesse, processo esse denominado *sputtering*. Os átomos livres colidem com os átomos de gás inerte em um processo que fornece energia suficiente para que ocorram excitações a nível eletrônico nos átomos do elemento. Os átomos excitados são instáveis e retornam para o estado fundamental, com liberação de energia radiante em comprimentos de onda característicos [46], [48].

A radiação emitida pela HCL, ambiente, outras fontes e etc. atinge o detector, compondo a radiação incidente (Φ_0). Durante a atomização do analito, a radiação atravessa o volume óptico e ocorre uma atenuação da quantidade de fótons incidentes no detector por ação da absorção atômica, compondo a radiação transmitida (Φ_{tr}). Desse modo, a transmitância (Φ_{tr}/Φ_0), a qual é proporcional à quantidade de átomos que absorveram a radiação, possibilita a determinação elementar. Contudo, a grandeza absorvância, que corresponde à função logarítmica do inverso da transmitância, é empregada na determinação elementar em amostras, uma vez que a mesma possui relação linear e finita com a concentração do analito, de acordo com a Lei de Lambert-Beer [49].

Nas análises conduzidas por AAS, o processo mais importante da determinação elementar é a atomização, que ocorre nos atomizadores, tais como a chama e o forno de grafite. A porção do atomizador que a radiação incidente atravessa é denominada volume de absorção, ao qual a sensibilidade de determinação é diretamente proporcional. Na técnica F AAS, a atomização em chama ocorre a partir de um determinado volume de amostra (cerca de 2 a 5 mL), introduzido em um nebulizador pneumático pela ação de um fluxo de gás comprimido sob um capilar; na câmara de nebulização, ocorre a formação do aerossol da solução de amostra; ao atingir a chama, os solventes do aerossol são evaporados por um processo de dessolvatação, sucedido pela volatilização de partículas contendo o analito, o qual é finalmente atomizado. A chama comumente empregada em F AAS é composta pela mistura de ar-acetileno ou ar-óxido nitroso em proporções que variam de acordo com a necessidade de se obter um ambiente redutor ou oxidante. Embora a F AAS seja versátil e possua baixo custo para aquisição e operação, a mesma apresenta limitações relacionadas ao elevado volume de amostra necessário para análises e a sensibilidade restrita a ordem de mg L^{-1} [46], [49].

A atomização eletrotérmica em forno de grafite foi desenvolvida por L'vov, a qual utiliza um forno de grafite aquecido eletricamente para a determinação elementar por ET

AAS. Atualmente, esse tipo de atomizador pode ser constituído exclusivamente por grafite pirolítico ou eletrografite policristalino com plataforma interna de grafite pirolítico. O processo de atomização de analitos em forno de grafite tornou-se mais eficiente por meio de aquecimento transversal uniforme e rápido a elevadas temperaturas, o que diminuiu os gradientes de temperatura dentro do atomizador, comparativamente aos fornos aquecidos longitudinalmente. Alguns analitos, como Pt e Sb, são sensíveis à diferença de temperatura entre o interior e as extremidades do forno de grafite, a qual pode provocar diminuição do sinal de absorção devido à condensação de parte do vapor atômico ao entrar em contato com partes mais frias da extremidade. Para favorecer a atomização desses analitos, foram criados fornos com *end cap*, os quais possuem uma constrição nas extremidades, que confere homogeneidade de aquecimento e menos suscetibilidade a diferenças de temperatura ao longo da plataforma pirolítica [46], [50]. A Figura 6 mostra os principais modelos de fornos de grafite empregados como atomizadores na ET AAS.

Figura 6. (A) Forno de grafite e (B) forno de grafite com plataforma, desenvolvidos por L'vov e utilizados como atomizador na técnica ET AAS. Adaptado de [51].

As análises por ET AAS são conduzidas pela injeção de 1 a 50 μL de amostra, a qual é submetida a um programa de aquecimento composto pelas etapas de secagem, pirólise, atomização e limpeza. Em todas as fases, exceto na etapa de atomização, um gás inerte é utilizado para remover espécies volatilizadas do volume de absorção do forno. Na secagem, ocorre a evaporação dos solventes presentes na solução; na pirólise, há um aumento de temperatura com a finalidade de eliminar a matriz e concomitantes presentes na amostra, capazes de interferir na determinação elementar; na atomização, a temperatura é elevada o suficiente para gerar o vapor atômico do analito, apto a absorver a radiação eletromagnética

incidente no volume de absorção do forno; na limpeza, os resíduos remanescentes do forno de grafite são eliminados por aquecimento a temperaturas superiores a de atomização [46].

Com o emprego da plataforma interna de grafite nas determinações por ET AAS, tornou-se frequente o uso de modificadores químicos, os quais são soluções de elementos que podem ter duas finalidades principais: aumentar a estabilidade térmica do analito, o que permite o uso de temperaturas mais altas de pirólise para eliminar a matriz da amostra; ou aumentar a volatilidade da matriz durante a etapa de pirólise. Além disso, otimizações instrumentais são geralmente conduzidas para as temperaturas de pirólise e atomização com o objetivo de eliminar os concomitantes da matriz sem que ocorra perda do analito por volatilização durante a pirólise, bem como determinar a temperatura suficiente para que o analito seja completamente transferido na forma de vapor atômico para o volume de absorção do forno [52], [53].

As vantagens da ET AAS englobam a alta seletividade e especificidade analítica; a sensibilidade, uma vez que podem ser determinadas concentrações da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$; a remoção de concomitantes presentes na matriz por meio do tratamento térmico conduzido na pirólise; e a análise direta de matrizes sólidas. Contudo, a determinação de um dado elemento nos espectrômetros convencionais apresenta limitações, como a baixa frequência analítica, tendo em vista que a análise de uma amostra pode demorar de 2 a 5 minutos; além de ser monoelementar, pois requer uma fonte de radiação específica para cada elemento, de modo que as linhas espectrais emitidas são apenas a do analito em questão; a informação mínima acerca do ambiente espectral, já que a absorção é medida em intervalos espectrais estreitos; e o comprometimento da correção de fundo proveniente de moléculas e partículas presentes na matriz da amostra, quando sistemas de correção de fundo estão ausentes no equipamento. Tendo em vista as adversidades das fontes de emissão de linha, foram desenvolvidos equipamentos dotados de fontes de emissão contínua [45].

1.5.1 Espectrometria de absorção atômica ou molecular de alta resolução com fonte contínua

Com o advento de fontes contínuas para a técnica AAS, modificações instrumentais foram conduzidas no sistema óptico. O equipamento utilizado na espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS – do inglês, *high-resolution*

continuum source atomic absorption spectrometry) é constituído por uma lâmpada de arco curto de Xe, que opera na faixa de 190 a 900 nm; dois eletrodos de tungstênio; monocromador duplo de alta resolução; um prisma capaz de selecionar a linha espectral de interesse e uma rede de difração echelle, que eleva a resolução do intervalo espectral; detector CCD (dispositivo de carga acoplada) e um software que processa os dados obtidos e controla o espectrômetro. A técnica de HR-CS AAS tem como vantagens o emprego de uma fonte única de radiação; determinação simultânea de analitos, com emprego de um detector adequado; visualização integral do ambiente espectral da linha analítica, com correção da absorção do sinal de fundo e diminuição da razão sinal-ruído, o que resulta em menores limites de detecção [45], [54]. Na Figura 7, é apresentado os componentes principais do equipamento utilizado em HR-CS AAS.

Figura 7. Principais componentes do equipamento empregado em HR-CS AAS: (1) lâmpada de arco curto de Xe; (2) lâmpada de catodo oco (opcional); (3) espelhos elipsoidais; (4) atomizador: chama ou forno de grafite; (5) fenda de entrada; (6) espelhos parabolóides; (7) prisma; (8) fenda intermediária; (9) rede de difração Echelle e (10) detector CCD. Adaptado de [55].

A lâmpada de arco curto de Xe empregada nas determinações por HR-CS AAS é operada no modo *hot-spot*, uma vez que a mesma possui um plasma de dimensão menor do que 0,2 mm com aproximadamente 10 000 K. Essa fonte de radiação possui intensidade uma a duas ordens de grandeza superior a uma HCL de um dado elemento, o que gera uma diminuição do ruído nas determinações e favorece a sensibilidade em comparação com as fontes de linha empregadas na AAS convencional. O monocromador duplo echelle empregado nessa técnica é composto por um prisma que realiza a pré-dispersão da radiação atenuada pelos analitos e proveniente do atomizador. Então, a faixa pré-dispersa de radiação é

conduzida à rede echelle, que produz uma segunda dispersão e gera uma resolução média de linha entre 2 e 8 pm. Por último, a radiação duplamente dispersa atinge o detector CCD para a leitura do sinal de absorvância, o qual possui 588 regiões fotossensíveis denominadas pixels, com 200 delas direcionadas a fins analíticos [45], [55].

O novo sistema óptico presente nos espectrômetros de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, aliado ao detector CCD, permitiu que fosse incorporado aos espectros de absorção, comumente compostos pelos eixos absorvância e tempo, um terceiro eixo: o comprimento de onda. Desse modo, os espectros de absorção gerados por esses equipamentos permitem uma análise evidente do ambiente espectral nas linhas analíticas ou pixels próximos ao comprimento de onda de interesse. A avaliação do ambiente espectral permite corrigir interferências causadas por linhas de absorção de elementos ou moléculas que sejam próximas à do analito. Uma vez que o grau de interferência de espécies moleculares aumenta em função da concentração, percebeu-se que a utilização de linhas espectrais moleculares como linhas de interesse permite a determinação de moléculas. Tendo em vista que a determinação por AAS de analitos que absorvem na faixa do ultravioleta de vácuo (10 a 200 nm, tais como Cl, F, I, P, S e etc.) é limitada pelo comprimento de onda, a determinação desses elementos tornou-se possível em equipamentos dotados de fonte contínua por meio da geração de uma molécula diatômica que absorva na mesma região do espectro eletromagnético que os átomos [55], [56].

A espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (HR-CS MAS – do inglês, *high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry*) difere da HR-CS AAS com relação à complexidade do espectro de absorção. Os átomos absorvem fótons que possuem energias correspondentes às transições eletrônicas, o que faz com o que o elétron ocupe um nível de energia mais alto em relação ao estado fundamental. As linhas de absorção de átomos são descritas como primária, a qual apresenta maior intensidade de absorção, e as secundárias, que são menos acessíveis em termos de níveis de energia eletrônicos. Portanto, o espectro de absorção atômico em um dado comprimento de onda é constituído por sinais transientes estreitos e agudos. No entanto, as transições eletrônicas em moléculas diatômicas são acompanhadas por transições a níveis vibracionais e rotacionais, uma vez que as energias envolvidas seguem a ordem $E_{\text{ele}} > E_{\text{vib}} > E_{\text{rot}}$. As energias vibracionais diferem entre si na ordem de 1 nm, ao passo que as energias rotacionais na ordem de 10 pm. Desse modo, um espectro de absorção molecular apresenta bandas estruturadas, que correspondem a transições rotacionais que ocorrem em concomitância com transições

eletrônicas. Devido a essa divisão energética, as determinações de moléculas por HR-CS MAS possuem menor sensibilidade em relação às técnicas atômicas F AAS (mg L^{-1}) e GF AAS ($\mu\text{g L}^{-1}$), já que moléculas são determináveis a níveis de g L^{-1} e mg L^{-1} quando se usa chama ou forno de grafite, respectivamente, com exceção de algumas moléculas que chegam a níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$ em forno de grafite [55], [57], [58].

A AAS apresenta como característica a exposição de uma matriz a elevadas temperaturas, capazes de quebrar ligações que analitos fazem com outros elementos com a finalidade de atomizá-los. Na HR-CS MAS, é utilizado o conceito de temperatura de vaporização, a qual corresponde à temperatura suficiente para gerar o vapor molecular, sem que haja ruptura das ligações presentes na molécula diatômica do analito que se pretende determinar. Portanto, é importante selecionar moléculas que apresentem estabilidade térmica suficiente para que a vaporização ocorra nos atomizadores. Tendo em vista que o controle de temperatura por meio da vaporização em chama é limitado, além da baixa sensibilidade inerente a essa técnica, em HR-CS MAS emprega-se com mais frequência determinações em forno de grafite, o qual permite um estudo minucioso das melhores temperaturas de pirólise e vaporização para a molécula estudada [55].

Elementos refratários e de difícil atomização em forno de grafite, como o Ba, podem ser determinados por meio de HR-CS MS, via moléculas que a priori foram estudadas para a determinação de elementos que absorvem no ultravioleta de vácuo. O trabalho de Huang et al. [59] teve como objetivo determinar iodo por HR-CS MAS em forno de grafite e as moléculas avaliadas para essa finalidade foram AlI , BaI , CaI , GaI , InI , MgI , SrI e TlI . A molécula que apresentou melhor desempenho foi BaI , de modo que a partir de $50 \mu\text{g}$ de Ba foi possível gerar a molécula de BaI , determinada em $508,308 \text{ nm}$. A determinação de iodo foi possível para o analito na forma de iodeto, iodato e para o mesmo ligado a compostos orgânicos. No estudo de interferentes, concentrações elevadas de Cl, F, Fe, K e Na resultaram na redução do sinal analítico de absorção para BaI . A fim de avaliar o desempenho analítico do método, duas amostras de comprimidos contendo iodo foram analisadas e as concentrações obtidas estavam de acordo com as especificadas. O desvio padrão relativo das determinações foi inferior a 2% e o limite de detecção foi de $0,6 \text{ ng}$ de iodo.

1.5.2 Aplicações da AAS a amostras de GSR

A aplicação da AAS a amostras de *primers* empregados em munições e GSR é encontrada em vários trabalhos na literatura. Tendo em vista que esse método de determinação requer que os analitos estejam dispostos em solução, Koons et al. [32] estudaram e aprimoraram métodos de preparação de amostras de GSR coletadas em *swabs* para determinação de Ba e Sb por F AAS. Soluções de Ba e Sb foram adicionadas a *swabs* e os mesmos foram submetidos à extração por aquecimento a 80 °C por 2 h com solução de HNO₃ 10% v v⁻¹. Os resultados obtidos da quantificação dos elementos, em ensaios conduzidos por meio de adição de Ba e Sb a amostras, evidenciaram precisão e exatidão satisfatórias dos métodos de extração e determinação adotados, com desvio de padrão relativo entre 5 e 10% para os analitos.

Reed et al. [60] utilizaram F AAS para determinar Sb e Ba em amostras de GSR provenientes das mãos de 112 vítimas de suicídios conduzidos com armas de fogo. As concentrações encontradas foram superiores aos limites mínimos especificados para GSR (0,2 e 0,3 µg, respectivamente para Sb e Ba) pelo Laboratório de Investigação Criminal do Exército dos EUA em 38% dos casos analisados. Revreby [61] utilizou a mesma técnica de determinação para análise de resíduos coletados de buracos gerados por projéteis provenientes de armas de fogo. Os elementos determinados foram Ba, Cu, Fe, K, Ni, Pb, Sb, Sr e Zn com a finalidade de relacionar as concentrações encontradas com o tipo de munição empregado no disparo. Contudo, as análises por F AAS comumente apresentam baixa sensibilidade para a determinação, principalmente, de Ba e Sb em amostras de GSR. Essa adversidade foi resolvida com a implementação da ET AAS como técnica de determinação elementar em GSR, a qual possibilitou a obtenção de menores limites de detecção e quantificação [5].

