



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**Instituto de Química**

**DELEON NASCIMENTO CORRÊA**

**ESPECTROMETRIA DE MASSAS AMBIENTE APLICADA ÀS CIÊNCIAS  
FORENSES: DOS DOCUMENTOS ÀS DROGAS DE ABUSO**

**CAMPINAS**

**2015**

**DELEON NASCIMENTO CORRÊA**

**ESPECTROMETRIA DE MASSAS AMBIENTE APLICADA ÀS CIÊNCIAS  
FORENSES: DOS DOCUMENTOS ÀS DROGAS DE ABUSO**

**Tese apresentada ao Instituto de  
Química da Universidade Estadual de  
Campinas como parte dos requisitos  
exigidos para a obtenção do título  
doutor em Ciências.**

**Orientador: PROF. DR. MARCOS NOGUEIRA EBERLIN**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À  
VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA  
POR DELEON NASCIMENTO CORRÊA  
E ORIENTADA PELO PROF. DR.  
MARCOS NOGUEIRA EBERLIN.**

**CAMPINAS**

**2015**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca do Instituto de Química  
Simone Lucas Gonçalves de Oliveira - CRB 8/8144

Corrêa, Deleon Nascimento, 1983 - C817e

Espectrometria de massas ambiente aplicada às ciências forenses: dos documentos às drogas de abuso  
Deleon Nascimento Corrêa. – Campinas, SP: [s.n.], 2015.

Orientador: Marcos Nogueira Eberlin.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Ciências forenses. 2. Química forense. 3. Espectrometria de massas. I. Eberlin, Marcos Nogueira. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Ambient mass spectrometry applied to forensic science : documents to the drug abuses

**Palavras-chave em inglês:**

Forensic science

Forensic chemistry

Mass spectrometry

**Área de concentração:** Química Analítica

**Titulação:** Doutor em Ciências

**Banca examinadora:**

Wanderson Romão

Ana Valeria Colnaghi Simionato Cantú

Gisele Gonçalves Bortoleto

Marco Aurélio Zezzi Arruda

**Data de defesa:** 31-07-2015

**Programa de Pós-Graduação:** Química

***“Uma vida sem desafios não vale a pena ser vivida.”  
Sócrates***

***“A razão da sua vida é você mesmo.”  
Aristóteles, Revolução da Alma  
em 360 a.C.***

***“Não há nada que substitua o trabalho árduo.”  
Thomas A. Edison***

***“A educação é a arma mais poderosa que você pode usar para mudar o mundo.”  
Nelson Mandela***

***“Brasil é minha terra, amo,  
e não abro mão!  
Eu***

***Eu dedico esta tese de doutorado...***

***...a minha família, em especial aos meus pais, Célio e Lureni, aos meus irmãos Gabriel, Jaqueline e seu esposo Nacélio bem como a minha sobrinha Valentina que esta completando seis meses neste mês. Esta é a primeira tese de doutorado da família Nascimento Corrêa e virão muitas outras teses dos meus futuros filhos, sobrinhos e netos.***

***A vocês meu eterno amor, carinho e gratidão.***

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço primeiramente a Deus, o qual esta sempre comigo.*

*À UNICAMP e ao IQ-UNICAMP pelo suporte e pela estrutura, por ter-me acolhido entre 2003 e 2015, e hoje ter-me feito um Doutor em Ciências. Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin, minha gratidão por ter me ensinado como ser um pesquisador generoso que contribui para o crescimento do Brasil.*

*Agradeço a todos os professores do IQ-UNICAMP pela minha formação em especial gostaria de deixar lembrado aqui o Prof. Dr. José Augusto (Orientador IC), Prof. Dr. Oswaldo Luiz Alves (Orientador de IC), Prof. Dr. Italo Odone Mazali (Orientador de mestrado), Profa. Dra. Inez Valeria Pagotto Yoshida (primeira aula no IQ-UNICAMP e banca de mestrado), Profa. Dra. Carol Hollingworth Collins (banca de qualificação e bons ensinamentos), Prof. Dr. Ronei Jesus Poppi (banca de qualificação e incentivador), Prof. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda (banca de doutorado e incentivador), Prof. Dr. Luiz Carlos Dias (incentivador), Profa. Dra. Heloise de Oliveira Pastore (incentivadora), Prof. Dr. Fernando Galembeck (incentivador) e Profa. Dra. Regina Buffon (incentivadora).*

*Aos amigos do Lab Thomson: Jozé Paz, Dr. Nicolas, Dr. Célio, Dra. Damila, Dra. Carol Aguiar, Dra. Daniele, Dra. Davila, Carla, Danille (IC), Júlio, Guilherme (IC), Pedro (IC), Carolina (IC), Dr. Brunovisk, Fabião, Javier, Jandão, Sena, Vini, Dra. Soraya, Dra. Roberta, Dr. Fidelis, Gustavo Duarte, Pedro, Giovana, Dr. Hector, Renan, Dra. Tata, Rita, Elias, Adriana, Marcos Pudenzi, Andreia Porcari, Andrea Gaucha, Phelipera, Dra. Ligya, Dra. Christina, Dra. Jerusa, Dra. Heliara, Dra. Rose Simas, Dra. Mirela, Dra. Rosana Alberici, Dra. Elaine, Dra. Dena em especial a Dra. Regina Sparrapan (incentivo, apoio e ensinamentos), se eu estiver esquecendo de alguém será adicionado a caneta aqui na minha versão.*

*Agradeço aos amigos de outras instituições que contribuíram e me ajudaram nesta caminhada: Dr. Werickson Fortunato de Carvalho Rocha (INMETRO), Marcos Franco (SPTC-SP), Dr. Boniek Gontijo (UFG), Dr. Wanderson Romão (IFES/UFES), Dr. Andre Murari (PETROBRAS), Dr. Diego Stéfani Teodoro Martinez (LNNano), Dr. Eduardo Morgado (Thermo Fisher Scientific), Dr. Jorge Jardim Zacca (INC), Dr. Claudio Cuelbas (PF-Campinas), Dr. Lorival (PF-Campinas), Prof. Dr. Eduardo Meurer (UFPR), Dra. Simone Chiapeta (INT-RJ), Prof. Dr. Claudio Aguiar (USP/ESALQ), Dr. Clécio Fernando*

**(INPA), Prof. Dr. Humberto Milagre (UNESP), Maira (Inmetro), Dr. Rodrigo Borges (Inmetro) e ao Prof. Dr. Wanderley de Souza (Inmetro).**

**Meus agradecimentos aos amigos da Superintendência da Polícia Técnico Científica de São Paulo, SPTC-SP, Perito Criminal Chefe de Núcleo Campinas Dr. Nelson Patrocínio (obrigado pelo apoio), Perito Criminal Chefe da Equipe Mogi Dr. Antonio Carlos Tozi (obrigado pelo apoio e ensinamentos), Perito Criminal Dr. Francisco Scafi (obrigado pelo apoio), Perito Criminal Dr. José Vieira de Camargo Neto (obrigado pelas trocas e apoio), Perito Criminal Dr. Gustavo Perez Plácido (irmão, obrigado pela cerveja), Perito Criminal Dr. Estefan, Perita Criminal Dra. Ananda, Perita Criminal Dra. Natalia Fatori, Perito Criminal Prof. Dr. José Luis Costa (SPTC-SP), Perito Criminal Profa. Dra. Silvia Cazenave (SPTC-SP), Fotografo Pericial Nilton Ruzon (meu irmão de coração, obrigado), Fotografo Pericial Renato Fadu, Fotografo Pericial Dr. Emerson Araujo, Fotografo Pericial Adriano Flaminio, Fotografo Pericial Dr. Márcio Franciulli, Necropsia Pericial Sr. Jair, Necropsia Pericial Marcelo Zuliani, Secretaria Geral Juliana Veras, Secretaria auxiliar Juliana Tozi, Chefe de Protocolo Carla e Serviços Gerais querida Gigi (obrigado pelos cafés e apoio).**

**Meus agradecimento aos amigos que fiz em Mogi, a Secretaria de Segurança Municipal Profa. Dra. Judite, o representante de vendas da AMBEV e amigo Jocélio de Souza, as amigas Patrícia e Denise Andrade, a chuchuquinha Maira Corrêa Lisboa que me acompanhou em boa parte deste projeto.**

**Agradeço a minha primeira Profa. Tia Silvana (1ª. Serie ensino básico por me ensinar a escrever com 8 anos), agradeço a Profa. Tia Danusa (2ª. Serie do ensino básico por me ensinar matemática com 9 anos), Profa. Eunice (cursinho objetivo, por me ensinar escrever redação) e a amiga Tininha de Poços de Caldas (pelo carinho e incentivo).**

**Agradeço ao Brasil e a todos que pagaram impostos ou contribuíram para meus estudos, por isso agora já estou fazendo o mesmo, para que os próximos tenham a chance que eu tive e ainda melhor.**

**MEU MUITO OBRIGADO!**



**Deleon Nascimento Corrêa**

## RESUMO

### ESPECTROMETRIA DE MASSAS AMBIENTE APLICADA ÀS CIÊNCIAS FORENSES: DOS DOCUMENTOS ÀS DROGAS DE ABUSO

A aplicação da espectrometria de massas (MS) às ciências forenses (CF) se constitui uma inovadora e imprescindível linha de pesquisa no Brasil e no mundo. Embora dotadas de excelentes profissionais de perícia criminal, as forças policiais existentes no país necessitam constantemente de melhorias no tocante a novas metodologias de análises, visando um aprimoramento constante deste serviço e retorno à sociedade. Com o desenvolvimento de equipamentos MS cada vez mais robustos, compactos e de fácil operação a MS se torna ainda mais versátil e potencial na área das CF. Estas características fazem da MS uma ferramenta indispensável nas CF. As CF se dedicam à aplicação do conhecimento científico ao sistema legal, trabalhando com os vestígios levantados em cenas de crime. Os vestígios encontrados em cenas de crime podem ser os mais diversos, passando por material biológico como sangue, resíduos de disparo de armas de fogo, explosivos e incêndios, produtos químicos como fármacos e agrotóxicos, falsificações diversas tal como de documentos oficiais, de selos, de combustível, substâncias psicotrópicas constituindo as drogas de abuso, impressões digitais, cobrindo todo tipo de vestígios de natureza criminal. Portanto se torna evidente frente à complexidade e interdisciplinaridade dos problemas encontrados a importância das CF e a necessidade de ferramentas analíticas adequadas. Esta tese de doutorado apresenta como objetivo central a aplicação da MS ambiente às CF, com objeto de estudos principais documentos, visando desenvolvimento de metodologias que garantam facilidade de análise e potencial implementação futura em rotinas de laboratórios forenses no Brasil. As principais técnicas de MS ambiente aqui aplicadas são a *easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry* (EASI-MS) e *desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging* (DESI-MSI). A tese esta dividida em cinco trabalhos à saber: 1- levantamento do estado da arte sobre a aplicação das MS ambiente às CF; 2 – aplicação da técnica EASI-MS à caracterização de Carteiras Nacionais de Habilitações falsificadas; 3 - aplicação da técnica EASI-MS na caracterização de explosivos em cédulas de R\$ suspeitas de explosão de caixas eletrônicos; 4 – aplicação da técnica DESI-MSI na aquisição de imagens moleculares de dispositivos antifurtos em cédulas de R\$ suspeitas de explosão de caixas eletrônicos; 5 – Desenvolvimento e aplicação do sistema MS ambiente *Venturi electrospray-assisted laser desorption ionization*, VELDI-MS. Nesta tese de doutorado, portanto, serão exploradas as vantagens da MS ambiente na obtenção de dados de forma simples, seletiva, direta e rápida, usando protocolos livres de preparação de amostras que podem servir como provas inequívocas ao nível molecular em inúmeros casos forenses, preservando a evidência forense para exames necessários junto à Justiça.

## ABSTRACT

### AMBIENT MASS SPECTROMETRY APPLIED TO FORENSIC SCIENCE: DOCUMENTS TO THE DRUG ABUSES

The application of mass spectrometry (MS) to forensic sciences (FS) constitutes an innovative and essential research area in Brazil and in world. Although with great Forensic professionals, the police forces constantly need improvements regarding new methods of analysis, aiming at a constant improvement of this service and return to society. With the development of MS equipments increasingly robust, compact and easy operation, MS becomes even more versatile and potentially in the area of FS. these features make the MS indispensable tool in FS. FS are dedicated to the application of scientific knowledge to the legal system, it acts in the technical and scientific research about traces collected from crime scenes. The evidences remains from crime scenes may be the most diverse, as biological material such as blood, gunshot residues, explosive waste, fire residues, chemicals such pharmaceuticals and pesticides, several fakes such as official documents, stamps and fuel, psychotropic substances constituting the drugs of abuse, fingerprints, covering all kinds of traces of crime. Therefore, becomes evident the importance of FS, considering the problems complexity and interdisciplinarity involved. Therefore it becomes evident considering the complexity and interdisciplinarity of the problems encountered the importance of the FS and the necessity of appropriate analytical tools for that. This doctoral thesis has as main objective the implementation of ambient MS to FS, with the focus on document studies, in the direction of a methodologies development that ensure ease of analysis and potential future implementation in routine forensic laboratories in Brazil. The main techniques of ambient MS, applied here, are the easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry (EASI-MS) and desorption *electrospray* ionization mass spectrometry imaging (DESI-MSI). The thesis is divided into five works: 1- the state of the art on the application ambient AM to the FS; 2 - EASI-MS technique application to the characterization of Brazilian Driver's Licenses forgery; 3 - EASI-MS method application in characterization of explosives in R\$ banknotes suspicious from ATM blown up; 4 - DESI-MSI method application in image acquisition of antitheft devices in R\$ banknotes suspicious from ATM blown up; 5 - Development and implementation of the ambient MS system Venturi-assisted laser desorption *electrospray* ionization, VELDI-MS. therefore, here the ambient MS advantages will be explored in obtaining data as simple, selective, directly and quickly, using open protocols for sample preparation that can serve as unequivocal evidence at the molecular level in numerous forensic cases, preserving forensic evidence for necessary examinations by the Court.

## LISTA FIGURAS

- Figura 1.** Perícia Criminal. Quadro de figuras mostrando a rotina de trabalho de um perito criminal.....24
- Figura 2.** Diagrama esquemático de um espectrômetro de massas. A técnicas de ionização e analisadores em vermelho no diagrama são aqueles utilizados nesta tese. ....25
- Figura 3.** Esquema das “cinco principais” técnicas de dessorção/ionização ambiente para MS aplicadas às ciências forenses: (A) DESI, (B) EASI, (C) PSI, (D) ELDI e (E) DART. Adaptado da referência[22]. ....29
- Figura 4.** (A) V-EASI-MS - *Venturi easy ambient sonic-spray ionization MS*, (B) TI-EASI-MS - *thermal imprinting easy ambient sonic-spray ionization MS* e (C) P-EASI-MS - *portable easy ambient sonic-spray ionization MS*. Adaptados das referências[41-43]. ....31
- Figura 5.** Processo de geração de imagens por DESI-MSI: (A) varredura DESI da escrita, (B) tinta azul, básico azul de  $m/z$  478, (C) tinta vermelha, rodamina G de  $m/z$  443 e (D) imagem adquirida. Figura adaptada da referência[54]. ....33
- Figura 6.** (A) Figuras de um experimento de simulação de explosão; (B) resíduos de ANFO coletados de uma cena de crime real. EASI-MS realizada no modo íon negativo de análise da superfície de (C) uma cédula bancária brasileira não contaminada; (D) uma cédula bancária após explosão com uso de ANFO e (E) resíduo de ANFO encontrado em uma cena de crime real. Adaptado da referência[65]. ....35
- Figura 7.** (A) Esquema da montagem para a análise DEFFI-MSI. Espectros no modo negativo de análise mostrando a detecção de (B) ácido oleico e (C) HMX. Imagens DEFFI-MSI de uma impressão digital artificial coberta com HMX depositada em fita adesiva (D) ácido oleico, (E) HMX e (F) um mapa da localização de ácido oleico (azul) e HMX (vermelho). Adaptado a referência[66]...36
- Figura 8.** Imagens DESI-MS de um número falsificado em papel de impressora. (A) imagem de íon de Basic Violet 3 de  $m/z$  372; (B) imagem de íon de Solvent Blue 2 de  $m/z$  484; (C) sobreposição de A e B combinando imagens de íon de Basic Violet 3 e Basic Blue 2 e (D) imagem ótica da superfície. Reproduzido da referência[54]. ....38

- Figura 9.** (A) e (B), respectivamente, ilustram o esquema do sistema EASI-MS para análise de documentos e usado para inspecionar a interseção de duas linhas de tinta azul. (C), (D) e (E) representam o espectro de massa obtido da linha 1, da linha 2 e o ponto de cruzamento, respectivamente. Adaptado da referência[75]....39
- Figura 10.** (A) Sistema EASI instalado em um espectrômetro de massas com analisador de massas FT-ICR MS, (B) sistema EASI instalado em um espectrômetro de massas com analisador de massas Q, (C) EASI-Q para nota verdadeira, (D) EASI-Q para nota falsa, (E) EASI-FT-ICR MS para nota verdadeira e (F) EASI-FT-ICR MS para nota falsa. Adaptado da referência[78].....40
- Figura 11.** (A) Esquema EASI-MS, (B) amostra forense analisada, (C) cédulas reconhecidas como de explosão de caixa eletrônico apresentando aparente dispositivo antifurto em sua superfície, (D) cédulas suspeitas de roubo por explosão de caixa eletrônico com provável impregnação de dispositivo antifurto e características de tentativa de limpeza com uso de solventes, (E) cédulas aparentemente contaminadas com sujidades escuras sendo suspeita de se tratar de cédulas impregnadas com dispositivo antifurto e tentadas de limpeza por procedimento de aplicação de temperatura, (F) espectro EASI-MS de uma nota livre de contaminação e espectros (G), (H) e (I) respectivamente às amostras (C), (D) e (E). Adaptado da referência[81]. .....41
- Figura 12.** (A)  $\Delta 9$ -THC e/ou canabidiol em papel, identificado pela transição MS/MS  $m/z$  313 > 245, (B)  $\Delta 9$ -THC distinguido de canabidiol pela transição MS/MS única de  $m/z$  313 > 191, (C) MS/MS de canabidiol protonado e (D) MS/MS de  $\Delta 9$ -THC protonado. Adaptado da referência[53]. .....43
- Figura 13.** Esquema da amostragem de (A) sólidos, (B) líquidos com TSI usando uma agulha de contato angular e (C) aplicação de alta voltagem e solvente causa uma pluma semelhante a ESI de gotículas contendo analitos dos quais íons de analitos gasosos são produzidos. Adaptado da referência[92]. .....44
- Figura 14.** (A) Esquema da análise PSI-MS utilizando um cartucho auto mostrador em que 8 drogas ilícitas são simultaneamente quantificadas. (B) PSI-MS de uma única gota de sangue seco em papel. Adaptado das referências[36, 94]. .....45
- Figura 15.** (A) Análise TI-EASI-MS: uma peça (ca. 1 cm<sup>2</sup>) de carne ou gordura é manualmente cortada em seções de aproximadamente 10 mm, sendo então colocada numa superfície de papel Kraft marrom e algumas gotas (cerca de 3) de solução MeOH:CHCl<sub>3</sub> (2:1, v/v) são pingadas na superfície da amostra. A

amostra é aquecida por 20 s (para gordura) ou 90 s (para carne); o conteúdo TAG (do inglês *triacylglyceride*) impresso na superfície do papel é submetido ao sistema de análise EASI-MS. (B) espectro direto da carne, (C) espectro da carne e solvente e (D) espectro da impressão térmica TI-EAS-MS. Adaptado da referência[42]. .....46

**Figura 16.** (A) Esquema da análise EASI-MS de amostras de biodiesel. Perfis químicos EASI-MS característicos de íons [FAME + Na]<sup>+</sup> são instantaneamente obtidos e usados para tipificação de biodiesel e controle de qualidade. (B) EASI(+)-MS de misturas Bn representativas (n = quantidade de biodiesel no petrodiesel). Notar que o íon de *m/z* 317 é o íon principal [FAME + Na]<sup>+</sup> para biodiesel de soja, enquanto que o íon de *m/z* 335 é do padrão interno. Adaptado de e reproduzido de[108]. .....47

**Figura 17.** (A) Distribuição dos termos de busca usados no banco de dados *ISI Web of Science* ambos juntamente com o termo *forensic* indicando que *questioned documents* constitui termo técnico para exame forense de documentos mais aplicado pela literatura científica e (B) Distribuição dos termos de busca usados no banco de dados juntamente com o termo *questioned documents*. Pesquisa realizada em 10/06/2015, usando a fonte de dados da *ISI Web of Science*: [keywords = (A) “termo” and “forensic”; (B) “termo” and “questioned documents”]. 50

**Figura 18.** Metodologia analítica ou sequência analítica. ....53

**Figura 19.** Carteira Nacional de Habilitação (CNH): (A) documento espelho impresso em branco na instituição Federal[127] e (B) preenchimento do documento espelho em uma instituição Estadual[128]. .....57

**Figura 20.** (A) campo fotografia da CNH verdadeiramente atribuída ao condutor, (B) campo preenchimentos da CNH verdadeiramente atribuída ao condutor, (C) espelho da CNH verdadeiramente atribuída ao condutor, (D) campo fotografia da CNH falsa, (E) campo preenchimentos CNH falsa e (F) espelho da CNH falsa.....59

**Figura 21.** Esquema de análise EASI-MS: (A) EASI-MS, (B) EASI-FT-ICR MS, (C) campo fotografia, (D) campo preenchimento e (E) espelho da CNH. ....60

**Figura 22.** Espectros EASI(+)-MS das CNHs autênticas e falsa: (A) Fotografia da CNH verdadeira, (B) dados pessoais da CNH verdadeira, (C) espelho da CNH verdadeira, (D) Fotografia da CNH falsa, (E) dados pessoais da CNH suspeita e (F) espelho da CNH falsa.....61

- Figura 23.** EASI(+)-FT-ICR-MS para: **(A)** fotografia da CNH verdadeira (Figura 22A), **(B)** fotografia CNH suspeita (Figura 22D), **(C)** subtração (3B) – (3A) e **(D)** expansão na região de  $m/z$  570-620 sendo observado os marcadores de impressão jato de tinta (Surfynol e Nonoxynol).....63
- Figura 24.** (A) 1,1'-dihidroxipropil peróxido (DHPP), (B) diperóxido de diacetona (DADP) e (C) triperóxido de triacetona (TATP).....69
- Figura 25.** Cédulas monetárias de valor nominal R\$50 apreendidas pelas Polícia Civil de São Paulo em mãos de suspeitos e repassados à Superintendência da Polícia Técnica Científica de São Paulo para análise pericial e reposta à pergunta se apresentava explosivo e suas superfícies.....72
- Figura 26.** Preparo do explosivo TATP.....73
- Figura 27.** Esquema da ionização ambiente por *spray* sônico (EASI) para espectrometria de massas ambiente livre de voltagem, aplicada a amostras de cédulas suspeitas de serem originárias de explosões de caixas eletrônicos: (A) fonte EASI acoplada um espectrômetro de massas com quadrupolo simples em modo positivo de análise, EASI(+)-MS; (B) fonte EASI acoplada a um espectrômetro de massas de ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier, em modo positivo de análise, EASI(+) FT-MS e (C) cédula suspeita apreendida. ....73
- Figura 28.** Espectros: (A) EASI(+) FT-ICR MS para a cédula de R\$50 controle, (B) EASI(+) FT-ICR MS para a cédula suspeita de explosão de caixa eletrônico, (C) ESI(+)-FT-ICR MS/MS para amostra TATP sintetizada conforme Figura 26. ....75
- Figura 29.** Perfis químicos obtidos por EASI(+) MS entre 75-600  $m/z$  para (A) cédulas normais e (B) cédulas suspeitas de explosão de caixa eletrônico.....77
- Figura 30.** EASI(+) MS em amplitude de 75-320  $m/z$  para (A) cédula livre de contaminação, (B) TATP sintetizado sobre a cédula; (C) TATP sintetizado explodido sobre a cédula, e (D) notas suspeitas de serem oriundas de explosão caixa eletrônico. ....78
- Figura 31.** Estruturas químicas dos principais corantes utilizados em dispositivos antifurto (A) rodamina B (RB); (B) rodamina 6G (R6G); (C) 1-metilaminoantraquinona (MAAQ); (D) capsaicina; (E) di-hidrocapsaicina; (F) nonivamida; (G) ortoclorobenzalmalononitrila e (H) 2-cloroacetofenona. ....81
- Figura 32.** (A) Fotografia da cédula utilizada, (B) área analisada selecionada (C) imagem DESI-MSI. Os corantes analisados foram (a) MAAQ, (b) RB e (c) R6G,

e os corantes são representados por C1, C2, C3 e C4, que correspondem a concentrações de 0.001, 0.05, 0.2 and 1.0 $\mu\text{g cm}^{-2}$ , respectivamente. As setas no canto superior esquerdo indicam direção x de varredura na produção da imagem. ....	83
<b>Figura 33.</b> Corrente extraída do íon de $m/z$ 443 para rodamina 6G em concentrações de 0,001 (C1), 0,05 (C2), 0.2 (C3) e 1 $\mu\text{g.cm}^{-2}$ (C4). ....	84
<b>Figura 34.</b> Resultados da análise DESI-MSI para uma cédula contaminada com R6G em concentrações C1, C2, C3 e C4 (0,001, 0,05, 0,2, e 1 $\mu\text{g.cm}^{-2}$ , respectivamente): (A) contaminação frente da cédula, (B) DESI-MSI frente, (C) verso da cédula contaminada, (D) primeira análise DESI-MSI do verso da cédula, (E) segunda análise DESI-MSI do verso da cédula e (F) terceira análise DESI-MSI do verso da cédula. ....	85
<b>Figura 35.</b> (A) Cédula real; (B) cédula contaminada com dispositivo antifurto; (C) resultados DESI-MSI da simulação; (D) cédula lavada e (E) DESI-MSI da cédula lavada. ....	86
<b>Figura 36.</b> Esquema ilustrativos do sistema VELDI-MS: (A) pluma de analito, (B) laser, (C) sistema Venturi, (E) injeção analito e (D) sistema ESI. ....	89
<b>Figura 37.</b> VELDI(-)-FT-ICR MS para uma folha de <i>Cannabis sativa</i> : (A) pico de $m/z$ 313 representando $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol ( $\Delta$ 9-THC) e (B) pico de $m/z$ 309 representando canabidiol (CBD) e canabinol (CBN). ....	91
<b>Figura 38.</b> Espectros VELDI(+)-FT-ICR MS obtidos de folhas de <i>Erythroxylum coca</i> . ...	91
<b>Figura 39.</b> Espectros VELDI(+)-FT-ICR MS obtidos direta e remotamente de amostras de selos de LSD. ....	92
<b>Figura 40.</b> Espectros VELDI(+)-FT-ICR MS obtidos de amostras de comprimidos de MDMA. ....	93
<b>Figura 41.</b> Espectros VELDI(+)-FT-ICR MS obtidos de amostras de café Arábica torrado. ....	94
<b>Figura 42.</b> Espectros de VELDI(+)-FT-ICR MS aplicados à amostra de policloreto de vinila. ....	95
<b>Figura 43.</b> Espectros VELDI(+)-FT-ICR MS obtidos da análise direta de pesticidas em abelhas. ....	96

## LISTA TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Acrônimos e a descrição em inglês relacionado aos analisadores e fontes de ionização citados nesta Tese. ....	26
<b>Tabela 2.</b> Documentos objetos de análise mais comuns e objetivos de análises mais importantes para a Justiça. ....	48
<b>Tabela 3.</b> Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para o documento verdadeiro (Figura 22A). ....	64
<b>Tabela 4.</b> Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para no documento falso (Figura 22B) relacionado ao Nonoxynol-9 protonado. ....	66
<b>Tabela 5.</b> Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para no documento falso (Figura 22B) relacionado ao Nonoxynol-9 amoniado. ....	66
<b>Tabela 6.</b> Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para no documento falso (Figura 22B) relacionado ao Nonoxynol-9 sodiado. ....	67
<b>Tabela 7.</b> Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para no documento falso (Figura 22B) relacionado ao Nonoxynol-9 potassiado. ....	67
<b>Tabela 8.</b> Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para no documento falso (Figura 22B) relacionado ao Surfynol sodiado. ....	68
<b>Tabela 9.</b> Íons diagnósticos, formulas atribuídas e erro previsto através de EASI(+)-FT-ICR MS para a Figura 3B, cédula suspeita apreendida. ....	76

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AAS** - *atomic absorption spectroscopy*  
**AES** - *atomic emission spectroscopy*  
**AFM** - *atomic force microscopy*  
**APCI** - *atmospheric pressure chemical ionization*  
**API** - *atmospheric pressure ionization*  
**APPI** - *atmospheric pressure photon ionization*  
**ASAP** - *atmospheric solids analysis probe*  
**ATD** - *antitheft devices*  
**CD** - *compact disc*  
**CI** - *chemical ionization*  
**CNH** - Carteira Nacional de Habilitação  
**CRLV** - Certificação de Registro de Licenciamento Veicular  
**DART** - *direct analysis in real time*  
**DADP** - diacetona diperoxido  
**DAPCI** - *desorption atmospheric pressure chemical ionization*  
**DAPPI** - *desorption atmospheric pressure photon ionization*  
**DBDI** - *dielectric barrier discharge ionization*  
**DBE** - *double bound equivalent*  
**DBP** - Dibutyl phthalate  
**DESI** - *desorption electrospray ionization*  
**DESI(+)** - *desorption electrospray ionization in positive ion mode*  
**DEFFI** - *desorption electro-flow focusing ionization*  
**DHEP** - *Bis(2-ethylhexyl) phthalate*  
**DHPP** - 1,1'-dihidroxipropil peroxide  
**DOP** - *Bis(2-ethylhexyl) phthalate*  
**DRS** - *diffuse reflectance spectroscopy*  
**DSC** - *differential scanning calorimetry*  
**DTA** - *differential thermal analysis*  
**EASI** - *easy ambient sonic-spray ionization*  
**EASI(+)** - *easy ambient sonic-spray ionization in positive ion mode*  
**EASI(-)** - *easy ambient sonic-spray ionization in negative ion mode*  
**EASI-Q** - *EASI coupled to monoquadrupole MS*  
**EASI-FT-ICR MS** - *EASI coupled to Fourier transform ion cyclotron resonance MS*  
**EESI** - *extractive electrospray ionization*  
**EFSA** - *European Food Safety Authority*  
**EI** - *electron ionization*

**ELDI** - *electrospray-assisted laser desorption ionization*  
**ESI** - *electrospray ionization*  
**ESI-FT-ICR** - *electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance*  
**ESI-QTOF** - *electrospray ionization quadrupole time-of-flight*  
**FAME** - *fatty acid methyl ester*  
**FA-APGDI** - *flowing afterglow-atmospheric pressure glow discharge*  
**FD-ESI** - *fused-droplet ESI*  
**FT-ICR** - *Fourier transform ion cyclotron resonance*  
**FTIR** - *Fourier transform infrared spectroscopy*  
**GC** - *gas chromatography*  
**GSR** - *gunshot residues*  
**HMTD** - *hexamethylene triperoxide diamin*  
**HMX** - *high melting point explosive (octogen)*  
**HPLC** - *high performance liquid chromatography*  
**ICR** - *ion Cyclotron Resonance*  
**IR-LADESI** - *infrared laser-assisted desorption ESI*  
**IT** - *Ion trap*  
**LAESI** - *laser-assisted ESI*  
**LC** - *liquid chromatography*  
**LD** - *laser desorption*  
**LIT** - *linear Ion Trap*  
**LTPI** - *low-temperature plasma ionization*  
**m/z** - *razão entre massa e carga*  
**MAAQ** - *1-methylaminoanthraquinone*  
**MALDESI** - *matrix-assisted laser desorption electrospray ionization*  
**MALDI** - *matrix assisted laser desorption/ionization*  
**MECC** - *micellar electrophoretic capillary chromatography*  
**MDA** - *3,4-methylenedioxyamphetamine*  
**MDEA** - *3,4-methylenedioxy-N-ethyl-amphetamine*  
**MDMA** - *3,4-methylenedioxy-methamphetamine*  
**MS** - *mass spectrometry*  
**MSI** - *mass spectrometry imaging*  
**NALDI** - *nanoparticle assisted laser desorption ionization*  
**ND-EESI** - *neutral desorption EESI*  
**NMR** - *nuclear magnetic resonance spectroscopy*  
**OT** - *orbitrap*  
**P-EASI-MS** - *portable easy ambient sonic-spray ionization MS*  
**PADI** - *plasma-assisted desorption ionization*

**PCA** - *principal component analysis*  
**PEG** - polyethylene glycol  
**PETN** - *pentaerythritol tetranitrate*  
**PSI** - *paper spray ionization*  
**Q** - *quadrupole*  
**R\$** - valor monetário no Brasil Real  
**R6G** - *rhodamine 6G*  
**RB** - *rhodamine B*  
**RDX** - *Research Department explosive (cyclotrimethylenetrinitramine)*  
**RG** - Registro Geral (identidade)  
**SEM-EDS** - *scanning electron microscopy coupled to energy dispersive spectroscopy*  
**SESI** - *secondary electrospray ionization*  
**SIMS** - *secondary ion mass spectrometry*  
**SPE** - *solid phase extration*  
**SSI** - *sonic spray ionization*  
**TAG** - *triacylglyceride*  
**TATP** - *triacetona triperóxido*  
**TI-EASI-MS** - *thermal imprinting easy ambient sonic-spray ionization MS*  
**TIQ** - *total ion counting*  
**TGA** - *thermal gravimetric analysis*  
**THC** - *tetrahydrocannabinol*  
**TLC** - *thin layer chromatography*  
**TNT** - *trinitrotoluene*  
**TOF** - *time of flight*  
**UV-VIS** - *ultraviolet-visible spectroscopy*  
**V-EASI-MS** - *Venturi easy ambient sonic-spray ionization MS*  
**VELDI-MS** - *Venturi electrospray laser desorption ionization*  
**XRD** - *X-ray diffraction*  
**XRF** - *X-ray fluorescence*

## LISTA DE UNIDADES

**Da** - Dalton (unidade de massa atômica)

**m** - metro

**cm** - centímetro ( $1 \text{ cm} = 1 \times 10^{-2} \text{ m}$ )

**µm** - micrômetro ( $1 \text{ µm} = 1 \times 10^{-6} \text{ m}$ )

**nm** - nanômetro ( $1 \text{ nm} = 1 \times 10^{-9} \text{ m}$ )

**cm<sup>2</sup>** – centímetros quadrados

**g** - grama

**kg** - quilograma ( $1 \text{ kg} = 1 \times 10^3 \text{ g}$ )

**mg** - miligrama ( $1 \text{ mg} = 1 \times 10^{-3} \text{ g}$ )

**µg** - micrograma ( $1 \text{ µg} = 1 \times 10^{-6} \text{ g}$ )

**L** - litro ( $1 \text{ L} = 1 \text{ m}^3$ )

**mL** – mililitro ( $1 \text{ mL} = 1 \times 10^{-3} \text{ L}$ )

**µL** –microlitro ( $1 \text{ µL} = 1 \times 10^{-6} \text{ L}$ )

**mol** -  $1 \text{ mol} = 6,023 \times 10^{23}$

**mol.L<sup>-1</sup>** – concentração

**C** - concentração

**h** - hora

**min** - minuto

**s** - segundo

**kV** - quilo volt

**mA** - miliampère

# SUMÁRIO

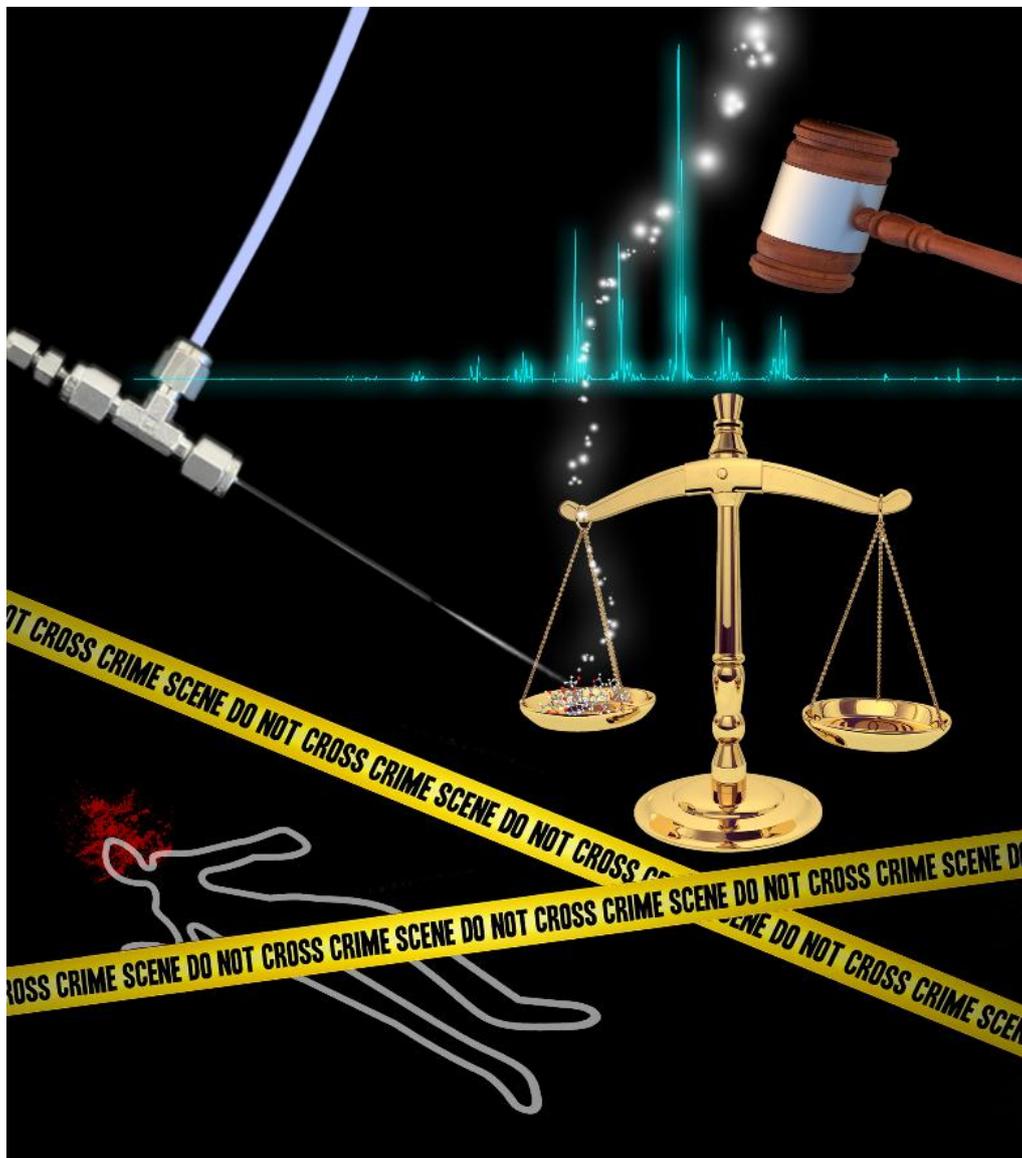
<b>1.0. ESPECTROMETRIA DE MASSAS AMBIENTE E CIÊNCIAS FORENSES .....</b>	<b>22</b>
1.1. CIÊNCIAS FORENSES E PERICIA CRIMINAL.....	23
1.2. ESPECTROMETRIA DE MASSAS .....	25
1.3. ESPECTROMETRIA DE MASSAS AMBIENTE .....	27
1.4. IMAGEMAMENTO POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	32
1.5. EXPLOSIVOS E RESÍDUOS DE ARMA DE FOGO .....	34
1.6. DOCUMENTOS QUESTIONADOS E CÉDULAS BANCÁRIAS FALSAS .....	37
1.7. DROGAS ILÍCITAS .....	42
1.8. AMOSTRAS BIOLÓGICAS.....	43
1.9. PRODUTOS ALIMENTÍCIOS E COSMÉTICOS .....	45
1.10. COMBUSTÍVEIS.....	47
1.11. DOCUMENTOS: ESTADO DA ARTE.....	48
1.12. METODOLOGIA ANALÍTICA .....	51
<b>2.0. OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>55</b>
<b>3.0. EXPERIMENTAL GERAL.....</b>	<b>56</b>
3.1. MATERIAIS .....	56
3.2. AQUISIÇÃO DE AMOSTRAS FORENSES .....	56
3.3. ANÁLISES: ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	56
<b>4.0. CARTEIRAS NACIONAIS DE HABILITAÇÃO (CNH).....</b>	<b>57</b>
4.1. INTRODUÇÃO .....	57
4.2. OBJETIVO.....	59
4.3. EXPERIMENTAL.....	59
4.4. RESULTADOS .....	61
4.5. CONCLUSÃO.....	68
<b>5.0. EXPLOSIVOS EM NOTAS .....</b>	<b>69</b>
5.1. INTRODUÇÃO .....	69
5.2. OBJETIVOS .....	71
5.3. EXPERIMENTAL.....	71

5.4. RESULTADOS .....	74
5.5. CONCLUSÃO .....	79
6.0. DISPOSITIVO ANTI-FURTO.....	80
6.1. INTRODUÇÃO .....	80
6.2. OBJETIVOS .....	82
6.3. EXPERIMENTAL.....	82
6.4. RESULTADOS .....	82
6.5. CONCLUSÃO.....	86
7.0. DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA VELDI.....	87
7.1. INTRODUÇÃO .....	87
7.2. OBJETIVOS .....	88
7.3. EXPERIMENTAL.....	88
7.4. RESULTADOS .....	89
7.5. CONCLUSÃO.....	96
8. CONCLUSÃO GERAL.....	97
9. REFERÊNCIAS.....	98

## 1.0. ESPECTROMETRIA DE MASSAS AMBIENTE E CIÊNCIAS FORENSES

A espectrometria de massas ambiente se tornou uma ferramenta poderosa, robusta e universal aplicada às ciências forenses, fornecendo dados de forma simples, seletiva, direta e rápida, usando protocolos livres de preparação de amostras que podem servir como provas inequívocas ao nível molecular em inúmeros casos forenses, preservando a evidência forense na aplicação da ciência à promoção a Justiça.

Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin



## 1.1. CIÊNCIAS FORENSES E PERICIA CRIMINAL

As ciências forenses se dedicam à aplicação do conhecimento científico ao sistema legal.[1] Elas abrangem conjuntos distintos de proposições logicamente correlacionadas sobre o comportamento dos fenômenos no âmbito criminal, os quais se deseja estudar, passíveis de verificação e repetição, ou seja, ciências forenses. As investigações nas ciências forenses são, portanto, bem peculiares e de grande importância para a sociedade, uma vez que têm o objetivo de resolver crimes ou detectar ou desmotivar práticas ilegais.

Dentre as ciências forenses mais importantes se destacam: química forense, biologia forense, toxicologia forense, física forense, engenharia forense, documentoscopia forense, balística forense, contabilidade forense, dentre muitas outras, não se esquecendo dos ramos forenses da medicina legal, tal como antropologia médico legal, periclitacão da vida e da saúde, embriaguez alcoólica, tanatologia médico legal (tempo de morte) e outras. Importante de se frisar é que as ciências forenses constituem um conjunto amplo e interdisciplinar de matérias de análise sobre a realidade de fatos para a Justiça.

Segundo o perito criminal Zarzuela[2], denomina-se Química Forense o ramo da Química que se ocupa da investigação forense no campo da química especializada, a fim de atender aspectos de interesse judiciário. Tal ramo da Química atende basicamente as áreas de estudos da criminalística e da medicina legal. São exemplos de análises químicas objetos de interesses forenses as análises de resíduos de disparos de armas de fogo[3], resíduos de explosivos[4], resíduos de incêndios[5], identificação de adulterações em veículos[2], revelação de impressões digitais[6], identificação de sangue, sêmen, urina e outras amostras de origem biológica relacionadas a crimes e ou peças de crime, exames toxicológicos, bem como a constatação de substâncias entorpecentes como maconha, cocaína, anfetaminas entre muitas outras[7], e análise em documentos[8] tema central tratado nesta tese de doutorado.

Prosseguindo, a perícia criminal é o exame científico da prova de crime, em que o Estado assume a defesa do cidadão em nome da sociedade, com a atuação no processo da perícia criminal (Figura 1) e médico legista que aplicam a criminalística e a medicina legal, respectivamente. De acordo com o perito criminal Alberi Espindula[9], a criminalística é uma ciência que objetiva a individualização e

identificação dos vestígios materiais (corpo de delito ou prova de crime) coletados nas cenas de crime, valendo-se de metodologias e do conhecimento das demais ciências em âmbito forense. A medicina legal, tal como definido pelo médico legista Genival Veloso de França[10] é a medicina a serviço das ciências jurídicas e sociais.



**Figura 1.** Perícia Criminal. Quadro de figuras mostrando a rotina de trabalho de um perito criminal.

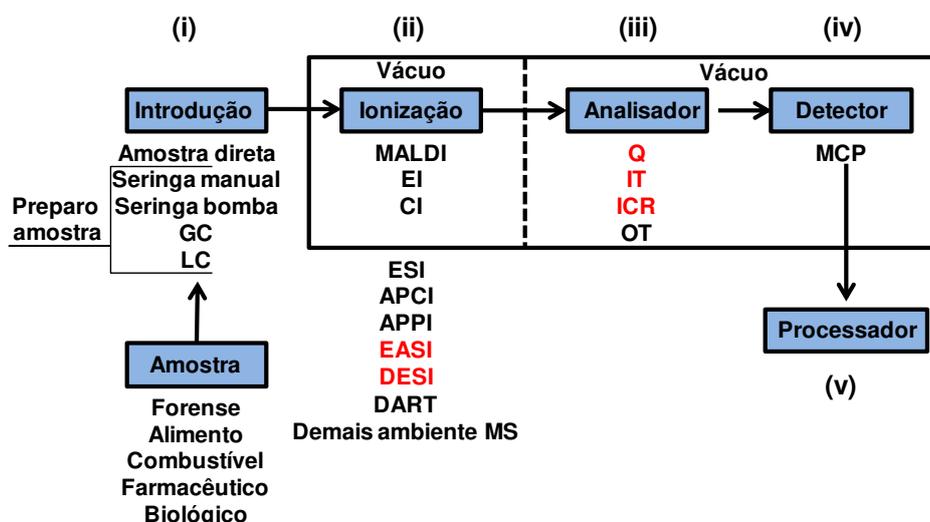
Devido às suas múltiplas implicações, o químico forense busca coletar a maior quantidade possível de dados confiáveis, que serão utilizados para escrever um relatório criminal idealmente indiscutível, e que possivelmente precise ser defendido no tribunal, o laudo pericial. Tal relatório provavelmente conterá a informação crucial na qual autoridade ou o juiz se baseará tecnicamente para emitir seu julgamento final de culpado ou inocente.

Se o químico forense quiser fornecer respostas rápidas e confiáveis, ele deve, portanto, ter acesso a técnicas de análises simples, robustas, minimamente destrutivas, porém, inequívocas. Frequentemente são requeridos resultados ultrarrápidos nos primeiros estágios das investigações forenses, ou quando amostras se degradam ou mudam com o tempo. Poder-se-ia procurar aplicar técnicas específicas a amostras particulares, mas o melhor cenário seria ter disponíveis o menor número possível de técnicas, que sejam as mais universais

possíveis, sendo capazes de lidar rapidamente, com simplicidade e robustez com o amplo universo de amostras altamente diversificadas levantadas diariamente pelo cientista forense.

## 1.2. ESPECTROMETRIA DE MASSAS

É inequívoca a importância das aplicações da espectrometria de massas (MS) na resolução de problemas no campo das investigações forenses. A MS consiste na ionização das moléculas de interesse e separação dos íons com base em suas diferentes razões *massa/carga* ( $m/z$ )[11]. A Figura 2 apresenta um diagrama esquemático de um espectrômetro de massas. Em geral a análise de um composto compreende cinco etapas: (i) a introdução da amostra podendo exigir ou não o preparo da amostra, (ii) a ionização das moléculas de interesse, analito, (iii) a passagem por um analisador de massas que separa os íons formados de acordo com a razão  $m/z$ , (iv) o detector que contabiliza os íons e transforma o sinal em corrente elétrica e (v) o processador que converte a magnitude do sinal elétrico em razão  $m/z$  ocorrendo a aquisição de um espectro de massas correspondente. No que se referem à instrumentação, diversos avanços foram conseguidos nas últimas décadas, tanto no desenvolvimento de técnicas de ionização bem como analisadores de massas com alta resolução, a Tabela 1 resume os acrônimos e a descrição em inglês relacionado aos analisadores de massas e fontes de ionização.



**Figura 2.** Diagrama esquemático de um espectrômetro de massas. A técnicas de ionização e analisadores em vermelho no diagrama são aqueles utilizados nesta tese.

**Tabela 1.** Acrônimos e a descrição em inglês relacionado aos analisadores e fontes de ionização citados nesta Tese.

Acrônimo	Descrição	Instrumental
Q	<i>Quadrupole</i>	Analisadores massas
IT	<i>Ion trap</i>	
ICR	<i>Ion cyclotron resonance</i>	
OT	<i>Orbitrap</i>	
EI	<i>Electron ionization</i>	Fontes ionização
CI	<i>Chemical ionization</i>	
MALDI	<i>Matrix-assisted laser desorption ionization</i>	
ESI	<i>Electrospray ionization</i>	
API	<i>Atmospheric pressure ionization</i>	
APPI	<i>Atmospheric pressure photon ionization</i>	
APCI	<i>Atmospheric pressure chemical ionization</i>	
SESI	<i>Secondary electrospray ionization</i>	
DESI	<i>Desorption electrospray ionization</i>	
DART	<i>Direct analysis in real time</i>	
ASAP	<i>Atmospheric solids analysis probe</i>	
FD-ESI	<i>Fused-droplet ESI</i>	
DAPCI	<i>Desorption atmospheric pressure chemical ionization</i>	
EESI	<i>Extractive electrospray ionization</i>	
ELDI	<i>Electrospray-assisted laser desorption ionization</i>	
ND-EESI	<i>Neutral desorption EESI</i>	
MALDESI	<i>Matrix-assisted laser desorption electrospray ionization</i>	
DAPPI	<i>Desorption atmospheric pressure photon ionization</i>	
PADI	<i>Plasma-assisted desorption/ionization</i>	
DBDI	<i>Dielectric barrier discharge ionization</i>	
LAESI	<i>Laser-assisted ESI</i>	
FA-APGDI	<i>Flowing afterglow-atmospheric pressure glow discharge</i>	
IR-LADESI	<i>Infrared laser-assisted desorption ESI</i>	
LTP	<i>Low-temperature plasma ionization</i>	
PSI	<i>Paper spray ionization</i>	
DEFFI	<i>desorption electro-flow focusing ionization</i>	
SSI	<i>sonic spray ionization</i>	
EASI	<i>Easy ambient sonic-spray ionization</i>	
V-EASI	<i>Venturi easy ambient sonic-spray ionization</i>	
P-EASI	<i>Spartan easy ambient sonic-spray ionization</i>	
TI-EASI	<i>Thermal imprinting easy ambient sonic-spray ionization</i>	
VELDI	<i>Venturi electrospray laser desorption ionization</i>	

### 1.3. ESPECTROMETRIA DE MASSAS AMBIENTE

No passado, uma análise baseada unicamente na MS era rara em investigações forenses. O uso da MS foi, em grande medida, limitado por sua capacidade de lidar somente com moléculas relativamente pequenas e voláteis, idealmente puras. Contudo, a MS moderna eliminou completamente essa inconveniência, sendo atualmente capaz de lidar com praticamente todos os tipos de moléculas em todos os tipos de matrizes e ambientes, mesmo quando os analitos alvos estão presentes em misturas químicas altamente complexas.

Hoje em dia, a MS é aplicável por todos, para praticamente qualquer amostra e onde quer que seja necessário. Indiscutivelmente, essas características universais e ilimitadas da MS moderna foram possibilitadas na maior parte pelo desenvolvimento de novas e revolucionárias técnicas de ionização. Essas técnicas conseguem lidar com moléculas de grande diversidade de tamanhos e polaridades: desde átomos e pequenas moléculas como benzeno e drogas farmacêuticas como ácido acetilsalicílico e sais como líquidos iônicos até grandes (bio)moléculas, bem como tecidos[12], proteínas[13], embriões[14], vírus[15], bactérias intactas[16].

O surgimento dessas técnicas gerais e brandas de ionização também contribuiu para a simplicidade da análise MS e seu emprego por qualquer pessoa, a qualquer tempo e lugar. A MS também se tornou capaz de lidar seja com moléculas puras ou misturas químicas altamente complexas, como as encontradas em amostras ou fluidos biológicos.

O marco em direção à simplicidade e universalidade da MS foi sem dúvida realizado com a descoberta da ionização por *eletrospray* (ESI), introduzida por volta de 1989 pelo prêmio Nobel J. Fenn[17]. A ESI foi tão importante para a MS que esta é agora dividida em uma era pré- e pós-ESI[18], estabelecendo uma ponte[19] para que os íons em pressão ambiente se movam da solução para a fase gasosa e vice-versa. A ESI possibilitou a capacidade de alimentar espectrômetros de massa com moléculas intactas que haviam sido ionizadas numa solução de solventes polares como metanol e água, de onde eram diretamente capturados ou “pescados” para a fase gasosa. Os íons gasosos produzidos via ESI são tipicamente moléculas protonadas  $[M+H]^+$ , ou desprotonadas  $[M-H]^-$  ou adutos íon/molécula como  $[M+Na]^+$ ,  $[M+K]^+$  ou  $[M+Cl]^-$ .

Outra característica excepcional da ESI é que ela forma íons com energias internas muito baixas, portanto, fragmentações na fonte são geralmente suprimidas. Essa suavidade resulta numa relação direta 1:1 molécula-íon; conseqüentemente, todos os componentes polares de misturas químicas podem ser acessados adequadamente, e ser instantaneamente separados pela seletividade da MS. Note-se que a separação MS é rápida e eficiente, já que se baseia não no tempo de retenção, tal como cromatografia, mas em diferenças de  $m/z$  dos íons. Tal conjunto de características adequadas fazem da ESI-MS muito atraente e amplamente empregada na química forense[20].

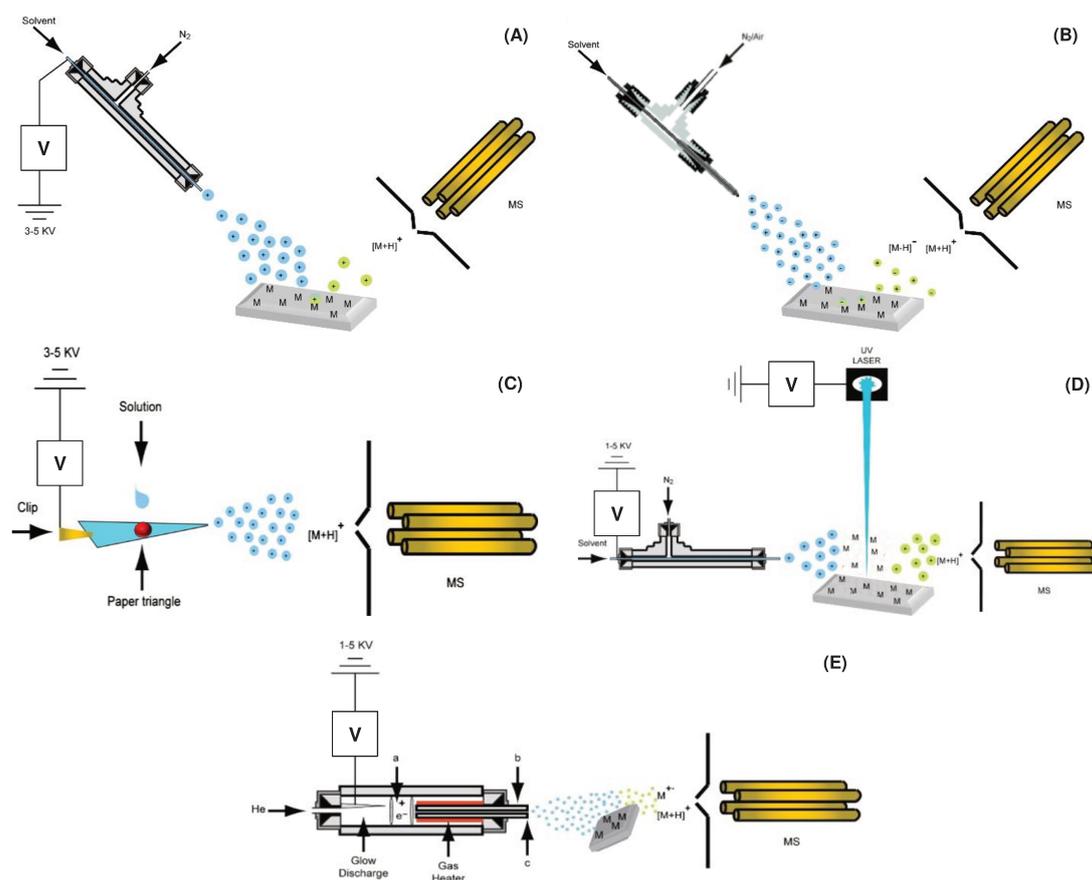
Uma segunda revolução na MS, a MS ambiente[21-23], foi um grande progresso em direção à simplicidade[24]. Na MS ambiente, procedimentos livres de preparação de amostras foram desenvolvidos via dessorção e ionização de analitos diretamente a partir de suas matrizes naturais, ou seja, diretamente das suas superfícies, em condições ambiente. Essas técnicas de MS ambiente, baseadas na ESI e em uma variedade de outras estratégias de ionização, fizeram da MS, como nunca antes, uma técnica ideal, amplamente e cada vez mais utilizada em investigações de química forense.

A MS ambiente fornece uma análise direta das provas forenses preservadas, sem necessidade de manipulações químicas tediosas, como procedimentos de extração e derivatização. Os riscos de contaminação ou alterações químicas, que podem trazer dúvidas à investigação, ao respeito da integridade das amostras, são, assim, diminuídos consideravelmente. A amostra intacta pode, agora, ser manipulada via MS ambiente com muito mais simplicidade, velocidade e confiança, condições atmosféricas, mesmo para os não especialistas em MS.

Assim, tem-se a composição química detalhada ao nível molecular com preservação das amostras, permitindo uma análise adicional da mesma amostra, a contra prova. Quando realizada em espectrômetros de massas em miniatura, portáteis e de fácil operação, a MS ambiente se torna ainda mais atraente como uma ferramenta praticamente universal nas ciências forenses para resultados imediatos que podem ser obtidos até mesmo diretamente na cena do crime. A variedade de técnicas de dessorção/ionização ambiente atualmente disponíveis ao químico forense[25, 26], juntamente com espectrômetros de massa em miniatura, possibilita “passar um cotonete” nas superfícies para coletar traços de elementos químicos na cena do crime, seguindo de sua análise. Isso pode ser utilizado para detectar

explosivos, drogas ou outros marcadores químicos para obter uma visão geral do fato criminoso diretamente na cena de crime. Essa possibilidade, portanto, facilita a pré-seleção da evidência e a rapidez da investigação[27].

Enfatizando-se um conjunto de cinco técnicas de MS ambiente aplicadas à ciência forense, pode-se citar seguintes técnicas pioneiras e disponíveis no mercado: (1) ionização com dessorção por *electrospray* (DESI, do inglês *desorption electrospray ionization*)[28], (2) ionização por nebulização sobre papel (PSI, do inglês *paper spray ionization*)[29] e (3) análise direta em tempo real (DART, do inglês *direct analysis in real time*)[30], bem como (4) ionização ambiente por *spray* sônico (EASI, do inglês *easy ambient sonic spray ionization*)[31]. A quinta fonte de ionização ambiente em MS mais aplicada em forense é a (5) dessorção/ionização a laser assistida por *electrospray* (ELDI, do inglês *electrospray-assisted laser desorption ionization*)[32] (Figura 3).



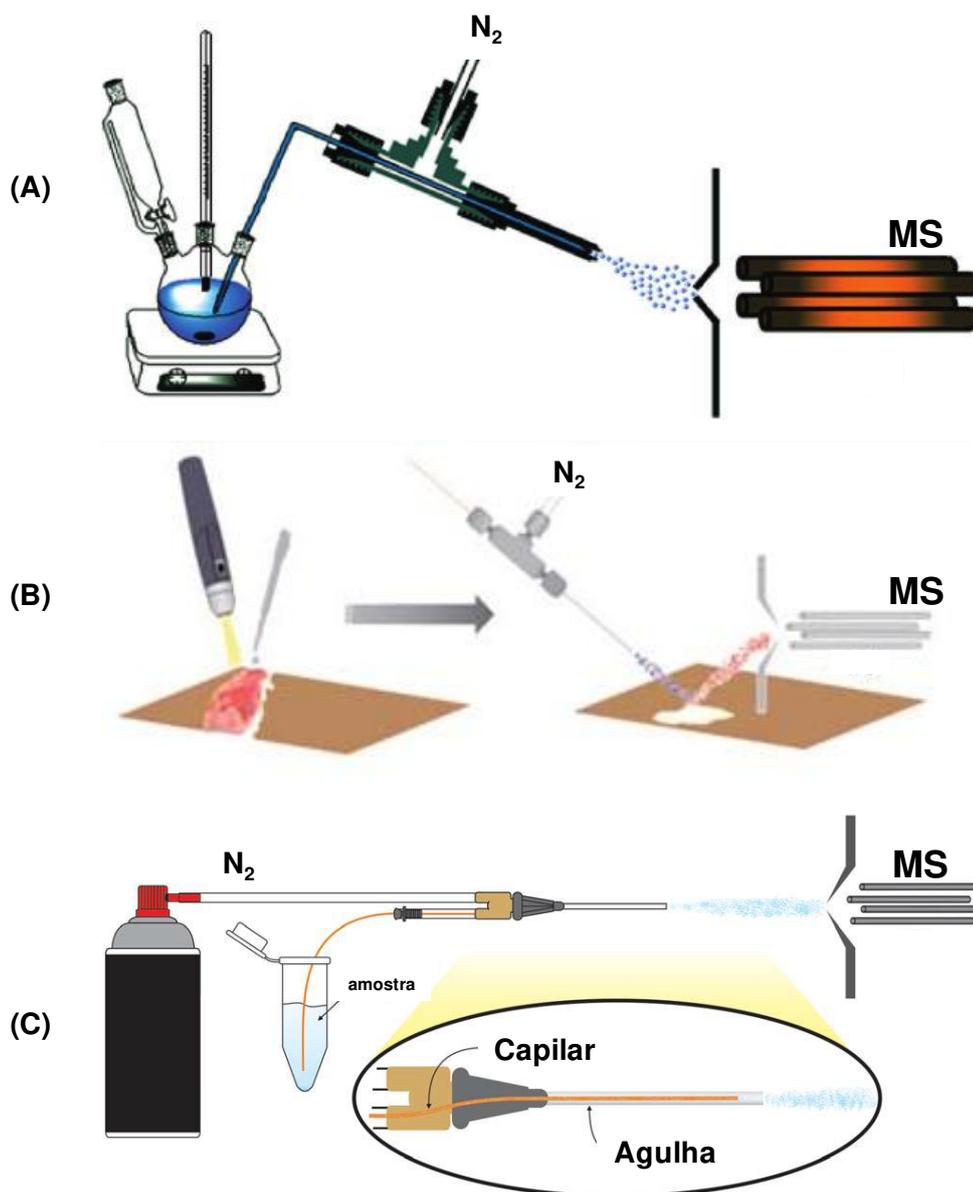
**Figura 3.** Esquema das “cinco principais” técnicas de dessorção/ionização ambiente para MS aplicadas às ciências forenses: (A) DESI, (B) EASI, (C) PSI, (D) ELDI e (E) DART. Adaptado da referência[22].

DESI[28] é baseada em ESI[17], sendo, portanto, uma técnica baseada em *spray* que combina todas as características do *eletrospray* com os benefícios adicionais da dessorção direta na superfície dos analitos alvo[33]. Geralmente, na DESI, o *spray* de gotículas positiva ou negativamente carregadas produzido com ESI é utilizado para bombardear uma superfície, causando a dessorção (captura, do inglês *pick up*) do analito e sua ionização. Quando as gotículas contendo analitos se encolhem devido à dessolvatação, os íons do analito são expelidos à fase gasosa[34]. A DESI é a principal técnica em MS ambiente utilizada para imageamento MS, que também está se tornando uma ferramenta poderosa na química forense[35]. A ionização PSI, de forma semelhante à DESI, é baseada na ESI, mas na PSI um *eletrospray* de alta voltagem é produzido em um pedaço de papel triangular poroso no qual tanto a amostra quanto o solvente adequado foram depositados[36]. Variantes de PSI foram desenvolvidos e utilizados em várias aplicações forenses. Essas variações foram criadas substituindo o papel por superfícies semelhantes ou matrizes como fragmentos de madeira[37], cotonetes[38] ou a própria amostra, como no caso de *spray* de folhas[39].

DART[30] é uma técnica livre de solventes baseada em ionização por descarga luminosa ou descarga corona (GDI, do inglês *glow discharge ionization*)[22]. A ionização é promovida pela descarga corona que produz átomos de He\* eletronicamente excitados em um fluxo de gás hélio. Em seguida, ionização Penning de gases atmosféricos ou água presentes em superfícies úmidas é promovida por esse He\*, formando uma série de íons como H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> e O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Posteriormente, através da ionização química à pressão atmosférica (APCI, do inglês *atmospheric pressure chemical ionization*), os íons do analito são produzidos[40].

EASI[31] e suas variantes - V-EASI[41], TI-EASI[42] e P-EASI[43] (Figura 4)- são técnicas baseadas em ionização por *spray* sônico (SSI, do inglês *sonic spray ionization*)[44, 45]. Diferentemente da técnica DESI, a EASI não é aplicada qualquer potencial elétrico ou aquecimento; portanto, na EASI, íons gasosos não são produzidos através da remoção eletrostática dos contraíons, mas sim através de um processo de separação de íons, que produz uma corrente bipolar de gotículas carregadas. Tais gotículas são formadas devido a uma distribuição de carga não balanceada estatisticamente – dos ânions e cátions pré-formados em uma solução – no mesmo momento em que as gotículas são produzidas pelo *sonic spray*. À medida que essas minúsculas gotículas evaporam, seu excesso de cátions ou ânions é

expelido à fase gasosa para formar um fluxo bipolar de íons gasosos. A EASI livre de voltagem é, portanto, livre de degradação térmica e interferências eletroquímicas ou de descargas. Como a técnica EASI é baseada em SSI, assim constitui técnica de ionização mais branda disponível, favorecendo a detecção das moléculas intactas[46].



**Figura 4.** (A) V-EASI-MS - *Venturi easy ambient sonic-spray ionization MS*, (B) TI-EASI-MS - *thermal imprinting easy ambient sonic-spray ionization MS* e (C) P-EASI-MS - *portable easy ambient sonic-spray ionization MS*. Adaptados das referências[41-43].

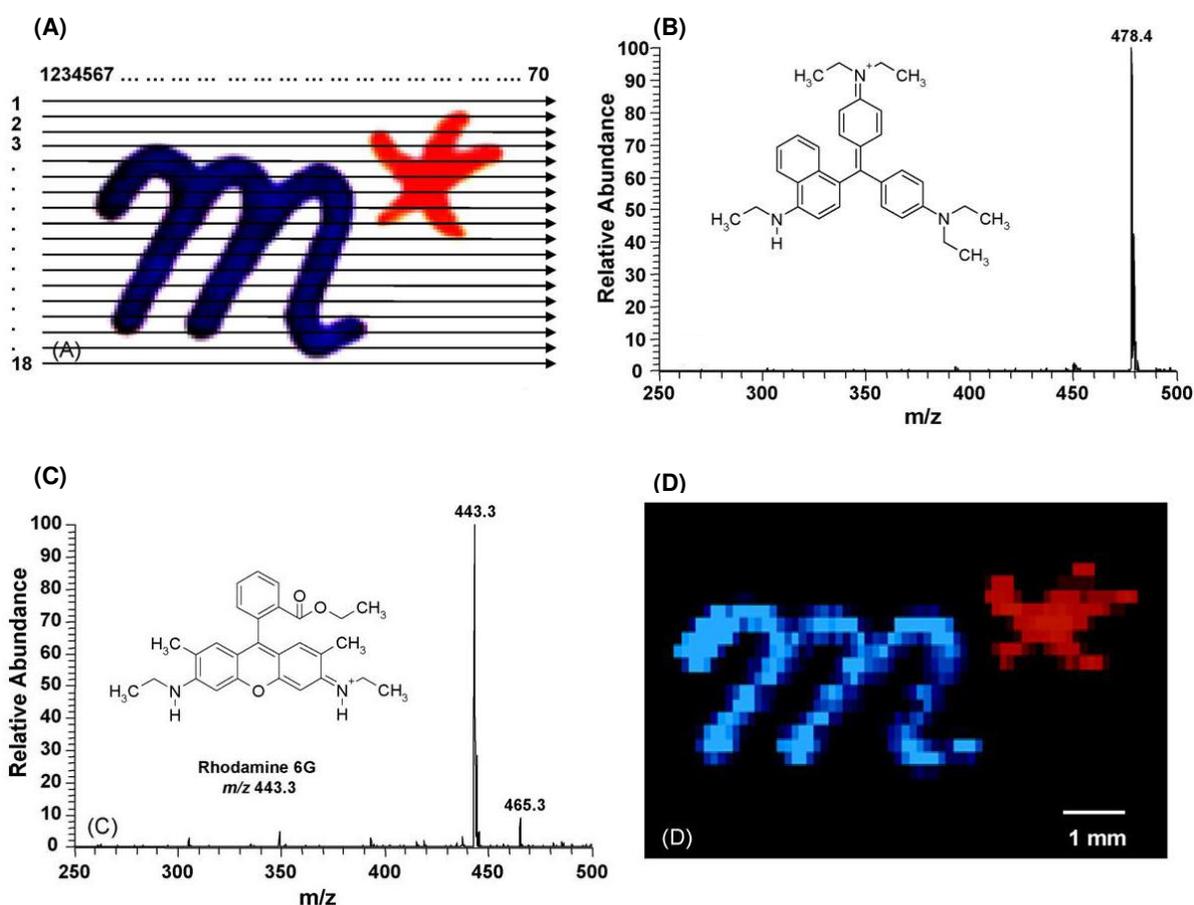
Contudo, na dessorção por *electrospray*, a descarga corona ou *sonic spray* podem ser ineficiente devido ao estado de agregação físico ou químico do analito à matriz. Técnicas baseadas em dessorção a laser (LD, do inglês *laser desorption*) podem, portanto, ser altamente desejáveis, particularmente quando a dessorção energética é exigida para analitos profundamente localizados na matriz. ELDI[32] e ionização por *eletrospray* com auxílio de laser (LAESI, do inglês *laser assisted ESI*)[33, 47], que utilizam dessorção a laser juntamente com ESI já foram aplicados em química forense. Outras técnicas populares de MS ambiente utilizadas em aplicações forenses são ionização secundária (extrativa) por *eletrospray* (SESI, do inglês *secondary extractive electrospray ionization* ou EESI, do inglês *extractive electrospray ionization*)[48, 49] e dessorção de superfície por ionização química à pressão atmosférica (DAPCI do inglês *desorption atmospheric pressure chemical ionization*)[50].