Gagliano-Candela e colaboradores [62] empregaram a ET AAS para determinar a massa de Pb depositada em alvos de papel em função da distância de disparos deflagrados por um revólver calibre .38. Os alvos pós-disparos foram previamente submetidos à extração, com emprego de 5 mL de HCl e aquecimento a 45 °C por 1-2 h. As determinações de Pb foram conduzidas no comprimento de onda 283,3 nm, para 25 µL do líquido extraído, com atomização em forno de grafite (pirólise a 1000 °C e atomização a 1800 °C). Foram obtidas massas de Pb que variaram de 4,10 a 5820 µg, com correlação linear entre a massa de Pb encontrada por área de alvo (µg cm⁻²) e a distância do disparo com relação ao anteparo de papel.

A determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras de GSR coletadas da mucosa nasal de atiradores foi conduzida por Aliste e Chávez [24]. O desaparecimento de GSR depositados nas mãos, por simples procedimento de lavagem ou contato com outras superfícies, motivou a investigação da mucosa nasal como local alternativo para coleta de amostras de GSR. Foram avaliados seis tipos diferentes de armas de fogo, entre pistolas e revólveres de calibres diversos. As amostras foram coletadas por meio de esfregaços com *swabs* previamente embebidos em solução de EDTA. Os *swabs* foram submetidos à extração com 1 mL de HNO₃ 10% v v⁻¹ e aquecimento a 80 °C por 2 h, seguido por 15 min em banho ultrassônico. As concentrações obtidas variaram, em µ L⁻¹, de 1 a 1000 (Pb), 100 a 500 (Ba) e 1 a 100 (Sb). Embora as concentrações de GSR obtidas em mucosa nasal tenham sido menores do que as em mãos, foi possível determinar os analitos em amostras coletadas em mucosa nasal de atiradores até 12 h depois da deflagração dos disparos.

A análise por AAS é frequentemente empregada para amostras de GSR aliada a outras técnicas de determinação, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC – do inglês, *high-performance liquid chromatography*) [63], eletroforese capilar [64], SEM-EDS [34], voltametria e outras técnicas eletroquímicas relacionadas [12], [65], dentre outras. O uso concomitante de duas ou mais técnicas para análise desse tipo de amostra é resultante das vantagens e limitações inerentes aos métodos. Nesse sentido, a análise por AAS abrange todos os elementos relacionados a GSR, além de apresentar disponibilidade e custos mais acessíveis à polícia, comparativamente às técnicas microscópicas; facilidade de operação e automação, especificidade e sensibilidade, o que permite o emprego da mesma como um método eficiente de triagem de amostras de GSR.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste projeto foi diagnosticar possíveis falso-positivos para disparos de arma de fogo (revólver calibre .38 SPL e pistola calibre .380), conduzidos com emprego de munições comuns, em testemunhas oculares de disparo de arma de fogo e profissionais automotivos. Para essa finalidade, os elementos Pb, Ba e Sb foram determinados por ET AAS em amostras de GSR, coletadas de atirador e testemunhas oculares de disparo, e amostras provenientes de profissionais automotivos. Além disso, a caracterização de partículas presentes nessas amostras foi conduzida por SEM-EDS. Buscou-se com isso: avaliar a influência da distância de testemunhas oculares em relação ao atirador na contaminação das mesmas com GSR; distinguir as partículas oriundas de disparo de arma de fogo das provenientes de fontes ocupacionais que podem apresentar composições elementares características desses resíduos, por meio de parâmetros de concentração ou proporção elementar; identificar e diferenciar o atirador de testemunhas oculares de disparos de armas de fogo e profissionais automotivos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos foram realizados com reagentes de grau analítico. O preparo de soluções aquosas foi realizado com H₂O obtida do sistema de purificação Milli-Q Direct 16 (Millipore, EUA), com resistividade 18,2 MΩ cm. Todos os materiais utilizados foram previamente lavados e descontaminados em banho de HNO₃ 50% v v⁻¹ por 24 horas e o ácido nítrico residual foi retirado por lavagem com H₂O.

3.1 Materiais e reagentes

As otimizações das variáveis instrumentais da técnica ET AAS e da extração dos analitos foram conduzidas a partir de amostras de GSR coletadas em *swabs* secos (Cotonetes®, Johnson & Johnson). No procedimento de extração, foi utilizada solução de HNO₃ 10% v v⁻¹, preparada a partir de solução estoque de HNO₃ 69,8% m m⁻¹ (15,7 mol L⁻¹, J.T.Baker). Soluções padrão de Pb, Ba e Sb (1 mg L⁻¹) em meio de HNO₃ 2% v v⁻¹ foram preparadas por meio de diluição de soluções estoque de Pb (Merck, 1000 mg L⁻¹), Sb (Fluka, 1000 mg L⁻¹) e Ba (Sigma-Aldrich, 1000 mg L⁻¹) para a construção de curvas de calibração externa e testes de adição e recuperação.

Nas determinações de Pb e Sb por ET AAS, empregou-se como modificador químico uma solução de Pd e Mg, respectivamente, 1 g L⁻¹ e 0,1 g L⁻¹, preparada por meio de diluição de soluções estoque de Pd(NO₃)₂ (Sigma-Aldrich, 10 g L⁻¹) e Mg(NO₃)₂ (Merck, 10 g L⁻¹) em H₂O.

Nas determinações de Ba por ET AAS, utilizou-se como modificador químico solução de Ca 1 g L⁻¹ em HNO₃ 5% v v⁻¹, preparada por meio de dissolução de solução estoque de CaCO₃ (VHG Labs, 10,038 g L⁻¹). Como modificador permanente para esse analito, empregou-se solução de Ir (Fluka, 983 mg L⁻¹), Rh (Fluka, 999 mg L⁻¹) e de W 1 g L⁻¹, esta última preparada por meio de dissolução de solução estoque de W (Fluka, 10,026 g L⁻¹) em H₂O. No estudo de modificadores químicos para esse analito, foram empregadas soluções aquosas de CaCO₃ 1 g L⁻¹ em HNO₃ 5% v v⁻¹, Pd(NO₃)₂ 1 g L⁻¹, Ir (Fluka, 983 mg L⁻¹) e nanopartícula de Pd. A última foi obtida pelo método adaptado de Resano et al. [66]: 10 mL de uma solução de polivinilpirrolidona (PVP), preparada a partir da solubilização de 264 mg

de PVP em 25 mL de etanol e 100 mL de H₂O, foram adicionados a 5,5 mL de solução de Pd(NO₃)₂ 10 g L⁻¹ e a solução resultante foi submetida a aquecimento sob refluxo a 70 °C por 3 h.

O estudo de interferentes espectrais na determinação de Sb por ET AAS foi conduzido usando soluções de Pb 50000 µg L⁻¹ e Cu 50000 µg L⁻¹ em meio de HNO₃ 2% v v⁻¹, preparadas a partir de dissolução de soluções de Pb (Merck, 1000 mg L⁻¹) e Cu (Merck, 1000 mg L⁻¹).

Para o estudo da determinação de Ba por meio de absorção molecular (HR-CS AAS) via molécula BaF, foi utilizada uma solução estoque de F (Merck, 1000 mg L⁻¹).

Os *stubs* utilizados nas análises por SEM-EDS foram previamente lavados com 2-propanol (Sigma-Aldrich).

3.2 Instrumentação

A extração dos analitos em *swabs* de amostras de GSR e profissionais automotivos foi conduzida em banho ultrassônico USC-1400 (UNIQUE, Brasil), banho termostatizado MA 127 (Marconi, Brasil) e centrífuga Z 326 K (Hermle Labortechnik, Alemanha).

3.2.1 Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS

As determinações de Pb, Ba e Sb foram conduzidas no espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 800 (PerkinElmer, EUA), equipado com amostrador automático AS-800 (PerkinElmer, EUA) para introduzir as soluções no atomizador. Lâmpadas de cátodo oco Lumina Lamp (PerkinElmer, Singapura) de Pb e Ba; WL-22931 (IST, EUA) de Sb foram utilizadas como fonte de radiação. Foram empregados como atomizadores fornos de grafite pirolítico aquecidos transversalmente, com plataforma integrada de grafite pirolítico (Pb); plataforma modificada permanentemente com W-Rh (Ba); e *end cap* (Sb). Argônio 99,999% (White Martins, Brasil) foi utilizado como gás inerte de purga e proteção. Com relação aos modificadores químicos, foram empregados 5 µL de uma solução de Pd (1 g L⁻¹) e Mg (0,1 g L⁻¹) nas determinações de Pb e Sb; e 5 µL de uma solução de Ca (1 g L⁻¹) nas determinações de Ba.

Os parâmetros instrumentais de determinação dos analitos são apresentados na Tabela 4. Os programas de aquecimento empregados na etapa de otimização da extração/estudo de modificadores químicos para Ba e após a otimização das temperaturas de pirólise e atomização são mostrados nas Tabelas 5, 6 e 7 para Pb, Ba e Sb, respectivamente.

Uma vez que a linha de absorção de Sb (217,6 nm) é próxima das linhas de Pb (217,0 nm) e Cu (217,9 nm) [46], o estudo desses possíveis interferentes espectrais na determinação de Sb por ET AAS foi conduzido para soluções de Pb 50000 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Cu 50000 $\mu\text{g L}^{-1}$ em meio de HNO_3 2% v v⁻¹, com emprego de atomização em forno de grafite com *end cap*, 5 μL de uma solução de Pd e Mg como modificador químico e programa de aquecimento otimizado descrito na Tabela 7.

Tabela 4. Parâmetros instrumentais do espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 800 (PerkinElmer) para as determinações de Pb, Ba e Sb

Parâmetro	Elemento		
	Pb	Ba	Sb
Comprimento de onda (nm)	283,3	553,6	217,6
Corrente elétrica da lâmpada (mA)	10	25	17
Fenda espectral (nm)	0,7	0,2	0,7
Correção de sinal de fundo	Efeito Zeeman longitudinal		
Volume injetado de amostra (μL)	20	20	20

Tabela 5. Programa de aquecimento do espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 800 (PerkinElmer) empregado nas determinações de Pb

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Vazão de Ar (mL min^{-1})
Secagem	110	1	30	250
Secagem	130	15	30	250
Pirólise	1100 ^{a,b}	10	20	250
Atomização	1900 ^a , 2000 ^b	0	3	0
Limpeza	2500	1	5	250

a: otimização das variáveis da extração; b: após otimização das temperaturas de pirólise e atomização.

Tabela 6. Programa de aquecimento do espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 800 (PerkinElmer) empregado nas determinações de Ba

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Vazão de Ar (mL min⁻¹)
Secagem	110	1	30	250
Secagem	130	15	30	250
Pirólise	1200 ^a , 900 ^b	10	20	250
Atomização	2400 ^{a,b}	0	6	0
Limpeza	2600	1	5	250

a: estudo de modificadores químicos/otimização das variáveis da extração; b: após otimização das temperaturas de pirólise e atomização.

Tabela 7. Programa de aquecimento do espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 800 (PerkinElmer) empregado nas determinações de Sb

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Vazão de Ar (mL min⁻¹)
Secagem	110	1	30	250
Secagem	130	15	30	250
Pirólise	1100 ^a , 1300 ^b	10	20	250
Atomização	2100 ^{a,b}	0	3	0
Limpeza	2500	1	5	250

a: otimização das variáveis da extração; b: após otimização das temperaturas de pirólise e atomização.

3.2.1.1 Modificadores químicos para Ba

Com a finalidade de evitar a formação de espécies refratárias de Ba, foi estudada a influência de modificadores químicos no perfil de atomização de 20 µL de solução de Ba 20 µg L⁻¹. Foram testados os modificadores permanentes W-Ir e W-Rh, termodepositados na superfície de plataformas de grafite pirolítico pelos métodos descritos na Seção 3.2.1.2, bem como foram empregados 5 µL das soluções de Ca(NO₃)₂, Pd(NO₃)₂, Ir e nanopartícula de Pd como modificadores químicos, injetadas individualmente na plataforma do forno de grafite. Além disso, foram avaliadas como modificadores químicos as seguintes soluções, combinadas e injetadas concomitantemente (5 µL de cada solução) com solução de Ca(NO₃)₂: Pd, Ir e

nanopartícula de Pd. O estudo de cada um dos modificadores químicos mencionados foi conduzido nos fornos de grafite: sem plataforma pirolítica; com plataforma recoberta com W (250 µg) e Ir (197 µg); e plataforma recoberta com W (250 µg) e Rh (200 µg).

3.2.1.2 Modificador químico permanente de W-Rh

O Ba é um elemento refratário, que forma carbetos e óxidos estáveis em temperaturas superiores a 1200 °C [67]. Para evitar a formação desses interferentes, nas determinações de Ba por ET AAS foi utilizado forno de grafite pirolítico modificado permanentemente com W e Rh. Alíquotas de 50 µL de soluções padrão de W 1 g L⁻¹ e Rh 1 g L⁻¹ foram injetadas na plataforma de grafite e submetidas ao tratamento térmico adaptado do trabalho de Lima et al. [68] descrito a seguir.

Para a termod deposição de 250 µg de W:

- a) 50 µL de solução de W 1 g L⁻¹ foram injetados na plataforma de grafite pirolítico;
- b) Seguiu-se com o seguinte programa de secagem e pirólise (rampa e permanência): 120 °C (5 e 25 s), 150 °C (10 e 60 s), 600 °C (20 e 15 s) e 1000 °C (10 e 15 s);
- c) Repetiram-se as etapas (a) e (b) por mais três vezes;
- d) Repetiu-se a etapa (a) e seguiu-se com o seguinte programa de aquecimento (rampa e permanência): 120 °C (5 e 25 s), 150 °C (10 e 60 s), 600 °C (20 e 15 s), 1000 °C (10 e 15 s), 1400 °C (10 e 5 s) e 2000 °C (3 e 2 s);
- e) Repetiu-se 4 vezes o programa de aquecimento a seguir, para a formação de carbeto de W em temperatura intermediária (rampa e permanência): 150 °C (1 e 10 s), 600 °C (10 e 15 s), 1100 °C (10 e 5 s) e 1400 °C (10 e 10 s);
- f) Repetiu-se 4 vezes o programa de aquecimento a seguir, para a formação de carbeto de W a alta temperatura (rampa e permanência): 150 °C (1 e 10 s), 600 °C (10 e 15 s), 1100 °C (10 e 5 s), 1400 °C (10 e 10 s), 1500 °C (3 e 5 s), 1600 °C (1 e 1 s), 1700 °C (1 e 1 s), 1800 °C (1 e 1 s), 1900 °C (1 e 1 s) e 2000 °C (1 e 1 s).

Para a termod deposição de 200 µg de Rh:

- a) 50 µL de solução de Rh 1 g L⁻¹ foram injetados na plataforma de grafite pirolítico previamente recoberta com 250 µg de W;
- b) Seguiu-se com o seguinte programa de secagem e pirólise (rampa e permanência): 120 °C (1 e 25 s), 150 °C (5 e 60 s), 1000 °C (10 e 10 s) e 1400 °C (1 e 5 s);

- c) Repetiram-se as etapas (a) e (b) por mais 2 vezes;
- d) Repetiu-se a etapa (a) e o programa de aquecimento a seguir (rampa e permanência): 120 °C (1 e 25 s), 150 °C (5 e 60 s), 1000 °C (10 e 10 s), 1400 °C (1 e 5 s) e 2000 °C (1 e 3 s).

No teste de modificadores permanentes para Ba, a termod deposição de W-Ir foi conduzida pelos mesmos métodos descritos nesta Seção, com termod deposição de 197 µg de Ir na plataforma de grafite pirolítico, uma vez que foi utilizada solução de Ir 0,983 g L⁻¹.

3.2.2 Determinação de Ba por HR-CS MAS

A determinação de Ba por HR-CS MAS via molécula BaF foi estudada no espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua contra AA 700 (Analytik Jena AG, Alemanha), equipado com amostrador automático para introduzir as soluções no atomizador. Foi utilizada como fonte de radiação uma lâmpada de arco curto de xenônio XBO 301 (GLE, Alemanha), operada a 300 W, e atomização em forno de grafite pirolítico com plataforma integrada (Analytik Jena AG) aquecido transversalmente. Argônio 99,999% (White Martins, Brasil) foi utilizado como gás inerte de purga e proteção. Os valores de absorvância integrada foram obtidos com 3 pixels, sendo um pixel central e seus adjacentes (± 1). A janela espectral utilizada tinha 200 pixels de detecção, com a linha analítica localizada no centro. Os parâmetros instrumentais e o programa de aquecimento do equipamento são apresentados nas Tabelas 8 e 9, respectivamente.

A determinação de Ba por HR-CS MAS foi testada a partir da injeção de 20 µL de soluções padrão de Ba 5, 20 e 25 µg L⁻¹. Para a formação da molécula BaF, uma solução estoque de F 1000 g L⁻¹ (volumes de 2,5, 5, 10, 15 e 20 µL) foi injetada no forno de grafite pirolítico concomitantemente com a solução do analito [69]. O procedimento foi testado em forno de grafite sem e com plataforma pirolítica, de acordo com o programa de aquecimento apresentado na Tabela 9.

Tabela 8. Parâmetros instrumentais do espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua contrAA 700 (Analytik Jena AG) para a determinação de Ba por meio de absorção molecular (BaF)

Parâmetro	Elemento
	Ba
Tipo de lâmpada	Arco curto de xenônio
Comprimento de onda (nm)	495,0880
Corrente elétrica da lâmpada (A)	13
Vazão de argônio (L min ⁻¹)	2
Correção de sinal de fundo	Iterativa à linha de base

Tabela 9. Programa de aquecimento do espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua contrAA 700 (Analytik Jena AG) empregado na determinação de Ba por meio de absorção molecular (BaF)

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (°C s ⁻¹)	Permanência (s)	Vazão de gás (L min ⁻¹)
Secagem	110	6	20	2
Secagem	130	3	20	2
Pirólise	900	300	20	2
Vaporização	2200	1500	10	0
Limpeza	2800	500	5	2

3.2.3 Análise de amostras por SEM-EDS

Para avaliar a composição elementar e a estrutura morfológica de partículas presentes em amostras de GSR e de profissionais automotivos, foi empregado um microscópio eletrônico de varredura Zeiss EVO 50 (Carl Zeiss AG, Reino Unido), equipado com um espectrômetro de fluorescência de raios-X por energia dispersiva 500 Digital Processing (IXRF Systems, EUA). Com a finalidade de aumentar a resolução das imagens obtidas por SEM, as amostras que apresentaram partículas com a tríade Pb-Ba-Sb em sua composição foram recobertas com Au no pulverizador catódico SCD 050 (BAL-TEC, Liechtenstein), com tempo de permanência de 120 s na câmara de pulverização, e analisadas novamente por SEM.

3.3 Amostragem

A coleta de amostras de GSR foi conduzida no estande do Clube de Tiro Edleo, na cidade de Ribeirão Preto-SP. Os testes foram executados em ambiente isolado e isento de correntes de ar significativas. Os disparos foram efetuados com revólver calibre .38 SPL e pistola calibre .380 (Tabela 10 e Figura 8), com emprego de munições comuns produzidas pelas CBC[®] (Companhia Brasileira de Cartuchos) e angulação da mão do atirador a 90° em relação a sua cabeça. Tendo em vista a suscetibilidade a contaminações, as armas de fogo foram limpas com folha de papel umedecida com H₂O antes e posteriormente aos disparos. Antes e entre os disparos efetuados, as mãos do atirador e testemunhas oculares foram lavadas três vezes com cada uma das soluções a seguir, nesta sequência: detergente neutro, vinagre e H₂O; os orifícios da mucosa nasal do atirador e testemunhas oculares foram lavados três vezes com H₂O [24], [27].

Tabela 10. Especificações das armas de fogo empregadas na amostragem de GSR

Arma de fogo	Marca	Modelo	Calibre	Funcionamento	Munição
Revólver	Taurus [®]	82	.38 SPL	Ação dupla e simples	Padrão CBC [®]
Pistola	Imbel [®]	GC MD1	.380	Ação dupla e simples	Padrão CBC [®]

Figura 8. (A) Revólver calibre .38 SPL e (B) pistola calibre .380 utilizados na amostragem de GSR.

3.3.1 Atirador

As amostras foram coletadas de um único atirador, no orifício direito da mucosa nasal e na mão direita do mesmo, entre os dedos indicador e polegar, na região palmar e posterior, por meio de esfregaços com *swabs* (Cotonetes®, Johnson & Johnson) secos, imediatamente após (tempo zero) cada disparo ($n = 7$, para cada uma das armas de fogo). A extremidade de algodão do *swab* seco de amostra foi cortada com uma tesoura e introduzida em um tubo de polipropileno de 15 mL contendo 2 mL de solução de HNO_3 10% v v⁻¹. O volume foi ajustado para 10 mL com H_2O e obteve-se uma solução de HNO_3 2% v v⁻¹. Os brancos analíticos foram coletados antes e posteriormente aos disparos, após a lavagem das mãos e mucosa nasal [24], [26].

3.3.2 Testemunhas Oculares

Nos testes de contaminação com GSR, um indivíduo do sexo masculino e outro do feminino foram dispostos como testemunhas oculares durante cada disparo, de acordo com a Figura 9; ambos mantiveram o braço estendido a um ângulo de 90° em relação a sua própria cabeça, posição essa que foi mantida pelos 10 s que sucederam cada disparo. Desse modo, avaliou-se a contaminação de testemunhas oculares com GSR, após um único disparo, em função da distância das mesmas em relação ao atirador: 0 (encostado), 0,25, 0,50, 0,75, 1,0, 1,5, 2,0 e 3,0 m. Para cada distância estudada, amostras foram coletadas de testemunhas oculares em mucosa nasal e mão mais próxima ao atirador por meio de esfregaços com *swabs* secos, de acordo com o mesmo procedimento descrito para atirador na Seção 3.3.1.

Figura 9. Disposição de (A) atirador e (B) testemunhas oculares durante os disparos efetuados com revólver calibre .38 SPL e pistola calibre .380 para amostragem de GSR. A linha pontilhada é definida como a linha de tiro.

3.3.3 Profissionais automotivos

A amostragem em profissionais do setor automobilístico ($n = 9$, frentistas de posto de gasolina, mecânicos e eletricistas automotivos) foi conduzida nos respectivos locais de trabalho, durante a execução de suas atividades profissionais. A coleta foi conduzida na mão direita dos profissionais por meio de esfregaços com *swabs* secos, assim como o procedimento descrito na Seção 3.3.1. Os brancos analíticos foram obtidos das mãos de profissionais, após lavagem das mesmas, em triplicata, com detergente neutro, vinagre e H_2O , nessa sequência [21].

3.3.4 Amostras para análise por SEM-EDS

Para a análise por SEM-EDS, a amostragem de partículas presentes nas mãos de atiradores, testemunhas oculares de disparo e profissionais automotivos foi conduzida por meio de *stubs* de alumínio (1,27 cm de diâmetro), previamente limpos com álcool isopropílico em banho ultrassônico a 40 kHz por 20 min. Os *stubs* foram recobertos superficialmente com fita dupla face de carbono (Ted Pella, INC., EUA, 8 mm) e pressionados 40 vezes na superfície da mão direita (atirador e profissionais) ou da mão mais próxima ao atirador (testemunhas oculares, de acordo com a Figura 9), entre os dedos indicador e polegar, na região palmar e posterior. As amostras provenientes de atirador e testemunhas oculares foram

coletadas após único disparo, efetuado com revólver calibre .38 SPL e pistola calibre .380; as testemunhas oculares estavam dispostas à distância de 1 m do atirador durante cada disparo.

3.4 Extração dos analitos

As amostras coletadas em *swabs* foram submetidas a um processo de extração para que os analitos fossem integralmente dispostos em fase líquida e estivessem aptos à determinação por ET AAS. As curvas de calibração externa empregadas na determinação dos analitos foram construídas por meio de esfregaços com *swabs* em mãos isentas de GSR, com adição subsequente de volumes específicos de soluções padrão ($1000 \mu\text{g L}^{-1}$) de Pb, Ba e Sb. Todos os pontos da curva e o branco analítico foram submetidos ao procedimento de extração.

Com relação ao procedimento de extração empregado e adaptado do trabalho de Vanini et al. [26], as amostras coletadas em *swabs* foram introduzidas em tubos de polipropileno contendo 10 mL de solução de HNO_3 2% v v⁻¹ e submetidas a banho ultrassônico a 40 kHz por 20 min, sucedido por aquecimento em banho termostatizado a 80 °C por 45 min. Em seguida, o sistema foi centrifugado a 3500 rpm, a 25 °C por 5 min. O sobrenadante, isento de *swab*, foi transferido para outro tubo, o volume ajustado para 10 mL com solução de HNO_3 2% v v⁻¹ e as determinações dos elementos foram conduzidas por ET AAS.

3.4.1 Otimização da extração

A eficiência da extração foi analisada por meio da otimização das variáveis: temperatura do banho termostatizado, testada a 60, 80 e 100 °C; tempo de submissão ao aquecimento, testada a 30, 45 e 60 min; e banho ultrassônico a 40 kHz, testada a 5, 12,5 e 20 min. Todos os ensaios foram conduzidos com amostras de GSR coletadas de atirador com *swabs* secos, após único disparo de revólver calibre .38 SPL com munição comum, e a resposta analítica avaliada foi a absorvância integrada para cada um dos analitos. Para isso, utilizou-se um planejamento fatorial do tipo 2^k = número de ensaios, sendo k o número de variáveis (k = 3, o que resultou em 8 ensaios), estudadas em 2 níveis (inferior e superior, codificados por -1 e 1, respectivamente). Cinco replicatas do ponto central (codificado por 0)

foram introduzidas no planejamento com a finalidade de determinar o erro experimental, dada a dificuldade de reproduzir replicatas de amostras de GSR. O processamento dos dados da otimização foi conduzido no software Statistica 13.0 (StatSoft Inc., EUA).

3.5 Procedimentos quimiométricos de tratamento dos dados

Com a finalidade de diferenciar estatisticamente as classes atirador, testemunha ocular e profissionais automotivos, os resultados obtidos foram analisados quimiometricamente por meio de análise de componentes principais (PCA – do inglês, *principal component analysis*). Essa ferramenta estatística é comumente empregada para analisar dados que excedem 3 variáveis, já que a exploração gráfica nesses casos não é possível, ressalva a necessidade de realizar apenas agrupamento de dados que se relacionem com menos de 4 variáveis. Desse modo, uma matriz de dados é reduzida e representada por novas variáveis denominadas componentes principais (PC – do inglês, *principal component*), as quais são resultado de uma combinação linear das variáveis estudadas, dada pela Equação (1), na qual $\mathbf{p}_i$ é a i -ésima componente principal e $c_{i,j}$ é o coeficiente da variável x_j [19], [70].

$$\mathbf{p}_i = \sum_{j=1}^v c_{i,j} x_j \quad (1)$$

A aplicação da PCA a um conjunto de dados gera dois gráficos principais: um deles representa a contribuição e grau de relevância de cada uma das variáveis na formação do sistema de eixos composto pelas componentes principais (*loadings*); o outro é a representação das amostras nos eixos das novas componentes principais (*scores*), o qual fornece informações relativas ao agrupamento de dados amostrais e permite a identificação de amostras com comportamento incompatível com as tendências definidas pela PCA (*outliers*) [19].

Neste trabalho, os valores de concentração de Pb, Ba e Sb obtidos para cada uma das amostras foram transformados por meio da aplicação de função logarítmica ($\log_{10}$) com o intuito de reduzir a dispersão entre os dados. Os resultados transformados e correspondentes às respectivas classes avaliadas foram introduzidos no software Pirouete® e analisados por PCA.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação de Ba por HR-CS MAS

Para a determinação de Ba por HR-CS MAS via molécula de BaF, estudou-se o analito em solução nas concentrações 5, 20 e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ e, para cada concentração avaliada, foram injetadas massas de F entre 2,5 e 20 μg por ciclo de aquecimento em forno de grafite dotado e isento de plataforma pirolítica. Para todas as condições testadas, a absorvância integrada no comprimento de onda 495,0880 nm foi semelhante à de um branco analítico. Isso evidenciou que a formação da molécula de BaF não é detectável por absorção molecular em concentrações de Ba da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$.

Ozbek e Akman [69] determinaram F, em concentrações da ordem de 0,1 μg , em amostras de leite e água por meio de absorção molecular via BaF. Sinais analíticos foram obtidos com o emprego de massas de Ba superiores a 40 μg . Portanto, o método de determinação por absorção molecular de BaF não apresenta sensibilidade suficiente para quantificar o Ba presente na ordem de 1 μg por *swab* proveniente de atirador em amostras de GSR. Sendo assim, as determinações de Ba nas amostras foram conduzidas exclusivamente por meio de ET AAS.

4.2 Modificadores químicos para Ba

O Ba é um elemento refratário, que forma carbetos e óxidos estáveis em temperaturas superiores a 1200 °C. Considerando as condições térmicas da técnica ET AAS e a dificuldade intrínseca para atomizá-lo em forno de grafite, sinais transientes com bandas largas de absorção e baixa sensibilidade podem ser obtidos nas determinações desse elemento, de modo que são necessários tempos maiores de permanência na etapa de atomização e leitura [67], [71]. Dessa maneira, o uso de modificador químico adequado tem como objetivo reduzir a formação de espécies refratárias de Ba em forno de grafite, o que garante um perfil de atomização adequado para uma análise precisa e exata do analito, sinal transiente simétrico e retorno do mesmo para a linha de base do espectro de absorção no comprimento de onda do analito.

Com relação aos modificadores químicos avaliados neste estudo, as soluções de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e nanopartícula de Pd geraram sinais transientes para Ba com banda de absorção larga e ausência de retorno para a linha de base do espectro, nos fornos de grafite com plataforma sem modificador, com recobrimento de W-Ir e de W-Rh. O emprego da solução de Ir não gerou sinal transiente nas condições avaliadas, de modo que a atomização do elemento foi praticamente nula na presença desse modificador. As combinações, dois a dois, de 5 μL de solução de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ com 5 μL de Ir, Pd e nanopartícula de Pd não favoreceram a atomização de Ba nos três tipos de fornos de grafite testados.

Nos fornos com plataforma isenta de modificador permanente e com recobrimento de W-Ir, a solução de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ não favoreceu a determinação de Ba, pois as absorvâncias integradas variaram muito entre as replicatas ($n=3$), o que culminou em um desvio padrão relativo (RSD – do inglês, *relative standard deviation*) superior a 10%. Contudo, no forno de grafite com plataforma pirolítica modificada com W-Rh, essa mesma solução favoreceu a atomização do analito, foram obtidos sinais transientes finos e absorvâncias integradas com RSD inferior a 5%, embora o perfil de absorção tenha apresentado deslocamento positivo em relação à linha de base do espectro, uma vez que os estudos de modificadores químicos foram conduzidos com emprego do programa de aquecimento anterior à otimização das temperaturas de pirólise e atomização (Tabela 6).

Tendo em vista os resultados obtidos, o emprego de 5 μL de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 1 g L^{-1} como modificador químico, injetado em concomitância com a amostra sobre plataforma modificada permanentemente com W (250 μg) e Rh (200 μg), foi mantido nas determinações subsequentes de Ba conduzidas por ET AAS.