Depois da primeira revisão, que abrangeu os novos usos da MS ambiente na ciência forense[25], as aplicações se diversificaram enormemente, surgindo numerosos exemplos. Esta introdução, desta tese de doutorado, destacará alguns dos mais ilustrativos casos de aplicações forenses da MS ambiente para se demonstrar a importância e potencialidade da técnica aplicada ao problema exigido. Assim, este texto visa a motivação à busca de novas aplicações e o estabelecimento da MS ambiente como uma ferramenta na busca de uma química forense simples, rápida, inequívoca e funcional à Justiça.

#### **1.4. IMAGEMAMENTO POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Como nova área de aplicação em MS, em 2006, as fontes de ionização ambiente evoluíram, assim surgiu como uma técnica também capaz de gerar imagens por espectrometria de massas (MSI, do inglês *mass spectrometry imaging*) em que as características supriam as necessidades então existentes nesta área[35]. Desde a sua criação, a geração de imagens por DESI tem sido utilizada na análise de diversas amostras, como por exemplo, análise de fosfolipídios em diferentes tecidos como cérebro de rato e camundongo, análise da distribuição de drogas e seus metabólitos em tecidos animais[51], análise e distinção entre tecidos animais, cancerígenos e normais baseado no perfil de lipídeos presentes[52], análises de lipídeos e drogas de abuso em impressões digitais[53] e análise de adulteração de manuscritos[54].

A resolução espacial (tamanho do pixel) em DESI-MSI é dependente do diâmetro do capilar utilizado e da distância entre o capilar e a amostra, entre outros parâmetros. Tipicamente uma resolução de 200  $\mu\text{m}$  é utilizada em imagens por DESI, mas diferentes resoluções podem ser utilizadas dependendo da otimização dos parâmetros como velocidade da plataforma, fluxo de solvente e pressão do gás do *spray*. A Figura 5 mostra como é realizado o processo de análise de um lançamento em caneta esferográfica de tinta vermelha e tinta azul aplicado na análise de documentos.



**Figura 5.** Processo de geração de imagens por DESI-MSI: (A) varredura DESI da escrita, (B) tinta azul, básico azul de  $m/z$  478, (C) tinta vermelha, rodamina G de  $m/z$  443 e (D) imagem adquirida. Figura adaptada da referência[54].

Os experimentos para criação da imagem são conduzidos através de uma plataforma móvel sob a fonte de DESI que permanece fixa. A plataforma que contém os lançamentos escritos é continuamente movida e a amostra é primeiramente analisada em uma linha horizontal e no final desta linha um passo é tomado

verticalmente (Figurara 5A), sendo a próxima linha analisada na horizontal novamente, até que toda a área de interesse seja investigada[55]. Esse processo gera um espectro de massas para cada ponto exposto a análise, ou, cada pixel na superfície.

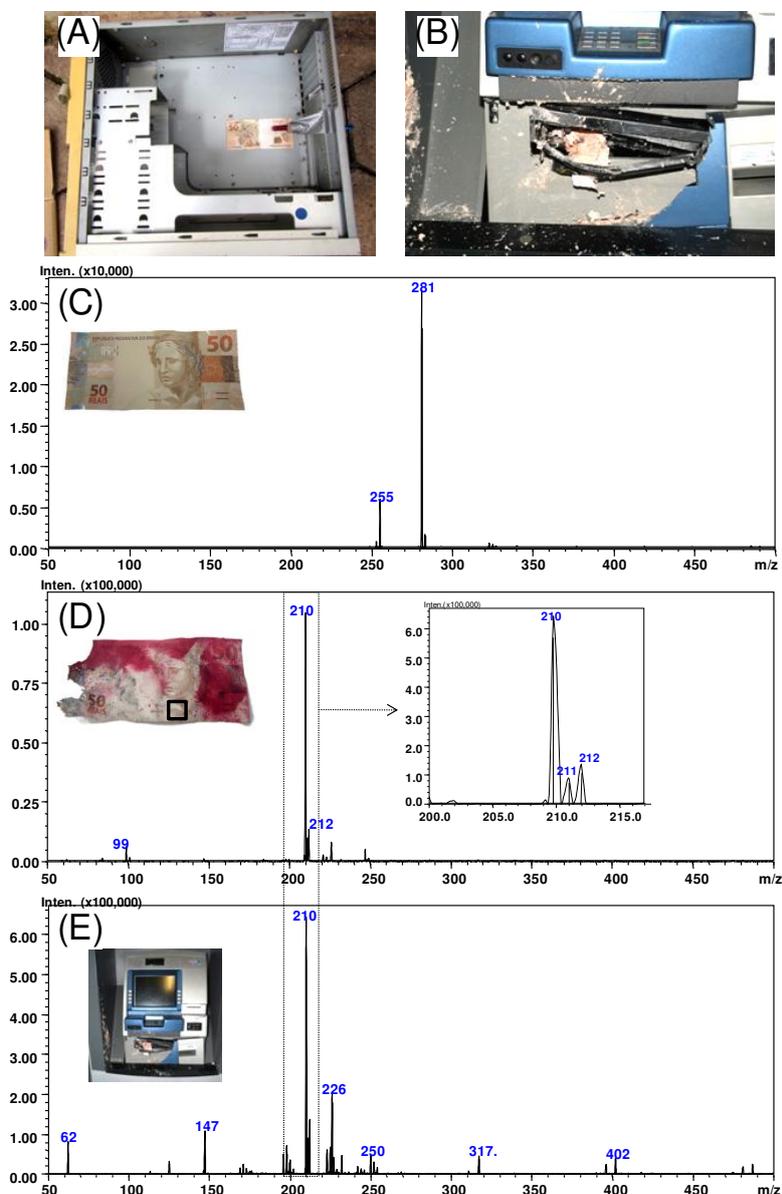
Uma variável importante para a geração de imagens por DESI é a geometria do sistema. As técnicas de impressão de amostras são alternativas ao método convencional e consistem em transferir a composição química da amostra para uma superfície plana e rígida, como papel, teflon ou TLC[56], uma vez que a geometria do sistema impede a análise direta em superfícies irregulares ou macias. Estas técnicas têm sido aplicadas com sucesso na formação de imagem por MS por diferentes métodos ionização como MALDI (do inglês *Matrix assisted laser desorption/ionization* ) [57], NALDI (do inglês *nanoparticle assisted laser desorption ionization*) [58], SIMS (do inglês *secondary ion mass spectrometry*) [59] e DESI [28].

## 1.5. EXPLOSIVOS E RESÍDUOS DE ARMA DE FOGO

Iniciando o levantamento do estado da arte sobre MS ambiente, desde o início do desenvolvimento e aplicações, a detecção de traços de explosivos diretamente de superfícies foi imediatamente reconhecida como uma aplicação muito promissora e potencial na química forense. Foi, assim, um dos primeiros focos de atenção na área [60, 61]. A detecção de traços de explosivos sempre foi uma tarefa desafiadora, devido às quantidades traços de evidências e assim, por exigir técnicas sensíveis e seletivas. Embora a mobilidade de íons tenha sido (e ainda seja) o método mais aplicado para detecção de explosivos [62], os benefícios da MS ambiente são evidentes e numerosos. Ela oferece grande velocidade de análise juntamente com sensibilidade e seletividade, em que a MS é incomparável. Muitos explosivos representativos, como TATP, TNT, PETN, HMX e RDX, foram analisados pela MS ambiente [63].

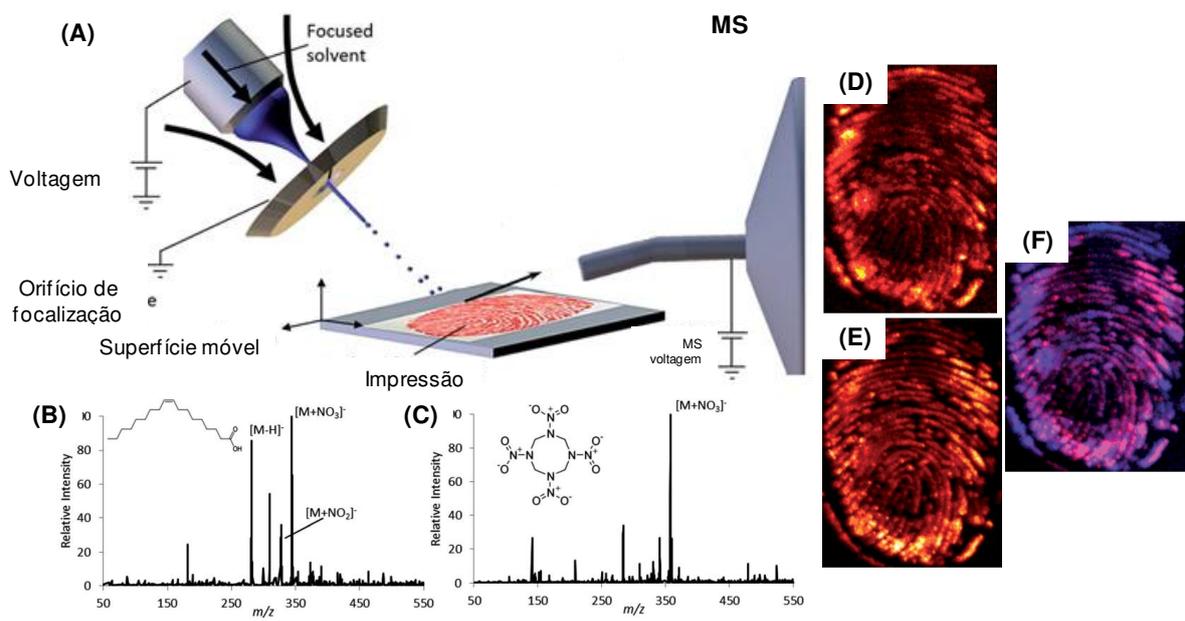
A combinação de técnicas ambientes com espectrômetros de massas pequenos e robustos parece oferecer uma ferramenta eficiente para uma análise rápida, seletiva e sensível *in situ* de explosivos em locais como aeroportos e edifícios públicos [64]. Foi mostrado que a EASI-MS [65] fornece uma identificação confiável de nitrato de amônio e óleo combustível (ANFO, do inglês *ammonium nitrate fuel oil*), seja diretamente na superfície de cédulas bancárias, ou de amostras

de ANFO obtidas em casos forenses reais (Figura 6), mesmo depois da explosão, usando a detecção do ânion marcador  $[(\text{NO}_3)_3\text{Mg}]^-$ , verificado no modo negativo de análise.



**Figura 6.** (A) Figuras de um experimento de simulação de explosão; (B) resíduos de ANFO coletados de uma cena de crime real. EASI-MS realizada no modo íon negativo de análise da superfície de (C) uma cédula bancária brasileira não contaminada; (D) uma cédula bancária após explosão com uso de ANFO e (E) resíduo de ANFO encontrado em uma cena de crime real. Adaptado da referência[65].

A capacidade de relacionar impressões digitais latentes a traços de explosivos também pode ser crucial em investigações forenses. Esta aplicação foi mostrada no trabalho pioneiro sobre a análise de impressões digitais latentes através da aplicação da DESI-MSI[53]. Por exemplo, como ilustrado pela Figura 7, o imageamento de impressões digitais através de MS utilizando a fonte de ionização ambiente por dessorção com fluxo de corrente focalizada (DEFFI, do inglês *desorption electro-flow focusing ionization*) foi capaz de detectar componentes endógenos como ácido oleico, mas também traços exógenos do explosivo HMX em impressões digitais com resolução espacial adequada[66]. A detecção à distância, ou seja, remota, também é possível como demonstrado na análise por DESI-MS de vapores ambientes a 3 m de distância, o que mostrou a capacidade de análise de traços, por exemplo, de PETN e TNT[67]. A identificação de agentes de guerra químicos diretamente a partir de vidro[68], produtos de *spray* de pimenta e gás lacrimogêneo foi demonstrada por DART-MS[69].



**Figura 7.** (A) Esquema da montagem para a análise DEFFI-MSI. Espectros no modo negativo de análise mostrando a detecção de (B) ácido oleico e (C) HMX. Imagens DEFFI-MSI de uma impressão digital artificial coberta com HMX depositada em fita adesiva (D) ácido oleico, (E) HMX e (F) um mapa da localização de ácido oleico (azul) e HMX (vermelho). Adaptado a referência[66].

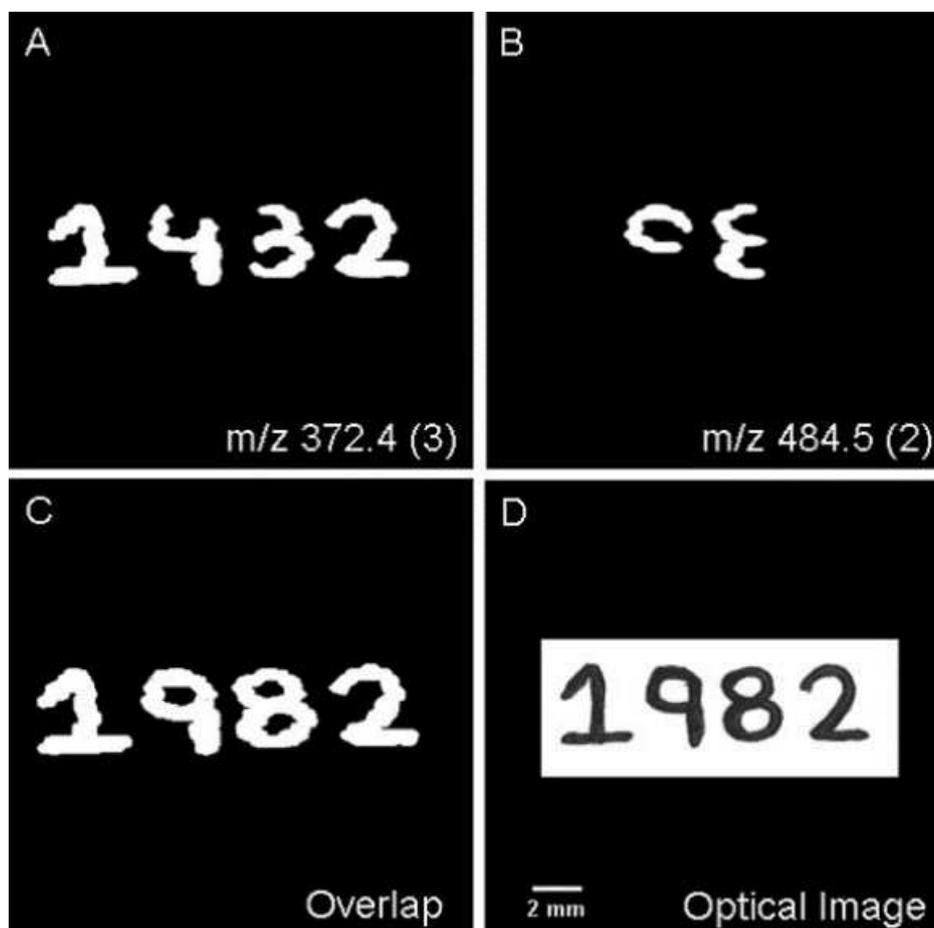
A análise de resíduos de disparo armas de fogo (GSR, do inglês *gunshot residues*) é uma das casuísticas mais clássicas nas investigações em química forense. Há, no entanto, algumas dificuldades na análise GSR relacionadas à amostragem e à alta probabilidade de falsos negativos. Essa ineficiência pode ser atribuída à baixa taxa de deposição de partículas após o disparo e à facilidade com que os GSR podem ser limpos, por exemplo, das mãos[70]. A MS ambiente, portanto, tem o potencial de fornecer informação em tempo real para a presença de GSR em superfícies como pele, restos de cigarro, roupas e qualquer outra superfície de interesse forense. Por conta da capacidade da MS ambiente em realizar análise direta, não é necessário qualquer processo especial de preparo de amostra. Essa característica favorece a análise de traços de resíduos, uma vez que nenhum resíduo de disparo armas de fogo é perdido durante a análise. Embora a composição de tais resíduos seja na maior parte inorgânica, a devida caracterização de compostos orgânicos como metil-centralita e etil-centralita, comuns compostos nos propelentes de cartuchos, já foi demonstrada através de DESI-MS[71, 72]. A difenilamina é um estabilizador comum em propelentes de cartuchos e seus produtos de degradação já foram demonstrados capazes de serem detectados por DESI[73].

## **1.6. DOCUMENTOS QUESTIONADOS E CÉDULAS BANCÁRIAS FALSAS**

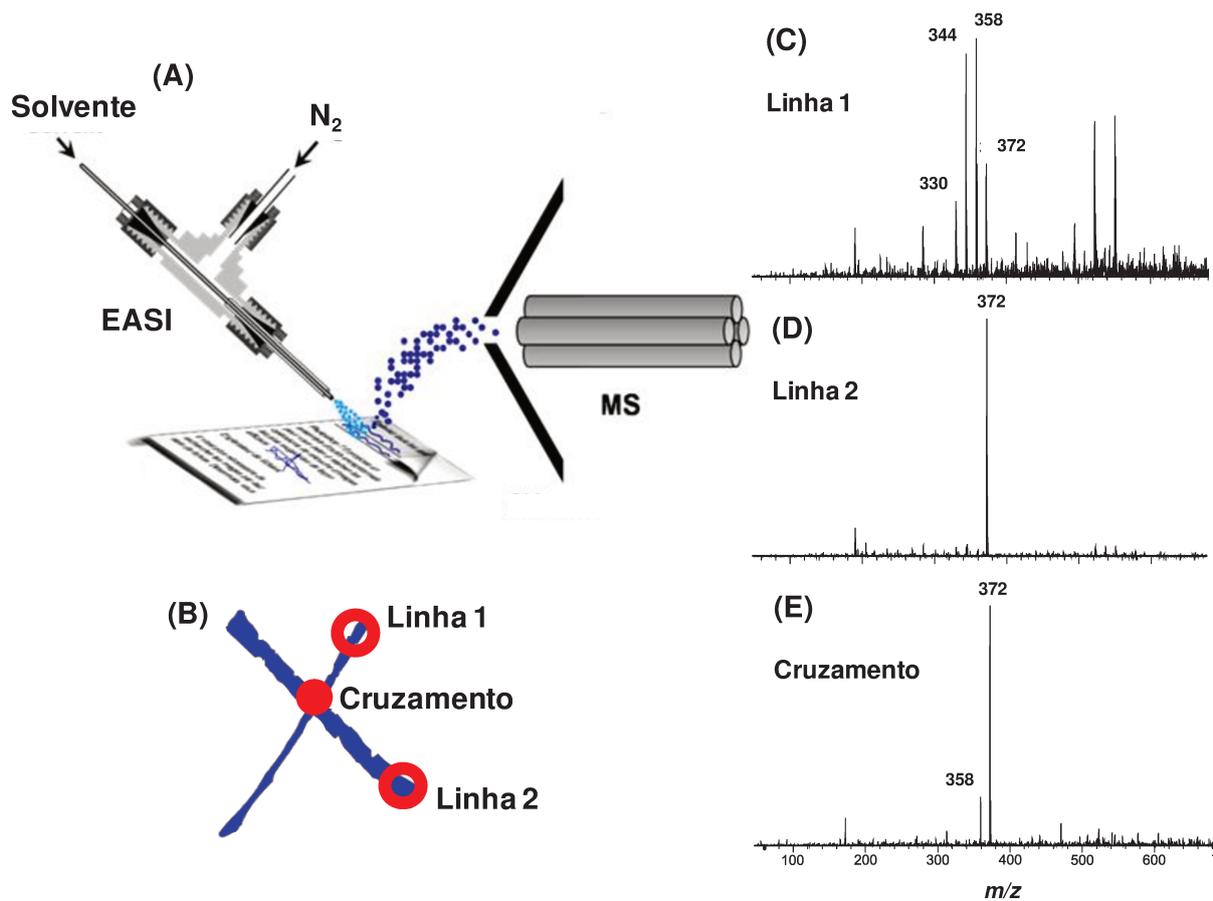
A caracterização química de documentos também ocupa uma posição proeminente e de grande demanda na química forense. O uso de técnicas poderosas capazes de fornecer perfis moleculares característicos e marcadores químicos têm tido alta demanda devido às tecnologias atuais de falsificação de documentos cada vez mais avançadas. A implementação de técnicas de alta resolução, rápidas, não destrutivas ou minimamente destrutivas para análise de documentos duvidosos em nível molecular parece, portanto, inevitável para que a química forense acompanhe as sofisticadas tecnologias de falsificação contemporâneas. Essas análises são tradicionalmente realizadas usando técnicas ópticas[74], entretanto técnicas complementares e mais ponderosas são cada vez mais exigidas. Essas técnicas ópticas e morfológica são relativamente simples e não destrutivas, mas carecem de informação molecular detalhada. Assim, a literatura tem

demonstrado que a MS ambiente fornece uma resultados complementares vitais nessa área de investigações forenses. Diferentes fonte de ionização aplicadas a documentos questionados já foram discutidas, como na identificação do próprio papel, da tinta, da idade da escrita e das impressões e o uso de diferentes canetas e impressoras, bem como a ordem de deposição da tinta nos traços escritos ou impressos.

Um dos trabalhos pioneiros na identificação de escrita a tinta foi realizado pela aplicação da DESI-MS[54] (Figura 8). Outro estudo abrangente e importante na área sobre escrita a tinta de caneta esferográfica se aplicando EASI-MS inclui a demonstração de uma correlação de marcadores da tinta com a idade e a capacidade de investigar o cruzamento de traços (Figura 9)[75].

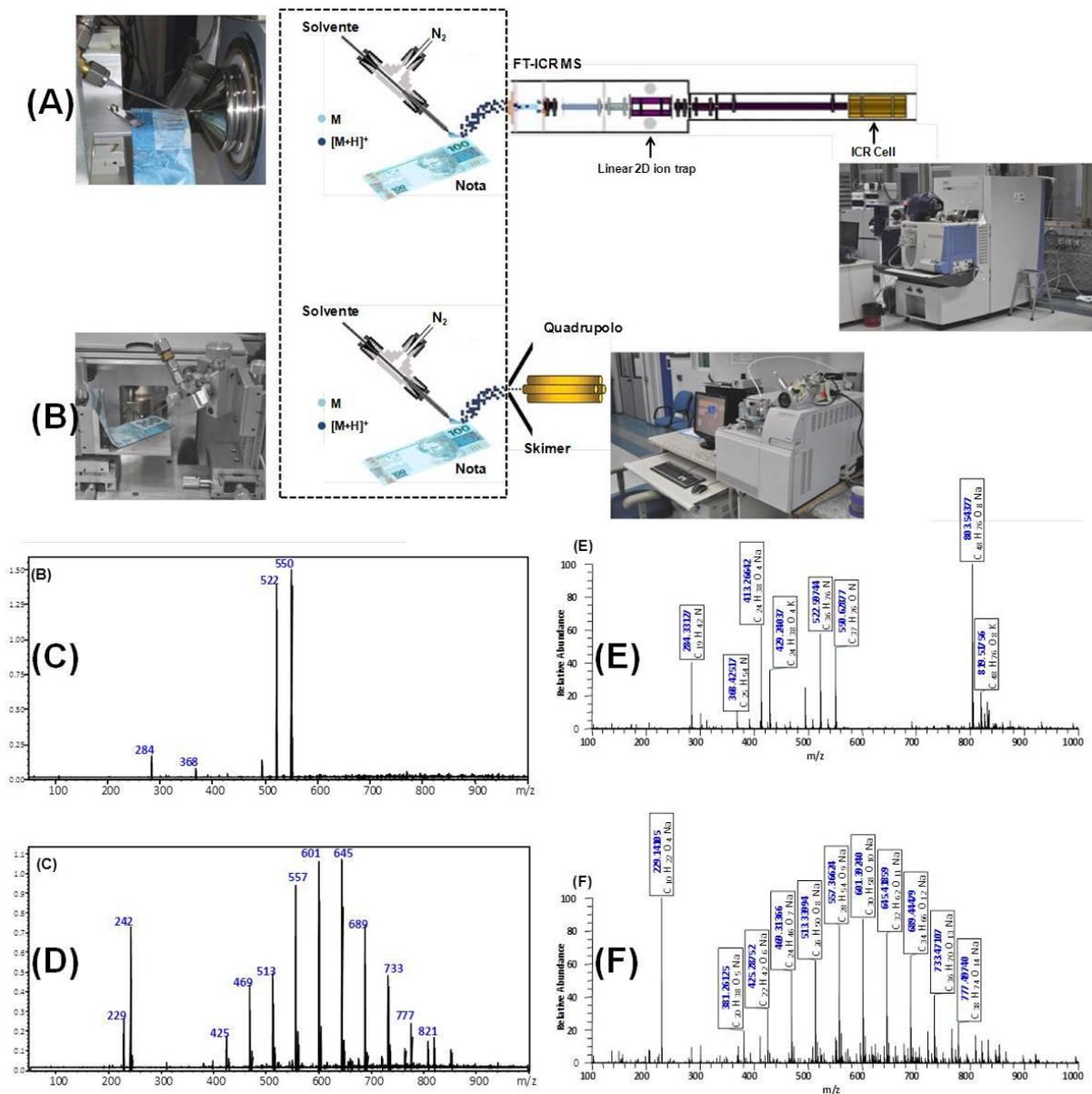


**Figura 8.** Imagens DESI-MS de um número falsificado em papel de impressora. (A) imagem de íon de *Basic Violet 3* de  $m/z$  372; (B) imagem de íon de *Solvent Blue 2* de  $m/z$  484; (C) sobreposição de A e B combinando imagens de íon de *Basic Violet 3* e *Basic Blue 2* e (D) imagem ótica da superfície. Reproduzido da referência[54].

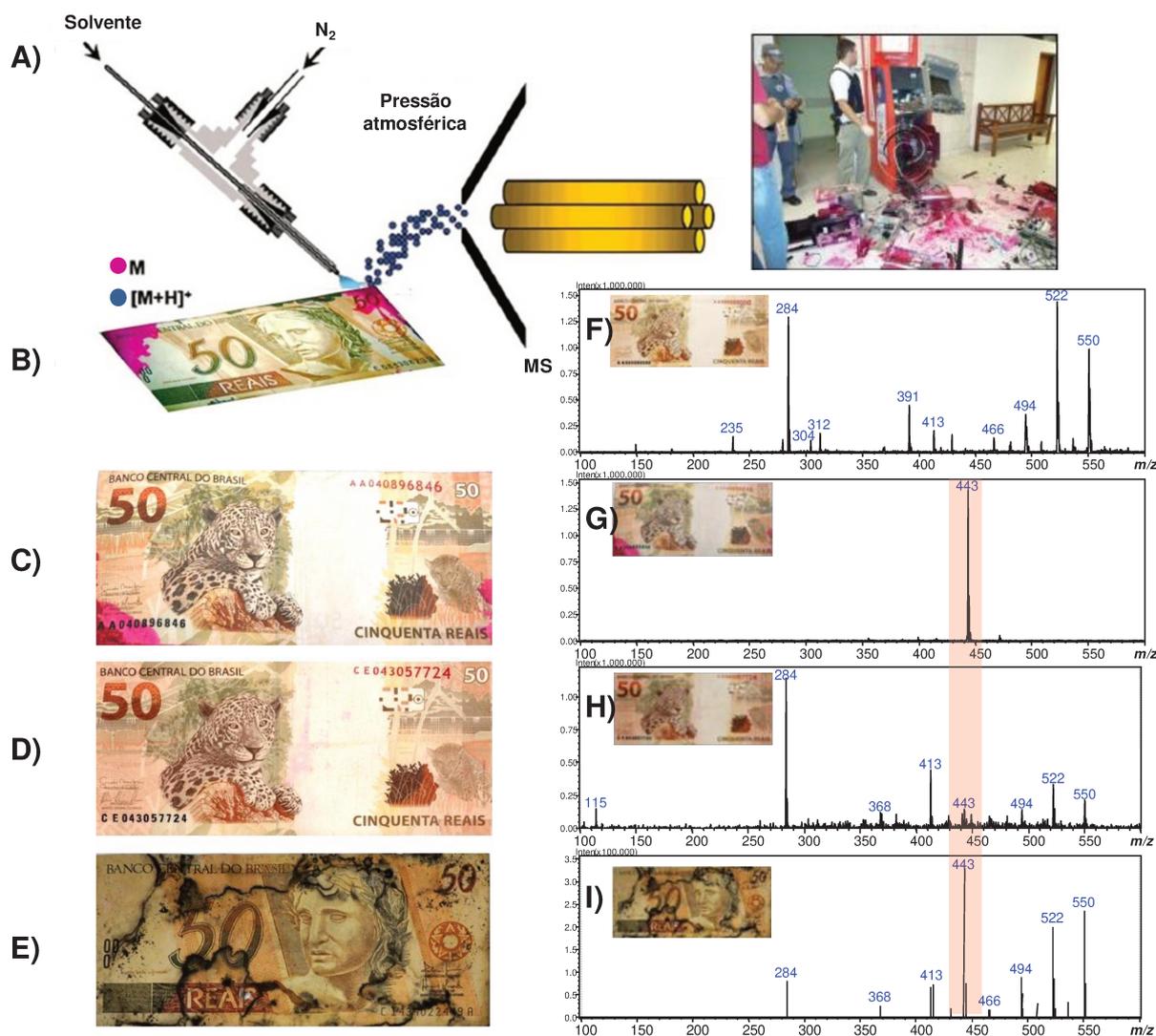


**Figura 9.** (A) e (B) ilustram o esquema do sistema EASI-MS para análise de documentos e usado para inspecionar a interseção de duas linhas de tinta azul, respectivamente. (C), (D) e (E) representam o espectro de massa obtido da linha 1, da linha 2 e o ponto de cruzamento, respectivamente. Adaptado da referência[75].

Para detectar cédulas falsas, DART,[76] DESI[77], EASI[77, 78] e ELDI[79] já foram aplicadas à cédulas de euro, dólar e real (Figura 10). Recentemente, a EASI-MS também foi utilizada para caracterizar formas autênticas de documentos de veículos brasileiros[80], bem como detectar traços invisíveis de marcadores de tinta antirroubo (Figura 11)[81]. Em uma aplicação semelhante, foi demonstrado o uso de DART-MS na detecção do dispositivo antirroubo, 1-metilaminoantraquinona (MAAQ)[69].



**Figura 10.** (A) Sistema EASI instalado em um espectrômetro de massas com analisador de massas FT-ICR MS, (B) sistema EASI instalado em um espectrômetro de massas com analisador de massas Q, (C) EASI-Q para nota verdadeira, (D) EASI-Q para nota falsa, (E) EASI-FT-ICR MS para nota verdadeira e (F) EASI-FT-ICR MS para nota falsa. Adaptado da referência[78].



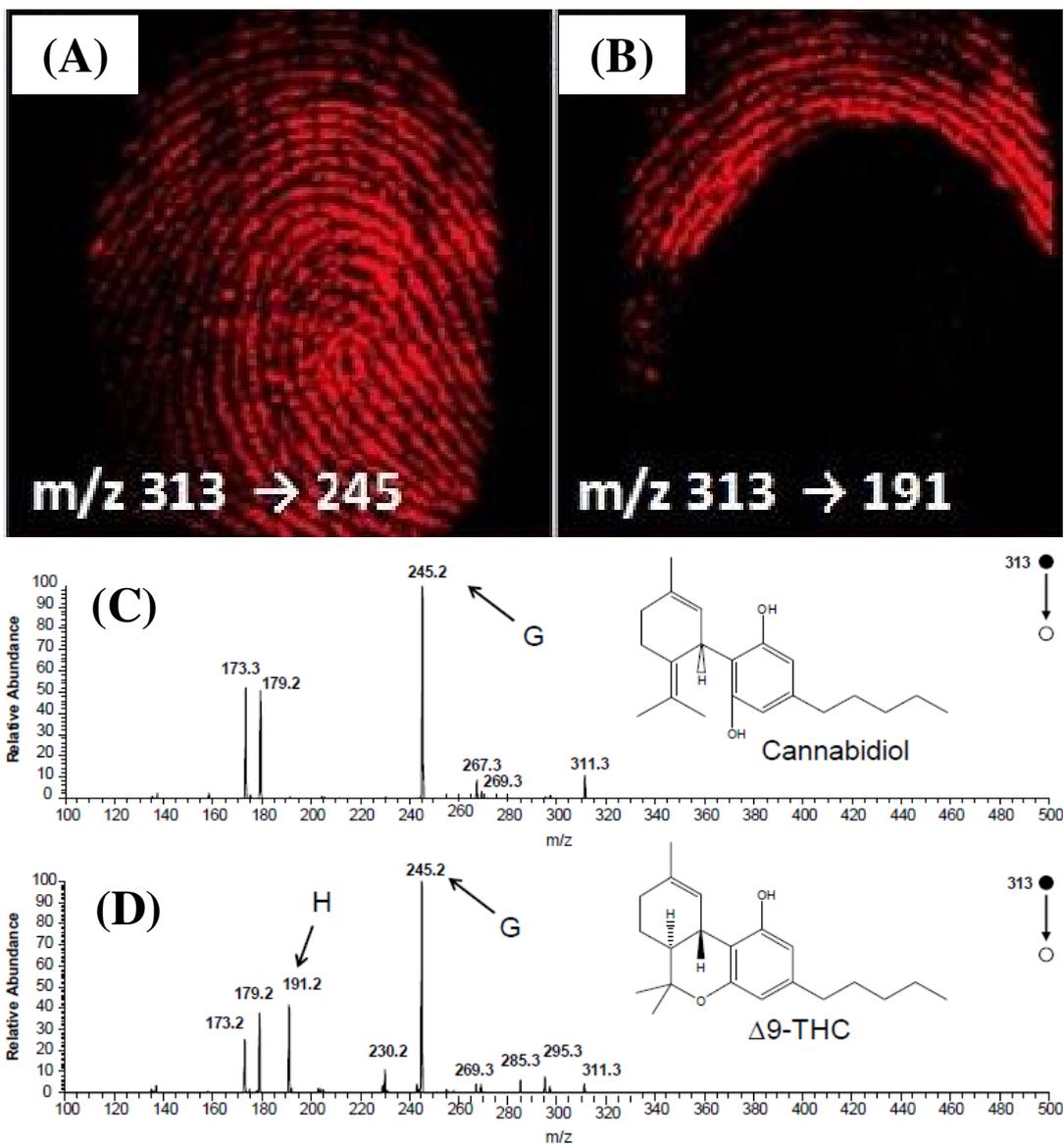
**Figura 11.** (A) Esquema EASI-MS, (B) amostra forense analisada, (C) cédulas reconhecidas como de explosão de caixa eletrônico apresentando aparente dispositivo antifurto em sua superfície, (D) cédulas suspeitas de roubo por explosão de caixa eletrônico com provável impregnação de dispositivo antifurto e características de tentativa de limpeza com uso de solventes, (E) cédulas aparentemente contaminadas com partículas escuras sendo suspeita de se tratar de cédulas impregnadas com dispositivo antifurto e tentadas de limpeza por procedimento de aplicação de temperatura, (F) espectro EASI-MS de uma nota livre de contaminação e espectros (G), (H) e (I) respectivamente às amostras (C), (D) e (E). Adaptado da referência[81].