4.2.1 Mecanismo de ação dos modificadores W-Rh e Ca

Os elementos formadores de carbetos ou metais refratários (MR), como Nb, Ti, W e Zr, são comumente utilizados como modificadores químicos permanentes em plataformas de fornos de grafite pirolítico. O mecanismo proposto por Tsalev et al. [72] para o emprego de MR como modificadores químicos permanentes é baseado na formação, sob aquecimento, de carbeto estáveis de MR em plataforma de grafite, os quais são facilmente oxidáveis em sua superfície. Em meio aquoso e ácido, comumente utilizado para introduzir soluções no forno de grafite, os carbeto de MR passam por um processo de oxidação. A sorção de analitos em

plataforma modificada ocorre por meio da formação de heteropoliácidos formados pelas espécies oxidadas de MR e oxiânions de analitos. Com o aumento de temperatura durante a etapa de pirólise, os heteropoliácidos formados são desidratados, com resultante formação de óxidos mistos bastante estáveis, compostos por MR e analitos. Com o aumento de temperatura da etapa de atomização, as temperaturas atingem cerca de 2000 °C, de modo que as ligações dos óxidos mistos são rompidas, com formação de CO. Nessa última etapa, o analito é totalmente reduzido e origina o vapor atômico apto a absorver radiação, o qual é carregado para a atmosfera interior do forno pela evolução de CO. Finalmente, os MR remanescentes e provenientes de óxidos mistos são reconvertidos em carbetos, sob aquecimento na fase de atomização [53], [73]. O fluxograma resumido do mecanismo proposto é apresentado na Figura 10.

Figura 10. Fluxograma do mecanismo de ação proposto para MR, empregados como modificadores químicos permanentes em plataforma de forno de grafite pirolítico. Adaptado de [53].

Os elementos Ir, Pd, Pt, Rh e Ru, que compõem os metais do grupo da platina (MGP) e são comumente utilizados como modificadores químicos, não formam carbetos com a plataforma de grafite, diferentemente dos MR. A volatilidade dos MGP no interior do forno de grafite é reduzida na presença de MR, o que justifica o uso concomitante de ambos como modificador químico permanente, além do fato de que, neste caso, ocorrem dois mecanismos simultâneos que podem favorecer a atomização de analitos. Enquanto modificadores químicos, o mecanismo de ação dos MGP está relacionado com a formação de compostos de intercalação, seguida pela ativação dos átomos de MGP intercalados na rede de grafite. Evidências experimentais demonstraram que os MGP ativados estão na forma elementar ou de óxidos; os átomos ativados do modificador formam ligações covalentes fortes com óxidos de analitos, o que torna os analitos instáveis termicamente menos suscetíveis a volatilização durante a etapa de pirólise [74]–[76]. A Figura 11 apresenta o processo genérico que ocorre na superfície da plataforma de grafite.

Figura 11. Representação esquemática do mecanismo de ação proposto para os MGP como modificadores químicos permanentes [53], [75]. M_xO_y = óxido do metal; A_zO_w = óxido do analito; $\text{M}_x\text{A}_z\text{O}_{(w+y)}$ = composto de intercalação estabilizante; M = metal; A = analito; O = oxigênio.

Com relação ao modificador permanente de W e Rh, empregado nas determinações de Ba deste trabalho, o W forma sob aquecimento carbetos com elevado ponto de fusão e apresenta resistência a ataques ácidos, o que contribui para o aumento da vida útil do forno de grafite, considerando que nas determinações de Ba a amostra é submetida a maiores tempos de permanência na etapa de atomização (6 s); o Rh, enquanto elemento do grupo da platina, tende a formar óxidos sob aquecimento na etapa de secagem, os quais se intercalam na superfície de grafite e originam átomos ativados de Rh capazes de estabilizar o Ba por ligações covalentes. Desse modo, durante a etapa de pirólise, a mobilidade do analito é praticamente suprimida pelas fortes ligações com o modificador. Durante o aquecimento da etapa de atomização, as ligações entre Rh e Ba são quebradas, com formação subsequente do

vapor atômico do analito [67], [75]. Neste estudo, a eficiência do uso de Rh como modificador químico permanente é justificada pela transformação das formas químicas de Ba em uma única espécie no interior do forno de grafite, por meio da formação de ligações covalentes entre Rh e o analito, com consequente diminuição da formação de óxidos e carbetos de Ba. A obtenção de uma forma única para o analito origina um padrão de atomização isento de ombros, favorece o sinal transiente de absorção e a construção de curvas de calibração, uma vez que as análises tornam-se mais reproduzíveis nessas condições.

Nas determinações de Ba conduzidas em plataforma de grafite modificada permanentemente com W-Rh, o emprego de 5 μL de solução de Ca como modificador químico favorece a atomização de Ba, possivelmente, em razão da formação preferencial de CaC_2 na superfície interna e exposta do forno de grafite, uma vez que a termod deposição de MR e MGP não é homogênea. Isso é evidenciado pelo ponto de fusão do BaC_2 (1750 °C), o qual apresenta menor estabilidade térmica quando comparado com o ponto de fusão do CaC_2 (2300 °C) [53]. Portanto, o Ca provoca um deslocamento no equilíbrio de formação de espécies refratárias de Ba e libera o mesmo para ser submetido ao mecanismo de ação dos modificadores permanentes utilizados.

4.3 Otimização da extração dos analitos

O método de extração comumente aplicado a amostras de GSR coletadas em *swabs* demanda um tempo de execução de 90 a 120 min [26], [27], [32]. Com a finalidade de tornar o preparo de amostra mais rápido e reduzir o consumo de energia, as variáveis temperatura do banho termostaticado (Temp.), tempo de aquecimento (Term.) e submissão ao banho ultrassônico (Ultra.) foram avaliadas. A partir de um planejamento fatorial (2^3) e cinco replicatas do ponto central, foram realizados 13 ensaios. A matriz empregada na otimização multivariada e as respectivas absorvâncias integradas obtidas para Pb, Ba e Sb em cada ensaio são apresentadas na Tabela 11.

O planejamento fatorial empregado é descrito pelo modelo linear mostrado na Equação (2): o valor de $\hat{y}$ encerra a resposta analítica em função do seu valor médio, b_0 , dos fatores - x_1 (Temp.); x_2 (Term.); e x_3 (Ultra.) -, da interação entre fatores - x_1x_2 , x_1x_3 ... $x_1x_2x_3$ - e de seus respectivos coeficientes de regressão, b_1 , b_2 ... b_{123} [26], [77].

$$\hat{y} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3 \quad (2)$$

Tabela 11. Resposta dos níveis reais e codificados dos fatores avaliados na otimização multivariada (2^3 + ponto central) para a extração de Pb, Ba e Sb em *swabs* de GSR

Ensaio	Fatores						Resposta (absorvância integrada, s)		
	Temperatura do banho (°C)		Tempo de aquecimento (min)		Tempo no banho ultrassônico (min)		Pb	Ba	Sb
	Real	Codificado	Real	Codificado	Real	Codificado			
1	60	-1	30	-1	5	-1	0,1748	0,0347	0,0080
2	100	1	30	-1	5	-1	0,6104	0,0666	0,0202
3	60	-1	60	1	5	-1	1,6500	0,1476	0,0484
4	100	1	60	1	5	-1	0,2544	0,0586	0,0084
5	60	-1	30	-1	20	1	0,4392	0,1252	0,0203
6	100	1	30	-1	20	1	0,5105	0,1784	0,0233
7	60	-1	60	1	20	1	0,3416	0,0536	0,0199
8	100	1	60	1	20	1	0,6770	0,1500	0,0335
9	80	0	45	0	12,5	0	3,2520	0,5687	0,1233
10	80	0	45	0	12,5	0	0,3292	0,0491	0,0121
11	80	0	45	0	12,5	0	1,7700	0,2500	0,0584
12	80	0	45	0	12,5	0	0,2040	0,0257	0,0078
13	80	0	45	0	12,5	0	0,1755	0,0218	0,0167

Os dados da análise de variância das respostas analíticas obtidas para os analitos na otimização são apresentados na Tabela 12. O parâmetro *valor-p* foi utilizado para ponderar a significância dos fatores e suas interações entre si, de acordo com os valores de absorvância integrada para cada analito. As variações observadas na resposta analítica são atribuídas à variação ou interação de fatores quando o *valor-p* é inferior a 0,05. Portanto, como o *valor-p* dos fatores e interações avaliadas foi superior a 0,05 para os três elementos, as variáveis testadas não apresentam significância e a análise dos efeitos e seus respectivos coeficientes não é válida estatisticamente. Logo, as variações observadas entre as respostas analíticas são decorrentes da variabilidade amostral, uma vez que amostras de GSR coletadas em *swabs* são heterogêneas [77]. Tendo em vista que a maximização dos parâmetros da extração foi inconclusiva e visando reduzir o tempo de execução da extração, bem como o gasto energético, as variáveis foram fixadas para as extrações seguintes em 80 °C para a

temperatura do banho termostatzado, 45 min e 20 min para o tempo de aquecimento e banho ultrassônico, respectivamente.

Tabela 12. Análise da variância no planejamento fatorial ($2^3 + 5$ replicatas do ponto central; intervalo de confiança de 95%) para os elementos Pb, Ba e Sb em amostras de GSR

Elemento	Fator	SQ*	GL*	MQ*	F*	Valor-p
Pb	Temp. (1)	0,038268	1	0,038268	0,023054	0,885252
	Term. (2)	0,176448	1	0,176448	0,106301	0,757599
	Ultra. (3)	0,065034	1	0,065034	0,039180	0,850888
	1*2	0,306975	1	0,306975	0,184938	0,685068
	1*3	0,233484	1	0,233484	0,140662	0,723006
	2*3	0,137891	1	0,137891	0,083073	0,784741
	1*2*3	0,548785	1	0,548785	0,330616	0,590201
	Erro	8,299427	5	1,659885		
	SS Total	9,806312	12			
Ba	Temp. (1)	0,001070	1	0,001070	0,022079	0,887685
	Term. (2)	0,000003	1	0,000003	0,000062	0,994024
	Ultra. (3)	0,004985	1	0,004985	0,102907	0,761343
	1*2	0,000755	1	0,000755	0,015579	0,905533
	1*3	0,005341	1	0,005341	0,110247	0,753329
	2*3	0,005248	1	0,005248	0,108336	0,755387
	1*2*3	0,003366	1	0,003366	0,069487	0,802604
	Erro	0,242210	5	0,048442		
	SS Total	0,262977	12			
Sb	Temp. (1)	0,000016	1	0,000016	0,007183	0,935745
	Term. (2)	0,000184	1	0,000184	0,084443	0,783032
	Ultra. (3)	0,000018	1	0,000018	0,008246	0,931170
	1*2	0,000216	1	0,000216	0,099103	0,765622
	1*3	0,000246	1	0,000246	0,112892	0,750516
	2*3	0,000044	1	0,000044	0,020240	0,892423
	1*2*3	0,000493	1	0,000493	0,225849	0,654654
	Erro	0,010914	5	0,002183		
	SS Total	0,012132	12			

*SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: média dos quadrados; F: teste F.

4.4 Curvas de pirólise e atomização

A determinação das melhores condições das variáveis relacionadas à extração dos analitos em *swabs* de GSR foi sucedida pela construção das curvas de pirólise e atomização. O procedimento foi realizado a partir de amostras de GSR em HNO_3 2% v v⁻¹, previamente submetidas ao processo de extração otimizado descrito na Seção 3.4. As temperaturas de pirólise foram avaliadas no intervalo de 800 a 1500 °C (Pb), 800 a 1600 °C (Ba) e 900 a 1600 °C (Sb); as de atomização no intervalo de 1100 a 2100 °C (Pb), 2100 a 2500 °C (Ba) e 1400 a 2300 °C (Sb). As curvas de pirólise e atomização são apresentadas, respectivamente, nas Figuras 12 e 13.

Figura 12. Curvas de pirólise para os analitos em GSR coletados em *swabs*. (Pb): plataforma de grafite, 5 uL de Pd 1 g L⁻¹/Mg 0,1 g L⁻¹ e atomização a 1900 °C; (Sb): plataforma de grafite com *end cap*, 5 uL de Pd 1 g L⁻¹/Mg 0,1 g L⁻¹ e atomização a 2100 °C. (Ba): plataforma de grafite modificada permanentemente com W (250 ug) e Rh (200 ug), 5 uL de Ca 1 g L⁻¹ e atomização a 2400 °C.

A análise das curvas de pirólise permitiu concluir que as melhores temperaturas são 1100 °C (Pb), 900 °C (Ba) e 1300 °C (Sb). O critério de escolha da temperatura de pirólise para Pb e Sb foi fundamentado na temperatura escolhida corresponder a mais alta

anteriormente a uma queda significativa de absorvância integrada média, a qual ocorreu entre 1100 e 1200 °C (Pb) e 1300 e 1400 °C (Sb), e por apresentar baixos desvios padrão associados às triplicatas. A curva de pirólise para Ba apresentou uma tendência linear, com ausência da típica queda brusca de absorvância. Esse comportamento indicou que a pirólise não influenciou significativamente no valor médio de absorvância para esse analito, uma vez que esse elemento é refratário e forma carbeto e óxidos estáveis em temperaturas superiores a 1200 °C [67]. Nesse contexto, definiu-se 900 °C como a melhor temperatura de pirólise para o Ba, pois houve um aumento significativo do desvio padrão da absorvância integrada em temperaturas superiores a essa. Além disso, temperaturas mais altas contribuem para a diminuição da ação de W e Rh como modificadores permanentes e favorecem a formação de carbeto e óxido de Ba em detrimento da atomização quantitativa desse elemento.

Figura 13. Curvas de atomização para os analitos em GSR coletados em *swabs*. (Pb): plataforma de grafite, 5 uL de Pd 1 g L⁻¹/Mg 0,1 g L⁻¹ e pirólise a 1100 °C; (Sb): plataforma de grafite com *end cap*, 5 uL de Pd 1 g L⁻¹/Mg 0,1 g L⁻¹ e pirólise a 1300 °C. (Ba): plataforma de grafite modificada com W (250 ug) e Rh (200 ug), 5 uL de Ca 1 g L⁻¹ e pirólise a 900 °C.

Com relação às curvas de atomização para Pb e Sb, embora as absorvâncias integradas tenham máximos em 1800 °C para ambos os analitos, nessas temperaturas os sinais transientes apresentaram um pico de absorção largo e com ausência de simetria, o que

caracteriza um sinal analítico aquém do desejado para uma determinação precisa e exata. Desse modo, a temperatura de atomização foi fixada em 2000 °C (Pb) e 2100 °C (Sb), pois a partir dessa temperatura os sinais foram obtidos na forma de picos finos e simétricos. A curva de atomização para o Ba apresentou uma tendência crescente de absorvância integrada, com máximo em 2500 °C. Contudo, os sinais transientes nessa temperatura apresentaram ombros e um elevado desvio padrão. Embora para todas as temperaturas testadas o sinal transiente não tenha retornado integralmente para a linha de base do gráfico de absorvância integrada em função do tempo, constatado o caráter refratário do Ba discutido anteriormente, definiu-se a temperatura de 2400 °C como a melhor para a atomização desse elemento. Nessa temperatura foi obtido o menor desvio padrão, sinal transiente isento de ombro e mais próximo da linha de base do espectro de absorção no comprimento de onda do analito, como mostrado na Figura 14.

Figura 14. Sinal transiente de (A) absorção e (B) fundo da determinação de Ba por ET AAS em GSR, obtido em 553,6 nm, de acordo com o programa de aquecimento otimizado descrito na Tabela 6. Empregou-se 5 μL de Ca 1 g L⁻¹ como modificador químico em plataforma de grafite termicamente modificada com W (250 μg) e Rh (200 μg).

4.5 Interferentes na determinação de Sb por ET AAS

A determinação de Sb por ET AAS é suscetível a interferência espectral causada pela presença de Pb e Cu em elevadas concentrações. Isso ocorre, pois o comprimento de onda da linha de absorção mais sensível de Sb (217,6 nm) é próximo das linhas de absorção secundárias de Pb (217,0 nm) e Cu (217,9 nm) [46].

Considerando que em amostras de GSR as concentrações de Pb e Cu podem ser até 100 vezes superior as de Sb [27], [36], soluções de Pb 50000 $\mu\text{g L}^{-1}$ e Cu 50000 $\mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 2% v v⁻¹ foram submetidas ao programa de aquecimento utilizado na determinação de Sb (Tabela 7). Nas condições empregadas para a determinação de Sb, as absorvâncias integradas obtidas para ambas as soluções foi semelhante à de um branco analítico, o que demonstra que não ocorre interferência espectral causada por esses elementos nas absorvâncias integradas obtidas para Sb em amostras de GSR.

4.6 Parâmetros analíticos

Posteriormente à otimização das variáveis da extração e construção das curvas de pirólise e atomização, o método proposto foi aplicado a *swabs* de esfregaços em mão isenta de GSR, previamente enriquecidos com Pb, Ba e Sb nas concentrações de 25, 10 e 60 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os pontos da curva de calibração externa e os brancos analíticos também foram submetidos à extração.

Na Tabela 13 são mostrados os parâmetros analíticos que foram utilizados para avaliar o desempenho dos métodos. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados de acordo com a recomendação da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), a partir das Equações (3) e (4) [78]:

$$LD = \frac{3s}{a} \quad (3) \quad LQ = \frac{10s}{a} \quad (4)$$

em que a é o coeficiente angular da curva de calibração e s é o desvio padrão calculado a partir de dez medidas ($n = 10$) consecutivas do branco analítico. Os RSDs foram calculados a

partir de sete medidas ($n = 7$) consecutivas de *swabs* de esfregaços em mão isenta de GSR, submetidos à extração e previamente enriquecidos com Pb, Ba e Sb.

Tabela 13. Parâmetros analíticos da determinação por ET AAS de Pb, Ba e Sb, extraídos de *swabs* em amostras de GSR e profissionais automotivos

Parâmetro analítico	Elemento		
	Pb	Ba	Sb
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,8	0,9	1,1
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,6	2,9	3,8
Coefficiente de correlação linear (r)	0,999	0,998	0,999
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,6 - 50	3 - 20	4 - 80
RSD ¹ (%)	1,4	3,7	0,9

1: ($n = 7$); 25, 10 e 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Pb, Ba e Sb, respectivamente.

Os valores de RSD inferiores a 5% (entre 0,9 e 3,7%) obtidos para os analitos conferiram aos métodos boa precisão e repetitividade. Os baixos LD (de 0,8 a 1,1 $\mu\text{g L}^{-1}$) e LQ (de 2,6 a 3,8 $\mu\text{g L}^{-1}$) obtidos evidenciaram que a sensibilidade dos métodos é adequada para a determinação de Pb, Ba e Sb em GSR. Além disso, os LD atingidos estão abaixo ou muito próximo aos comumente encontrados na literatura para esses elementos, quando determinados em GSR por ET AAS (LD de 2, 8 e 1 $\mu\text{g L}^{-1}$, para Pb, Ba e Sb, respectivamente, de acordo com o trabalho de Yañes et al. [79]); no trabalho de Vanini et al. [26], os LQ obtidos por ICP OES foram 4,97, 0,50 e 15,97 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Pb, Ba e Sb, respectivamente, o que demonstra uma maior sensibilidade da determinação de Pb e Sb pelo método proposto por ET AAS em relação a ICP OES.

4.6.1 Avaliação da exatidão dos métodos de determinação

Com a finalidade de analisar a exatidão dos métodos propostos, os mesmos foram aplicados a *swabs* de esfregaços de mão isenta de GSR, previamente enriquecidos (*spike*) com soluções padrão de Pb, Ba e Sb. Os pontos da curva de calibração e os brancos analíticos

também foram submetidos ao procedimento de extração com *swabs*. Os resultados para os testes de adição e recuperação são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em *swabs* de esfregaços de mão isenta de GSR e com *spike*. As incertezas¹ são baseadas em um nível de confiança de 95%

Parâmetro	Elemento		
	Pb	Ba	Sb
Medido ²	< LQ	< LQ	< LQ
<i>Spike</i> ²	25,0	10,0	60,0
Recuperado ²	25,8 ± 0,9	11,6 ± 3,1	60,0 ± 1,2
Recuperação (%)	102 – 104	102 – 127	100 – 101

1: teste *t de Student*: intervalos de confiança (n = 3); *t*-tabelado = 4,3; *t*-calculado: 3,9 (Pb), 2,1 (Ba) e 0,1 (Sb).

2: concentrações em µg L⁻¹.

De acordo com as concentrações determinadas para os analitos no teste de adição e recuperação, as taxas de recuperação foram satisfatórias. Embora a taxa de recuperação tenha variado de 102 a 127% para Ba, com base no teste *t de Student* não pareado [80], as concentrações determinadas dos três analitos não diferiram das adicionadas em um nível de confiança de 95%, o que garante aos métodos exatidão adequada estatisticamente.

4.7 Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS

Os métodos de determinação de Pb, Ba e Sb foram aplicados a amostras de GSR e profissionais automotivos, coletadas em *swabs* pelo procedimento descrito na Seção 3.3, posteriormente à extração dos analitos descrita na Seção 3.4. Os brancos analíticos de amostras e as soluções das curvas de calibração também foram submetidos ao procedimento de extração. Alguns extratos de amostras foram diluídos com HNO₃ 2% v v⁻¹, previamente às determinações por ET AAS, com a finalidade de adequar os valores de absorvância integrada à faixa linear das curvas de calibração.

4.7.1 GSR em atirador

Os resultados da determinação dos analitos e as proporções elementares obtidas em amostras de GSR, coletadas após único disparo de revólver e pistola em mão e mucosa nasal de atirador, são mostrados nas Tabelas 15 e 16, respectivamente.

Tabela 15. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras de GSR coletadas de atirador no tempo zero, após único disparo de revólver calibre .38 SPL

Região de amostragem	Amostra	Elemento ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Proporção ¹ (Pb : Ba : Sb)
		Pb	Ba	Sb	
Mão direita	1	95,7	13,9	5,3	18 : 3 : 1
	2	929,2	60,7	37,2	25 : 2 : 1
	3	176,0	13,1	6,3	28 : 2 : 1
	4	341,3	26,1	12,7	27 : 2 : 1
	5	93,9	15,3	4,5	21 : 3 : 1
	6	112,5	8,6	5,2	22 : 2 : 1
	7	94,9	6,3	9,7	15 : 1 : 2
	Média	366,8	10,7	11,0	
Mucosa nasal	1	193,4	5,0	5,8	39 : 1 : 1
	2	685,3	20,9	23,4	33 : 1 : 1
	3	450,4	16,1	15,2	30 : 1 : 1
	4	312,2	4,2	7,4	74 : 1 : 2
	5	470,4	14,0	14,3	34 : 1 : 1
	6	178,7	8,8	4,3	42 : 2 : 1
	7	276,9	5,9	6,7	47 : 1 : 1
	Média	263,4	20,6	11,6	

1: calculada tendo como divisor comum a concentração do elemento menos abundante de cada amostra.

Para os GSR provenientes de disparo de revólver, os resultados da determinação dos elementos mostraram que não houve diferença significativa entre as concentrações médias de Ba e Sb, respectivamente, determinadas nas amostras coletadas em mão (10,7 e 11,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) e mucosa nasal (20,6 e 11,6 $\mu\text{g L}^{-1}$) de atirador; a concentração média de Pb foi maior nas amostras coletadas em mão (366,8 $\mu\text{g L}^{-1}$) em comparação com a das coletadas em mucosa

nasal ($263,4 \mu\text{g L}^{-1}$). Para GSR oriundos de pistola, as concentrações médias de Pb ($422,8 \mu\text{g L}^{-1}$) e Ba ($94,4 \mu\text{g L}^{-1}$) nas amostras coletadas em mão foram superiores às determinadas para esses elementos em mucosa nasal (Pb $70,3$ e Ba $3,9 \mu\text{g L}^{-1}$); com relação ao Sb, embora o analito tenha sido quantificado em todas as amostras de mão (de $33,3$ a $70,9 \mu\text{g L}^{-1}$), foi possível determinar a concentração do mesmo apenas em uma das amostras de GSR coletadas em mucosa nasal.

Tabela 16. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras de GSR coletadas de atirador no tempo zero, após único disparo de pistola calibre .380

Região de amostragem	Amostra	Elemento ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Proporção ¹ (Pb : Ba : Sb)
		Pb	Ba	Sb	
Mão direita	1	523,8	116,5	52,8	10 : 2 : 1
	2	428,9	137,6	57,0	8 : 2 : 1
	3	365,7	84,9	35,1	10 : 2 : 1
	4	354,7	75,3	33,3	11 : 2 : 1
	5	737,8	102,6	70,9	10 : 1 : 1
	6	523,8	116,5	52,8	7 : 2 : 1
	7	428,9	137,6	57,0	7 : 2 : 1
	Média	422,8	94,4	46,2	
Mucosa nasal	1	131,3	4,2	—	31 : 1 : -
	2	163,6	4,2	5,0	39 : 1 : 1
	3	76,7	3,2	—	24 : 1 : -
	4	43,9	4,0	—	11 : 1 : -
	5	20,5	—	—	-
	6	16,6	—	—	-
	7	37,7	—	—	-
	Média	70,0	3,9	—	

—: < LQ, menor que o limite de quantificação.

1: calculada tendo como divisor comum a concentração do elemento menos abundante de cada amostra.

As concentrações médias de Pb, Ba e Sb obtidas para GSR coletados em mão foram maiores para amostras provenientes de pistola, comparativamente as oriundas de revólver. A diferença de concentração dos elementos nessas amostras são função direta da variação da composição das munições empregadas em cada uma das armas de fogo testadas. Contudo,

para as amostras coletadas de mucosa nasal, o comportamento inverso foi verificado, já que as concentrações médias de Pb e Ba foram maiores para amostras oriundas de disparo de revólver do que as de pistola; além de o Sb estar em concentração acima do LQ do método para todas as amostras oriundas de disparo de revólver, fato observado apenas para uma das provenientes de pistola. Armas pequenas, como pistolas e revólveres, formam um jato de gases no cano capaz de arrastar partículas. Esse fenômeno origina uma espécie de vórtice nas regiões perpendiculares ao cano, o qual conduz a formação de nuvens turbulentas compostas por gases e partículas. Em seguida, um segundo fluxo mais brando de gases aumenta a densidade de partículas na nuvem gasosa, de modo que apenas uma fração dos resíduos dispersos é capaz de atingir o atirador [81]. Nesse contexto, é possível concluir que a deposição de GSR em mucosa nasal de atirador é limitada quando se emprega pistola nos disparos por ação da complexidade do sistema semiautomático de funcionamento desse artefato, pois parte da força proveniente da expansão gasosa do disparo é utilizada para remover o cartucho deflagrado, o que contribui para uma redução do grau de dispersão de GSR no ambiente e dificulta a deposição desses resíduos em regiões menos acessíveis.

Com relação à proporção entre os analitos para amostras provenientes de disparo de revólver, as concentrações de Pb nas coletadas em mão foram de 7 a 28 vezes superiores às de Sb, ao passo que as concentrações de Ba foram de 2 a 3 vezes maiores do que as de Sb; em amostras de mucosa nasal, as concentrações de Pb foram de 30 a 47 vezes superiores às de Ba e Sb, os quais tiveram proporções 1 : 1 entre si. Para disparos de pistola, as concentrações de Pb nas amostras coletadas em mão foram de 7 a 11 vezes maiores do que as obtidas para Sb e as de Ba foram 2 vezes superiores às de Sb; nas amostras coletadas em mucosa nasal, as concentrações de Pb foram de 11 a 39 vezes maiores do que as de Ba, enquanto a maioria das de Sb estavam abaixo do LQ do método.

A nítida variação das proporções entre os analitos, principalmente com relação ao Pb, demonstra a ausência de um parâmetro fixo de proporção elementar para os constituintes característicos de GSR provenientes de disparo de revólver e pistola com munições comuns, mesmo quando comparados os locais de coleta (mão e mucosa nasal) para uma mesma arma de fogo e munição. Duarte e colaboradores [82] verificaram que a composição do *primer* de munição (CBC[®]) empregada em disparos de revólver calibre .38 SPL (Taurus[®]) não apresenta correlação com as concentrações de Pb, Ba e Sb nos GSR gerados pelos mesmos. Em vista disso, a ausência de um parâmetro fixo de proporção elementar em GSR é consequência do caráter heterogêneo acentuado dessas amostras, uma vez que as condições de elevadas

temperatura e pressão, nas quais esses resíduos são formados, contribuem para a aleatoriedade da dispersão e aderência de GSR em superfícies.

4.7.2 GSR em testemunhas oculares

As concentrações determinadas para os analitos em GSR coletados de testemunhas oculares em função da distância das mesmas em relação ao atirador, durante disparo de revólver e pistola, são mostradas na Tabelas 17 e 18, respectivamente.

Tabela 17. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras de GSR coletadas de testemunhas oculares dispostas a diferentes distâncias em relação ao atirador, após único disparo de revólver calibre .38 SPL

Região de amostragem	Sexo	Elemento ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Distância (m)							
			0	0,25	0,50	0,75	1,0	1,5	2,0	3,0
Mão	Feminino	Pb	4,9	–	–	6,5	2,9	7,3	–	–
		Ba	–	–	–	–	–	–	–	–
		Sb	–	–	–	–	–	–	–	–
	Masculino	Pb	–	3,3	–	–	–	2,7	–	–
		Ba	–	–	–	–	–	–	–	–
		Sb	–	–	–	–	–	–	–	–
Mucosa nasal	Feminino	Pb	4,1	5,4	15,5	20,3	7,7	8,6	7,6	2,2 ^a
		Ba	–	–	–	–	–	–	–	–
		Sb	–	–	–	–	–	–	–	–
	Masculino	Pb	7,5	17,3	12,9	18,9	7,5	14,1	13,0	2,6
		Ba	–	–	–	–	–	–	–	–
		Sb	–	–	–	–	–	–	–	–

–: < LQ, menor que o limite de quantificação.

a: concentração entre o LD e o LQ, abaixo da faixa linear e utilizada para fins de análise gráfica.

Tabela 18. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras de GSR coletadas de testemunhas oculares dispostas a diferentes distâncias em relação ao atirador, após único disparo de pistola calibre .380

Região de amostragem	Sexo	Elemento ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Distância (m)							
			0	0,25	0,50	0,75	1,0	1,5	2,0	3,0
Mão direita	Feminino	Pb	–	–	2,9	–	–	–	–	–
		Ba	4,8	3,0	–	–	–	–	–	–
		Sb	–	–	–	–	–	–	–	–
	Masculino	Pb	2,7	3,6	–	–	–	2,7	–	–
		Ba	3,0	–	–	–	–	–	–	–
		Sb	–	–	–	–	–	–	–	–
Mucosa nasal	Feminino	Pb	2,6	2,8	2,6	3,2	1,7 ^a	5,1	3,6	2,1 ^a
		Ba	–	–	–	–	–	–	–	–
		Sb	–	–	–	–	–	–	–	–
	Masculino	Pb	4,5	2,7	2,9	3,4	3,3	2,7	2,9	1,6 ^a
		Ba	–	–	–	–	–	–	–	–
		Sb	–	–	–	–	–	–	–	–

–: < LQ, menor que o limite de quantificação.

a: concentração entre o LD e o LQ, abaixo da faixa linear e utilizada para fins de análise gráfica.