## 1.7. DROGAS ILÍCITAS

Outro tipo de exame forense nos laboratórios do Brasil e do mundo com maior demanda se tratam dos exames de drogas ilícitas. A literatura mostra que MS ambiente, devido a sua velocidade e aplicação direta à amostra intacta, é uma tecnologia poderosa aplicável para a detecção de drogas em geral. Análise direta de cocaína apreendida com DESI-MS[82] e DART-MS[83] demonstrou que, de fato, a MS ambiente fornece uma metodologia rápida e robusta nessa área e que dispositivos moveis podem ser construídos para auxiliar nas investigações de campo.

Exames de cromatografia de camada delgada (TLC, do inglês *thin layer chromatography*) podem ser aplicadas para separação simples e rápida no local, com posterior caracterização direta em laboratório por MS ambiente. Isso foi demonstrado através de EASI-MS[84] e DART-MS[85], com caracterização inequívoca de drogas ilícitas e suas formulações específicas diretamente em placas TLC. Essa combinação elegante da técnica cromatográfica mais simples amplamente utilizada na química forense, com análise MS direta[86], facilita a prática dos cientistas forenses e reduz os riscos de falsos positivos ou negativos quando é aplicado somente o protocolo TLC convencional[87].

DART-MS já foi empregado para detectar cannabinoides[88], enquanto que EASI-MS foi utilizada para detectar drogas sintéticas como metaclorofenilpiperazina (m-CPP)[89]. A Figura 12 mostra uma aplicação interessante para investigações forenses, em que DESI-MSI foi aplicado a impressões digitais latentes, sendo produzidas imagens reveladoras de drogas ilícitas como cocaína e  $\Delta$ 9-tetra-hitrocanabinol, bem como explosivos tal como RDX[53].



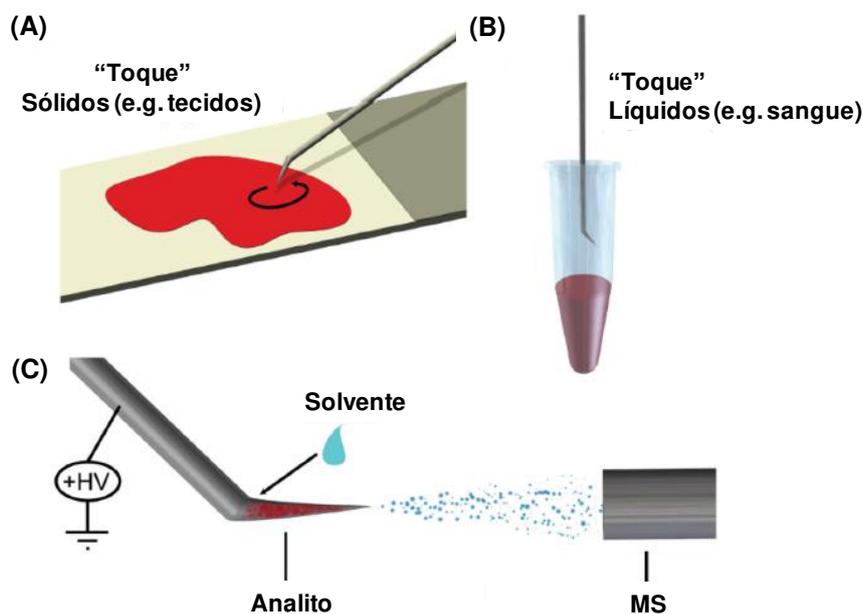
**Figura 12.** (A)  $\Delta 9$ -THC e/ou canabidiol em papel, identificado pela transição MS/MS  $m/z$  313 > 245, (B)  $\Delta 9$ -THC distinguido de canabidiol pela transição MS/MS única de  $m/z$  313 > 191, (C) MS/MS de canabidiol protonado e (D) MS/MS de  $\Delta 9$ -THC protonado. Adaptado da referência[53].

## 1.8. AMOSTRAS BIOLÓGICAS

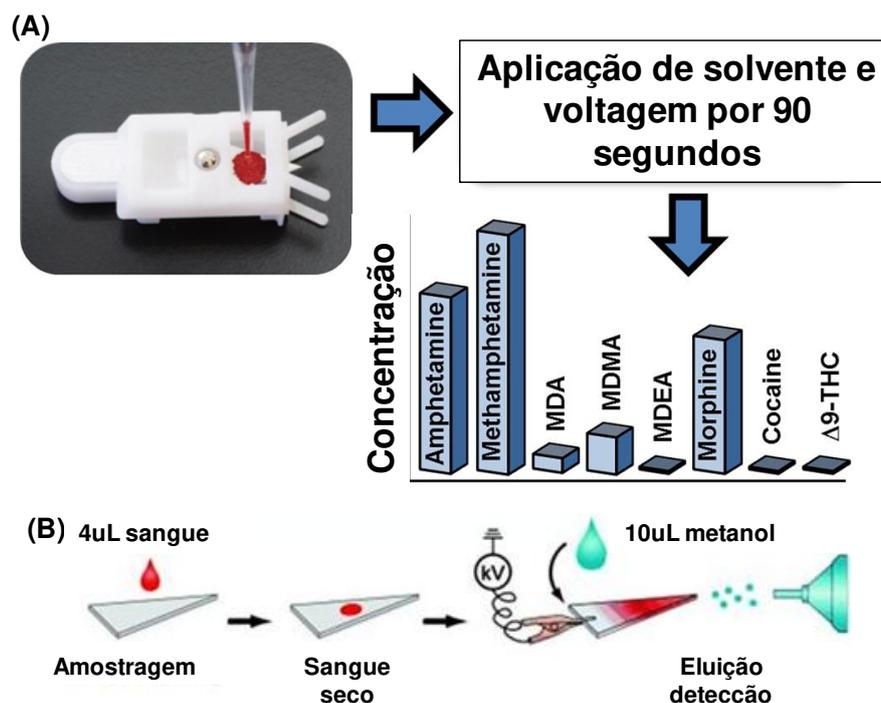
Devido a sua extrema complexidade relacionado à matriz biológica bem como a grande variedade de amostras, os protocolos clássicos normalmente aplicados pelos químicos forenses para a análise de amostras biológicas são frequentemente trabalhosos e demorados. A MS ambiente é, portanto, uma alternativa atrativa e potencial devido a sua maior simplicidade, velocidade e protocolos livres de preparação de amostras. Especialmente na toxicologia forense, isso pode acelerar

fortemente o trabalho de um investigador médico ou toxicologista forense, revelando *in situ*, por exemplo, a presença de drogas, pesticidas ou substâncias suspeitas no sangue total[90] ou urina[91]. Essa capacidade de análise pode facilitar vereditos, por exemplo, sobre se a pessoa morreu em circunstâncias suspeitas ou não.

As técnicas de ionização para MS ambiente tem sido aplicadas e aperfeiçoadas à amostras biológicas. Um exemplo ilustrativo é a aplicação de um sistema modificado V-EASI-MS na forma de uma “faca inteligente” para detectar biomarcadores de câncer em tempo real durante uma cirurgia[92]. A técnica recentemente desenvolvida de ionização por toque *spray* (TSI, do inglês *touch spray ionization*) utiliza uma sonda de agulha de aço inoxidável para recolher amostras do material. Um solvente adequado e potencial elétrico é subsequentemente aplicado para causar dessorção e ionização. TSI-MS foi aplicada a sangue total, tecidos e drogas ilícitas (Figura 13)[93]. PSI-MS também se popularizou pela análise de amostras biológicas[94] e foi aplicada, por exemplo, na análise de drogas ilícitas e prescritas no sangue total (Figura 14)[95, 96].



**Figura 13.** Esquema da amostragem de (A) sólidos, (B) líquidos com PSI usando uma agulha de contato angular e (C) aplicação de alta voltagem e solvente causa uma pluma semelhante a ESI de gotículas contendo analitos dos quais íons de analitos gasosos são produzidos. Adaptado da referência[92].

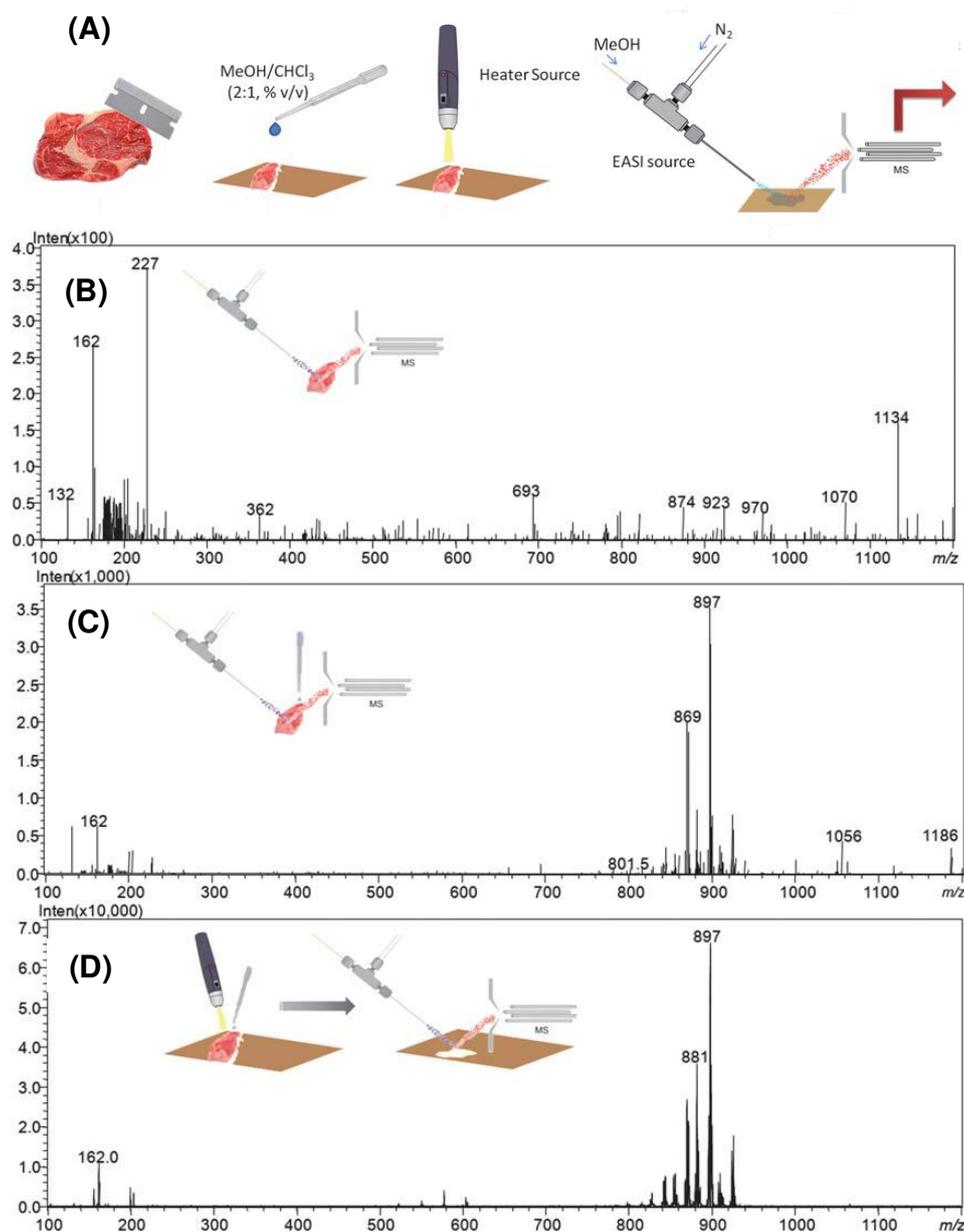


**Figura 14.** (A) Esquema da análise PSI-MS utilizando um cartucho auto mostrador em que 8 drogas ilícitas são simultaneamente quantificadas. (B) PSI-MS de uma única gota de sangue seco em papel. Adaptado das referências[36, 94].

## 1.9. PRODUTOS ALIMENTÍCIOS E COSMÉTICOS

A adulteração ou mesmo contrafação (cópia integral) de alimentos e produtos cosméticos é uma atividade comum, porém ilegal, que causa grande preocupação as instituições de segurança, sendo uma questão central para investigações em química forense. A MS ambiente foi testada nesse sentido e demonstrou ser uma ferramenta poderosa nessa área. Por exemplo, a DART-MS possibilita a análise de sabor e fragrância em matérias-primas de matrizes complexas como têxteis e cabelo[97]. EASI-MS e suas variantes foram intensamente empregadas na detecção de contrafação em alimentos e produtos cosméticos. Já foi reportado na literatura a utilização da EASI-MS para detectar adulteração e contrafação de óleos vegetais como óleo de oliva[98], óleos exóticos da floresta Amazônica[99], própolis[100], amaciantes e perfumes[101]. Rotulagem incorreta também é uma prática ilegal ao redor do mundo, como a venda de truta-salmão como se fosse salmão. Para tais casos, TI-EASI-MS (do inglês *thermal imprinting easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry*) pode ser aplicada, demonstrando ser um método para detectar direta e rapidamente carnes de boi e peixe[42] (Figura 15), assim como caviar[102] e

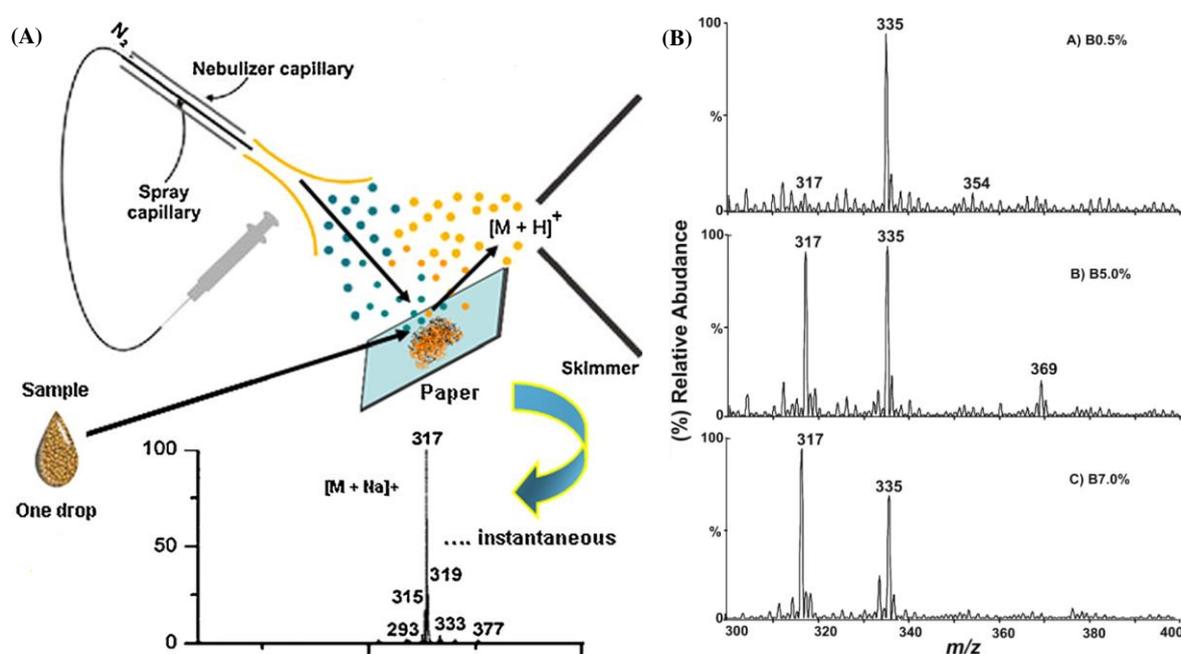
presunto[103]. DESI-MS[104] e DART-MS[105] são reportados na caracterização de óleos comestíveis, logo identificando adulterações e falsificações.



**Figura 15.** (A) Análise TI-EASI-MS: uma peça (ca. 1 cm<sup>2</sup>) de carne ou gordura é manualmente cortada em seções de aproximadamente 10 mm, sendo então colocada numa superfície de papel pardo marrom e algumas gotas (cerca de 3) de solução MeOH:CHCl<sub>3</sub> (2:1, v/v) são pingadas na superfície da amostra. A amostra é aquecida por 20 s (para gordura) ou 90 s (para carne); o conteúdo TAG (do inglês *triacylglyceride*) impresso na superfície do papel é submetido ao sistema de análise EASI-MS. (B) espectro direto da carne, (C) espectro da carne e solvente e (D) espectro da impressão térmica TI-EAS-MS. Adaptado da referência[42].

## 1.10. COMBUSTÍVEIS

Devido ao alto consumo e enorme lucro, os combustíveis são, no mundo todo, um alvo muito atraente e comum para fraude e adulteração. Também no caso dos combustíveis, devido a seus méritos insuperáveis, técnicas de MS ambiente demonstraram oferecer uma ferramenta funcional para o químico forense no combate a essas prática ilegais, seja em laboratórios, seja em monitoramento no local da pratica. A utilização de combustíveis para acelerar incêndios criminosos é outra área de investigação forense que se beneficia da aplicação de MS ambiente, como exemplificado por uma investigação com DART-MS de materiais domésticos[106]. Também foi detectada com EASI-MS adulteração de querosene, diesel, gasolina e biodiesel[107, 108]. A Figura 16 mostra a variação de composição baseada em  $m/z$  317 ( $[FAME + Na]^+$ ) (FAME, do inglês *fatty acid methyl ester*) para biodiesel de soja em diferentes concentrações de misturas de diesel de petróleo.



**Figura 16.** (A) Esquema da análise EASI-MS de amostras de biodiesel. Perfis químicos EASI-MS característicos de íons  $[FAME + Na]^+$  são instantaneamente obtidos e usados para tipificação de biodiesel e controle de qualidade. (B) EASI(+)-MS de misturas Bn representativas (n = quantidade de biodiesel no petrodiesel). Notar que o íon de  $m/z$  317 é o íon principal  $[FAME + Na]^+$  para biodiesel de soja, enquanto que o íon de  $m/z$  335 é do padrão interno. Adaptado de e reproduzido de[108].

## 1.11. DOCUMENTOS: ESTADADO DA ARTE

Um documento (do latim *documentum*, derivado de *docere* “ensinar, demonstrar”) é qualquer meio, sobretudo gráfico, que comprove a existência de um fato, a exatidão ou a verdade de uma afirmação (documentar, basicamente significa tornar duradoura uma informação). Os documentos são usados ao longo de nossas vidas para gravar tudo o que fazemos. Por exemplo, eles começam com a nossa certidão de nascimento e terminam com a nossa certidão de óbito. De maneira geral o documento é composto por um suporte e o meio de gravação, garantindo-se a perpetuidade da informação. O suporte pode ser madeira, metal, rocha, plástico, vidro e principalmente papel. A informação pode ser inserida por punção, desbaste e principalmente por uso de tinta escrita ou impressa. Considerando-se os objetos de estudo, bem como os objetivos a serem alcançados na análise de documentos, podem ser divididos como segue Tabela 2.

**Tabela 2.** Documentos objetos de análise mais comuns e objetivos de análises mais importantes para a Justiça.

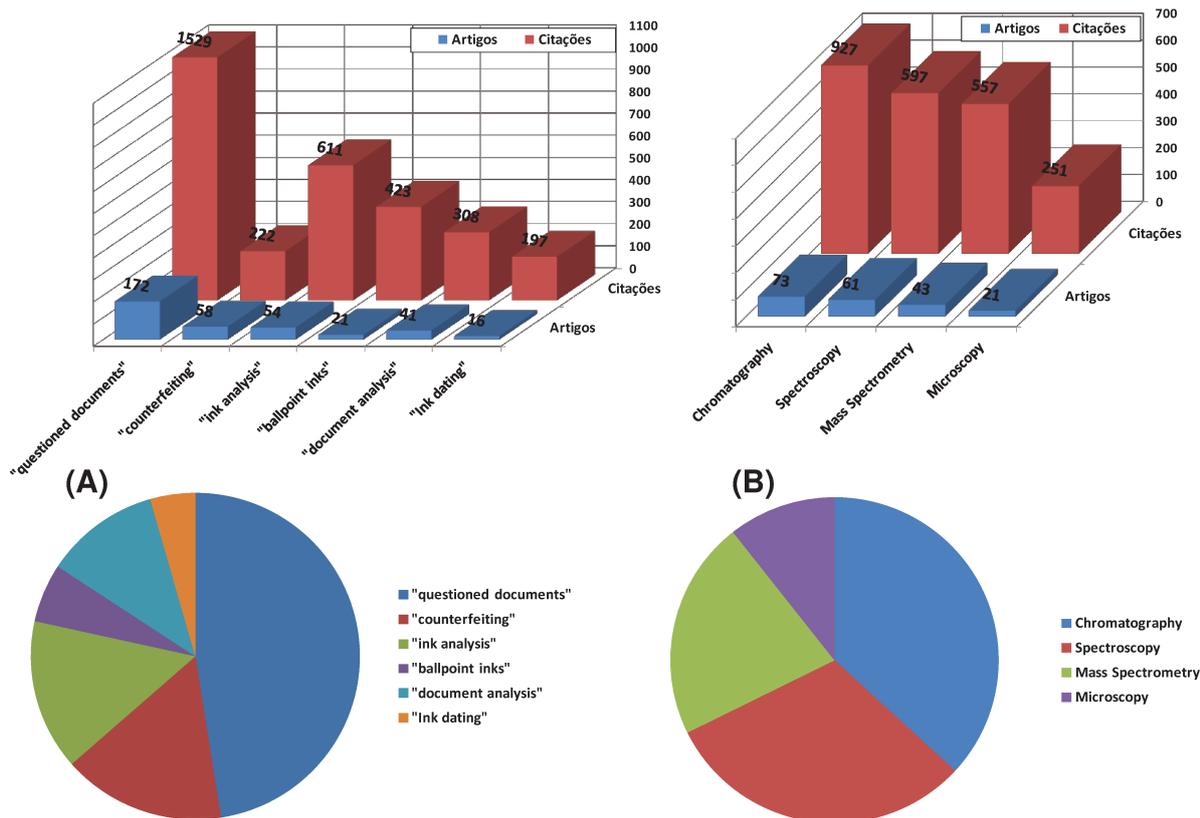
Documentos objetos		Objetivos de análises
Tinta escrita (Canetas)	Esferográfica Tinteiro Retroprojeter	Identificação Comparação Discriminação Origem Datação
Tinta impressa (impressoras)	Impacto matricial (fita) Jato de tinta (cartucho) Laser (toner com pó) <i>Plotter</i> (cartucho) <i>Offset</i> (sistema de cilindros)	
Papel suporte	Reciclado Comum De segurança	

As tintas que conferem a informação sobre o suporte, produzindo o documento, apresentam o maior foco de estudos analíticos e são os objetos de

estudo mais encontrados na literatura. Para tal as normas ASTM sobre identificação de tintas em escritas (ASTM 1789-04) e comparação de tintas em escritas (ASTM 1422-05) foram confeccionadas e são as mais importantes orientações publicadas sobre a análise forense de tintas em documentos[109].

Para se fazer uma pesquisa abrangente e representativa do estado da arte sobre metodologias analíticas aplicadas a exames forenses de documentos, faz-se necessário conhecer a literatura e entender como buscar a informação adequadamente. Uma extensa literatura em ciências forenses tem sido publicada principalmente após o processo crescente de reconhecimento da sua importância[110]. Sobre exames de documentos, o primeiro livro escrito em inglês foi produzido por Albert Sherman Osborn intitulado “Questioned Documents” publicado nos USA em 1910 e 1929[111]. Vale ressaltar que Osborn é considerado pai desta área pericial, exame de documentos questionados. Outros importantes livros como “Scientific Examination of Questioned documents” por Ordway Hilton[112], “Evidential Documents” por James V. P. Conway[113], “Handwriting Identification: Facts and Fundamentals” por Roy A. Huber e A. M. Hendrick[114] são alguns exemplos importantes de livros sobre o assunto.

Os periódicos indexados no “ISI Web of Science” que publicam artigos sobre exame documental incluem Science and Justice[115], Journal of Forensic Sciences[116], Forensic Science International[117] e não indexados Forensic Science Review[118], Canadian Society of Forensic Science Journal[119]. A Figura 17A mostra o estudo dos termos de busca mais aplicados a exames forenses de documentos na literatura científica em revistas indexadas, sendo observado que “questioned documents” constitui termo técnico científico mais aplicado, tal como estabelecido em 1910 por Osborn. A Figura 17B evidencia a distribuição de trabalhos associados a “questioned documents” considerando diferentes grupos de análise instrumental, sendo evidenciado que a cromatografia é a categoria de análise instrumental mais aplicada seguido de espectroscopia.



**Figura 17.** (A) Distribuição dos termos de busca usados no banco de dados *ISI Web of Science* ambos juntamente com o termo *forensic* indicando que *questioned documents* constitui termo técnico para exame forense de documentos mais aplicado pela literatura científica e (B) Distribuição dos termos de busca usados no banco de dados juntamente com o termo *questioned documents*. Pesquisa realizada em 10/06/2015, usando a fonte de dados da *ISI Web of Science*: [keywords = (A) "termo" and "forensic"; (B) "termo" and "questioned documents"].

Romão et. al.[120] discutiram em revisão recente (2011) o número de publicações no campo de exames de documentos entre outras áreas forenses. Os autores informam que nesta área, até 2000, as técnicas de espectroscopia molecular (infravermelho, Raman e fluorescência molecular) e de separação (cromatografia e eletroforese) foram as mais empregadas, apresentando juntas 14 trabalhos e 219 citações. No referido reporte os autores usam a base de dados *ISI Web of Science* e estipulam como termo de busca *document analysis* e *forensic*. Como foi apresentando pelas Figuras 17, o termo de busca mais adequado para a pesquisa de periódicos na literatura sobre exames de documentos é *questioned documents*, o qual pode ser associado com *forensic* para dar maior especificidade à busca.

Comparativamente ao trabalho de Romão et. al.[120] usando os termos de busca mais correntes (*questioned documents* e *forensic*), se possui um conjunto de trabalhos em espectroscopia e métodos de separação igual a aproximadamente 134 artigos com mais de 1500 citações até o momento atual. Portanto a busca de trabalhos indexados ao banco de dados se torna mais adequada à medida que se estipula os termos corretos de pesquisa, ainda assim havendo margem de erro, pois as atribuições de palavras chaves aos trabalhos nem sempre seguem regras bem definidas.

Assim, documentoscopia forense se trata do termo adotado no Brasil que descreve o exame técnico e científico de documentos questionados em juízo, sendo “*questioned documents*” o termo em inglês que conceitua tal área das ciências forenses no mundo. Assim, trata-se de área da criminalística encarregada do exame dos documentos, com a finalidade de verificar a identificação, comparação, discriminação, origem e datação como colocado na Tabela 2 [121, 122].

## 1.12. METODOLOGIA ANALÍTICA

Em Química Forense, sem dúvida, umas das áreas da Química mais atuante é a Química Analítica. A definição mais funcional de Química Analítica é “a qualitativa e quantitativa caracterização da matéria”[123]. Pode ser classificada como métodos clássicos ou instrumentais[124]. Os métodos clássicos apresentam a separação dos componentes de interesse (analitos) por técnicas como precipitação, extração ou destilação, constituindo a volumetria e a gravimetria os métodos clássicos quantitativos mais empregados. Nos métodos instrumentais de análise, as propriedades físico-químicas do analito são medidas através de uma medida de sinal gerado por um equipamento ou instrumento, sendo os sinais analíticos óticos e elétricos os mais comuns.

De uma maneira geral a análise instrumental é um dos campos mais importantes da química analítica na investigação de analitos em matrizes, apresentando diversas técnicas disponíveis:

1. **Espectroscopia:** mede a interação da radiação eletromagnética com a matéria, ou seja, absorção, emissão e espalhamento, podendo-se citar as seguintes técnicas em inglês e seus respectivos acrônimos: *atomic absorption spectroscopy* (AAS), *atomic emission spectroscopy* (AES), *ultraviolet-visible spectroscopy* (UV-VIS), *x-ray fluorescence spectroscopy* (XRF), *infrared*

*spectroscopy* (IR), *diffuse reflectance spectroscopy* (DRS), *Raman spectroscopy*, *nuclear magnetic resonance spectroscopy* (NMR), *Mössbauer spectroscopy*, entre outras.

2. **Espectrometria de Massas:** mede a razão massa/carga de íons carregados, sendo dividido instrumentalmente em:

2.1. Fontes de ionização: entre as várias técnicas de ionização existentes, destacam-se neste trabalho a fontes DESI e EASI, Figura 2.

2.2. Analisadores de massas: entre os analisadores comerciais existentes, destacam-se neste trabalho analisador quadrupolar (Q, do inglês *quadrupole mass analyzer*), armadilha de íons (IT, do inglês *ion trap*), ressonância ciclotrônica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR, do inglês *Fourier transform ion cyclotron resonance*) e armadilha em orbita (OT, do inglês *orbitrap*), Figura 2.

**Técnicas de separação:** separação de uma mistura em componentes através das diferenças nas propriedades físicas ou químicas, podendo-se citar as seguintes técnicas em inglês e seus respectivos acrônimos: *thin layer chromatography* (TLC), *gas chromatography* (GC), *liquid chromatography* (LC) e as técnicas de eletroforese tal como *micellar electrophoretic capillary chromatography* (MECC)[125].

3. **Cristalografia:** mede o padrão de difração de radiação ou partículas pela interação com a estrutura da matéria, sendo difração de raios X (XRD, do inglês *x-ray diffraction*) a técnica usualmente empregada.

4. **Análise eletroquímica:** Métodos eletroanalíticos medem propriedades elétricas como potenciais elétricos e correntes elétricas em uma célula eletroquímica que contém o analito. Os três principais métodos desta categoria são a potenciometria, coulometria e voltametria.

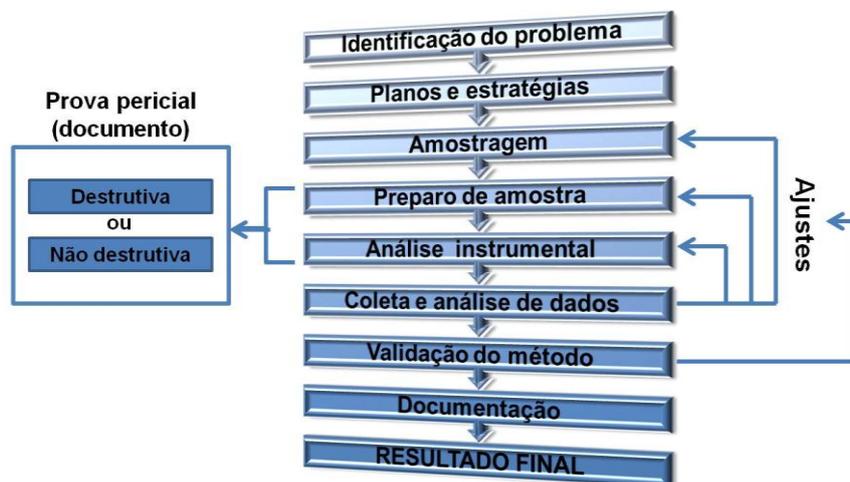
5. **Análises térmicas:** O sinal analítico é resultado da interação da matéria com energia na forma de calor, representando esta categoria de método analítico instrumental as técnicas análise térmica gravimétrica (TGA, do inglês *thermal gravimetric analysis*), análise térmica diferencial (DTA, do inglês *differential thermal analysis*) e calorimetria exploratória diferencial (DSC, do inglês *differential scanning calorimetry*).

6. **Microscopia:** Este método de análise instrumental tem como princípio fundamental fornecer a observação da matéria na escala desejada. Tem-se a

microscopia óptica, a microscopia eletrônica, com a principal técnica microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de dispersão de raios X (SEM-EDS, do inglês *scanning electron microscopy/energy dispersive spectroscopy*) seguida da microscopia de varredura por sonda (AFM, do inglês *atomic force microscopy*), como as técnicas mais usuais dentre muitas outras.

A análise instrumental faz parte de um todo definido como método analítico. Método em sua própria etimologia grega significa os meios a se alcançar um fim. Assim metodologia analítica, ou metodologia em química analítica e especificamente se aplicando análise instrumental constitui o conjunto total de meios a se alcançar o resultado final. Metodologia analítica inclui desde a identificação do problema analítico, planos e estratégias (projeto escrito), amostragem, preparo de amostra, ajuste (do inglês *setup*) instrumental, coleta, tratamento e análise de dados, validação, documentação e a obtenção do resultado final.

Portanto, em um mesmo tipo de instrumento analítico, por exemplo MS ou XRF, existem diversas metodologias analíticas ou sequências aplicadas ao problema para se chegar ao resultado, por exemplo, no exame de documentos. A Figura 18 mostra a idealização de uma metodologia analítica ou como alguns autores definem a “sequência analítica”[126].



**Figura 18.** Metodologia analítica ou sequência analítica.

A análise instrumental utilizando metodologia destrutiva, normalmente esta associado à exigência de preparo de amostra para a análise, por exemplo, a necessidade da metalização da amostra para a análise SEM-EDS. A análise instrumental não destrutiva, ou seja, a realização direta da análise, *in situ* é, em princípio, a ideal aos analistas forenses, pois a determinação ou identificação do

análise de interesse pode ser feita diretamente e preservando a amostra, assim a sequência analítica ficará restrita a poucas etapas tornando simples e viável para aplicação nos institutos forenses, os quais apresentam grandes demandas.

As metodologias que não destroem as amostras, e dos quais resultem em dados precisos, tem apresentado grande importância em todos os campos científicos, destacando-se as ciências forenses e exames de documentos, devido ao não consumo da amostra permitindo novas medidas de acordo com a necessidade da Justiça. O método não destrutivo na análise de documentos questionados apresenta grande interesse, pois a prova pericial pode ser objeto de diversos exames pela Justiça e partes envolvidas, no andamento do processo, e também pode ser requisitada para novas análises posteriores ao julgamento (dias, meses, anos) pela solicitação de abertura do processo, seja para inocentar o acusado ou reforçar a pena, sendo um dos focos nesta tese de doutorado, desenvolvimento de metodologias de análise não destrutivas em ciências forenses.

## 2.0. OBJETIVO GERAL

Esta tese de doutorado apresenta como objetivo central a aplicação da MS ambiente às ciências forenses, com o objeto de estudo principal, documentos, visando desenvolvimento de metodologias que garantam facilidade de análise, preservação da prova forense e potencial implementação futura como técnica complementar em laboratórios forenses no Brasil.



### 3.0. EXPERIMENTAL GERAL

#### 3.1. MATERIAIS

Metanol (grau HPLC e P.A.), CH<sub>3</sub>OH, clorofórmio, CHCl<sub>3</sub>, isopropanol, CH<sub>3</sub>CH(CH<sub>3</sub>)OH, ácido acético CH<sub>3</sub>COOH e hidróxido de amônio, NH<sub>4</sub>OH, obtidos pela Merck S.A serão os solventes a serem utilizados.

#### 3.2. AQUISIÇÃO DE AMOSTRAS FORENSES

A aquisição de amostras forenses reais contou com a colaboração de Peritos Criminais da Superintendência da Polícia Técnico Científica de SP (Deleon Nascimento Correa) e Polícia Federal (Dr. Jorge Jardim Zacca), e a amostragem será descrita em cada sessão de aplicação desta tese.