Com relação à determinação elementar em GSR coletados em mão de testemunhas oculares, as concentrações de Pb foram baixas para disparos de revólver (2,7 a 7,3 $\mu\text{g L}^{-1}$) e pistola (2,7 a 3,6 $\mu\text{g L}^{-1}$), em ambos os sexos; na maioria das distâncias avaliadas, o Pb estava presente em concentrações inferiores ao LQ, fato observado para a totalidade das distâncias com relação ao Sb. O elemento Ba foi quantificado na faixa de 3 a 4,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ em apenas três amostras provenientes de pistola, a distâncias de 0 e 0,25 m. De acordo com os resultados, a deposição de GSR em mãos de testemunhas oculares, seja do sexo feminino ou masculino, não é favorecida para disparos de revólver calibre .38 SPL e pistola calibre .380 com munições comuns, uma vez que essas armas são pequenas e a dispersão imediata de GSR encontra limitações, pois a deposição de resíduos ocorre preferencialmente em superfícies próximas de atiradores, considerando a ausência de fluxo de ar significativo durante os disparos.

Na determinação dos elementos característicos de GSR em amostras coletadas em mucosa nasal de testemunhas oculares, as concentrações de Ba e Sb foram inferiores ao LQ dos métodos em todas as amostras. Entretanto, para todas as distâncias avaliadas, o Pb foi determinado na faixa de concentração entre 2,6 e 20,3 $\mu\text{g L}^{-1}$, exceto a 3,0 m (feminino) para disparo de revólver; a 1,0, e 3,0 m (feminino) e a 3,0 m (masculino) para disparo de pistola, nas quais as concentrações estavam no intervalo delimitado pelo LD e LQ. Comparativamente ao observado para GSR coletados em mão de testemunhas oculares, os elementos Ba e Sb não são determináveis em ambas as regiões de amostragem consideradas, enquanto partículas residuais com Pb em sua composição apresentam deposição favorecida em mucosa nasal em detrimento da ocorrência irregular desse elemento em concentrações acima do LQ em amostras coletadas em mão.

Com a finalidade de avaliar a influência da distância de testemunhas oculares em relação ao atirador na contaminação das mesmas com GSR, foram construídos os gráficos das Figuras 15 e 16 para revólver e pistola, respectivamente, com base nas concentrações de Pb (Tabelas 17 e 18) obtidas de mucosa nasal de testemunhas oculares de disparos em função das distâncias estudadas.

Figura 15. Estudo da influência da distância de testemunhas oculares em relação ao atirador na contaminação das mesmas com GSR, considerando a deposição de Pb em mucosa nasal após disparo de revólver calibre .38 SPL com munição comum.

De acordo com a análise gráfica da Figura 15, para disparo de revólver, as concentrações de Pb mostraram um padrão similar de deposição de GSR em ambos os indivíduos. Os mínimos de concentração foram obtidos para as distâncias de 0 e 3,0 m, com máximos em 0,75 m. Posto isso, não foi observado um comportamento linear de decrescimento da concentração de Pb em função do aumento da distância entre atirador e testemunha ocular. O comportamento irregular da deposição de Pb em função da distância é atribuído à dinâmica da respiração, a qual é sujeita a oscilações de inspiração ou expiração, que podem ou não favorecer a entrada de GSR na mucosa nasal; uma vez dentro da mucosa, as partículas de GSR podem atingir partes inacessíveis ao *swab* na etapa coleta, o que torna a acessibilidade a esses resíduos descontínua. Entretanto, essa descontinuidade favorece a detecção de partículas em intervalos mais amplos de tempo, pois partículas podem ser expelidas para regiões externas da mucosa e detectadas até 12 h após disparos [24].

Figura 16. Estudo da influência da distância de testemunhas oculares em relação ao atirador na contaminação das mesmas com GSR, considerando a deposição de Pb em mucosa nasal após disparo de pistola calibre .380 com munição comum.

Com base na análise gráfica da Figura 16, para disparo de pistola, as concentrações de Pb apresentaram irregularidade de deposição em função da distância em ambos os indivíduos. Os máximos de concentração foram obtidos em 1,5 m (feminino) e 0 m (masculino). A

deposição irregular de GSR em mucosa nasal para disparo de pistola é atribuída, sobretudo à descontinuidade causada pela respiração e inerente à amostragem nessa região, ao sistema semiautomático de funcionamento dessa arma, que contribui para uma pequena dispersão de GSR no ar e dificulta sua deposição em regiões menos acessíveis. Portanto, quando comparadas com as de revólver, as menores concentrações de Pb em mucosa nasal para disparo de pistola demonstraram a influência direta do sistema de funcionamento das armas de fogo na dispersão de GSR no ar, visto que as concentrações médias de Pb, Ba e Sb em mão de atirador foram mais altas para disparo de pistola do que para disparo de revólver.

A comparação entre os resultados obtidos por ET AAS para atirador e testemunhas oculares mostra que a diferença de concentração dos analitos, coletados no tempo zero após o disparo, é o fator determinante para se discriminar essas duas classes. As concentrações de Pb em GSR coletado de atirador, principalmente em mão, foram de 2 a 3 ordens de grandezas superiores às determinadas em mão e nariz de testemunhas oculares; o fato de os elementos Ba e Sb estarem em concentração inferior ao LQ na maioria das amostras de testemunhas representa mais uma razão relevante que permite diferenciá-las de atiradores por meio da técnica ET AAS, já que em mão de atirador esses elementos estavam acima do LQ dos métodos para disparos de ambas as armas de fogo avaliadas.

4.7.3 Profissionais automotivos

As concentrações dos analitos determinados por ET AAS em amostras provenientes de profissionais automotivos, bem como as proporções entre os elementos, são mostradas na Tabela 19.

De acordo com os resultados de determinação elementar em amostras de profissionais automotivos, foram encontradas concentrações de Pb na faixa de 3,2 a 136,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ e apenas uma (frentista) das amostras apresentou concentração inferior ao LQ. As concentrações de Ba foram determinadas na faixa de 22,5 a 599,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostras provenientes de eletricitas e mecânicos automotivos, ao passo que em todas as amostras de frentista a concentração desse elemento foi inferior ao LQ do método. Com relação ao Sb, o mesmo não pôde ser determinado com exatidão em nenhuma das amostras, exceto em uma delas, na qual esse elemento estava em concentração muito próxima ao LQ.

As proporções elementares obtidas em amostras de profissionais automotivos evidenciaram a ocorrência do Ba como elemento mais abundante dentre os três analisados, pois as concentrações do mesmo foram 2 a 3 vezes superiores às de Pb para a maioria das amostras, com exceção de uma, na qual a concentração de Ba foi 13 vezes maior do que a de Pb, aproximadamente.

Tabela 19. Determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras coletadas da mão direita de profissionais automotivos, durante a execução de suas atividades ocupacionais

Profissional	Amostra	Elemento ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Proporção ¹ (Pb : Ba : Sb)
		Pb	Ba	Sb	
Eletricista	1E	39,1	123,7	–	1 : 3 : –
	2E	10,8	22,5	–	1 : 2 : –
	3E	19,2	63,9	–	1 : 3 : –
Frentista	1F	3,2	–	–	–
	2F	–	–	–	–
	3F	5,1	–	–	–
Mecânico	1M	42,1	38,9	–	1 : 1 : –
	2M	46,2	599,6	4,1	11 : 147 : 1
	3M	136,9	350,7	–	1 : 3 : –

–: < LQ, menor que o limite de quantificação.

1: calculada tendo como divisor comum a concentração do elemento menos abundante de cada amostra.

Nos resultados de concentração obtidos para GSR em mão de atirador, o Pb foi o elemento mais abundante, presente em concentrações 7 vezes superiores às de Ba, no mínimo. Posto isso, há uma nítida diferença entre as proporções elementares de Pb e Ba determinadas em amostras de profissionais automotivos e GSR coletados em mão de atirador. A ausência do elemento Sb em concentração superior ao LQ em amostras provenientes de profissionais, bem como observado para amostras coletadas em mão de testemunhas oculares de disparo, é mais um fator determinante que permite a diferenciação entre os profissionais automotivos avaliados e atiradores que empregam em disparos revólver calibre .38 SPL ou pistola calibre .380 com munições comuns, pois as concentrações de Sb foram superiores ao LQ do método

de determinação elementar por ET AAS para a totalidade das amostras de GSR coletadas em mão de atirador.

4.8 Análises quimiométricas

Com a finalidade de avaliar estatisticamente a influência das concentrações de Pb, Ba e Sb na diferenciação entre as classes estudadas (atiradores que empregam revólver calibre .38 SPL ou pistola calibre .380 em disparos com munições comuns, testemunhas oculares de disparos e profissionais automotivos), foi conduzida a análise quimiométrica dos dados por meio de PCA. Na construção dos gráficos de PC, foram consideradas e transformadas por meio de função logarítmica ($\log_{10}$) as concentrações dos três analitos avaliados, apresentadas nas Tabelas 15 a 19; as concentrações que estavam abaixo do LQ do método foram transformadas e incluídas na análise estatística em questão. Na Figura 17, são apresentados os gráficos resultantes da aplicação do modelo de PCA com 88% da informação reduzida a duas PC.

Figura 17. Gráficos de (A) *scores*, com três *outliers* evidentes, e (B) *loadings*, construídos com base no modelo de PCA aplicado às concentrações de Pb, Ba e Sb em: GSR coletados de atirador^A, testemunha ocular do sexo feminino^{T.F} e masculino^{T.M}; amostras provenientes de profissionais automotivos^P.

O modelo de PCA mostrado na Figura 17 agrupou as classes estudadas em um único bloco, de modo que não foi possível a identificação de grupos isolados das classes em questão, com base nas concentrações de Pb, Ba e Sb determinadas por ET AAS e reduzidas a duas PC. Além disso, foram reveladas três amostras *outliers* (atirador, testemunha ocular do sexo feminino e masculino) que não acompanharam o modelo de PCA empregado. Posto que o modelo de PCA questionado não foi capaz de distinguir as classes estatisticamente, não cabe a interpretação das informações acerca do gráfico de *loadings*, neste caso.

Com o objetivo de tornar o modelo estatístico mais robusto e preciso, as três amostras *outliers* foram desconsideradas e um novo modelo de PCA foi gerado. Nas Figuras 18, 19 e 20 são apresentados os gráficos de *scores* e *loadings* de um único modelo de PCA com redução de 93% da informação a duas PC; as classes estudadas foram separadas em grupos diferentes em cada um dos gráficos, dentro deste mesmo modelo, com a finalidade de identificar isoladamente as classes estudadas majoritariamente, as duas armas de fogo empregadas pelo atirador e os locais de coleta de GSR por arma de fogo.

Figura 18. Gráficos de (A) *scores* e (B) *loadings*, construídos desconsiderando os *outliers* e com base no modelo de PCA aplicado às concentrações de Pb, Ba e Sb em: GSR coletados de atirador^A, testemunha ocular do sexo feminino^{T.F} e masculino^{T.M}; amostras provenientes de profissionais automotivos^P.

Figura 19. Gráficos de (A) *scores* e (B) *loadings*, construídos desconsiderando os *outliers* e com base no modelo de PCA aplicado às concentrações de Pb, Ba e Sb nas amostras, tomando como parâmetros: revólver^{Rev} ou pistola^{Pist} empregados como fontes de GSR, coletados de atirador^A e testemunhas oculares^T; amostras provenientes de profissionais automotivos^P.

Figura 20. Gráficos de (A) *scores* e (B) *loadings*, construídos desconsiderando os *outliers* e com base no modelo de PCA aplicado às concentrações de Pb, Ba e Sb nas amostras, tomando como parâmetros: revólver^{Rev} ou pistola^{Pist} empregados como fontes de GSR, coletados em mão^m e mucosa nasalⁿ de atirador^A e testemunhas oculares^T; amostras provenientes de profissionais automotivos^P.

Com base nos resultados de *scores* mostrados na Figura 18, as classes majoritárias estudadas foram isoladas entre si em grupos bem definidos, embora três amostras de profissionais (frentistas) estejam localizadas no limite da classe de testemunhas oculares em razão da presença apenas de Pb em concentrações superiores ao LQ em ambas as classes questionadas. O gráfico de *loadings* reflete a influência da concentração do elemento mais

abundante na separação entre as classes e mostra que o Pb é o elemento mais relevante na identificação de atirador, ao passo que o Ba tem mais influência na identificação de profissionais automotivos; o Sb, enquanto presente em concentrações inferiores ao LQ em testemunhas oculares, é o mais relevante na assimilação dessa classe.

De acordo com a Figura 19, a identificação de cada uma das armas de fogo empregadas em disparos efetuados por atirador e utilizadas como fonte de contaminação de testemunhas oculares com GSR não é plausível estatisticamente. As amostras de revólver e pistola geraram grupos com interseção entre si, principalmente para testemunhas oculares, o que pode ser explicado pela semelhança entre as concentrações de Pb obtidas para ambas as armas de fogo, para todas as distâncias avaliadas. Com relação ao atirador, as amostras provenientes de revólver foram identificadas isoladamente; contudo, as amostras oriundas de pistola estavam dispersas entre as classe testemunhas oculares e atirador com disparo de revólver. Posto isso, para disparos de revólver calibre .38 SPL ou pistola calibre .380 com emprego de munições padrão CBC[®], a identificação da arma de fogo utilizada não é possível por meio da determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS em amostras de GSR coletadas de atirador ou testemunhas oculares.

A influência do local de coleta na identificação de atirador foi avaliada na Figura 20 em função de cada uma das armas de fogo empregadas e cinco classes bem definidas foram observadas. A identificação do autor de disparo de revólver calibre .38 SPL foi possível, visto que dois grupos isolados foram identificados para esse artefato em amostras de GSR, independente se coletadas em mão ou nariz. Tendo em foco os GSR provenientes de pistola, os coletados em mão ocorrem em um grupo preciso e isolado dos demais; todavia, amostras de GSR oriundos de pistola em mucosa nasal de atirador são encontradas internamente ao limite estabelecido para a classe de testemunhas oculares, de modo que é evidente, nesse caso, a possibilidade de ocorrência de falso-negativo para disparo em amostra de atiradores.

Os resultados da análise de PCA se correlacionaram com as discussões pertinentes à análise por ET AAS e mostraram que é plausível estatisticamente separar testemunhas oculares e profissionais automotivos da classe atirador, quando a amostragem é conduzida em mão ou mucosa nasal para disparo de revólver; e, no caso de pistola, exclusivamente para amostragem conduzida em mão de suspeitos. Portanto, tendo em vista as armas de fogo estudadas e o emprego de munições comuns, não foram obtidos casos de falso-positivos para disparos em amostras de profissionais automotivos e testemunhas oculares de disparo por meio da determinação de Pb, Ba e Sb por ET AAS.

4.9 Caracterização de partículas por SEM-EDS

As amostras de GSR e profissionais automotivos foram analisadas por SEM-EDS com o objetivo de encontrar e caracterizar partículas características ou consistentes com as de GSR. Foram localizadas partículas compostas pela tríade Pb-Ba-Sb em amostras coletadas de atirador e testemunhas oculares de disparo, as quais foram submetidas à pulverização catódica com ouro com a finalidade de avaliar a topografia de partículas.

4.9.1 Amostras de GSR

As fotomicrografias obtidas por SEM e os espectros de EDS de partículas em amostras de GSR coletadas de atirador e testemunhas oculares são apresentadas nas Figuras 21 e 22, respectivamente, após disparo de revólver e pistola com munições comuns. A determinação da composição química das partículas de GSR encontradas (Tabela 20) foi conduzida considerando como componentes exclusivos os elementos Pb, Ba e Sb.

Tabela 20. Análise semiquantitativa por EDS de partículas de GSR coletadas de atirador e testemunhas oculares, após único disparo de revólver calibre .38 SPL (Figura 21) e pistola calibre .380 (Figura 22) com munições comuns

Arma de fogo	Origem	Elemento	Intensidade (c/s)	% atômica	% massa
Revólver	Atirador	Pb	77,97	8,6	12,7
		Ba	2429,30	74,9	73,0
		Sb	621,36	16,5	14,3
	Testemunha ocular	Pb	2142,62	95,7	97,2
		Ba	180,30	2,8	1,9
		Sb	103,26	1,5	0,9
Pistola	Atirador	Pb	397,25	25,3	35,0
		Ba	2188,50	43,2	39,5
		Sb	1898,95	31,5	25,5
	Testemunha ocular	Pb	1227,55	92,7	95,4
		Ba	68,94	1,8	1,2
		Sb	226,53	5,5	3,4

Figura 21. Fotomicrografias de SEM de partículas características de GSR oriundas de único disparo de revólver calibre .38 SPL e coletadas de: atirador (A) com ampliação de 1 k vezes e (B) 20 k vezes, (C) espectro de EDS da partícula demarcada em (A); testemunha ocular (D) com ampliação de 1 k vezes e (E) 20 k vezes, (F) espectro de EDS da partícula demarcada em (D).

Figura 22. Fotomicrografias de SEM de partículas de GSR oriundas de único disparo de pistola calibre .380 e coletadas de: atirador (A) com ampliação de 1 k vezes e (B) 5 k vezes, (C) espectro de EDS da partícula demarcada em (A); testemunha ocular (D) com ampliação de 1 k vezes e (E) 20 k vezes, (F) espectro de EDS da partícula demarcada em (D).

As partículas de GSR proveniente de revólver (Figura 21) apresentaram diâmetros estatísticos médios de 10,4 e 9,7 μm em amostra coletada de atirador e testemunha ocular, respectivamente. Ambas as partículas possuíam forma esférica característica de GSR, com crateras de superfície. De acordo com os espectros de EDS, os elementos Pb, Ba e Sb estavam presentes na composição dessas partículas, bem como Al e Ca (atirador); Al em concentração traço (testemunha ocular). Os diâmetros estatísticos médios das partículas geradas por disparo de pistola (Figura 22) foram de 33,3 e 6,6 μm , respectivamente, para amostra coletada de atirador e testemunha ocular. Contudo, diferenças com relação à morfologia e topografia foram verificadas, pois a partícula coletada de atirador exibiu forma globular e isenta de crateras, característica essa típica de partículas de GSR, ao passo que a de testemunha ocular apresentou forma globular com irregularidades estruturais. Ambas as partículas continham Pb, Ba e Sb em sua composição e Al presente em concentração traço.

Os resultados obtidos por SEM-EDS mostraram que as partículas de GSR provenientes de revólver e pistola exibiram composição elementar e forma características desses resíduos, de acordo com os padrões definidos pela ASTM [36]. As partículas de GSR encontradas em testemunhas oculares possuíam diâmetro estatístico inferior a 10 μm em razão da elevada mobilidade de partículas menos densas e compostas pela tríade Pb-Ba-Sb. Posto isso, a detecção de partículas características de GSR em testemunhas oculares de disparo por SEM-EDS configura falso-positivo para disparo de arma de fogo, fato que dificulta a identificação de atiradores propriamente ditos por meio dessa técnica. A contagem do número de partículas em atirador é uma alternativa para reduzir falso-positivos nessas análises, visto que a quantidade de partículas presentes em atirador é de 10 a 30 vezes superior à encontrada em testemunhas oculares [44]. Contudo, efeitos relativos à dinâmica do crime e a possibilidade de transferência de material particular por contato com outras superfícies devem ser considerados como fator de redução do número de partículas de GSR presentes em atirador [83], o que pode conduzir a falso-negativos.

A análise semiquantitativa de partículas (Tabela 20) evidenciou uma variação de porcentagem atômica elementar entre as partículas de GSR: as coletadas de testemunha ocular apresentaram mais de 92% de Pb em sua composição para ambas as armas de fogo; de atirador, a proveniente de revólver tinha o Ba como elemento mais abundante (75%) e a de pistola possuía os três elementos em proporções muito próximas entre si. Para as amostras de GSR coletadas de atirador, as proporções elementares encontradas por meio da determinação dos elementos (Tabelas 15 e 16) e as porcentagens atômicas verificadas por EDS não

possuem correlação, visto que o Pb foi o elemento presente em maior concentração na totalidade das amostras analisadas por ET AAS. A diferença de proporção elementar questionada é atribuída ao fato de a determinação por ET AAS englobar, além das partículas características de GSR e exclusivamente compostas por Pb, Ba e Sb, as consistentes com GSR, compostas por esses elementos na forma metálica, combinados dois a dois e com outros metais presentes nos resíduos.

4.9.2 Amostras de profissionais automotivos

As fotomicrografias obtidas por SEM e os espectros de EDS de partículas coletadas de eletricista, frentista e mecânico são apresentados, respectivamente, nas Figuras 23, 24 e 25. Com relação ao tamanho das partículas encontradas em amostras de profissionais automotivos, todas apresentaram diâmetro estatístico médio inferior ao limite máximo de 100 μm característico de partículas de GSR [36], como observado para as partículas mostradas em (A), (B) e (C), respectivamente: 64,3, 40,0 e 37,1 μm (eletricista, Figura 23); 34,3, 52,8 e 61,4 μm (frentista, Figura 24); 12,1, 57,1 e 34,3 μm (mecânico, Figura 25). Contudo, as partículas presentes nas amostras de eletricista e frentista não possuíam estrutura morfológica bem resolvida, enquanto as encontradas em mecânicos eram excepcionalmente esféricas. Na composição das partículas encontradas em profissionais automotivos, estavam presentes em proporções maiores os elementos Ag, Al, Au, Cu, Fe, K, Si, Ti e Zn, em contraste com os elementos menos abundantes Ca, Hg, Mn, Na, Ni, S, Sn.

Com base nas análises conduzidas por SEM-EDS, não foram encontradas partículas com composição característica ou consistentes com a de GSR oriundos de disparos efetuados com munições comuns nas amostras de profissionais automotivos, o que caracteriza a ausência de falso-positivo para disparo de arma de fogo nessas amostras. Entretanto, os elementos Al, Cu, Sr, Ti e Zn, encontrados na composição química de partículas coletadas de profissionais automotivos, são os constituintes mais abundantes de partículas de GSR oriundos de disparos efetuados com munições *lead free* [16]. Posto isso, é pertinente inferir que os elementos mencionados não são bons marcadores para disparos que empregam esse tipo de munição e podem conduzir a falso-positivo para disparo efetuados com munições *lead free*, inclusive, pela correspondência em estrutura morfológica irregular entre as partículas questionadas.

Figura 23. Fotomicrografias de SEM de amostra proveniente de frentista automotivo (1F, vide Tabela 19), com ampliação de 1 k vezes das partículas encontradas nas regiões mostradas em (A), (B) e (C). Espectros de EDS (D), (E) e (F) das partículas irregulares demarcadas em (A), (B) e (C), respectivamente.

Figura 24. Fotomicrografias de SEM de amostra proveniente de mecânico automotivo (1M, vide Tabela 19), com ampliação de 1 k vezes das partículas encontradas nas regiões mostradas em (A), (B) e (C). Espectros de EDS (D), (E) e (F) das partículas irregulares demarcadas em (A), (B) e (C), respectivamente.

Figura 25. Fotomicrografias de SEM de amostra proveniente de eletrônica automotiva (1E, vide Tabela 19), com ampliação de 1 k vezes das partículas encontradas nas regiões mostradas em (A), (B) e (C). Espectros de EDS (D), (E) e (F) das partículas esféricas demarcadas em (A), (B) e (C), respectivamente.

5 CONCLUSÕES

A determinação de Pb, Ba e Sb em GSR por ET AAS resultou em baixos LD e LQ, os quais evidenciaram a sensibilidade analítica adequada dessa técnica para a determinação desses elementos na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ nessas amostras. Os métodos apresentaram repetitividade satisfatória, com base nos RSD (entre 0,7 e 3,7%) resultantes das determinações dos analitos, e demonstraram exatidão adequada estatisticamente por meio da determinação dos analitos nos testes de adição e recuperação conduzidos em *swabs* de esfregaços de mão isentos de GSR. O processo de extração e determinação dos três analitos exigiu cerca de 1 h e 15 min por amostra para sua conclusão.

Os resultados analíticos obtidos por ET AAS em GSR coletados em mão ou mucosa nasal de atirador, após disparo de revólver calibre .38 SPL ou pistola calibre .380 com emprego de munições comuns, demonstraram que o Pb é o elemento mais abundante nessas amostras (de 93,9 a 929,2 $\mu\text{g L}^{-1}$); ao passo que Ba e Sb são encontrados em menores concentrações ou abaixo dos respectivos LQ, esse último caso limitado a GSR provenientes de pistola e coletados em mucosa nasal, o que indicou que essa região não é adequada para a identificação de atiradores que efetuam disparos com essa arma de fogo. Além disso, verificou-se uma elevada variação entre as proporções de Pb, Ba e Sb nessas amostras, de modo que não foi possível estabelecer um parâmetro específico de proporção entre esses elementos em GSR oriundos de disparos das armas de fogo avaliadas.

Com relação aos testes conduzidos para estudo da contaminação de testemunhas oculares com GSR, nas amostras coletadas em mão, os três analitos estavam abaixo ou muito próximos do LQ dos métodos de determinação por ET AAS; em mucosa nasal, o Pb foi único elemento encontrado acima do LQ (entre 2,6 a 20,3 $\mu\text{g L}^{-1}$) para disparos de ambas as armas de fogo. A influência da distância na contaminação de testemunhas oculares com GSR foi avaliada por meio da concentração de Pb em mucosa nasal e, para revólver e pistola, foram verificados comportamentos irregulares de deposição de GSR em função da distância, os quais foram causados, sobretudo, pela dinâmica dos processos de inspiração e expiração, que podem favorecer ou não a entrada de GSR em mucosa nasal.

A determinação dos analitos por ET AAS em amostras coletadas de eletricitista, frentista e mecânico automotivos mostrou que o Ba é o elemento mais abundante (de 22,5 a 599,6 $\mu\text{g L}^{-1}$) dentre os três analisados, de modo que as concentrações desse elemento foram

de 2 a 13 vezes superiores a de Pb, ao passo que o Sb estava abaixo do LQ para a maioria dessas amostras.

O modelo de PCA aplicado às concentrações de Pb, Ba e Sb obtidas por ET AAS nas amostras questionadas confirmou estatisticamente que é possível separar as classes testemunhas oculares de disparos e profissionais automotivos de atirador, quando a amostragem é conduzida: em mão ou mucosa nasal, para disparo de revólver; e exclusivamente em mão de suspeitos, no caso de disparo de pistola. Tendo em vista as armas de fogo estudadas e o emprego de munições comuns, não foram diagnosticados casos de falso-positivos para disparos em amostras de testemunhas oculares e profissionais automotivos por meio da determinação dos analitos por ET AAS.

Com base nas análises conduzidas por SEM-EDS, foram detectadas partículas características de GSR, compostas por Pb, Ba e Sb e com forma esférica ou globular, em amostras de atirador e testemunhas oculares. Portanto, foram diagnosticados falso-positivos para disparos de revólver calibre .38 SPL e pistola calibre .380 com munições comuns em testemunhas oculares de disparo, localizadas a 1 m de distância do atirador. Logo, a análise de GSR por SEM-EDS está sujeita a adversidades na identificação propriamente dita de atiradores, principalmente em dinâmicas criminosas que incluem mais de um indivíduo suspeito de disparar arma de fogo. Em amostras de profissionais automotivos, não foram encontradas partículas características de GSR que configurassem casos de falso-positivo para disparos de arma de fogo com munições comuns. Porém, partículas típicas de GSR oriundos de disparos com munições *lead free* foram detectadas nessas amostras, o que confere a esses profissionais suscetibilidade a falso-positivo para esse tipo de munição.

A análise de GSR por ET AAS exibiu um caráter promissor como técnica de identificação de supostos atiradores, em caso de disparo de revólver calibre .38 SPL ou pistola calibre .380, inclusive em dinâmicas criminosas com mais de um indivíduo suspeito, posto que a determinação de Pb, Ba e Sb em GSR provenientes de munições comuns por AAS possibilitou a distinção, estatisticamente fundamentada, entre atirador, testemunhas oculares de disparos e profissionais automotivos (eletricista, frentista e mecânico). Além disso, comparativamente aos métodos microscópicos de análise de partículas, a análise de GSR por ET AAS resulta em maior frequência analítica e redução de gastos das investigações conduzidas pela perícia.

REFERÊNCIAS

- [1] J. A. Velho, G. C. Geiser, A. Espindula, *Ciências Forenses: uma introdução às principais áreas da criminalística moderna*. Campinas, SP: Millenium Editora, 2012.
- [2] N. J. Georg, L. Kelner, J. B. S. Júnior, “Armas de fogo: aspectos técnicos periciais”, *FURB Rev. Jurídica*, 15(30), 137–156, 2011.
- [3] W. Romão, N. V. Schwab, M. I. M. S. Bueno, R. Sparrapan, M. N. Eberlin, A. Martiny, B. D. Sabino, A. O. Maldaner, “Química forense: perspectivas sobre novos métodos analíticos aplicados à documentoscopia, balística e drogas de abuso”, *Quim. Nova*, 34(10), 1717–1728, 2011.
- [4] G. M. Wolten, R. S. Nesbitt, “On the mechanism of gunshot residue particle formation”, *J. Forensic Sci.*, 25(3), 533–545, 1980.
- [5] O. Dalby, D. Butler, J. W. Birkett, “Analysis of gunshot residue and associated materials - A review”, *J. Forensic Sci.*, 55(4), 924–943, 2010.
- [6] Taurus, “Revólver Taurus 608”, 2017. [Online]. Disponível: <http://www.taurusarmas.com.br/pt/produtos/revolveres/revolver-taurus-889>. [Acessado: 10-Mar-2017].
- [7] A. Martiny, A. P. C. Campos, M. S. Sader, M. A. L. Pinto, “SEM/EDS analysis and characterization of gunshot residues from Brazilian lead-free ammunition”, *Forensic Sci. Int.*, 177(1), e9-17, 2008.
- [8] D. Perret, S. Marchese, A. Gentili, R. Curini, A. Terracciano, E. Bafile, F. Romolo, “LC-MS-MS determination of stabilizers and explosives residues in hand-swabs”, *Chromatographia*, 68(7–8), 517–524, 2008.
- [9] B. Cardinetti, C. Ciampini, C. D’Onofrio, G. Orlando, L. Gravina, F. Ferrari, D. Di Tullio, L. Torresi, “X-ray mapping technique: a preliminary study in discriminating gunshot residue particles from aggregates of environmental occupational origin”, *Forensic Sci. Int.*, 143(1), 1–19, 2004.
- [10] J. J. Waiselfsiz, *Mapa da violência 2016: homicídios por armas de fogo no Brasil*, Flacso Bra. 2016.
- [11] E. Goudsmits, G. P. Sharples, J. W. Birkett, “Recent trends in organic gunshot residue analysis”, *Trends Anal. Chem.*, 74, 46–57, 2015.
- [12] A. M. O’Mahony, J. Wang, “Electrochemical detection of gunshot residue for forensic analysis: A review”, *Electroanalysis*, 25(6), 1341–1358, 2013.