#### 3.3. ANÁLISES: ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Os experimentos foram realizados se utilizando dos seguintes equipamentos MS:

1. Espectrômetro de massas contendo um único quadrupolo como analisador (LCMS-2010EV-Shimadzu Corp., Japan) equipado com uma fonte EASI *home-made*. Um *spray* ácido será preparado usando uma solução de ácido fórmico em metanol (0,1 % v) com uma taxa de 20 µL min<sup>-1</sup> e gás N<sub>2</sub> a uma pressão de 100 *psi*. O ângulo existente entre a entrada do analisador e a fonte de ionização será de 45°. A análise será realizada no modo positivo EASI(+)-MS ou modo negativo de análise EASI(-)-MS.
2. Espectrômetro de massas com transformada de Fourier e Ressonância Ciclotrônica de Íons LTQ FT Ultra Mass Spectrometer (Thermo Scientific, Bremen), em que os espectros de massas poderão ser adquiridos pela acumulação de varreduras. Poderá se utilizar de fontes ESI ou mesmo ambiente EASI modo positivo ou negativo de análise. O programa Xcalibur 2.0 software (ThermoScientific, Bremen, Germany) será utilizado para tratar e formatar os espectros.
3. Espectrômetro de massas Q-Exactive (Thermo Fisher Scientific – Alemanha) acoplado a uma fonte DESI Omni *Spray* Ion Source 2-D (Prosolia – EUA). Para a aquisição das imagens será usado o software Firefly<sup>TM</sup> v.1.3.0.0 tratadas no software BioMAp3804 de conversão.



(Figura 19B). Uma maneira de se produzir fraudes do tipo falsificação de CNH que escape à detecção pela análise dos itens de segurança é o desvio (roubo, furto ou corrupção de funcionários) de espelhos verdadeiros das instituições oficiais (Federais ou Estaduais), o que já é conhecido.

O uso de tecnologias de impressão e cópia, constituindo procedimentos de falsificação de alta qualidade dificulta a diferenciação inequívoca entre um documento legal e um documento ilegalmente preenchido, mesmo aplicando métodos clássicos de análise de documentos, como inspeção visual, análise microscópica e até mesmo exames espectroscópicos. Do ponto de vista forense, é de crucial importância métodos de análise não destrutivos para a preservação da prova de crime e que ofereçam resultados seletivos e específicos ao nível molecular e elementar de maneira inequívoca. Para tal, diversos métodos analíticos têm sido aplicados neste campo de análise de documentos, sendo verificado a aplicação de espectroscopia FTIR[129] no exame de passaportes japoneses falsificados, espectroscopias Mossbauer e XRF[130], espectroscopia ATR-FTIR[131] e espectroscopia Raman[132, 133] nos exames de cédulas monetárias falsas de várias nacionalidades, constituindo um grupo de técnicas de análise não destrutivos interessantes principalmente quando se aplicado com auxílio de métodos quimiométricos de tratamento de dados[134].

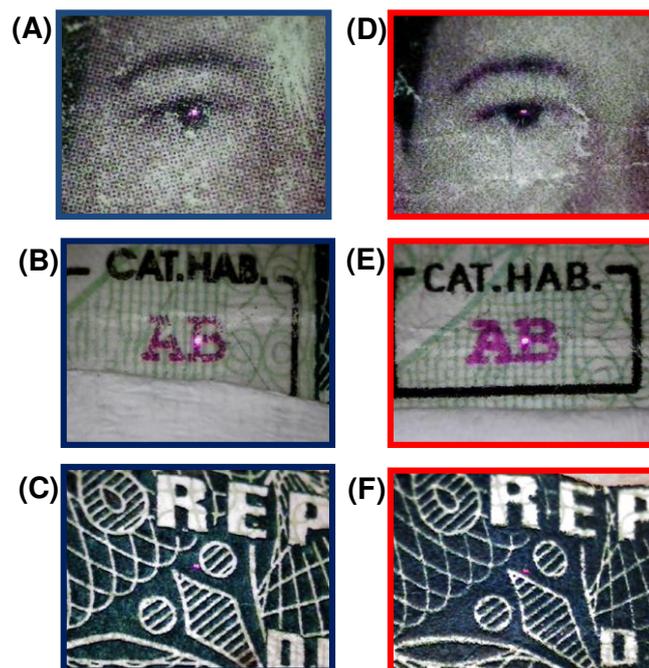
Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) também têm sido aplicadas para caracterizar composições de tintas em notas falsificadas[135, 136], mas os procedimentos de pré-tratamentos pelo preparo de amostras requeridos em GC-MS e LC-MS usualmente consomem tempo e produzem danos irreparáveis à amostra forense[25]. Espectrometria de massas baseado em métodos de ionização a laser tal como ionização por dessorção a laser assistida por matriz (MALDI) e ionização por dessorção a laser assistido por nanopartículas (NALDI, do inglês *nanoparticle assisted laser desorption ionization*) são técnicas de análise atrativas, pois minimizam a destruição da amostra forense devido a análises de altas resoluções espaciais[137], entretanto estas técnicas são operadas a vácuo permitindo apenas análise de moléculas não voláteis e exigindo que o documento questionado seja dobrado ou cortado para ser acomodado na câmara de amostra.

## 4.2. OBJETIVO

Neste trabalho, EASI-MS foi aplicado para identificar CNHs que apresentam mesmos dados preenchedores, entretanto com diferentes fotos de usuários, apreendidas pela Policia Civil de São Paulo.

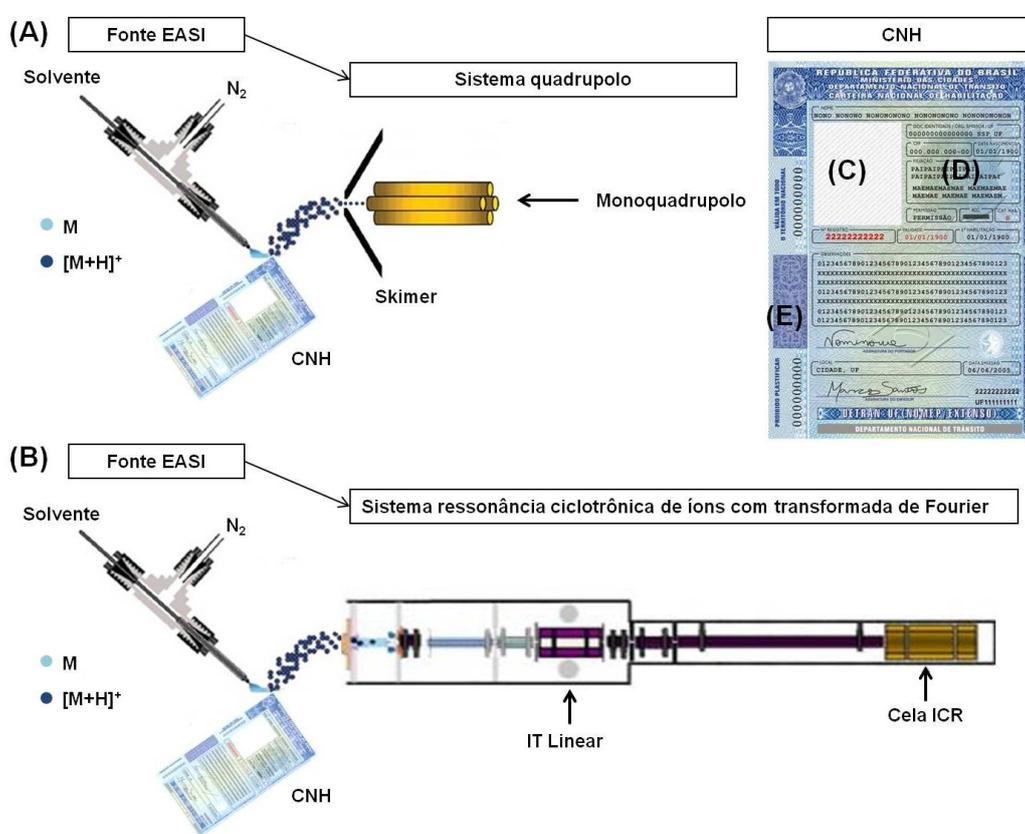
## 4.3. EXPERIMENTAL

Foram analisados neste trabalho dois documentos CNHs adquiridas junto à Policia Civil de São Paulo, sob a custódia da Superintência da Policia Técnica Científica de São Paulo. As duas CNHs apresentavam mesmo informação de dados preenchedores (nome, número de documento, RG, CPF), entretanto com fotos diferentes, apresentando impressão relativamente similares na análise microscópica (Figura 20). A CNH autêntica, Figura 20ABC, foi atribuída e confirmada ao verdadeiro dono pelo setor de investigação da Policia, entretanto chamou atenção da Pericia a CNH atribuída pela investigação falsa que apresentava impressão não trivialmente atribuída à impressão não oficial, Figura 20DEF.



**Figura 20.** (A) campo fotografia da CNH verdadeiramente atribuída ao condutor, (B) campo preenchimentos da CNH verdadeiramente atribuída ao condutor, (C) espelho da CNH verdadeiramente atribuída ao condutor, (D) campo fotografia da CNH falsa, (E) campo preenchimentos CNH falsa e (F) espelho da CNH falsa.

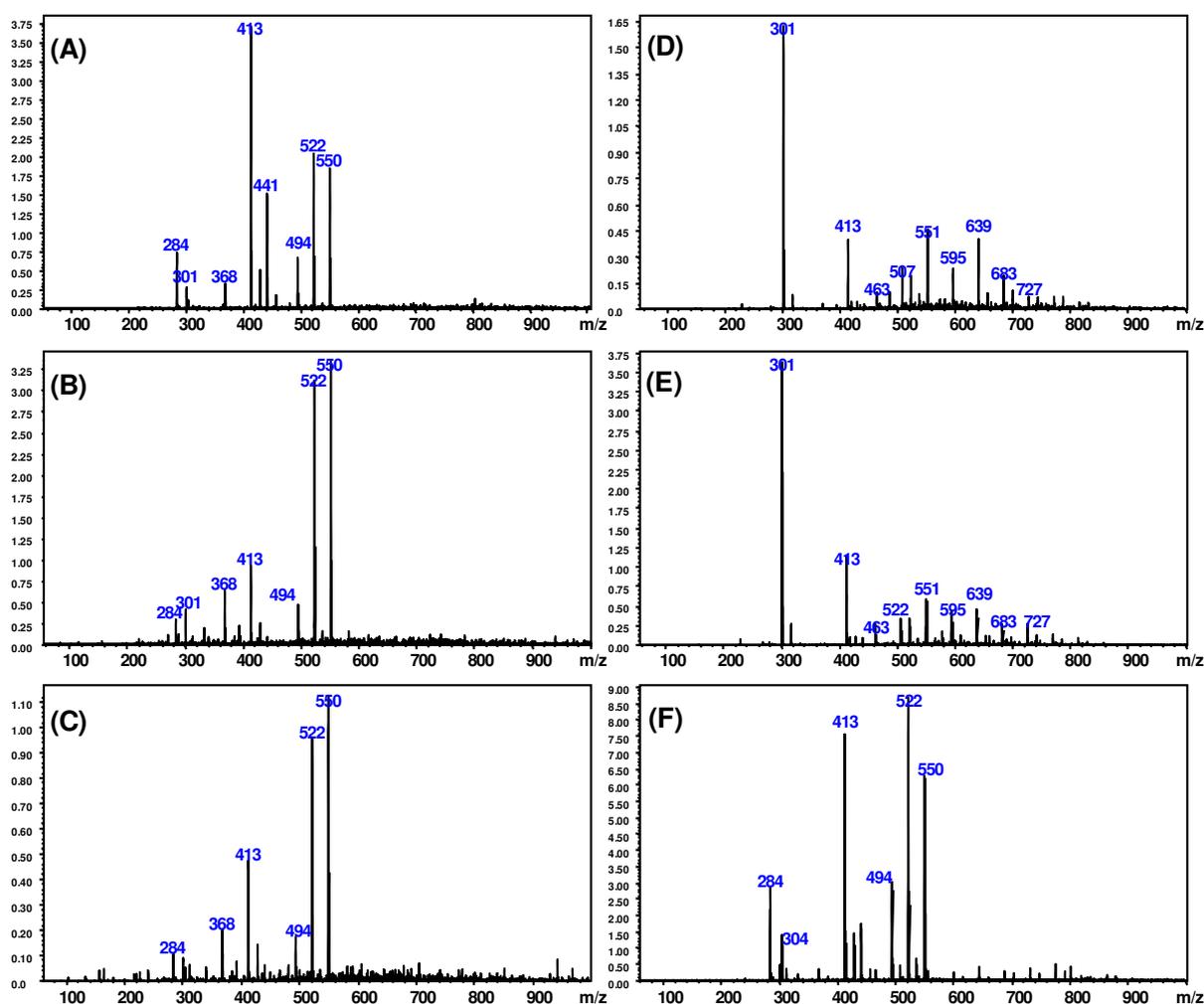
Os espectros de massas EASI-MS foram adquiridos no modo positivo de análise em um equipamento monoquadrupolo (LCMS- 2010EV -Shimadzu Corp., Japan) e um equipamento de ressonância ciclotrônica de íons por transformada de Fourier, FT ICR-MS (LTQ FT Ultra Thermo Scientific, Bremen, Alemanha), respectivamente na janela de 100-1000  $m/z$  (Figura 21AB), conforme condições gerais descritas em “2. EXPERIMENTAL, 2.3. ANÁLISES: ESPECTROMETRIA DE MASSAS”. As amostras forenses de documentos foram analisadas pontualmente nos referidos locais (fotografia, preenchimento e espelho da CNH) conforme ilustra Figura 21CDE.



**Figura 21.** Esquema de análise EASI-MS: (A) EASI-MS, (B) EASI-FT-ICR MS, (C) campo fotografia, (D) campo preenchimento e (E) espelho da CNH.

## 4.4. RESULTADOS

A Figura 22 ilustra os espectros de massas EASI(+)-MS das CNHs tanto autêntica como falsificada apreendidas. Três pontos diferentes ao longo da superfície dos documentos foram analisados: Foto, dados pessoais e espelho, conforme Figura 21CDE, respectivamente. A CNH autêntica apresentou perfis químicos semelhantes em todos os três pontos (Figuras 22ABC), indicando que EASI(+)-MS fornece uma assinatura química característica para as CNHs originais. Nestes espectros, uma série de íons diagnósticos,  $m/z$  284, 301, 368, 391, 413, 429, 494, 522, 550, foram detectados, constituindo marcadores diagnósticos comumente observados em outros documentos oficiais como CRLV (Certificação de Registro de Licenciamento Veicular)[80], primeira[77] e segunda[78] geração do R\$.

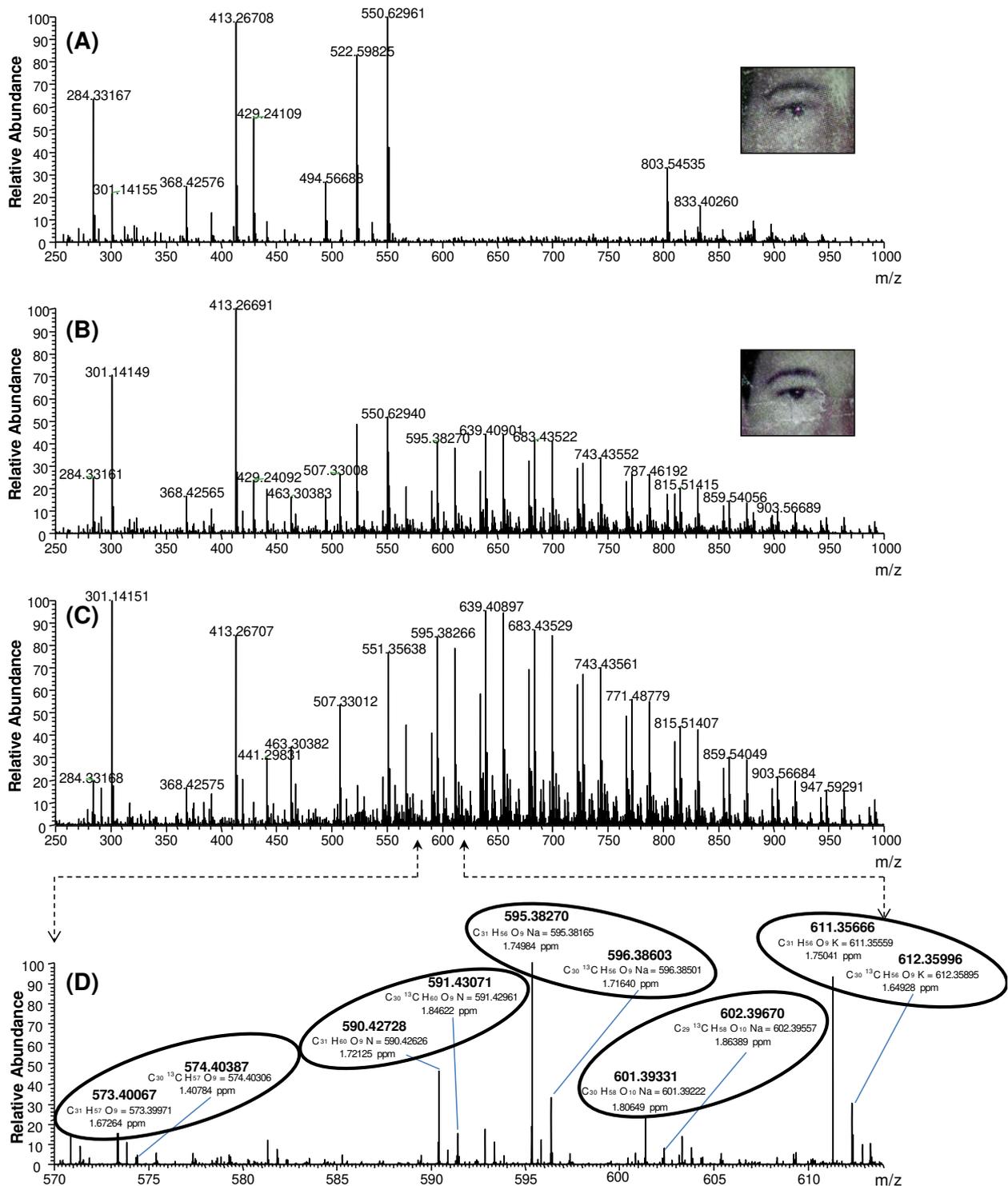


**Figura 22.** Espectros EASI(+)-MS das CNHs autênticas e falsa: (A) Fotografia da CNH verdadeira, (B) dados pessoais da CNH verdadeira, (C) espelho da CNH verdadeira, (D) Fotografia da CNH falsa, (E) dados pessoais da CNH suspeita e (F) espelho da CNH falsa.

A Figura 22DE revelam que a foto e os dados pessoais da CNH falsa possuem um perfil químico único e característico em comparação com as mesmas regiões na CNH verdadeira (Figura 22AB). Os íons diagnósticos observados para a CNH falsa são abundantes na janela de  $m/z$  400-800 separados por 44 Da, sendo observados nos espectros os  $m/z$  463, 507, 551, 595, 639, 683 e 727. Há uma diferença de  $m/z$  44 entre a maioria dos íons, o que é típico para o polietileno-glicol (PEG) correspondendo aos oligômeros que contêm  $(C_2H_4O)_n$  unidades de repetição. O espectro de massas EASI(+)-MS observado para o espelho do documento falso (Figura 22E) comparado com o espectro de massas para o espelho do documento verdadeiro (Figura 22C) são idênticos.

Nesta etapa do trabalho os resultados já mostram que a foto do condutor e os dados pessoais na CNH falsa de fato foram inseridos usando uma impressora não oficial sobre um documento em branco original desviado ou roubado de uma instituição oficial. Uma impressora jato de tinta foi provavelmente usada, como indicado pelos íons de separação 44 Da normalmente atribuídos a compostos que possuem PEG e são utilizados de tintas destas natureza[138].

As amostras forenses também foram analisadas por EASI(+)-FT-ICR MS, Figura 23, para uma elucidação completa dos íons marcadores através da determinação da sua fórmula molecular e respectivas massas exatas. Foram adquiridos espectros de massas de alta resolução EASI(+)-FT-ICR MS se comparando os campos fotografia do condutor no documento verdadeiro e documento falso conforme ilustra Figura 23AB, respectivamente. O campo fotografia do condutor para o documento verdadeiro, apresentou íons diagnósticos no espectro EASI(+)-FT-ICR MS tal como observado pelo sistema de resolução unitária de análise monoquadrupolar EASI(+)-MS Figura 22A. Portanto os íons observados no sistema EASI(+)-MS (analisador monoquadrupolar) foram reproduzíveis no sistema EASI(+)-FT-ICR MS (analisador de ressonância ciclotrônica de íons) e estão organizados na Tabela 3. A Tabela 3 apresenta os íons adquiridos no espectro de massas da Figura 23A, mostrando a  $m/z$  experimental adquirido pelo EASI(+)-FT-ICR MS, a abundância relativa de cada respectivo íon adquirido, a  $m/z$  teórica exata esperada, o erro e fórmula predita.



**Figura 23.** EASI(+)-FT-ICR-MS para: **(A)** fotografia da CNH verdadeira (Figura 22A), **(B)** fotografia CNH suspeita (Figura 22D), **(C)** subtração (3B) – (3A) e **(D)** expansão na região de  $m/z$  570-620 sendo observado os marcadores de impressão jato de tinta (Surfynol e Nonoxynol).

**Tabela 3.** Massa exata, abundância relativa, erro de massa, fórmula molecular e fórmula molecular provável proposta para os íons referentes ao campo fotografia do condutor para o documento verdadeiro (Figura 23A).

<i>m/z</i>	Abundância Relativa	Massa teórica	Erro (ppm)	Fórmula predita
550.62961	100	550.6285	1.97	[C <sub>38</sub> H <sub>80</sub> N] <sup>+</sup>
413.26708	96.62	413.2662	2.06	[C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub> Na] <sup>+</sup>
522.59825	83.29	522.5972	1.95	[C <sub>36</sub> H <sub>76</sub> N] <sup>+</sup>
284.33167	62.15	284.3312	1.75	[C <sub>19</sub> H <sub>42</sub> N] <sup>+</sup>
429.24109	53.88	429.2402	2.15	[C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub> K] <sup>+</sup>
803.54535	32.37	803.5432	2.62	[C <sub>48</sub> H <sub>76</sub> O <sub>8</sub> Na] <sup>+</sup>
494.56688	26.35	494.5659	1.92	[C <sub>34</sub> H <sub>72</sub> N] <sup>+</sup>
368.42576	24.32	368.4251	1.84	[C <sub>25</sub> H <sub>54</sub> N] <sup>+</sup>
301.14155	21.02	301.1410	1.71	[C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> Na] <sup>+</sup>
391.28515	12.98	391.2843	2.22	[C <sub>24</sub> H <sub>39</sub> O <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
819.51931	5.23	819.5172	2.6	[C <sub>48</sub> H <sub>76</sub> O <sub>8</sub> K] <sup>+</sup>

O espectro de massas EASI(+)-FT-ICR MS corroborou com a elucidação do *m/z* 391 se tratando do bis(2-etil-hexil)ftalato (DHEP) protonado, [C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, *m/z* 413 correspondeu ao aduto DHEP sodiado, [C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>Na]<sup>+</sup>, e *m/z* 429 correspondeu ao aduto DHEP potassiado, [C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>K]<sup>+</sup>. Também os *m/z* 803 e *m/z* 819 foram atribuídos aos íons sodiados e potassidados do dímero de DHEP, [C<sub>48</sub>H<sub>76</sub>O<sub>8</sub>Na]<sup>+</sup> e [C<sub>48</sub>H<sub>76</sub>O<sub>8</sub>K]<sup>+</sup>, respectivamente. O íon de *m/z* 301, [C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>Na]<sup>+</sup>, com um erro de aproximadamente 1,71 ppm, trata-se do dibutilftalato (DBP). Portanto, DEHP e DBP são marcadores diagnósticos de CNH autênticas e são plastificantes comuns, normalmente encontrados em tintas de impressões oficiais[139] utilizadas por instituições oficiais brasileiros para produzir documentos oficiais.

Os íons *m/z* 284.33167 [C<sub>19</sub>H<sub>42</sub>N]<sup>+</sup>, *m/z* 368.42576 [C<sub>25</sub>H<sub>54</sub>N]<sup>+</sup>, *m/z* 494.56688 [C<sub>34</sub>H<sub>72</sub>N]<sup>+</sup>, *m/z* 522.59825 [C<sub>36</sub>H<sub>76</sub>N]<sup>+</sup>, e *m/z* 550.62961 [C<sub>38</sub>H<sub>80</sub>N]<sup>+</sup> foram atribuídos a cátions de amônio quaternário (Tabela 3). Especificamente, o íon de *m/z* 494,56688 é atribuído a dihexadecil-dimetil-amônio, o íon de *m/z* 522,59825 a dimetil-hexadecil-octadecylammonium e o *m/z* 550,62961 a dimetil-dioctadecil-amônio (ou diestearil-dimetil-amônio) com erros menores que 2 ppm. Estes íons são contaminantes comuns encontrados em MS moderna, utilizando técnicas de ionização baseados em *spray* conforme estabelecido no estudo de referência[140].

Os espectros EASI(+)-FT-ICR MS do campo fotografia da CNH falsa evidenciou um perfil químico diverso do observado para a fotografia da CNH

verdadeira como ilustra a Figura 23B. A subtração do espectro obtido para CNH falsa, Figura 23B, do espectro da CNH verdadeira, Figura 23A, conferiu um espectro mais aparente observado na Figura 23C. Este procedimento de subtração foi realizado para se extrair os íons referentes ao espelho do documento, por se tratar de uma técnica de dessorção, quando a análise é realizada íons do espelho verdadeiro desviado ( $m/z$  301, 391, 413, 429) também são dessorvidos, estando presentes em ambos espectros do documento falso e verdadeiro.

A expansão do espectro de massas de  $m/z$  570-615 (Figura 23D) evidenciou um conjunto de cinco íons diagnósticos e os padrões isotópicos característicos de  $^{13}\text{C}$ . Uma distribuição oligomérica separada por 44 Da também pode ser observada para cada um destes cinco íons ao longo do espectro de massas. A Figura 23D mostra o íon protonado de  $m/z$  573,40066,  $[\text{C}_{31}\text{H}_{57}\text{O}_9]^+$ , e os seus adutos de amônio, sódio e potássio correspondentes, isto é,  $m/z$  590,42732  $[\text{C}_{31}\text{H}_{56}\text{O}_9\text{NH}_4]^+$ ,  $m/z$  595,38266  $[\text{C}_{31}\text{H}_{56}\text{O}_9\text{Na}]^+$  e  $m/z$  611,35661  $[\text{C}_{31}\text{H}_{56}\text{O}_9\text{K}]^+$ , respectivamente, correspondendo ao etoxilato de nonilfenol (nonoxinol-9), de fórmula molecular  $\text{C}_{31}\text{H}_{56}\text{O}_9$ [141]. Nonoxinol-9 é comumente utilizado como tensoativo em tintas à base de micro-emulsão para impressoras jato de tinta[142]. O aduto de nonoxinol amoniado existente é justificado, pois após impressão dos dados pessoais, o documento é protegido com uma lamina plástico, portanto evitando volatilização da amônia  $\text{NH}_3$  com passar do tempo e conversão a nonoxinol protonado.

Compostos que apresentam cadeias PEG são comumente utilizados em tintas para impressoras jato de tinta e funcionam como lubrificantes para as cabeças de impressão[143] [34]. O  $m/z$  601,39331 íon na Figura 23D, identificadas como  $[\text{C}_{30}\text{H}_{58}\text{O}_{10}^{23}\text{Na}]^+$ , e seu íon isótopo  $m/z$  602,39670,  $[\text{C}_{29}^{13}\text{CH}_{58}\text{O}_{10}^{23}\text{Na}]^+$ , constitui de uma família de agentes tensoativos etoxilados vendidos sob o nome comercial de Surfynol. Surfynol é usado para melhorar a qualidade de tintas à base de água em cartuchos de impressora jato de tinta[144, 145] e têm diversas aplicações na composição destas[146]. As Tabelas 4, 5, 6, 7 e 8 representam nonoxinol-9 protonado, aduto de Nonoxinol-9 amoniado, aduto de Nonoxinol-9 sodiado, aduto de Nonoxinol-9 potassiado e Surfynol sodiado, respectivamente, adquiridos na distribuição gaussiana da Figura 23C, mostrando a  $m/z$  experimental, a abundância relativa dos íons adquiridos, a  $m/z$  teórica exata esperada, o erro e a fórmula predita. A elevada exatidão das medições de  $m/z$  por EASI(+)-FT-ICR MS, o que não é essencial para a investigação forense de rotina, foi útil aqui, pois foram identificadas

as fórmulas moleculares da maioria dos marcadores nas áreas de inserção de dados falsos.

**Tabela 4.** Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para no documento falso (Figura 23B) relacionado ao Nonoxynol-9 protonado.

<i>m/z</i>	Abundância Relativa	Massa teórica	Erro (ppm)	Formula predita
441.32192	3.01	441.3211	1.94	C <sub>25</sub> H <sub>45</sub> O <sub>6</sub>
485.34812	7.64	485.3473	1.72	C <sub>27</sub> H <sub>49</sub> O <sub>7</sub>
529.37442	13.11	529.3735	1.75	C <sub>29</sub> H <sub>53</sub> O <sub>8</sub>
573.40066	14.43	573.3997	1.66	C <sub>31</sub> H <sub>57</sub> O <sub>9</sub>
617.42702	11.16	617.4259	1.78	C <sub>33</sub> H <sub>61</sub> O <sub>10</sub>
661.45323	7.76	661.4521	1.65	C <sub>35</sub> H <sub>65</sub> O <sub>11</sub>
705.47732	2.31	705.4784	1.47	C <sub>37</sub> H <sub>69</sub> O <sub>12</sub>
749.50629	2.12	749.5046	2.3	C <sub>39</sub> H <sub>73</sub> O <sub>13</sub>
793.53071	1.39	793.5308	0.09	C <sub>41</sub> H <sub>77</sub> O <sub>14</sub>
837.55427	1.00	837.5570	3.25	C <sub>43</sub> H <sub>81</sub> O <sub>15</sub>

**Tabela 5.** Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para no documento falso (Figura 23B) relacionado ao Nonoxynol-9 amoniado.

<i>m/z</i>	Abundância Relativa	Massa teórica	Erro (ppm)	Formula predita
590.42732	42.87	590.4263	1.80	C <sub>31</sub> H <sub>56</sub> O <sub>9</sub> NH <sub>4</sub>
634.45358	61.58	634.4525	1.74	C <sub>33</sub> H <sub>60</sub> O <sub>10</sub> NH <sub>4</sub>
678.47984	72.80	678.4787	1.69	C <sub>35</sub> H <sub>64</sub> O <sub>11</sub> NH <sub>4</sub>
722.50616	65.57	722.5049	1.74	C <sub>37</sub> H <sub>68</sub> O <sub>12</sub> NH <sub>4</sub>
766.53242	51.56	766.5311	1.70	C <sub>39</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub> NH <sub>4</sub>
810.55871	39.40	810.5573	1.70	C <sub>41</sub> H <sub>76</sub> O <sub>14</sub> NH <sub>4</sub>
854.58498	27.22	854.5836	1.68	C <sub>43</sub> H <sub>80</sub> O <sub>15</sub> NH <sub>4</sub>
898.61152	17.36	898.6098	1.95	C <sub>45</sub> H <sub>84</sub> O <sub>16</sub> NH <sub>4</sub>
942.63813	12.69	942.6360	2.28	C <sub>47</sub> H <sub>88</sub> O <sub>17</sub> NH <sub>4</sub>

**Tabela 6.** Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para no documento falso (Figura 23B) relacionado ao Nonoxynol-9 sodiado.

<i>m/z</i>	Abundância Relativa	Massa teórica	Erro (ppm)	Formula predita
507.33012	57.12	507.3292	1.77	C <sub>27</sub> H <sub>48</sub> O <sub>7</sub> Na
551.35638	80.65	551.3554	1.71	C <sub>29</sub> H <sub>52</sub> O <sub>8</sub> Na
595.38266	89.27	595.3817	1.69	C <sub>31</sub> H <sub>56</sub> O <sub>9</sub> Na
639.40897	100.00	639.4079	1.72	C <sub>33</sub> H <sub>60</sub> O <sub>10</sub> Na
683.43529	91.98	683.4341	1.76	C <sub>35</sub> H <sub>64</sub> O <sub>11</sub> Na
727.46161	70.39	727.4603	1.80	C <sub>37</sub> H <sub>68</sub> O <sub>12</sub> Na
771.48779	58.89	771.4865	1.66	C <sub>39</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub> Na
815.51407	45.97	815.5127	1.65	C <sub>41</sub> H <sub>76</sub> O <sub>14</sub> Na
859.54049	32.29	859.5389	1.79	C <sub>43</sub> H <sub>80</sub> O <sub>15</sub> Na
903.56684	22.47	903.5652	1.87	C <sub>45</sub> H <sub>84</sub> O <sub>16</sub> Na
947.59291	16.18	947.5914	1.62	C <sub>47</sub> H <sub>88</sub> O <sub>17</sub> Na

**Tabela 7.** Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para no documento falso (Figura 23B) relacionado ao Nonoxynol-9 potassiado.

<i>m/z</i>	Abundância Relativa	Massa teórica	Erro (ppm)	Formula predita
523.30406	18.38	523.3032	1.72	C <sub>27</sub> H <sub>48</sub> O <sub>7</sub> K
567.33034	46.55	567.3294	1.69	C <sub>29</sub> H <sub>52</sub> O <sub>8</sub> K
611.35661	83.73	611.3556	1.66	C <sub>31</sub> H <sub>56</sub> O <sub>9</sub> K
655.38292	98.95	655.3818	1.71	C <sub>33</sub> H <sub>60</sub> O <sub>10</sub> K
699.4092	90.39	699.4080	1.68	C <sub>35</sub> H <sub>64</sub> O <sub>11</sub> K
743.43561	74.41	743.4342	1.85	C <sub>37</sub> H <sub>68</sub> O <sub>12</sub> K
787.46201	58.40	787.4605	1.98	C <sub>39</sub> H <sub>72</sub> O <sub>13</sub> K
831.48821	44.93	831.4867	1.86	C <sub>41</sub> H <sub>76</sub> O <sub>14</sub> K
875.51461	30.51	875.5129	1.97	C <sub>43</sub> H <sub>80</sub> O <sub>15</sub> K
919.54102	21.01	919.5391	2.10	C <sub>45</sub> H <sub>84</sub> O <sub>16</sub> K
963.56758	16.04	963.5653	2.36	C <sub>47</sub> H <sub>88</sub> O <sub>17</sub> K

**Tabela 8.** Massa exata, abundância relativa, erro de massa, formula molecular e formula molecular provável proposta para o íons referentes ao campo fotografia do condutor para no documento falso (Figura 23B) relacionado ao Surfynol sodiado.

<i>m/z</i>	Abundância Relativa	Massa teórica	Erro (ppm)	Formula predita
425.28805	3.01	425.2874	1.63	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>6</sub> Na
469.31441	7.47	469.3136	1.78	C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O <sub>7</sub> Na
513.34053	12.04	513.3398	1.44	C <sub>26</sub> H <sub>50</sub> O <sub>8</sub> Na
557.36693	19.00	557.3660	1.66	C <sub>28</sub> H <sub>54</sub> O <sub>9</sub> Na
601.39329	22.22	601.3922	1.79	C <sub>30</sub> H <sub>58</sub> O <sub>10</sub> Na
645.41951	23.04	645.4184	1.66	C <sub>32</sub> H <sub>62</sub> O <sub>11</sub> Na
689.44577	16.55	689.4447	1.63	C <sub>34</sub> H <sub>66</sub> O <sub>12</sub> Na

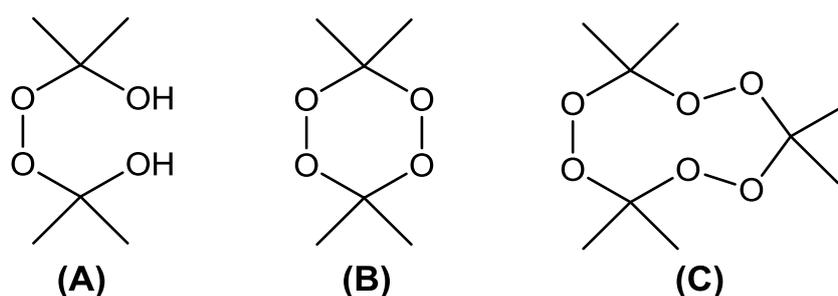
#### 4.5. CONCLUSÃO

Neste estudo de caso forense em análise de documentos, CNHs brasileiras foram analisadas por EASI(+)-MS, sendo apresentado um método de análise ao nível molecular, direto, rápido, robusto, não-destrutivo e confiável para triagem da autenticidade de documentos impressos apresentando falsificação por inserção de dados. A capacidade espacial de análise pontual da técnica EASI permitiu levantamentos dos perfis moleculares dos dados preenchedores dos documentos suspeitos e possibilidade de comparação molecular. Os documentos CNHs brasileiras autênticas revelaram um perfil químico dominado pelos plastificantes bis(2-etilhexil)ftalato e Dibutilftalato, característicos de outros documentos brasileiros como cédulas de R\$ e documentos veiculares CRLV. O documento CNH falso apresentou em relação ao seus dizeres preenchedores (fotografia e dados do condutor) espectro EASI-MS com distribuições oligoméricas separadas por 44 unidades de massas, sendo identificado os surfactes Surfynol® e Nonoxynol-9®, característico de impressão jato de tinta. Tais resultados sustentam a hipótese de desvio/furto/roubo de documentos espelhos das Instituições e inserção ilegal de dados, configurando aqui a prática de falsificação por inserção de dados. Finalmente o trabalho contribui para apresentação do desenho simples da fonte EASI utilizando peças de laboratório prontamente disponíveis e, portanto, podendo ser facilmente implementada na maioria dos espectrômetros de massa, utilizando fontes de API. Esta implementação rápida e de baixo custo em laboratórios forenses equipados com tais instrumentos permite análises complementares de documentos impressos questionáveis possível.

## 5.0. EXPLOSIVOS EM NOTAS

### 5.1. INTRODUÇÃO

O amplo e público conhecimento sobre a preparação de explosivos, principalmente com as ferramentas de disseminação da informação como a rede mundial de computadores, pode ser muito perigoso à sociedade. Mesmo com a comercialização de reagentes puros regulada pelo exército, os criminosos ainda obtêm protocolos sobre métodos de preparação de explosivos peróxidos com reagentes diluídos, diretamente da Internet, driblando o controle de químicos pelo exército. Embora apresentem desempenho inferior se comparados a outros explosivos (por exemplo, trinitrotolueno – TNT), os peróxidos explosivos cumprem os requisitos buscados pelos criminosos, de forma que triperóxido de triacetona (TATP) e diperóxido de diacetona (DADP) se tornaram os explosivos ilícitos preferidos dos “vagabundos” (Figura 24). Apelidado de “Mãe de Satanás”[147], o TATP é um explosivo sensível e de fácil produção, tradicionalmente empregado por organizações terroristas, mas também por “químicos de fundo de quintal” e produtores de medicamentos clandestinos e laboratórios ilegais de cocaína. É popular em atentados terroristas a bomba, tendo recentemente sido usados em artefatos explosivos improvisados devido a sua síntese simples, que utiliza precursores químicos de amplamente disponíveis, como acetona e peróxido de hidrogênio[148].



**Figura 24.** (A) 1,1'-dihidroxiopropil peróxido (DHPP), (B) diperóxido de diacetona (DADP) e (C) triperóxido de triacetona (TATP).

A maioria dos precursores para a síntese de explosivos peróxidos podem ser obtidos facilmente de farmácias locais[149]. O TATP foi descoberto por Richard Wolfenstein[150] em 1895 e existem muitos protocolos para sintetizar TATP e

DADP, tratando-se basicamente da mistura de acetona com peróxido de hidrogênio numa solução ácida[151] ou neutra[152] formando 1,1'-dihidroxipropil peróxido[153], um importante intermediário na rota de síntese do TATP (Figura 24).

Atualmente no Brasil, os criminosos têm utilizado TATP ou DADP para explodir caixas eletrônicas. Existem quatro razões principais para esses explosivos peróxidos serem tão atraentes para os criminosos: 1) são baratos e fáceis de produzir em grandes quantidades a partir de materiais não controlados (acetona e água oxigenada, por exemplo); 2) apresentam alto rendimento explosivo, possuindo cerca de 83% do poder o TNT; 3) ao contrário de outros explosivos comerciais como TNT ou RDX, eles podem ser detonados por espoletas ou outro detonador semelhante; e 4) são dificilmente detectáveis e rastreáveis por métodos tradicionais de análise de explosivos.

Nas ciências forenses e no campo específico da análise de explosivos, o TATP já foi detectado através da aplicação de várias técnicas e metodologias analíticas. Tanto a espectroscopia infravermelha quanto Raman[154, 155] foram utilizadas na análise forense não destrutiva destes explosivos, no entanto, elas apresentam desvantagens como alta demanda de processamento de dados, espectros muito semelhantes e ocorrência de efeitos de matriz. Tanto a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS)[156-160], quanto a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS)[161, 162] e a espectrometria de mobilidade iônica (IMS)[163-165] já foram reportadas na análise de TATP, embora os procedimentos de preparação de amostras geralmente gastem muito tempo, podendo resultar em danos irreversíveis à evidência forense, o que não é conveniente em aplicações deste tipo.

Nos últimos 10 anos foi desenvolvida fontes de ionização para MS ambiente[22, 33, 40]. Essas técnicas possibilitam a dessorção, ionização e caracterização por espectrometria de massas de substâncias voláteis e não voláteis diretamente em suas superfícies naturais e matrizes ao ar livre com pouca ou nenhuma preparação de amostras, o que faz com que seja uma ferramenta atrativa para a caracterização direta de explosivos em superfícies de objetos suspeitos, permitindo a preservação das amostras. Em buscas sobre o estado da arte, correlacionando MS ambiente e análise de peróxidos explosivos, foram levantado a aplicação DESI[166], DART[167] e EESI[168] para estudar explosivos TATP em diferentes superfícies. A aplicação destas técnicas ambientes de ionização em MS

para o rastreamento de explosivos mostrou detecção direta *in situ* de traços de TATP numa grande variedade de superfícies em diversas matrizes complexas, com sensibilidade no nível de nanograma, permitindo detectar com precisão explosivos de peróxido, ao contrário de outros métodos de cromatografia acoplados com detecção por MS.

## **5.2. OBJETIVOS**

Neste trabalho, EASI-MS foi utilizada para identificar explosivos diretamente em cédulas monetárias de Real (R\$) apreendidas em mãos de suspeitos de explosões de caixas eletrônicos.

## **5.3. EXPERIMENTAL**

Quatro cédulas apreendidas, suspeitas de serem originárias de explosões de caixas eletrônicos, com valor nominal de R\$50 (Figura 25), apreendidas pela Polícia Civil de São Paulo no poder de suspeitos, e repassadas Superintendência da Polícia Técnica Científica de São Paulo para perícia. O conjunto de notas, que foi apreendido em posse de indivíduos suspeitos, mostrava sinais de carbonização e destruição parcial (Figura 25). Do ponto de vista da Justiça, o principal quesito foi estabelecer se as cédulas são originárias de uma explosão de caixa eletrônico ou não, já que esse tipo de ataque havia ocorrido recentemente na região. Um conjunto triplicata de notas de banco com o mesmo valor nominal, R\$ 50, obtido em um banco local, foi analisado para produzir o perfil químico MS da cédula livre de suspeita de explosão.



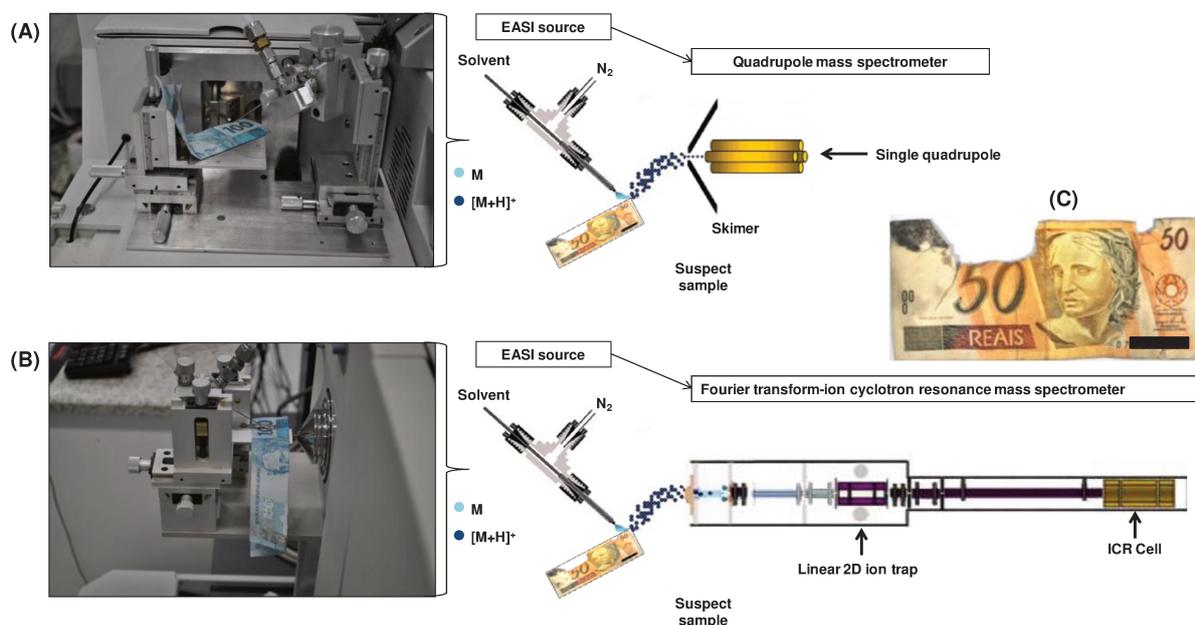
**Figura 25.** Cédulas monetárias de valor nominal R\$50 apreendidas pelas Polícia Civil de São Paulo em mãos de suspeitos e repassados à Superintendência da Polícia Técnica Científica de São Paulo para análise pericial e reposta à pergunta se apresentava explosivo e suas superfícies.

Neste trabalho foi procedido com a preparação do explosivo TATP seguindo o método de solução ácida (Figura 26 ): um frasco de fundo redondo de 500 mL foi mergulhado num banho de gelo seco; foram misturados 80 mL de peróxido de hidrogênio 40 vol. e 80 mL de solução de acetona 50%, adquiridas em uma farmácia local; em seguida, foi adicionado ácido muriático (HCl) comprado em uma loja de materiais de construção local. Após 24 horas em um congelador e resultando num precipitado claro a mistura foi filtrada. O TATP é um explosivo sensível e somente deve ser preparado por pessoal qualificado, tomando as medidas de segurança adequadas. A ignição do TATP na superfície das cédulas teste foi procedido adicionando 3 mg do explosivo sintetizado na superfície da cédula e inserção de uma fonte calor (resistência elétrica) ocorrendo a explosão.



**Figura 26.** Preparo do explosivo TATP.

Os espectros de massas EASI-MS foram adquiridos no modo positivo de análise em um equipamento monoquadrupolo (LCMS- 2010EV -Shimadzu Corp., Japan) e um equipamento de ressonância ciclôtrica de íons por transformada de Fourier, FT ICR-MS (LTQ FT Ultra Thermo Scientific, Bremen, Alemanha), respectivamente na janela de 100-1000  $m/z$  (Figura 27AB), conforme condições gerais descritas em “2. EXPERIMENTAL GERAL, 2.3. ANÁLISES: ESPECTROMETRIA DE MASSAS”.

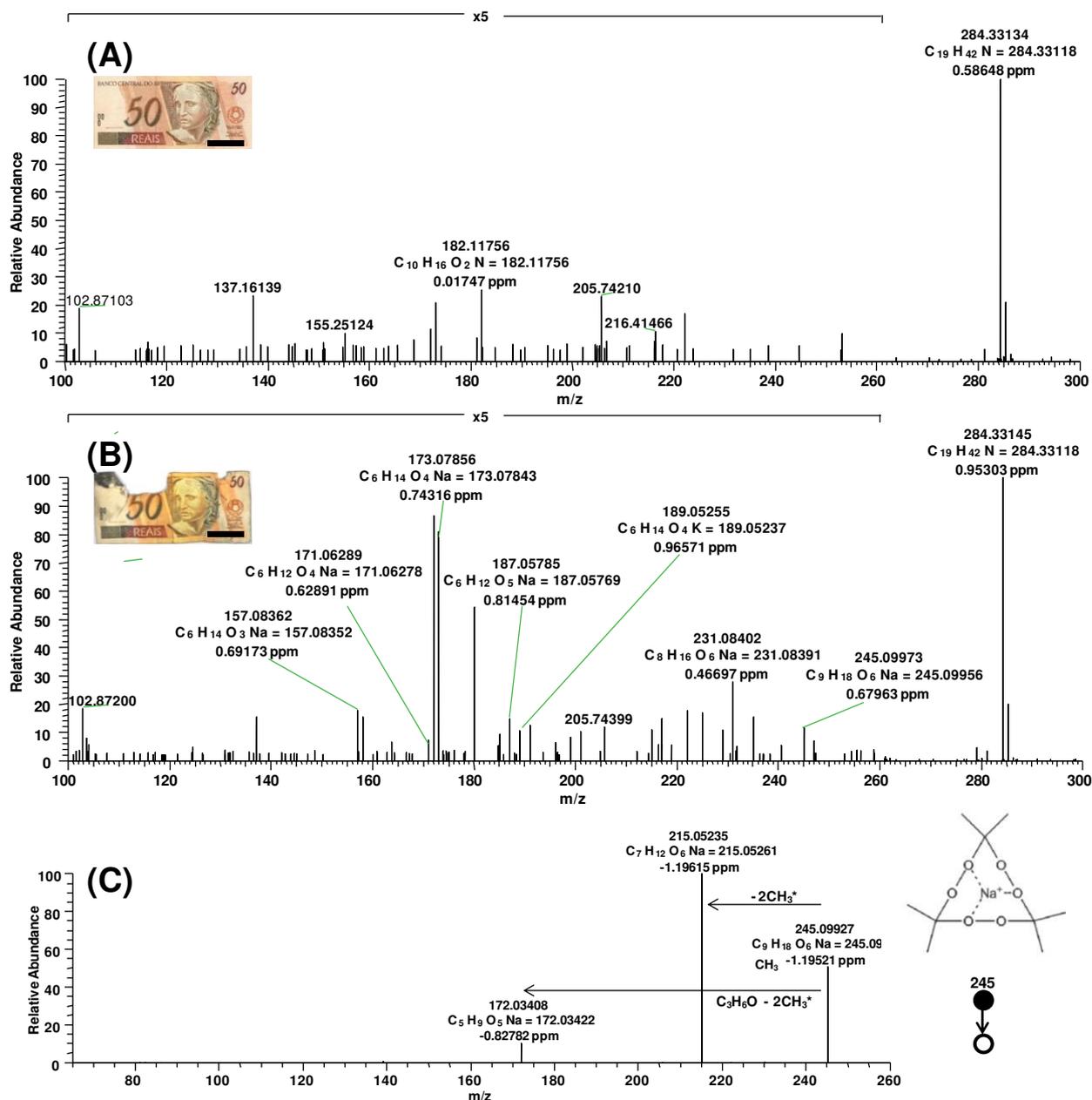


**Figura 27.** Esquema da ionização ambiente por *spray* sônico (EASI) para MS ambiente livre de voltagem, aplicada a amostras de cédulas suspeitas de serem originárias de explosões de caixas eletrônicos: (A) fonte EASI acoplada um espectrômetro de massas com quadrupolo simples em modo positivo de análise, EASI(+)-MS; (B) fonte EASI acoplada a um espectrômetro de massas de

ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier, em modo positivo de análise, EASI(+) FT-MS e (C) cédula suspeita apreendida.

#### 5.4. RESULTADOS

Primeiramente tanto as cédulas suspeitas quanto às cédulas de comparação foram analisadas se aplicando a fonte de ionização EASI acoplada a uma sistema FT-ICR MS de alta resolução e alta precisão (Figura 27B). Uma vez que a identificação inequívoca dos compostos aderidos às superfícies das cédulas bem como a definição sobre a existência de explosivos era exigida, utilizou-se primeiramente neste estudo o sistema EASI(+)-FT-ICR MS. A Figura 28A mostra espectros característicos e os íons observados para as cédulas controles livres de explosivos ou contaminação da superfície[77]. Considerando a amplitude de massa de 100-300  $m/z$  mostrada na Figura 28A, os espectros EASI(+)-FT-ICR MS da cédula de R\$50 controle reproduz o mesmo íon apresentado pelo documento CRLV[80] e CNH neste trabalho já abordado. Portanto a Figura 28A exibe o íon referente ao composto quaternário de amônio  $[C_{19}H_{42}N]^+$  único e intenso, com massa monoisotópica de 284,33118 e erro de 0,58648 ppm, e quando a região de massa de 100-260  $m/z$  foi ampliada por um fator cinco (5x) sobre a nota padrão, somente foram atribuídos sinais de fundo.



**Figura 28.** Espectros: (A) EASI(+) FT-ICR MS para a cédula de R\$50 controle, (B) EASI(+) FT-ICR MS para a cédula suspeita de explosão de caixa eletrônico, (C) ESI(+)-FT-ICR MS/MS para amostra TATP sintetizada conforme Figura 26.

A Figura 28B, referente à análise da cédula suspeita, apresenta o íon característico de  $m/z$  de 284, entretanto foram identificados íons com uma massa monoisotópica precisa de  $m/z$  245,09985 e  $m/z$  171,06278, que estão relacionadas ao aduto trímero cíclico TATP sodiado  $[C_9H_{18}O_6Na]^+$  e ao aduto dímero cíclico DADP

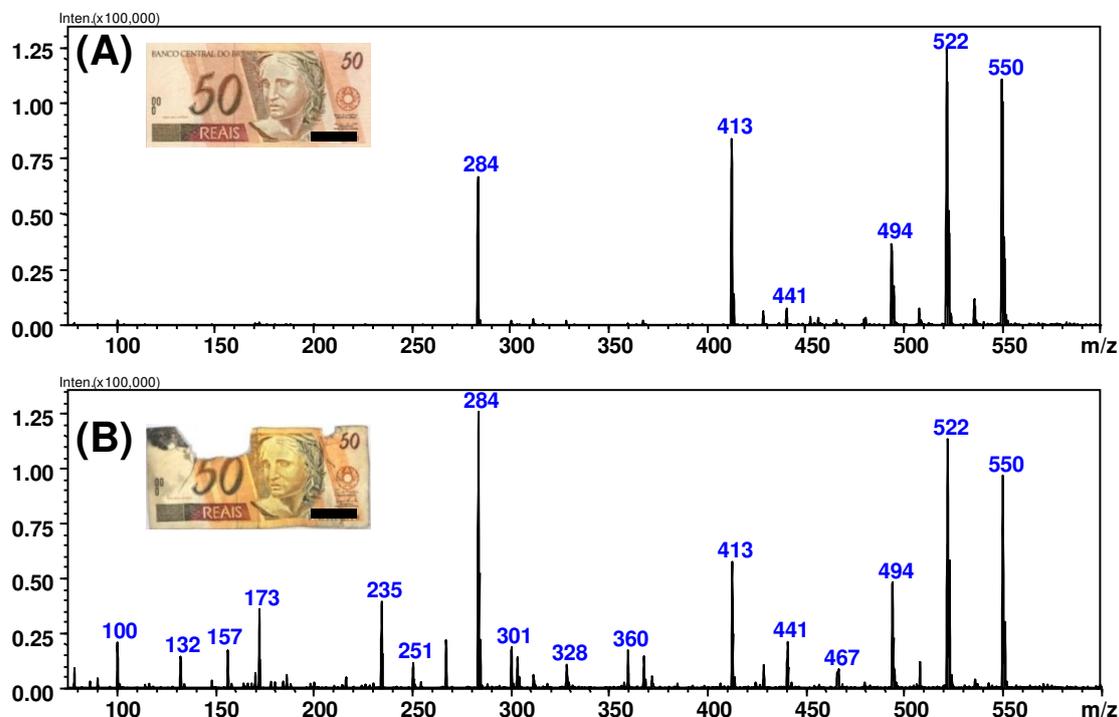
sodiado  $[C_6H_{12}O_4Na]^+$ . Esses adutos explosivos diagnosticados são registrados aqui através da MS de alta resolução, com erro de 0,67963 e 0,62891 ppm, confirmando, que as amostras de cédulas são provenientes de explosão de caixa eletrônico com uso de um explosivo baseado em TATP. As massas monoisotópicas precisas dos íons de  $m/z$  173,07856 e  $m/z$  189,05237 foram atribuídas às fórmulas  $[C_6H_{14}O_4Na]^+$  e  $[C_6H_{14}O_4K]^+$ , com erro de menos de 1,0 ppm, consistindo na observação de aduto DHPP sodiado e potassiado (Figura 24). Esse composto foi relatado por Antonovskii et al[152] na síntese de TATP. A observação de DHPP confirma, assim, a rota de síntese doméstica de TATP, provavelmente em laboratórios clandestinos. Os íons EASI(+)-FT-ICR MS do espectro da Figura 28B adquiridos para a amostra forense estão relacionados na Tabela 9. A Figura 28C descreve o modo de íon positivo ESI(+)-FT-ICR MS/MS para TATP sintetizado sendo atribuída ao íon de  $m/z$  245,09927 para TATP sodiado;  $m/z$  215,05235 constituindo o TATP sodiado seguido de duas perdas de metil e o  $m/z$  172,03408 relacionado à perda de cetona ( $C_2H_6O$ ) e metil. Esses íons fragmentos produzidos em ESI(+)-FT-ICR MS/MS de TATP não foram observados pelo EASI(+)-FT-ICR MS na amostra real na Figura 28C.

**Tabela 9.** Íons diagnósticos, formulas atribuídas e erro previsto através de EASI(+)-FT-ICR MS para a Figura 3B, cédula suspeita apreendida

<i>m/z</i>	Relativo (%)	Massa	Erro (ppm)	Composição	Identificação
171.06289	1.47	171.06278	0.62891	$[C_6H_{12}O_4Na]^+$	DADP
173.07856	16.58	173.07843	0.74316	$[C_6H_{14}O_4Na]^+$	DHPP Sodiado
189.05255	2.14	189.05237	0.96571	$[C_6H_{14}O_4K]^+$	DHPP Potassiado
222.10869	3.55	222.10979	4.93242	$[C_9H_{18}O_6]^+$	TATP
245.09973	2.41	245.09956	0.67963	$[C_9H_{18}O_6Na]^+$	TATP Sodiado
284.33145	100	284.33118	0.95303	$[C_{19}H_{42}N]^+$	Sinal da cédula

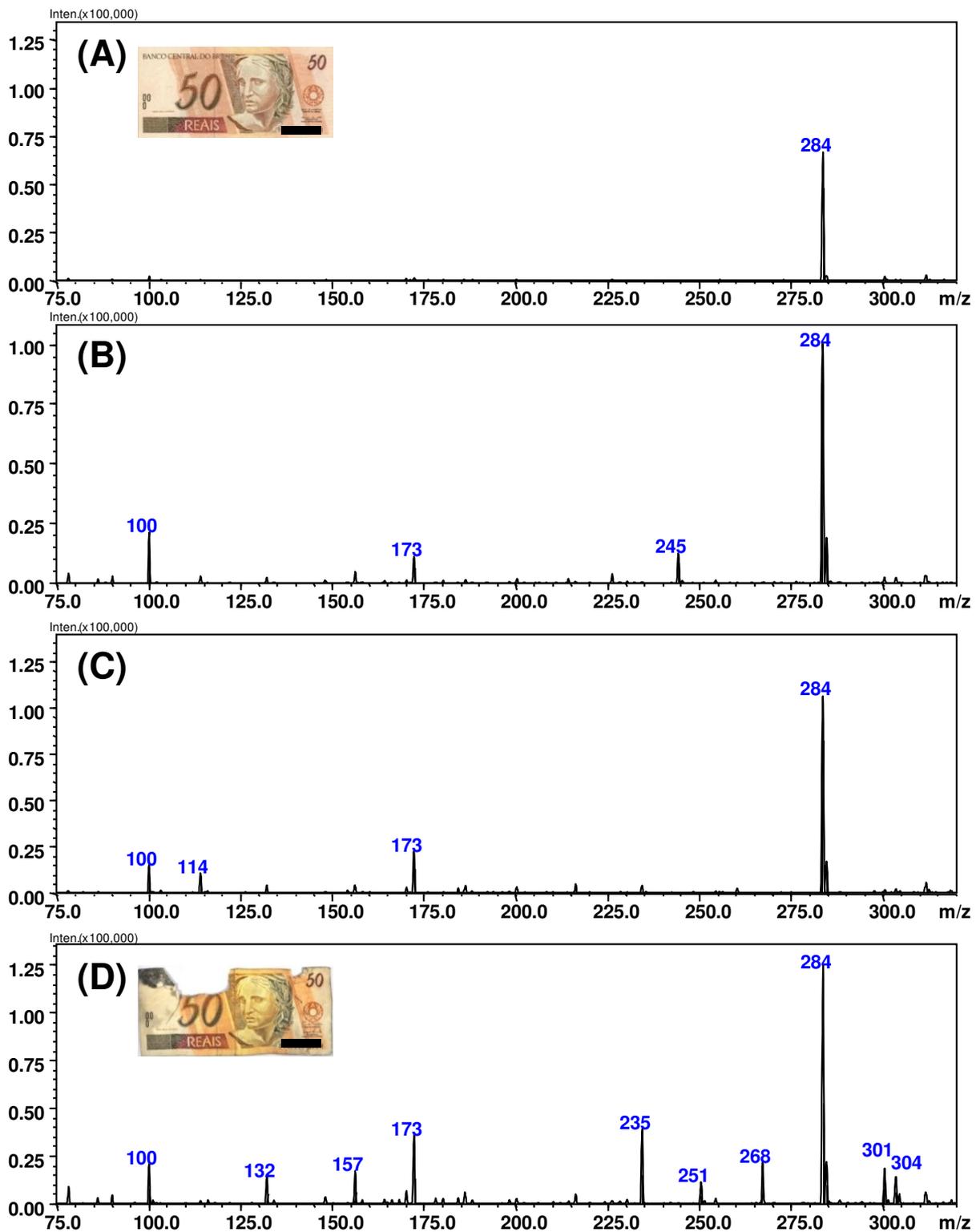
O uso de um espectrômetro de massas de alta resolução para rastreamento de explosivos não é comum em um laboratório forense convencional devido ao alto custo e operação relativamente complexa, mas pode ser usado para estabelecimento de método como realizado neste estudo. Os perfis químicos das cédulas normais e das cédulas suspeitas foram obtidos em modo positivo de análise através de EASI(+)-MS em um sistema MS quadrupolar normalmente encontrado em laboratórios forenses convencionais (Figura 29ABC). A posição carbonizada na

superfície das cédulas suspeitas foi analisada e o espectro de massas ilustradas na Figura 27C. Diferentes perfis químicos foram obtidos ao comparar notas controle e notas suspeitas conforme ilustra Figura 29. A região de  $m/z$  100 a  $m/z$  300 mostra uma variedade de íons diagnosticados relacionados à nota suspeita na Figura 29B.



**Figura 29.** Perfis químicos obtidos por EASI(+) MS entre 75-600  $m/z$  para (A) cédulas normais e (B) cédulas suspeitas de explosão de caixa eletrônico.

A Figura 29BB apresenta o mesmo perfil obtido por EASI(+) FT-ICR-MS para uma nota suspeita, mostrando o íon de  $m/z$  173, DHPP, e o íon de baixa intensidade de  $m/z$  171 (DADP) relacionado à produção doméstica de TATP. Amostras de TATP foram sintetizadas no laboratório Thomson, como citado no tópico “6.3. EXPERIMENTAL”, Figura 26. A Figura 30 mostra perfis EASI(+)-MS comparando a possível contaminação por TATP na superfície da cédulas, confirmando que os íons de  $m/z$  173 e  $m/z$  171 são marcadores diagnósticos da produção doméstica desse explosivo, após a explosão, podendo ser caracterizados por EASI(+)-MS.



**Figura 30.** EASI(+) MS em amplitude de 75-320  $m/z$  para (A) cédula livre de contaminação, (B) TATP sintetizado sobre a cédula; (C) TATP sintetizado explodido sobre a cédula, e (D) notas suspeitas de serem oriundas de explosão caixa eletrônico.

## 5.5. CONCLUSÃO

Neste trabalho, a análise de cédulas suspeitas revelou que o TATP foi usado por criminosos na explosões de caixas eletrônicos. Mostrou-se aqui que, aplicando-se a fonte de ionização EASI é possível obter um perfil químico relacionando os íons de  $m/z$  171, 173 e 245 à presença de explosivos TATP na superfície de uma amostra suspeita. A técnica EASI é uma fonte versátil de ionização para a análise de superfícies suspeitas, sem necessidade de pré tratamento das amostras ou dano, e pode ser utilizada num espectrômetro de massas quadrupolo simples para rastreamento, aplicado à identificação do explosivo TATP. A fonte EASI é muito simples e pode ser implementada com muita facilidade, pois não exige aquecimento, alta voltagem, laser, radiação ultravioleta, descargas corona, podendo ser acoplada em espectrômetros de massa simples ou sofisticados, como mostrado aqui, permitindo sua implementação em laboratórios forenses como análise completar a análises de rotina.

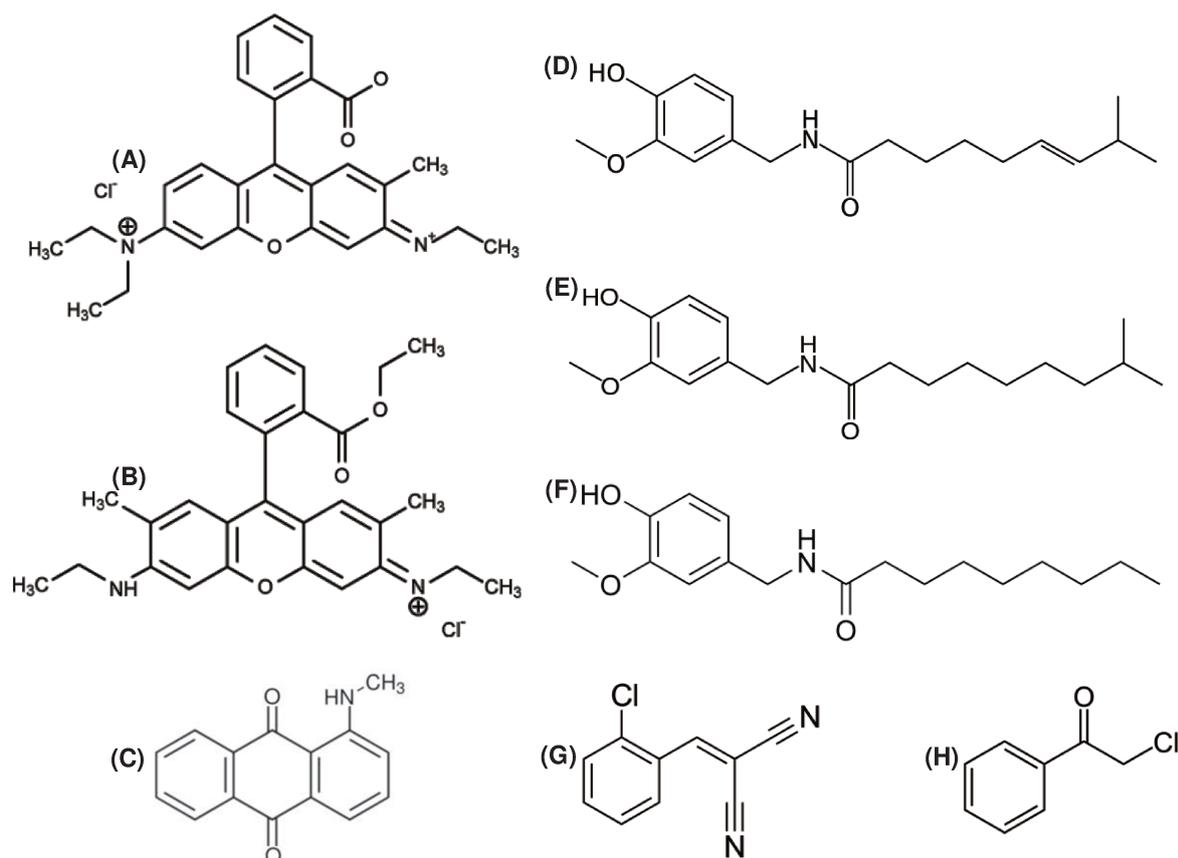
## 6.0. DISPOSITIVO ANTI-FURTO

### 6.1. INTRODUÇÃO

O crescimento de roubos em bancos e caixas eletrônicos no Brasil nos últimos anos tem preocupado as autoridades[65, 169]. Considerando as consequências sociais negativas, são bem-vindos todos os esforços empreendidos para enfrentar tais crimes. Tintas antifurto e pacotes de corantes de segurança de bancos são geralmente usados em dispositivos antifurto, do inglês *antitheft devices* (ATDs), para prevenir assaltos a caixas eletrônicos[170, 171]. Os caixas eletrônicos são ativados durante o roubo, criando uma nuvem de partículas de corante ou líquido. Essa nuvem ou líquido tem o objetivo de causar manchas nas cédulas roubadas e nas roupas, sapatos e outros objetos pertencentes aos criminosos.

Manchas de dispositivos antifurto nas cédulas roubadas tornam as cédulas intransferíveis, perdendo, conseqüentemente, seu valor[65]. Assim os criminosos geralmente tentam – e frequentemente conseguem – lavar as notas manchadas, desta forma, métodos analíticos hábeis a detectar traços invisíveis destes corantes antifurto são de valor inestimável para a detecção forense.

A extração e caracterização de corantes de segurança de cédulas de dólar americano lavadas já foi estudado com aplicação da técnica FTIR[172]. Técnicas baseadas em espectrometria de massas, incluindo GC-MS[173-175] e espectrometria de massa sequencial, MS/MS[176], também já foram aplicadas para caracterizar 1-metilaminoantraquinona (MAAQ), que é a tinta de segurança mais comumente utilizada no mundo (Figura 31C). Outros químicos empregados em dispositivos antifurto incluem produtos de *spray* de pimenta como capsaicina (Figura 31D), di-hidrocapsaicina (Figura 31E) e nonivamida (Figura 31F) [177], e variantes de gás lacrimogêneo como ortoclorobenzalmalononitrila (Figura 31G) bem como 2-cloroacetofenona (Figura 31H) [178]. Corantes da família da rodamina (Figura 31AB, rodamina B e rodamina 6G, respectivamente) também são utilizados como dispositivos antifurto[81], e espectrometria de massas de dessorção a laser (LDMS) já foi aplicada para detectar a caracterização de Vermelho Básico (do inglês *Basic Red*) 1:1 ( $m/z$  429) e Violeta Básico (do inglês *Basic Violet*) 11:1 ( $m/z$  457)[179].