-
- [13] A.-L. Gassner, C. Weyermann, "LC-MS method development and comparison of sampling materials for the analysis of organic gunshot residues", *Forensic Sci. Int.*, 264, 47–55, 2016.
- [14] S. Benito, Z. Abrego, A. Sánchez, N. Unceta, M. A. Goicolea, R. J. Barrio, "Characterization of organic gunshot residues in lead-free ammunition using a new sample collection device for liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry", *Forensic Sci. Int.*, 246, 79–85, 2015.
- [15] A. L. Gassner, C. Ribeiro, J. Kobylinska, A. Zeichner, C. Weyermann, "Organic gunshot residues: Observations about sampling and transfer mechanisms", *Forensic Sci. Int.*, 266, 369–378, 2016.
- [16] R. A. Costa, L. C. Motta, C. A. Destefani, R. R. T. Rodrigues, K. S. do Espírito Santo, G. M. F. V. Aquije, R. Boldrini, G. P. B. Athayde, M. T. W. D. C. Dias, W. Romão, "Gunshot residues (GSR) analysis of clean range ammunition using SEM/EDX, colorimetric test and ICP-MS: a comparative approach between the analytical techniques", *Microchem. J.*, 129, 339–347, 2016.
- [17] A. Berendes, D. Neimke, R. Schumacher, M. Barth, "A versatile technique for the investigation of gunshot residue patterns on fabrics and other surfaces: m-XRF", *J. Forensic Sci.*, 51(5), 1085–1090, 2006.
- [18] F. Saverio, P. Margot, "Identification of gunshot residue: a critical review", *Forensic Sci. Int.*, 119, 195–211, 2001.
- [19] A. T. Bruni, J. A. Velho, M. F. de Oliveira, *Fundamentos de química forense: uma análise prática da química que soluciona crimes*. Campinas, SP: Millenium Editora, 2012.
- [20] N. Lucas, M. Cook, J. Wallace, K. P. Kirkbride, H. Kobus, "Quantifying gunshot residues in cases of suicide: implications for evaluation of suicides and criminal shootings", *Forensic Sci. Int.*, 266, 289–298, 2016.
- [21] G. Vanini, C. a. Destefani, B. B. Merlo, M. T. W. D. Carneiro, P. R. Filgueiras, R. J. Poppi, W. Romão, "Forensic ballistics by inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy: quantification of gunshot residues and prediction of the number of shots using different firearms", *Microchem. J.*, 118, 19–25, 2015.
- [22] M. López-López, C. García-Ruiz, "Recent non-chemical approaches to estimate the shooting distance.", *Forensic Sci. Int.*, 239, 79–85, 2014.
- [23] W. A. MacCrehan, M. J. Layman, J. D. Secl, "Hair combing to collect organic gunshot residues (OGSR)", *Forensic Sci. Int.*, 135(2), 167–173, 2003.
- [24] M. Aliste, L. G. Chávez, "Analysis of gunshot residues as trace in nasal mucus by GFAAS", *Forensic Sci. Int.*, 261, 14–18, 2016.
- [25] T. J. Hannigan, S. D. McDermott, C. M. Greaney, J. O'Shaughnessy, C. M. O'Brien, "Evaluation of gunshot residue (GSR) evidence: surveys of prevalence of GSR on clothing and frequency of residue types", *Forensic Sci. Int.*, 257, 177–181, 2015.

- [26] G. Vanini, M. O. Souza, M. T. W. D. Carneiro, P. R. Filgueiras, R. E. Bruns, W. Romão, "Multivariate optimisation of ICP OES instrumental parameters for Pb/Ba/Sb measurement in gunshot residues", *Microchem. J.*, 120, 58–63, 2015.
- [27] G. Vanini, R. M. Souza, C. A. Destefani, B. B. Merlo, T. M. Piorotti, E. V. R. de Castro, M. T. W. D. Carneiro, W. Romão, "Analysis of gunshot residues produced by .38 caliber handguns using inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy (ICP OES)", *Microchem. J.*, 115, 106–112, 2014.
- [28] D. Wu, T. Pichler, "Preservation of co-occurring As, Sb and Se species in water samples with EDTA and acidification", *Geochemistry Explor. Environ. Anal.*, 16(2), 117–125, 2015.
- [29] Dojindo, "Metal Chelates", *Analytical & Biological Products*, 2017. [Online]. Disponível: https://www.dojindo.com/Images/ProductPhoto/Chelate_Table_of_Stability_Constants.pdf. [Acessado: 11-Mar-2017].
- [30] E. Turillazzi, G. P. Di Peri, A. Nieddu, S. Bello, F. Monaci, M. Neri, C. Pomara, R. Rabozzi, I. Riezzo, V. Fineschi, "Analytical and quantitative concentration of gunshot residues (Pb, Sb, Ba) to estimate entrance hole and shooting-distance using confocal laser microscopy and inductively coupled plasma atomic emission spectrometer analysis: an experimental study.", *Forensic Sci. Int.*, 231(1–3), 142–149, 2013.
- [31] L. Lagoo, L. S. Schaeffer, D. W. Szymanski, R. W. Smith, "Detection of gunshot residue in blowfly larvae and decomposing porcine tissue using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)", *J. Forensic Sci.*, 55(3), 624–632, 2010.
- [32] R. D. Koons, "Flameless atomic absorption spectrophotometric determination of antimony and barium in gunshot residue collection swabs: a collaborative study", *Crime Lab. Dig.*, 20(1), 19–23, 1993.
- [33] A. Tarifa, J. R. Almirall, "Fast detection and characterization of organic and inorganic gunshot residues on the hands of suspects by CMV-GC-MS and LIBS", *Sci. Justice*, 55(3), 168–175, 2015.
- [34] J. S. Wallace, J. McQuillan, "Discharge residues from cartridge-operated industrial tools", *J. Forensic Sci. Soc.*, 24, 495–508, 1984.
- [35] L. G. A. Melo, A. Martiny, A. L. Pinto, "Nano characterization of gunshot residues from Brazilian ammunition", *Forensic Sci. Int.*, 240, 69–79, 2014.
- [36] "Standard Guide for Gunshot Residue Analysis by Scanning Electron Microscopy/Energy Dispersive X-Ray Spectrometry". ASTM International, Designation E1588-10, 1–5, 2010.
- [37] C. Torre, G. Mattutino, V. Vasino, C. Robino, "Brake linings: a source of non-GSR particles containing lead, barium, and antimony.", *J. Forensic Sci.*, 47, 494–504, 2002.
- [38] I. T. Weber, A. J. G. Melo, M. A. M. Lucena, E. F. Consoli, M. O. Rodrigues, G. F. de Sá, A. O. Maldaner, M. Talhavini, S. Alves, "Use of luminescent gunshot residues markers in forensic context", *Forensic Sci. Int.*, 244, 276–284, 2014.

-
- [39] L. Garofano, M. Capra, F. Ferrari, G. P. Bizzaro, D. Di Tullio, M. Dell'Olio, A. Ghitti, "Gunshot residue. Further studies on particles of environmental and occupational origin", *Forensic Sci. Int.*, 103(1), 1–21, 1999.
- [40] T. Wan, D. Yu, T. Zhang, X. Zhang, J. Zhou, "A rapid method for detection of gunshot residue using microwave plasma torch-mass spectrometry", *Procedia Eng.*, 7, 22–27, 2010.
- [41] M. Grima, M. Butler, R. Hanson, A. Mohameden, "Firework displays as sources of particles similar to gunshot residue", *Sci. Justice*, 52(1), 49–57, 2012.
- [42] W. Tucker, N. Lucas, K. E. Seyfang, K. P. Kirkbride, R. S. Popelka-Filcoff, "Gunshot residue and brakepads: compositional and morphological considerations for forensic casework", *Forensic Sci. Int.*, 270, 76–82, 2017.
- [43] L. Fojtášek, T. Kmječ, "Time periods of GSR particles deposition after discharge-final results", *Forensic Sci. Int.*, 153(2–3), 132–135, 2005.
- [44] J. French, R. Morgan, "An experimental investigation of the indirect transfer and deposition of gunshot residue: further studies carried out with SEM-EDX analysis", *Forensic Sci. Int.*, 247, 14–17, 2015.
- [45] D. L. G. Borges, B. Welz, U. Heitmann, "Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua", *Rev. Anal.*, 1(18), 58–67, 2005.
- [46] B. Welz, M. Sperling, *Atomic absorption spectrometry*, 3^a ed. Weinheim: Wiley-VCH, 1999.
- [47] F. V. Nakadi, "Desenvolvimento de procedimentos analíticos para a determinação de não-metais via moléculas diatômicas por espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua", Tese (Doutorado) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP, Brasil, 2015.
- [48] D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Principles of instrumental analysis*, 6^a ed. Belmont: Thomson, 2007.
- [49] L. H. J. Lajunen, P. Perämäki, *Spectrochemical analysis by atomic absorption and emission*, 2^a ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2004.
- [50] W. Slavin, D. C. Manning, "The L'vov Platform for furnace atomic absorption analysis", *Spectrochim. Acta*, 35B, 701–714, 1980.
- [51] PerkinElmer, *THGA Graphite Furnace Including the AS-800 Autosampler: User's Guide*. 2000.
- [52] R. E. S. Fores, C. C. Windmöller, J. B. B. Silva, "Emprego da modificação química permanente para a determinação de metais em matrizes diversas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite", *Rev. Anal.*, 1(23), 32–43, 2006.

-
- [53] H. M. Ortner, E. Bulska, U. Rohr, G. Schlemmer, S. Weinbruch, B. Welz, "Modifiers and coatings in graphite furnace atomic absorption spectrometry - mechanisms of action (A tutorial review)", *Spectrochim. Acta Part B*, 57(12), 1835–1853, 2002.
- [54] H. Becker-Ross, S. Florek, U. Heitmann, R. Weisse, "Influence of the spectral bandwidth of the spectrometer on the sensitivity using continuum source AAS", 355, 300–303, 1996.
- [55] B. Welz, H. Becker-Ross, S. Florek, U. Heitmann, *High-resolution continuum source AAS*. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.
- [56] E. Andrade-Carpente, E. Peña-Vázquez, P. Bermejo-Barrera, "Determination of sulfur in bovine serum albumin and L-cysteine using high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry of the CS molecule", *Spectrochim. Acta Part B*, 122, 188–191, 2016.
- [57] M. D. Huang, H. Becker-Ross, M. Okruss, S. Geisler, S. Florek, "Determination of phosphorus using high-resolution diphosphorus molecular absorption spectra produced in the graphite furnace", *Spectrochim. Acta Part B*, 115, 23–30, 2016.
- [58] N. Ozbek, S. Akman, "Determination of total sulfur concentrations in different types of vinegars using high resolution flame molecular absorption spectrometry", *Food Chem.*, 213, 529–533, 2016.
- [59] M. D. Huang, H. Becker-Ross, S. Florek, M. Okruss, B. Welz, S. Morés, "Determination of iodine via the spectrum of barium mono-iodide using high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry in a graphite furnace", *Spectrochim. Acta Part B*, 64(7), 697–701, 2009.
- [60] G. E. Reed, P. J. McGuire, A. Boehm, "Analysis of gunshot residue test results in 112 suicides", *J. Forensic Sci.*, 35(1), 62–68, 1990.
- [61] M. Revreby, "Analysis of long-range bullet entrance holes by atomic absorption spectrophotometry and scanning electron microscopy", *J. Forensic Sci.*, 27(1), 92–112, 1982.
- [62] R. Gagliano-Candela, A. P. Colucci, S. Napoli, "Determination of firing distance. Lead analysis on the target by atomic absorption spectroscopy (AAS)", *J. Forensic Sci.*, 53(2), 321–324, 2008.
- [63] D. B. Dahl, P. F. Lott, "Gunshot residue determination by means of gunpowder stabilizers using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection and analysis of metallic residues by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry", *Microchem. J.*, 35, 347–359, 1987.
- [64] E. B. Morales, A. L. R. Vázquez, "Simultaneous determination of inorganic and organic gunshot residues by capillary electrophoresis", *J. Chromatogr. A*, 1061, 225–233, 2004.
- [65] M. O. Salles, J. Naozuka, M. Bertotti, "A forensic study: lead determination in gunshot residues", *Microchem. J.*, 101, 49–53, 2012.

- [66] M. Resano, M. R. Flórez, “Direct determination of sulfur in solid samples by means of high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry using palladium nanoparticles as chemical modifier”, *J. Anal. At. Spectrom.*, 27, 401–412, 2012.
- [67] D. S. Scatamachia, “Explorando a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e amostragem direta em superfície metálica para a determinação de bário”, Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, USP, Brasil, 2006.
- [68] É. C. Lima, J. L. Brasil, A. H. D. P. Santos, “Evaluation of Rh, Ir, Ru, W-Rh, W-Ir and W-Ru as permanent modifiers for the determination of lead in ashes, coals, sediments, sludges, soils, and freshwaters by electrothermal atomic absorption spectrometry”, *Anal. Chim. Acta*, 484(2), 233–242, 2003.
- [69] N. Ozbek, S. Akman, “Determination of fluorine in milk and water via molecular absorption of barium monofluoride by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometer”, *Microchem. J.*, 117, 111–115, 2014.
- [70] S. Bell, *Forensic chemistry*, 1^a ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2006.
- [71] R. M. Camero, J. Alvarado, “Determination of carbide-forming metals, chromium and barium, by graphite furnace atomic absorption spectrometry using a tungsten coil platform”, *Spectrochim. Acta Part B*, 55(7), 875–881, 2000.
- [72] D. L. Tsalev, V. I. Slaveykova, P. V. Mandjukov, “Chemical modification in graphite furnace atomic absorption spectrometry”, *Spectrochim. Acta Rev.*, 13, 225–274, 1990.
- [73] E. Lassner, W.-D. Schubert, E. Lüderitz, H. U. Wolf, “Tungsten, tungsten alloys, and tungsten compounds”, *Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 37. Online Edition. Weinheim: Wiley-VCH, 498–536, 2012.
- [74] D. L. Styris, D. A. Redfield, “Perspectives on mechanisms of electrothermal atomization”, *Spectrochim. Acta Rev.*, 15, 71–123, 1993.
- [75] A. B. Volynsky, “Mechanisms of action of platinum group modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry”, *Spectrochim. Acta Part B*, 55(2), 103–150, 2000.
- [76] A. B. Volynsky, R. Wennrich, “Mechanisms of the action of platinum metal modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry: Aims and existing approaches”, *Spectrochim. Acta Part B*, 57(8), 1301–1316, 2002.
- [77] M. I. Rodrigues, A. F. Iemma, *Planejamento de experimentos e otimização de processos*, 3^a ed. Campinas: Cárita, 2014.
- [78] D. C. Harris, *Quantitative chemical analysis*, 8^a ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2010.
- [79] J. Yañez, M. Paz Farías, V. Zúñiga, C. Soto, D. Contreras, E. Pereira, H. D. Mansilla, R. Saavedra, R. Castillo, P. Sáez, “Differentiation of two main ammunition brands in Chile by regularized discriminant analysis (RDA) of metals in gunshot residues”, *Microchem. J.*, 101, 43–48, 2012.

-
- [80] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Fundamentals of analytical chemistry*, 9^a ed. Belmont: Brooks/Cole, 2013.
- [81] H. Ditrich, “Distribution of gunshot residues - The influence of weapon type”, *Forensic Sci. Int.*, 220(1–3), 85–90, 2012.
- [82] A. Duarte, L. M. Silva, C. T. de Souza, E. M. Stori, L. A. Boufleur, L. Amaral, J. F. Dias, “Elemental quantification of large gunshot residues”, *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. B*, 348, 170–173, 2015.
- [83] Z. Brozek-Mucha, “Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis for chemical and morphological characterisation of the inorganic component of gunshot residue: selected problems”, *Biomed Res. Int.*, 2014, 1–11, 2014.