**Figura 31.** Estruturas químicas dos principais corantes utilizados em dispositivos antifurto (A) rodamina B (RB); (B) rodamina 6G (R6G); (C) 1-metilaminoantraquinona (MAAQ); (D) capsaicina; (E) di-hidrocapsaicina; (F) nonivamida; (G) ortoclorobenzalmalononitrila e (H) 2-cloroacetofenona.

As técnicas forenses utilizadas para inspecionar a superfície de cédulas devem idealmente ser não-destrutivas, rápidas e simples, características preenchidas pela espectrometria de massas ambiente[40, 180, 181]. Para a análise dispositivos antifurto, DART-MS[30] já foi aplicada na identificação de MAAQ, ortoclorobenzalmalononitrila e capsaicina, e a EASI-MS revelou ser uma técnica adequada para inspeção de superfície de cédulas originárias de explosões de caixas eletrônicos que foram contaminadas pelo corante rodamina B[81]. O imageamento por espectrometria de massas (MSI) utilizando DESI, isto é, DES-MSI, também oferece uma abordagem inovadora na análise química forense de dispositivos antifurto, fornecendo informações espaciais e específicas sobre a composição química das superfícies alvo[28]. MSI também foi aplicada à química forense devido a sua alta especificidade química e uso relativamente fácil [28, 35, 55], por exemplo,

DESI-MSI já foi utilizado para inspecionar traços de tinta em documentos contestados[54] e produzir imagens de impressões digitais latentes com contaminantes forenses exógenos, isto é, explosivos e drogas ilícitas [53, 66].

## 6.2. OBJETIVOS

Verificar a capacidade da análise DESI-MSI de servir como método para identificar resíduos de dispositivos antifurto diretamente da superfície de cédulas brasileiras, produzindo imagens moleculares.

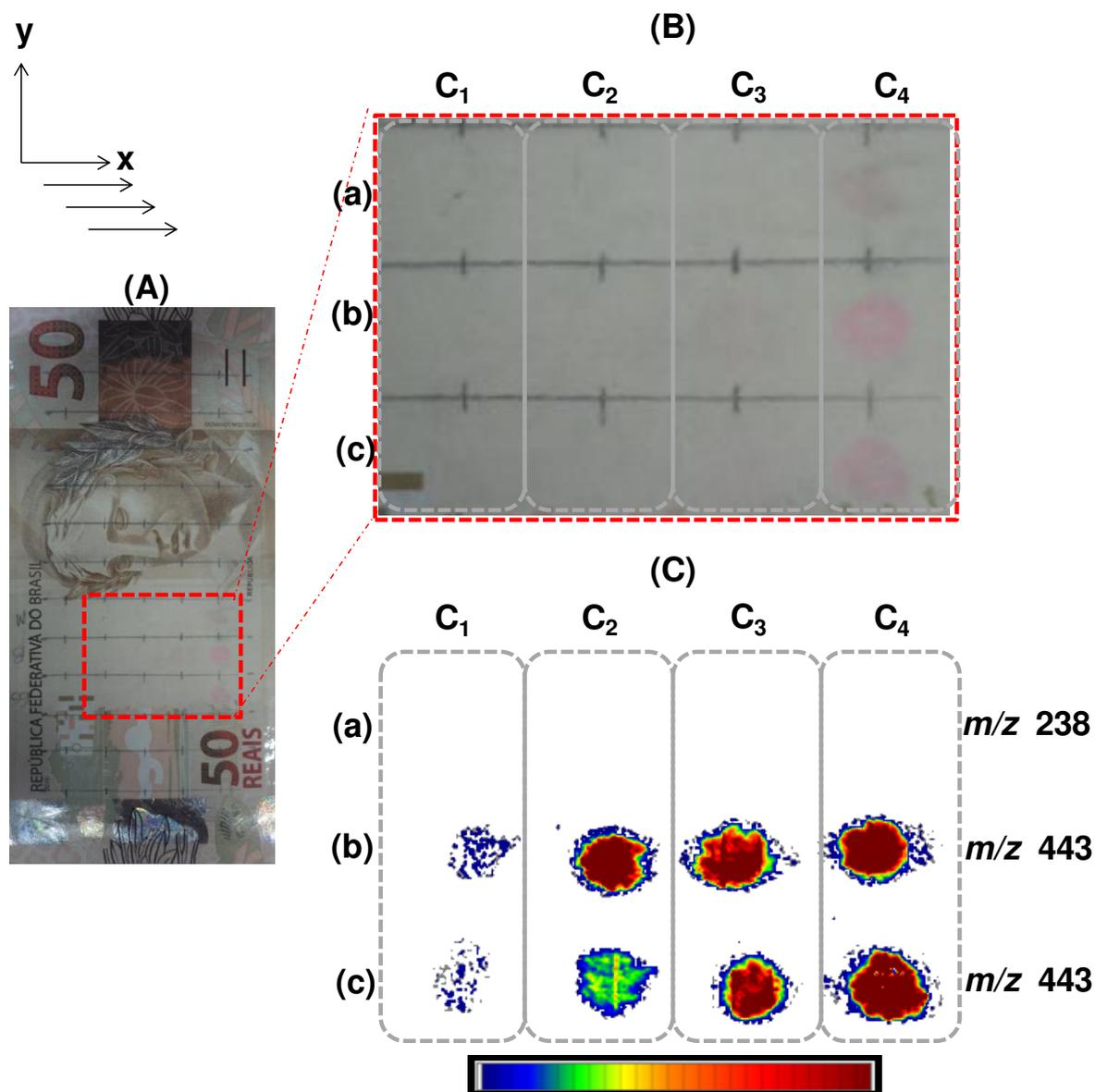
## 6.3. EXPERIMENTAL

MAAQ, R6G e RB foram adquiridos de Sigma-Aldrich, Brazil Ltd., com níveis de pureza de 98%, 95% e 95%, respectivamente. Uma cédula de valor nominal de R\$ 50 foi obtida de um banco local e utilizada no experimento que examinou uma contaminação produzida por dispositivo antifurto para avaliar o método DESI-MSI. A análise instrumental foi realizada utilizando um espectrômetro de massas Q-Exactive (Thermo Fisher Scientific – Alemanha) acoplado a um Omni Spray 2-D Ion Source (Prosolia – USA) para coleta de dados. A conversão de dados Firefly™ v.1.3.0.0 foi utilizada para gerar as imagens, que foram tratadas em BioMAp3804. Para a contaminação caseira por dispositivo antifurto, a análise MSI foi realizada com 50 passos, com tamanho de passo de 0,2  $\mu\text{m}$ , taxa de fluxo de 5,0  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  e velocidade de 700  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ .

## 6.4. RESULTADOS

A Figura 32 resume os procedimentos usados para testar a capacidade de DESI MSI para detectar dispositivos antifurtos diretamente a partir da superfície de uma cédula brasileira. A amostra foi colocada em uma plataforma 2D, que foi automaticamente movida sob a ponta do *spray* DESI para se analisar as áreas de interesse selecionadas. Foram criadas imagens *m/z* específicas da área da amostra mostrando a distribuição espacial da abundância do íon selecionado. A cédula foi contaminada com 2  $\mu\text{L}$  de três corantes antirroubo frequentemente utilizados no mundo (MAAQ, RB e R6G) em quatro concentrações diferentes. A aplicação de cada 2  $\mu\text{L}$  de soluções de corante produziu uma mancha redonda de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro (0,25  $\text{cm}^2$ ), que resultou em concentrações de

aproximadamente  $C_1=0,001$ ,  $C_2= 0.05$ ,  $C_3= 0,2$  e  $C_4= 1,0 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ , respectivamente, Figura 32.



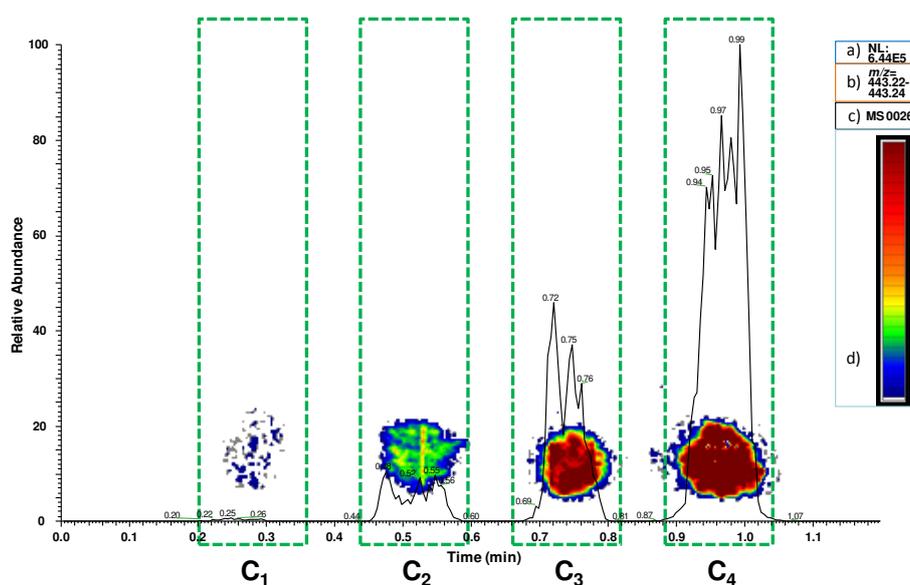
**Figura 32.** (A) Fotografia da cédula utilizada, (B) área analisada selecionada (C) imagem DESI-MSI. Os corantes analisados foram (a) MAAQ, (b) RB e (c) R6G, e os corantes são representados por  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  e  $C_4$ , que correspondem a concentrações de 0.001, 0.05, 0.2 and  $1.0 \mu\text{g cm}^{-2}$ , respectivamente. As setas no canto superior esquerdo indicam direção x de varredura na produção da imagem.

O dispositivo móvel, então, escaneou toda a superfície da cédula selecionada e, posteriormente, essas manchas específicas (Figura 32B). Na Figura 32B, note-se

que só é possível observar a olho nu os corantes vermelhos quando as concentrações são relativamente altas: 1,0 e 0,2  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  em  $C_4$  e  $C_3$ , respectivamente, para os três dispositivos antifurtos estudados, em que MAAQ é visível aparentemente apenas em  $C_4$ .

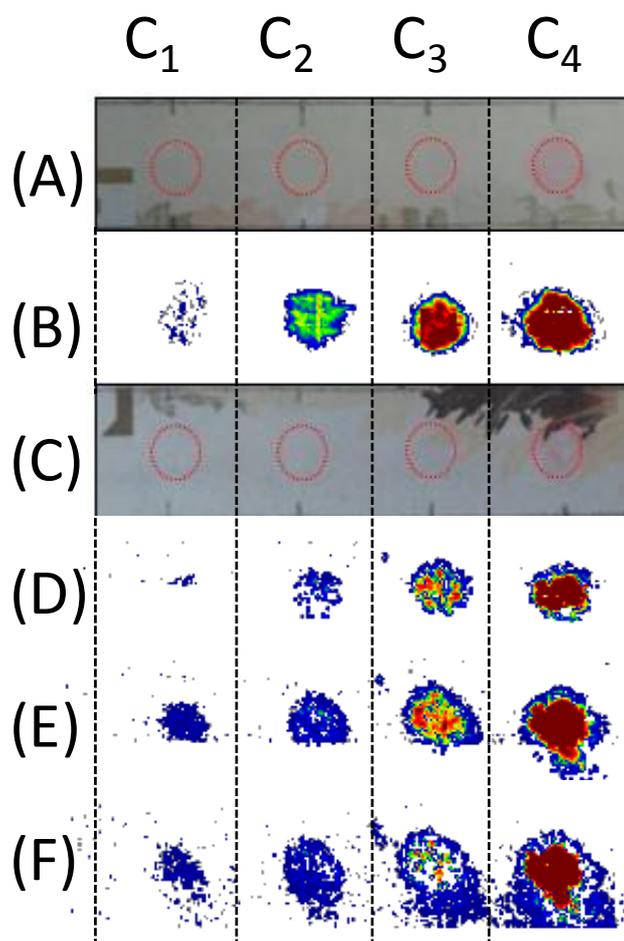
Utilizando DESI-MSI, entretanto, os corantes R6G ( $m/z$  443) e RB ( $m/z$  443) podem ser detectados com uma sensibilidade de até 0,005  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ . Porém, para MAAQ,  $[\text{M} + \text{H}]^+$  de  $m/z$  238 não foi detectado em nenhuma das concentrações testadas. Esses resultados indicam que tanto o corante R6B quanto o corante RB são facilmente desorvidos e identificados, enquanto que MAAQ é resistente a desorção/ionização durante o DESI e conseqüentemente nenhum sinal de íon é detectado.

Para ilustrar a detecção de sinal, a Figura 33 mostra a corrente total para o íon selecionado de  $m/z$  443 para R6G sobreposta a sua correspondente MSI quando analisada ao longo de uma linha que passa através do centro de cada mancha. Embora a corrente de íons possa ser relativamente baixa e perto de ruído, como observado para  $C_1$ , a coleta de uma imagem MS ainda é útil para uma investigação forense porque a imagem não deixa dúvida de que o corante residual invisível a olho nu a uma concentração tão baixa como 0,001  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  foi detectado e resolvido espacialmente.



**Figura 33.** Corrente extraída do íon de  $m/z$  443 para rodamina 6G em concentrações de 0,001 ( $C_1$ ), 0,05 ( $C_2$ ), 0,2 ( $C_3$ ) e 1  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  ( $C_4$ ).

Ao analisar uma cédula com vestígios invisíveis de contaminação de corante, não é possível determinar aparentemente qual dos lados foi contaminado. A Figura 34 demonstra que DESI-IMS é capaz de detectar R6G em concentrações tão baixas quanto  $0,001 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  tanto nos lados da frente como verso da cédula manchada, para R6G e respectivamente RB. De fato, a detecção para os versos na segunda execução DESI-IMS (Figura 34E) é mais efetivo, sendo observado na terceira varredura espalhamentos por conta da extração causada pelo solvente através da estrutura celulósica da cédula (Figura 34F).



**Figura 34.** Resultados da análise DESI-MSI para uma cédula contaminada com R6G em concentrações  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  e  $C_4$  ( $0,001$ ,  $0,05$ ,  $0,2$ , e  $1 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ , respectivamente): (A) contaminação frente da cédula, (B) DESI-MSI frente, (C) verso da cédula contaminada, (D) primeira análise DESI-MSI do verso da cédula, (E) segunda análise DESI-MSI do verso da cédula e (F) terceira análise DESI-MSI do verso da cédula.

Para demonstrar a aplicação da metodologia em casos reais de investigação forense, simulou-se uma contaminação durante uma explosão a um caixa eletrônico contaminando a superfície de uma nota com uma solução de RB, simulando a mancha por RB do dispositivo antifurto (Figura 35A). A cédula também foi lavada para remover a RB até ficar invisível a olho nu (Figura 35C). Note que DESI-IMS delineou com precisão a área contaminada por RB (Figura 35B) oferecendo detectabilidade após a lavagem (Figura 35D).



**Figura 35.** (A) Cédula real; (B) cédula contaminada com dispositivo antifurto; (C) resultados DESI-MSI da simulação; (D) cédula lavada e (E) DESI-MSI da cédula lavada.

## 6.5. CONCLUSÃO

DESI-MSI provou ser uma ferramenta forense poderosa na detecção dos corantes RB e R6G impregnados superfície de cédulas suspeitas de explosão de caixa eletrônico, sendo que mesmo traços invisíveis de RB e R6G podem ser detectados com clareza em concentrações da ordem de  $0,001 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ . RB e R6G são atualmente os corantes utilizados em ATDs de caixas eletrônicos no Brasil. A distribuição espacial das manchas registrada por DESI-MSI são características e esperados de explosões a caixas eletrônicos seguido de contaminação, com ou sem lavagem, excluindo, dessa forma, a contaminação por outros meios.

## 7.0. DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA VELDI

### 7.1. INTRODUÇÃO

Técnicas de dessorção/ionização por *eletrospray* (ESI)[17] e dessorção/ionização por *sonic spray* (SSI)[44, 45], DESI[28] e EASI[31], respectivamente, formam uma das principais classes de técnicas de MS ambiente, tendo uma ampla gama de aplicações. A dessorção, entretanto, depende da capacidade das gotículas de solventes polares dessorver eficientemente os analitos das superfícies alvo. Também restringem o uso de técnicas baseadas em *spray* a solubilidade limitada ou uma dinâmica mais lenta (como de proteínas e outras moléculas grandes), bem como a capacidade limitada das gotículas de solvente para penetrar na matriz e dessorver os analitos mais profundamente presos em seu interior (como por exemplo, no caso de plastificantes em polímeros ou tinturas em superfícies de celulose)[30].

Para superar essas dificuldades a LD foi proposta empregando fontes de laser comerciais de alta potência, para proporcionar maior dessorção dos analitos das superfícies supracitadas. A LD produz uma pluma contendo o vapor do analito sendo dispersa principalmente no fluxo de gotículas carregadas produzidas pela fonte de ionização ESI. Em se considerando ambiente MS, pode-se citar o desenvolvimento das seguintes técnicas de ionização: A ionização/dessorção a laser assistida por *eletrospray* (ELDI, do inglês *electrospray-assisted laser desorption ionization*)[32], ionização/dessorção a laser assistida por matriz (MALDESI, do inglês *matrix-assisted laser desorption electrospray ionization*)[182], ionização por *eletrospray* com auxílio de laser (LAESI, do inglês *laser-assisted ESI*)[183] e ionização de dessorção por *eletrospray* com auxílio de laser e temperatura (IR-LADESI, do inglês *infrared laser-assisted desorption ESI*)[184].

Como exemplo, ELDI-MS já foi aplicada a análises de fluídos biológicos secos (sangue, lágrimas, saliva, soro), culturas de bactérias e tecidos (fígado e corações suínos)[185], sendo reportado também aplicações em leite seco com diferentes níveis de gordura, diferentes regiões de pinturas, revestimentos de CDs (do inglês *compact discs*, recipientes de fármacos, tecido cerebral suíno[186], inclusive em monitoramento de reações químicas em curso para soluções orgânicas ou aquosas[187, 188].

A LD apresenta como suas principais vantagens a alta resolução espacial (de 100  $\mu\text{m}$  até 1  $\mu\text{m}$ )[186], degradação térmica reduzida com a energia de ablação (potência e amplitude de onda) ajustável e diversas fontes de laser disponíveis comercialmente. Entretanto, a pluma do analito gerada por ablação a laser deve ser criada o mais próximo possível das gotículas carregadas criadas por ESI e chegar ao *spray* por difusão em ambiente aberto. Assim a sensibilidade é reduzida devido à dispersão de moléculas gasosas dos analitos. Além disso, a fonte de íons deve ser consideravelmente modificada para possibilitar a acomodação da amostra perto da pluma de ESI e em um ângulo que permita uma LD adequada.

Para contornar as desvantagens da dispersão da pluma de analito em sistemas de ionização LD ambiente neste trabalho será explorado o efeito Venturi como alternativa viável e funcional. Efeito de Venturi é um efeito sifão útil que tem sido amplamente utilizado em muitos dispositivos analíticos. Ele ocorre quando um fluido de alta velocidade flui através de uma seção de tubo estreitada, causando uma redução da pressão do fluido e um efeito de autobombeamento. Recentemente este sistema foi usado para para se construir uma fonte V-EASI já tratado nesta tese[41].

## 7.2. OBJETIVOS

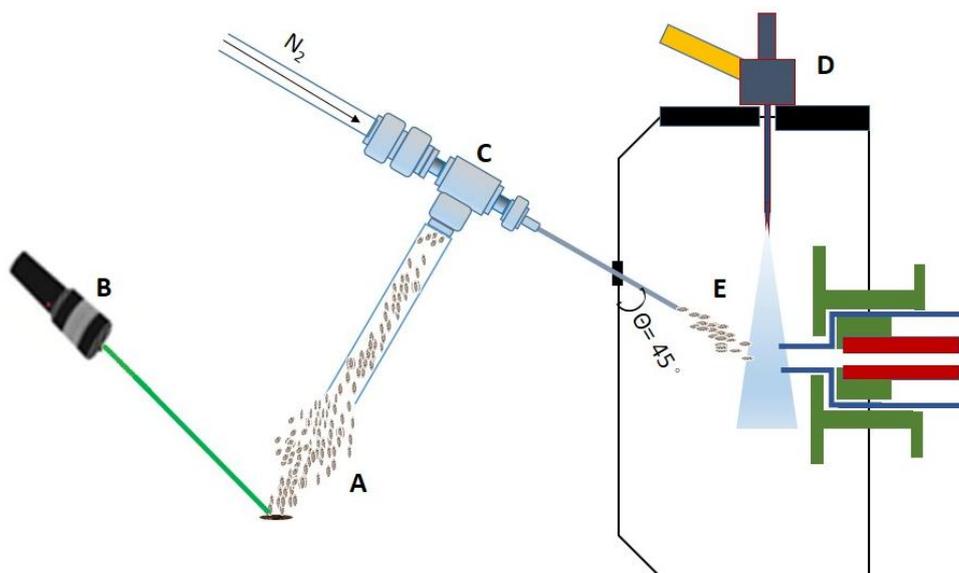
Aqui será descrito uma fonte de ionização por *eletrospray* com injeção por sistema Venturi (VELDI, do inglês *Venturi electrospray laser desorption ionization*), que permite uma LD remota sem comprometer a sensibilidade, além de aumentar a versatilidade da LD juntamente com ESI ou qualquer outra técnica baseada em *spray*, como EASI ou DESI, proporcionando, assim, um sistema mais versátil em que a espectrometria de massas ambiente pode ser executada. VELDI-MS foi testada para uma variedade de amostras representativas.

## 7.3. EXPERIMENTAL

Folhas de *Erythroxylum coca* e *Cannabis sativa*, comprimidos de metanfetaminas ecstasy e amostras de selos de LSD foram fornecidos pela Polícia Federal. Amostras de grãos de café e garrafas de PVC comercial foram adquiridas no comércio local. Pesticida (Imidacloprida) foi fornecido por Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Alemanha). As abelhas (*Apis mellifera*) foram criadas com o método adequado em colmeias padrão tipo Langstroth. O apiário usado como fonte de

organismos para teste está localizado em Porto Alegre, numa região de locais para recreação e agricultura de subsistência.

O sistema VELDI foi montado como descrito na Figura 36. O dispositivo de Venturi foi montado com peças de laboratório facilmente disponíveis para GC-MS. O fluxo de nitrogênio succiona a pluma LD concentrando os analitos dessorvidos e direcionando-os à pluma ESI. Para minimizar os custos através da construção de um aparato o mais simples possível, foi utilizada uma fonte de laser portátil de 500 mW e amplitude de onda de 532 nm (Green Laser Pointer Pen, China). Os espectros de massa foram obtidos utilizando um espectrômetro de massas FT-ICR MS (ThermoScientific, Bremen, Alemanha) e sua fonte comercial ESI. A ESI foi executada utilizando metanol com um fluxo de  $10 \mu\text{Lmin}^{-1}$ . Os espectros de massa foram registrados no modo positivo (VELDI(+)-FT-ICR MS) e negativo (VELDI(-)-FT-ICR MS) de análise, em uma faixa de  $m/z$  100-800 com potência de resolução  $50.000@400$  e erro menor que 1 ppm para possibilitar a determinação das fórmulas elementares.



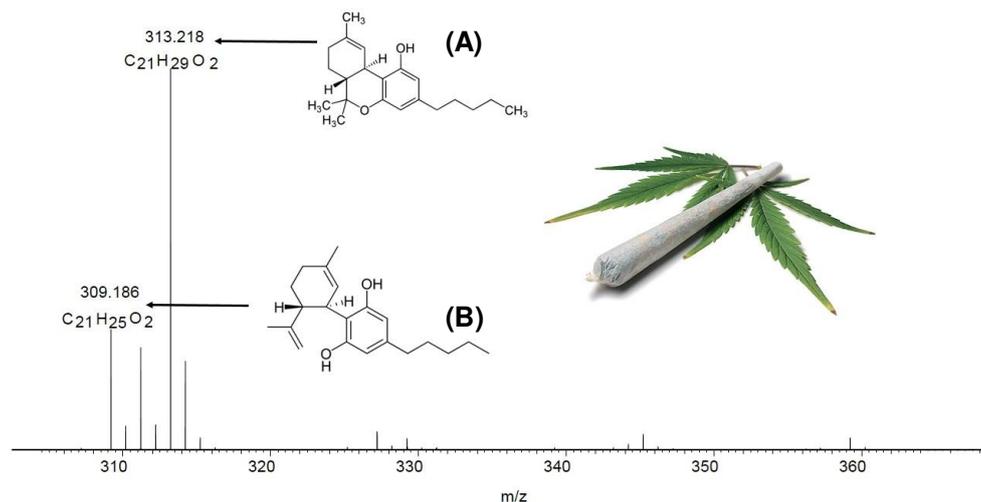
**Figura 36.** Esquema ilustrativos do sistema VELDI-MS: (A) pluma de analito, (B) laser, (C) sistema Venturi, (E) injeção analito e (D) sistema ESI.

## 7.4. RESULTADOS

No esquema VELDI ilustrado na Figura 36, note que não é exigida qualquer modificação para a fonte comercial de íons ESI do instrumento e que a interface VELDI pode ser conectada. No caso em questão, uma pequena janela de vidro foi

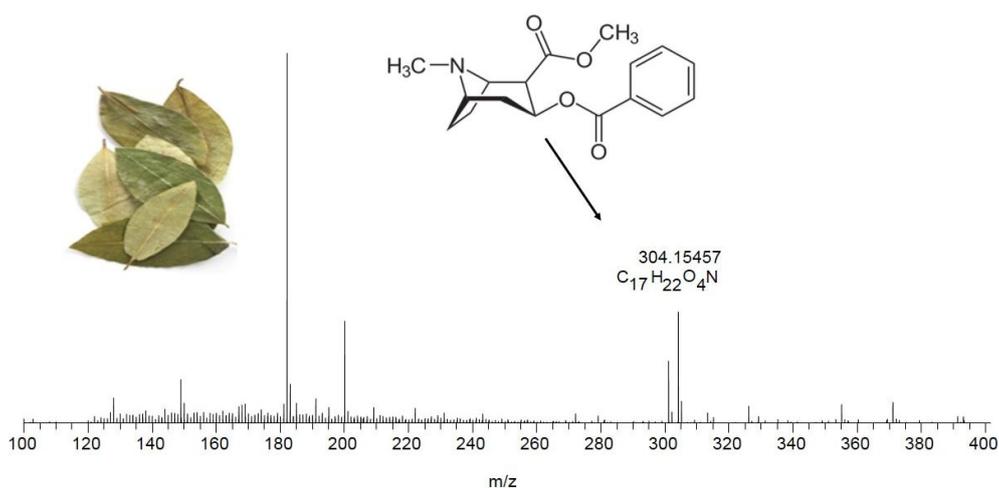
simplesmente removida para permitir a introdução do capilar VELDI. O fluxo do vapor do analito saído do capilar VELDI é direcionado ao fluxo ESI das gotículas carregadas, de maneira que neste sistema, otimizou-se um ângulo de aproximadamente 45° entre o fluxo ESI e o VELDI. Como ilustrado, a LD pode ser feita distante da ESI, trazendo grande versatilidade para o manuseio de diferentes tipos de amostras com formas e tamanhos diversos, mesmo em seus recipientes originais. Para testar a potencial aplicação geral e a sensibilidade do aparato VELDI, foram analisadas diversas amostras representativas dentro de um contexto forense.

A Figura 37 mostra a VELDI(-)-FT-ICR MS de uma folha de Cannabis, que é uma das drogas mais antigas e mais amplamente usadas no mundo. O  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC,  $[M - H]^-$  de  $m/z$  313) é o principal componente psicoativo presente na folha, seguido pelo isômero canabidiol (CBD,  $[M-H]^-$  de  $m/z$  313) e o subcomponente canabinol (CBN,  $[M-H]^-$  de  $m/z$  309). A relação  $\Delta^9$ -THC e CBD com CBN pode ser usada para medir a idade da folha e consequente rastreabilidade forense a partir de comparação de carregamentos e tráficos[189], o que normalmente é feito utilizando procedimentos de extração seguidos por análise cromatográfica[190] e já reportado em ambiente MS pela aplicação de espectrometria de massas por fotoionização à pressão atmosférica (DAPCI)[191] e espectrometria de massa com análise direta em tempo real (DART)[30]. O espectro VELDI(-)-FT-ICR MS mostrou dessorção e ionização eficientes dos três compostos de interesse forense marcadores da planta Cannabis diretamente da superfície da folha, sem tratamento amostral prévio, com a amostra forense distando cerca de 20 cm da pluma ESI para obtenção de espectros de massa no modo negativo de análise. A proporção  $\Delta^9$ -THC+CBD/CBN será objeto de futuros estudos e desenvolvimento de metodologia para auxílio em investigações criminais na rastreabilidade e comparação de apreensões.



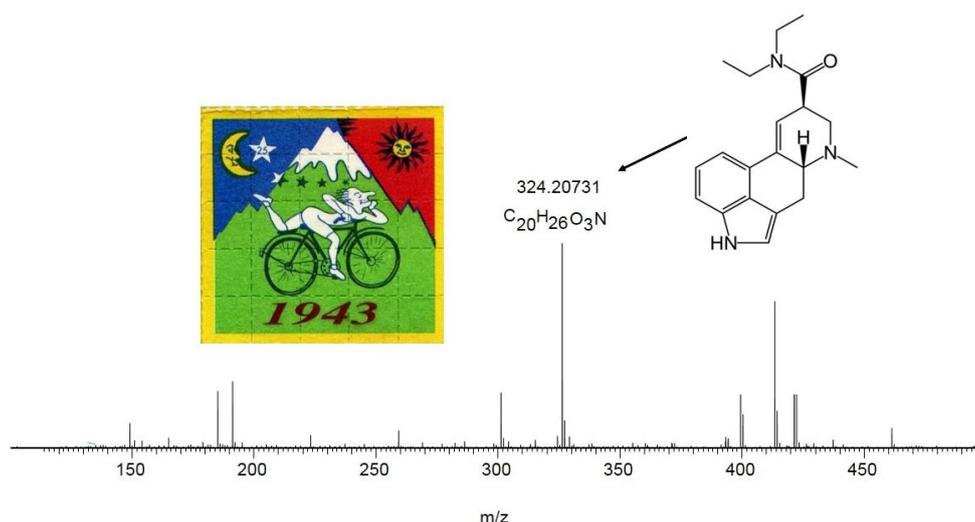
**Figura 37.** VELDI(-)-FT-ICR MS para uma folha de *Cannabis sativa*: (A) pico de  $m/z$  313 representando  $\Delta^9$ -THC e CBD e (B) pico de  $m/z$  309 representando CBD.

Amostras forenses de folhas de *Erythroxylum coca* também foram analisadas (Figura 38). A folha seca, que serve como fonte de uma importante droga psicotrópica natural contém cerca de 0,5 a 0,8% de cocaína em peso seco. A análise de cocaína a partir de folhas geralmente requer extrações[192] seguido de cromatografia[193-197]. A análise direta VELDI-MS da folha de coca mostra, assim como no caso da folha de Cannabis supracitada, uma dessorção e ionização eficiente do marcador cocaína ( $m/z$  304).



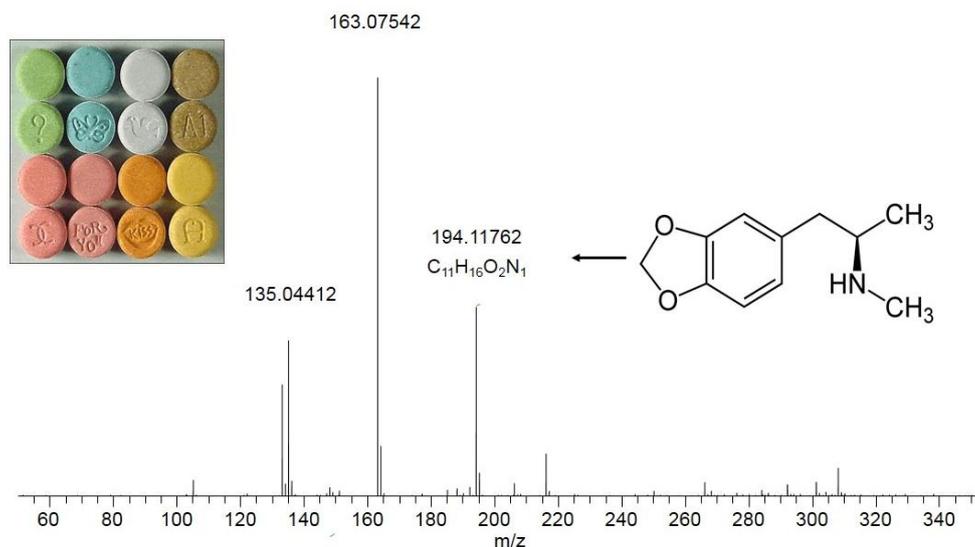
**Figura 38.** Espectros VELDI(+)-FT-ICR MS obtidos de folhas de *Erythroxylum coca*.

LSD, dietilamida do ácido lisérgico, é outra categoria psicotrópica amplamente consumida e apreendida[87]. É geralmente comercializado ilegalmente na forma de “selos”, isto é, pequenos fragmentos quadrados de papel que foram dopados com LSD[198]. Aqui caracterizado por VELDI(+)-FT-ICR MS e ilustrado na Figura 39. Os resultados obtidos diretamente do selo mostram o LSD protonado de  $m/z$  324 no modo positivo de análise.



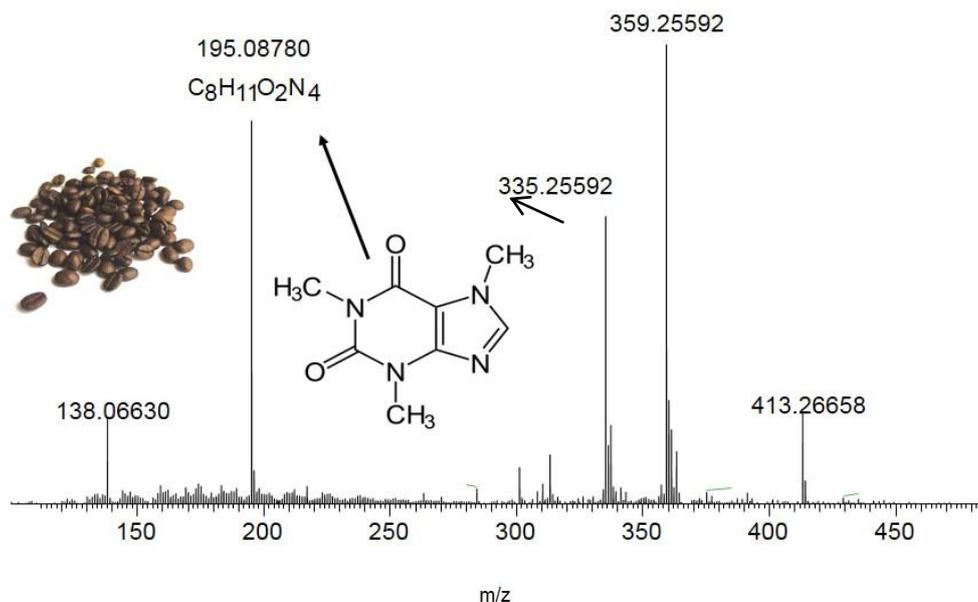
**Figura 39.** Espectros VELDI(+)-FT-ICR MS obtidos direta e remotamente de amostras de selos de LSD.

Comprimidos de ecstasy, constituindo conjunto de drogas estimulantes do sistema nervoso central muito utilizado em festas, ficaram populares no mundo todo entre os jovens. A principal e mais representativa molécula dessa classe de drogas, 3,4-metilenedioximetanfetamina (MDMA), já foi identificada com sucesso em tais comprimidos por várias técnicas de ambiente MS tal como EASI-MS[120] DESI-MS[28] e DART-MS[30], entretanto mas a superfície do comprimido deve ser raspada antes da análise devido o encapsulamento do psicotrópico. A penetração LD no sistema VELDI(+)-FT-ICR MS produz espectros de MDMA protonado representado pela massa exata de  $m/z$  194.11762 e seus fragmentos de  $m/z$  163.07542 e 135.04412 diretamente da amostra, Figura 40.



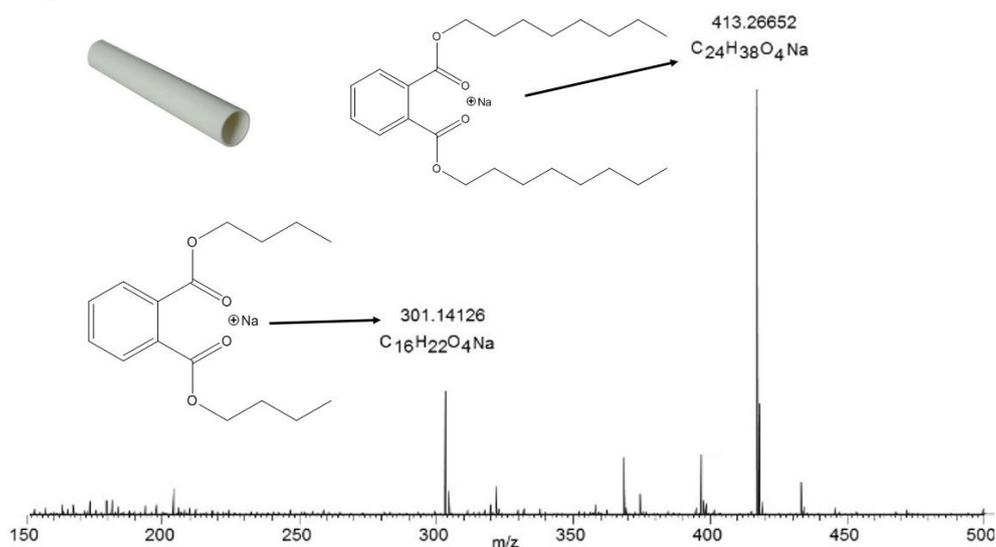
**Figura 40.** Espectros VELDI(+)-FT-ICR MS obtidos de amostras de comprimidos de MDMA.

A cafeína é o principal alcaloide de xantina biologicamente ativo, ocorrendo naturalmente nas plantas do café, chá, cacau e guaraná[199]. Embora a cafeína e outros marcadores da planta estejam presentes diretamente nas sementes de café, a distinção entre as variedades de café Arábica e Robusta se dá principalmente por preparo de amostra com extração seguida de injeção direta ESI-MS[133, 200]. Como ambiente MS, tem-se o exemplo de DART-MS utilizado para quantificar cafeína em grãos de café, entretanto se procedendo com extração[201]. Tanto a DESI-MS quanto a EASI-MS também foram aplicadas para a caracterização direta de grãos frescos de café[202], entretanto sendo reportado a dificuldade de se obter resultados de grãos torrados, o que é mais comum de se encontrar em produtos industrializados carentes de análise de qualidade. Nesta aplicação do sistema VELDI, uma impressão digital química, limpa e representativa de grãos de café torrados, é obtida através de VELDI(+)-FT-ICR MS (Figura 41). Notar a detecção de cafeína protonada de  $m/z$  195 e um fragmento de íon de  $m/z$  138 devido à perda de  $CH_3NCO$ [203].



**Figura 41.** Espectros VELDI(+)-FT-ICR MS obtidos de amostras de café Arábica torrado.

O rastreamento de aditivos em polímeros geralmente emprega extrações de solventes e purificação que consomem tempo e produção de resíduos. A VELDI-MS poderia, assim, proporcionar uma forma conveniente de caracterizar aditivos em materiais poliméricos. Para isso um tubo polimérico de policloreto de vinila (PVC)[204] foi analisado como prova de conceito por VELDI(+)-FT-ICR MS descrito na Figura 42. Notar a presença do íon abundante de 413,26664 correspondente à forma sodiada de ftalato de dietila [DOP-Na]<sup>+</sup> e um íon de 301,14134 menos abundante devido ao ftalato de dibutilo [DBP-Na]<sup>+</sup> sodiado.

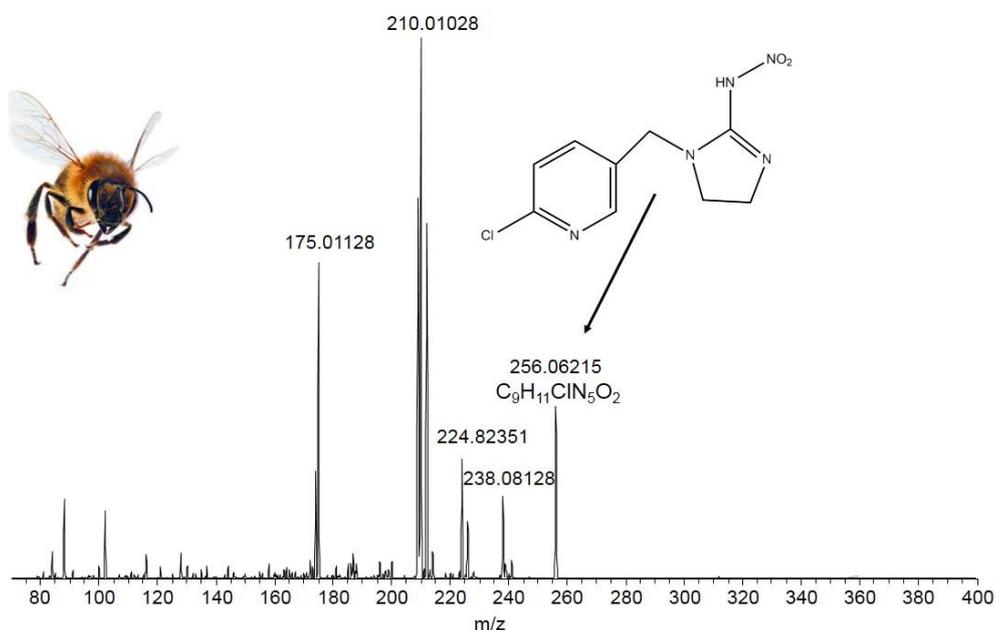


**Figura 42.** Espectros de VELDI(+)-FT-ICR MS aplicados à amostra de policloreto de vinila.

A imidacloprida é um inseticida neonicotinoide sistêmico que age na transmissão de impulsos nervosos nos insetos fitófagos mais nocivos. Devido à sua alta eficiência, seu uso está crescendo ao redor do mundo. É sabido que, na dosagem de campo, a imidacloprida, é altamente tóxica a quase todos os insetos, incluindo abelhas[205]. Recentemente, as Autoridades Europeias para a Segurança Alimentar (EFSA, do inglês *European Food Safety Authority*) identificou riscos de inseticidas neonicotinoides (inclusive imidacloprida) a abelhas. Dada à complexidade da matriz das abelhas, é necessário aplicar um método para se purificar a amostra, de forma a eliminar efeitos de matriz na análise. Alguns métodos empregados para a extração de pesticidas de matrizes complexas exigem procedimentos de separação líquido-líquido ou extração de fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) e posterior limpeza[206], o que acarreta alto consumo de solventes e longa duração de análise.

A Figura 43 mostra o espectro VELDI(+)-FT-ICR MS/MS da imidacloprida extraída por LD diretamente de abelhas contaminadas. Neste espectro, ainda é possível ver o íon protonado de imidacloprida em  $m/z$  256 e seus íons fragmentados importantes: o íon  $m/z$  175 procede da perda do radical  $\text{NO}_2$  que forma o  $m/z$  210, seguido por uma segunda perda radical de  $\text{Cl}$ ;  $m/z$  209 representando a perda do  $\text{HNO}_2$  de  $m/z$  256. Estes resultados mostraram que VELDI(+)-FT-ICR MS é uma

ferramenta potencial para o rastreo de pesticidas em abelhas e sendo aplicável a análise direta de amostras complexas das mais variadas matrizes.



**Figura 43.** Espectros VELDI(+)-FT-ICR MS obtidos da análise direta de pesticidas em abelhas.

## 7.5. CONCLUSÃO

O sistema de injeção e ionização de amostra VELDI-MS aqui proposto foi bem sucedido nas aplicações mostradas, pois fornece resultados iguais ou superiores aos já estabelecidos na literatura para os sistemas estudados. Ao eliminar a etapa de preparo de amostra, o método se revela interessante às aplicações das ciências forenses e à aplicação à evidências remanescentes de cenas de crime. Este sistema permite a aquisição de um perfil químico de uma amostra, podendo-se confrontar com outra amostra de interesse criminal, assim excluindo ou incluindo um veículo na cena de crime (atropelamento, por exemplo) devido aos estilhaços de tinta ou plásticos deixados no momento do fato. A gama de potencial análises, passando desde sistemas poliméricos, produtos naturais, alimentos, sistemas biológicos e todo tipo de matrizes forenses solidas complexas, torna o sistema VELDI-MS potencial candidato ao auxílio nos laboratórios forenses do Brasil.

## 8. CONCLUSÃO GERAL

Como nunca antes a MS moderna, aqui estudado e proposto a MS ambiente, oferece ao cientista forense atributos poderosos para a análise de evidências de crimes. Estas características permitem a aplicação da MS ambiente à casos forenses com a obtenção de perfis moleculares de uma forma simples, rápida, quase universal e, pela qualidade e seletividade dos dados de perfil químico, inequívocas.

Amostras forenses analisáveis pela MS ambiente podem variar drasticamente de explosivos, drogas, combustíveis, documentos impressos à amostras biológicas. Com um único instrumento e seleção de poucas ou mesmo de uma única técnica de dessorção/ionização, a MS ambiente pode ser utilizada como um protocolo praticamente universal e não destrutivo. A preparação destrutiva da amostra, que era indispensável na MS convencional, não é mais necessária na MS atual. Este é um grande passo no campo das ciências forenses, em que a disponibilidade limitada de amostras geralmente prejudica a investigação química. Além da necessidade de análises futuras para possíveis confirmações exigidas pela Justiça, a análise de contra prova.

Se por um lado cresce o número de fontes de MS ambiente disponíveis comercialmente, também é possível uma montagem caseira utilizando partes de laboratório muito comuns, o que faz com que essas técnicas de MS ambientes sejam amplamente disponíveis. Espectrômetros de massas portáteis e em miniatura estão sendo desenvolvidos, tornando-se disponíveis comercialmente. A utilização de sistemas MS em miniatura juntamente com técnicas de dessorção/ionização certamente facilitarão a análise em tempo real, *in situ*, nas cenas de crime. Por exemplo, um dispositivo MS portátil poderia ser levado às cenas de crimes para buscar traços de explosivos na explosão de um abanico ou em um veículo suspeito, em postos de combustíveis para verificar a autenticidade destes ou em uma cena de crime para checar substâncias suspeitas em vestígios biológicos.

## 9. REFERÊNCIAS

(Science & Justice Journal EndNote style)

- [1] K. Pyrek, *Forensic Science Under Siege: The Challenges of Forensic Laboratories and the Medico-Legal Investigation System*, 1st ed.; Elsevier Academic Press: Phoenix, Arizona, 2007.
- [2] J.L. Zarzuela, *Química Legal: Tratado de perícias criminalísticas*, 1 ed, Porto Alegre: Ed. Sagra-DC Luzzatto, 1995.
- [3] F. Saverio Romolo, P. Margot, Identification of gunshot residue: A critical review, *Forensic Sci. Int.*, 119 (2001) 195-211.
- [4] A.B. Beveridge, *Forensic Investigation of Explosions: Forensic Science Series*, Ed. Taylor & Francis Ltd, 1998.
- [5] J.R. Almirall, K.G. Furton, *Analysis and Interpretation of Fire Scene Evidence*, Boca Raton, Florida: CRC Press LLC, 2000.
- [6] M.H. HO, *Analytical methods in forensic chemistry*, Nova Iorque: Ellis Horwood, 1990.
- [7] R.E. Gaensslen, *Sourcebook in forensic serology, immunology and biochemistry*, Washington: U.S. Government Printing Office, 1983.
- [8] J. Levinson, *Questioned Documents*, London: Academic Press, 2001.
- [9] A. Espindula;, *Perícia Criminal e Cível*, 2 Ed., Campinas: Ed. Millennium, 2005.
- [10] G.V. França, *Medicina Legal*, 8 ed.,; Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. .
- [11] R.M. Silverstein, F.X. Webster, D. Kiemle, D.L. Bryce, *Spectrometric identification of Organic Compounds*, 7. ed. Danvers: John Wiley & Sons, 2005.
- [12] L.S. Eberlin, D.R. Ifa, C. Wu, R. Graham Cooks, Three-dimensional visualization of mouse brain by lipid analysis using ambient ionization mass spectrometry, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 49 (2010) 873-876.
- [13] N. Liu, X. Lu, Y. Yang, C.X. Yao, B. Ning, D. He, L. He, J. Ouyang, Monitoring binding affinity between drug and  $\alpha$ 1-acid glycoprotein in real time by Venturi easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry, *Talanta*, 143 (2015) 240-244.
- [14] C.R. Ferreira, S.A. Saraiva, R.R. Catharino, J.S. Garcia, F.C. Gozzo, G.B. Sanvido, L.F.A. Santos, E.G. Lo Turco, J.H.F. Pontes, A.C. Basso, R.P. Bertolla, R. Sartori, M.M. Guardieiro, F. Perecin, F.V. Meirelles, J.R. Sangalli, M.N. Eberlin, Single embryo and oocyte lipid fingerprinting by mass spectrometry, *J. Lipid Res.*, 51 (2010) 1218-1227.
- [15] S.D. Fuerstenau, W.H. Benner, J.J. Thomas, C. Brugidou, B. Bothner, G. Siuzdak, Mass spectrometry of an intact virus, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 40 (2001) 542-544.
- [16] Y. Song, N. Talaty, W.A. Tao, Z. Pan, R.G. Cooks, Rapid ambient mass spectrometric profiling of intact, untreated bacteria using desorption electrospray ionization, *Chem. Commun.*, (2007) 61-63.
- [17] J.B. Fenn, M. Mann, C.K. Meng, S.F. Wong, C.M. Whitehouse, Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules, *Science*, 246 (1989) 64-71.
- [18] M.N. Eberlin, John Bennett Fenn, *Angewandte Chemie International Edition*, 50 (2011) 3116-3116.
- [19] F. Coelho, M.N. Eberlin, The bridge connecting gas-phase and solution chemistries, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50 (2011) 5261-5263.

- [20] S. Dresen, M. Gergov, L. Politi, C. Halter, W. Weinmann, ESI-MS/MS library of 1,253 compounds for application in forensic and clinical toxicology, *Anal. Bioanal. Chem.*, 395 (2009) 2521-2526.
- [21] R.G. Cooks, Z. Ouyang, Z. Takats, J.M. Wiseman, Ambient mass spectrometry, *Science*, 311 (2006) 1566-1570.
- [22] R.M. Alberici, R.C. Simas, G.B. Sanvido, W. Romão, P.M. Lalli, M. Benassi, I.B.S. Cunha, M.N. Eberlin, Ambient mass spectrometry: Bringing MS into the "real world", *Anal. Bioanal. Chem.*, 398 (2010) 265-294.
- [23] M.C. Domin, R.; Gaskell, S.J., *Ambient Ionization Mass Spectrometry (New Developments in Mass Spectrometry)*, (1st ed.; Royal Society of Chemistry: Oxfordshire, UK, 2014.).
- [24] N.V. Schwab, M.N. Eberlin, Mass spectrometry made easy: The quest for simplicity, *Drug Test. Anal.*, 5 (2013) 137-144.
- [25] D.R. Ifa, A.U. Jackson, G. Paglia, R.G. Cooks, Forensic applications of ambient ionization mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, 394 (2009) 1995-2008.
- [26] Hoffmann W.D.; Jackson G.P., *Forensic Mass Spectrometry*, *Annu. Rev. Anal. Chem.*, (2015, DOI: 10.1146/annurev-anchem-071114-040335).
- [27] L. Li, T.C. Chen, Y. Ren, P.I. Hendricks, R.G. Cooks, Z. Ouyang, Mini 12, miniature mass spectrometer for clinical and other applications - Introduction and characterization, *Anal. Chem.*, 86 (2014) 2909-2916.
- [28] Z. Takats, J.M. Wiseman, B. Gologan, R.G. Cooks, Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization, *Science*, 306 (2004) 471-473.
- [29] J. Liu, H. Wang, N.E. Manicke, J.M. Lin, R.G. Cooks, Z. Ouyang, Development, characterization, and application of paper spray ionization, *Anal. Chem.*, 82 (2010) 2463-2471.
- [30] R.B. Cody, J.A. Laramée, H.D. Durst, Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions, *Anal. Chem.*, 77 (2005) 2297-2302.
- [31] R. Haddad, R. Sparrapan, M.N. Eberlin, Desorption sonic spray ionization for (high) voltage-free ambient mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 20 (2006) 2901-2905.
- [32] J. Shiea, M.Z. Huang, H.J. Hsu, C.Y. Lee, C.H. Yuan, I. Beech, J. Sunner, Electrospray-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry for direct ambient analysis of solids, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 19 (2005) 3701-3704.
- [33] G.A. Harris, A.S. Galhena, F.M. Fernández, Ambient sampling/ionization mass spectrometry: Applications and current trends, *Anal. Chem.*, 83 (2011) 4508-4538.
- [34] Z. Takats, J.M. Wiseman, R.G. Cooks, Ambient mass spectrometry using desorption electrospray ionization (DESI): Instrumentation, mechanisms and applications in forensics, chemistry, and biology, *J. Mass Spectrom.*, 40 (2005) 1261-1275.
- [35] C. Wu, A.L. Dill, L.S. Eberlin, R.G. Cooks, D.R. Ifa, Mass spectrometry imaging under ambient conditions, *Mass Spectrom Rev*, 32 (2013) 218-243.
- [36] H. Wang, J. Liu, R. Graham Cooks, Z. Ouyang, Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 49 (2010) 877-880.
- [37] B. Hu, P.K. So, H. Chen, Z.P. Yao, Electrospray ionization using wooden tips, *Anal. Chem.*, 83 (2011) 8201-8207.
- [38] V. Pirro, A.K. Jarmusch, M. Vincenti, R.G. Cooks, Direct drug analysis from oral fluid using medical swab touch spray mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 861 (2015) 47-54.

- [39] J. Liu, H. Wang, R.G. Cooks, Z. Ouyang, Leaf spray: Direct chemical analysis of plant material and living plants by mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 83 (2011) 7608-7613.
- [40] D.J. Weston, Ambient ionization mass spectrometry: Current understanding of mechanistic theory; Analytical performance and application areas, *Analyst*, 135 (2010) 661-668.
- [41] V.G. Santos, T. Regiani, F.F.G. Dias, W. Romão, J.L.P. Jara, C.F. Klitzke, F. Coelho, M.N. Eberlin, Venturi easy ambient sonic-spray ionization, *Anal. Chem.*, 83 (2011) 1375-1380.
- [42] A.M. Porcari, N.V. Schwab, R.M. Alberici, E.C. Cabral, D.R. De Moraes, P.F. Montanher, C.R. Ferreira, M.N. Eberlin, J.V. Visentainer, Intact triacylglycerol profiles of fats and meats via thermal imprinting easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry, *Anal. Methods*, 4 (2012) 3551-3557.
- [43] N.V. Schwab, A.M. Porcari, M.B. Coelho, E.M. Schmidt, J.L. Jara, J.V. Visentainer, M.N. Eberlin, Easy dual-mode ambient mass spectrometry with Venturi self-pumping, canned air, disposable parts and voltage-free sonic-spray ionization, *Analyst*, 137 (2012) 2537-2540.
- [44] A. Hirabayashi, M. Sakairi, H. Koizumi, Sonic spray ionization method for atmospheric pressure ionization mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 66 (1994) 4557-4559.
- [45] A. Hirabayashi, M. Sakairi, H. Koizumi, Sonic spray mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 67 (1995) 2878-2882.
- [46] R.M. Alberici, R.C. Simas, V. de Souza, G.F. de Sá, R.J. Daroda, M.N. Eberlin, Analysis of fuels via easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 659 (2010) 15-22.
- [47] B. Shrestha, P. Nemes, J. Nazarian, Y. Hathout, E.P. Hoffman, A. Vertes, Direct analysis of lipids and small metabolites in mouse brain tissue by AP IR-MALDI and reactive LAESI mass spectrometry, *Analyst*, 135 (2010) 751-758.
- [48] H. Chen, A. Venter, R.G. Cooks, Extractive electrospray ionization for direct analysis of undiluted urine, milk and other complex mixtures without sample preparation, *Chem. Commun.*, (2006) 2042-2044.
- [49] L. Zhu, G. Gamez, H. Chen, K. Chingjin, R. Zenobi, Rapid detection of melamine in untreated milk and wheat gluten by ultrasound-assisted extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS), *Chem. Commun.*, (2009) 559-561.
- [50] H. Chen, J. Zheng, X. Zhang, M. Luo, Z. Wang, X. Qiao, Surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for direct ambient sample analysis without toxic chemical contamination, *J. Mass Spectrom.*, 42 (2007) 1045-1056.
- [51] J.M. Wiseman, D.R. Ifa, A. Venter, R.G. Cooks, Ambient molecular imaging by desorption electrospray ionization mass spectrometry, *Nat. Protoc.*, 3 (2008) 517-524.
- [52] A.L. Dill, D.R. Ifa, N.E. Manicke, A.B. Costa, J.A. Ramos-Vara, D.W. Knapp, R.G. Cooks, Lipid profiles of canine invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder and adjacent normal tissue by desorption electrospray ionization imaging mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 81 (2009) 8758-8764.
- [53] D.R. Ifa, N.E. Manicke, A.L. Dill, R.G. Cooks, Latent fingerprint chemical imaging by mass spectrometry, *Science*, 321 (2008) 805.
- [54] D.R. Ifa, L.M. Gumaelius, L.S. Eberlin, N.E. Manicke, R.G. Cooks, Forensic analysis of inks by imaging desorption electrospray ionization (DESI) mass spectrometry, *Analyst*, 132 (2007) 461-467.

- [55] D.R. Ifa, J.M. Wiseman, Q. Song, R.G. Cooks, Development of capabilities for imaging mass spectrometry under ambient conditions with desorption electrospray ionization (DESI), *Int. J. Mass Spectrom.*, 259 (2007) 8-15.
- [56] D.R. Ifa, A. Srimany, L.S. Eberlin, H.R. Naik, V. Bhat, R.G. Cooks, T. Pradeep, Tissue imprint imaging by desorption electrospray ionization mass spectrometry, *Anal. Methods*, 3 (2011) 1910-1912.
- [57] T. Valdes-Gonzalez, N. Goto-Inoue, W. Hirano, H. Ishiyama, T. Hayasaka, M. Setou, T. Taki, New approach for glyco- and lipidomics - Molecular scanning of human brain gangliosides by TLC-Blot and MALDI-QIT-TOF MS, *J. Neurochem.*, 116 (2011) 678-683.
- [58] A. Tata, A.M.A.P. Fernandes, V.G. Santos, R.M. Alberici, D. Araldi, C.A. Parada, W. Braguini, L. Veronez, G. Silva Bisson, F.H.Z. Reis, L.C. Alberici, M.N. Eberlin, Nanoassisted laser desorption-ionization-MS imaging of tumors, *Anal. Chem.*, 84 (2012) 6341-6345.
- [59] P. Sjövall, J. Lausmaa, H. Nygren, L. Carlsson, P. Malmberg, Imaging of membrane lipids in single cells by imprint-imaging time-of-flight secondary ion mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 75 (2003) 3429-3434.
- [60] Z. Takáts, I. Cotte-Rodriguez, N. Talaty, H. Chen, R.G. Cooks, Direct, trace level detection of explosives on ambient surfaces by desorption electrospray ionization mass spectrometry, *Chem. Commun.*, (2005) 1950-1952.
- [61] I. Cotte-Rodríguez, Z. Takáts, N. Talaty, H. Chen, R.G. Cooks, Desorption electrospray ionization of explosives on surfaces: Sensitivity and selectivity enhancement by reactive desorption electrospray ionization, *Anal. Chem.*, 77 (2005) 6755-6764.
- [62] M. Mäkinen, M. Nousiainen, M. Sillanpää, Ion spectrometric detection technologies for ultra-traces of explosives: A review, *Mass Spectrom Rev*, 30 (2011) 940-973.
- [63] D.R. Justes, N. Talaty, I. Cotte-Rodriguez, R.G. Cooks, Detection of explosives on skin using ambient ionization mass spectrometry, *Chem. Commun.*, (2007) 2142-2144.
- [64] Z. Ouyang, R.G. Cooks, Miniature mass spectrometers, in: *Annual Review of Analytical Chemistry*, 2009, pp. 187-214.
- [65] V.V. Hernandez, M.F. Franco, J.M. Santos, J.J. Melendez-Perez, D.R. Morais, W.F.D.C. Rocha, R. Borges, W. de Souza, J.J. Zacca, L.P.L. Logrado, M.N. Eberlin, D.N. Correa, Characterization of ANFO explosive by high accuracy ESI( $\pm$ )-FTMS with forensic identification on real samples by EASI(-)-MS, *Forensic Sci. Int.*, 249 (2015) 156-164.
- [66] T.P. Forbes, E. Sisco, Chemical imaging of artificial fingerprints by desorption electro-flow focusing ionization mass spectrometry, *Analyst*, 139 (2014) 2982-2985.
- [67] I. Cotte-Rodríguez, R.G. Cooks, Non-proximate detection of explosives and chemical warfare agent simulants by desorption electrospray ionization mass spectrometry, *Chem. Commun.*, (2006) 2968-2970.
- [68] J.M. Nilles, T.R. Connell, H.D. Durst, Quantitation of chemical warfare agents using the direct analysis in real time (DART) technique, *Anal. Chem.*, 81 (2009) 6744-6749.
- [69] A.M. Pfaff, R.R. Steiner, Development and validation of AccuTOF-DART™ as a screening method for analysis of bank security device and pepper spray components, *Forensic Sci. Int.*, 206 (2011) 62-70.

- [70] M. Morelato, A. Beavis, P. Kirkbride, C. Roux, Forensic applications of desorption electrospray ionisation mass spectrometry (DESI-MS), *Forensic Sci. Int.*, 226 (2013) 10-21.
- [71] M. Zhao, S. Zhang, C. Yang, Y. Xu, Y. Wen, L. Sun, X. Zhang, Desorption electrospray tandem MS (DESI-MS/MS) analysis of methyl centralite and ethyl centralite as gunshot residues on skin and other surfaces, *Journal of Forensic Sciences*, 53 (2008) 807-811.
- [72] M. Morelato, A. Beavis, A. Ogle, P. Doble, P. Kirkbride, C. Roux, Screening of gunshot residues using desorption electrospray ionisation-mass spectrometry (DESI-MS), *Forensic Sci. Int.*, 217 (2012) 101-106.
- [73] A. Venter, D.R. Ifa, R.G. Cooks, S.K. Poehlein, A. Chin, D. Ellison, A desorption electrospray ionization mass spectrometry study of aging products of diphenylamine stabilizer in double-base propellants, *Propellants Explos Pyrotech*, 31 (2006) 472-476.
- [74] M. Calcerrada, C. García-Ruiz, Analysis of questioned documents: A review, *Anal. Chim. Acta*, 853 (2015) 143-166.
- [75] P.M. Lalli, G.B. Sanvido, J.S. Garcia, R. Haddad, R.G. Cosso, D.R.J. Maia, J.J. Zacca, A.O. Maldaner, M.N. Eberlin, Fingerprinting and aging of ink by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry, *Analyst*, 135 (2010) 745-750.
- [76] J.A. Laramée, R.B. Cody, J.M. Nilles, H.D. Durst, Forensic Application of DARTTM (Direct Analysis in Real Time) Mass Spectrometry, in: *Forensic Analysis on the Cutting Edge: New Methods for Trace Evidence Analysis*, John Wiley & Sons, Inc., 2007, pp. 175-195.
- [77] L.S. Eberlin, R. Haddad, R.C. Sarabia Neto, R.G. Cosso, D.R.J. Maia, A.O. Maldaner, J.J. Zacca, G.B. Sanvido, W. Romão, B.G. Vaz, D.R. Ifa, A. Dill, R.G. Cooks, M.N. Eberlin, Instantaneous chemical profiles of banknotes by ambient mass spectrometry, *Analyst*, 135 (2010) 2533-2539.
- [78] E.M. Schmidt, M.F. Franco, K.G. Regino, E.L. Lehmann, M.A.Z. Arruda, W.F. de Carvalho Rocha, R. Borges, W. de Souza, M.N. Eberlin, D.N. Correa, Direct and non-destructive proof of authenticity for the 2nd generation of Brazilian real banknotes via easy ambient sonic spray ionization mass spectrometry, *Sci. Justice*, (2015).
- [79] Y.Y. Kao, C.N. Cheng, S.C. Cheng, H.O. Ho, J. Shiea, Distinguishing authentic and counterfeit banknotes by surface chemical composition determined using electrospray laser desorption ionization mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.*, 48 (2013) 1129-1135.
- [80] W. Romao, B.G. Vaz, P.M. Lalli, M.I.M.S. Bueno, D.N. Correa, V.L.C.N. Telles, E.V.R. de Castro, M.N. Eberlin, Analyzing Brazilian Vehicle Documents for Authenticity by Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry\*, *Journal of Forensic Sciences*, 57 (2012) 539-543.
- [81] E.M.F. Schmidt, M. F.; Cuelbas, C.J.; Zacca, J.J.; Rocha, W.F.C.; Borges, R.; Souza, W.; Sawaya, A.C.H.F.; Eberlin, M.N.; Correa, D.N., Characterization of Anti-Theft Devices Directly from the Surface of Banknotes via Easy Ambient Sonic Spray Ionization Mass Spectrometry, *Sci. Justice*, (2015, DOI:10.1016/j.scijus.2015.04.004).
- [82] N. Stojanovska, M. Tahtouh, T. Kelly, A. Beavis, S. Fu, Qualitative analysis of seized cocaine samples using desorption electrospray ionization- mass spectrometry (DESI-MS), *Drug Test. Anal.*, 7 (2015) 393-400.
- [83] S. Yu, E. Crawford, J. Tice, B. Musselman, J.T. Wu, Bioanalysis without sample cleanup or chromatography: The evaluation and initial implementation of direct

analysis in real time ionization mass spectrometry for the quantification of drugs in biological matrixes, *Anal. Chem.*, 81 (2009) 193-202.

[84] B.D.R. Sabino, W.; Sodr , M.L.; Correa, D.N.; Pinto, D.B`P.; Alonso, F.O.M.; Eberlin, M.N. , Analysis of Cocaine and Crack Cocaine via Thin Layer Chromatography Coupled to Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry, *American Journal of Analytical Chemistry*, (2011, DOI: 10.4236/ajac.2011.26075).

[85] S.E. Howlett, R.R. Steiner, Validation of Thin Layer Chromatography with AccuTOF-DART™ Detection for Forensic Drug Analysis, *Journal of Forensic Sciences*, 56 (2011) 1261-1267.

[86] R. Haddad, H.M.S. Milagre, R.R. Catharino, M.N. Eberlin, Easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry combined with thin-layer chromatography, *Anal. Chem.*, 80 (2008) 2744-2750.

[87] W. Rom o, B.D. Sabino, M.I.M. Bueno, B.G. Vaz, A.C. J nior, A.O. Maldaner, E.V. de Castro, R.A. Lordeiro, C.C. Nascentes, M.N. Eberlin, R. Augusti, LSD and 9,10-dihydro-LSD Analyses in Street Drug Blotter Samples via Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry (EASI-MS), *Journal of Forensic Sciences*, 57 (2012) 1307-1312.

[88] A.D. Lesiak, R.A. Musah, M.A. Domin, J.R.E. Shepard, DART-MS as a Preliminary Screening Method for "Herbal Incense": Chemical Analysis of Synthetic Cannabinoids, *Journal of Forensic Sciences*, 59 (2014) 337-343.

[89] W. Rom o, P.M. Lalli, M.F. Franco, G. Sanvido, N.V. Schwab, R. Lanaro, J.L. Costa, B.D. Sabino, M.I.M.S. Bueno, G.F. De Sa, R.J. Daroda, V. De Souza, M.N. Eberlin, Chemical profile of meta-chlorophenylpiperazine (m-CPP) in ecstasy tablets by easy ambient sonic-spray ionization, X-ray fluorescence, ion mobility mass spectrometry and NMR, *Anal. Bioanal. Chem.*, 400 (2011) 3053-3064.

[90] J.M. Wiseman, C.A. Evans, C.L. Bowen, J.H. Kennedy, Direct analysis of dried blood spots utilizing desorption electrospray ionization (DESI) mass spectrometry, *Analyst*, 135 (2010) 720-725.

[91] M. Kawamura, R.K. Hanajiri, Y. Goda, Simple and rapid screening for methamphetamine and 3,4-methylene- dioxymethamphetamine (MDMA) and their metabolites in urine using direct analysis in real time (DART) -TOFMS, *Yakugaku Zasshi*, 131 (2011) 827-833.

[92] J. Balog, T. Szaniszl , K.C. Schaefer, J. Denes, A. Lopata, L. Godorhazy, D. Szalay, L. Balogh, L. Sasi-Szabo, M. Toth, Z. Takats, Identification of biological tissues by rapid evaporative ionization mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 82 (2010) 7343-7350.

[93] K.S. Kerian, A.K. Jarmusch, R.G. Cooks, Touch spray mass spectrometry for in situ analysis of complex samples, *Analyst*, 139 (2014) 2714-2720.

[94] C.H. Lin, W.C. Liao, H.K. Chen, T.Y. Kuo, Paper spray-MS for bioanalysis, *Bioanalysis*, 6 (2014) 199-208.

[95] Y. Ren, J. Liu, L. Li, M.N. McLuckey, Z. Ouyang, Direct mass spectrometry analysis of untreated samples of ultralow amounts using extraction nano-electrospray, *Anal. Methods*, 5 (2013) 6686-6692.

[96] R.D. Espy, S.F. Teunissen, N.E. Manicke, Y. Ren, Z. Ouyang, A. Van Asten, R.G. Cooks, Paper spray and extraction spray mass spectrometry for the direct and simultaneous quantification of eight drugs of abuse in whole blood, *Anal. Chem.*, 86 (2014) 7712-7718.

- [97] O.P. Haefliger, N. Jeckelmann, Direct mass spectrometric analysis of flavors and fragrances in real applications using DART, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 21 (2007) 1361-1366.
- [98] M.F. Riccio, A.C.H.F. Sawaya, P.V. Abdelnur, S.A. Saraiva, R. Haddad, M.N. Eberlin, R.R. Catharino, Easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometric of olive oils: Quality control and certification of geographical origin, *Anal. Lett.*, 44 (2011) 1489-1497.
- [99] G.A. Bataglion, F.M.A. Da Silva, J.M. Santos, M.T. Barcia, H.T. Godoy, M.N. Eberlina, H.H.F. Koolen, Integrative approach using GC-MS and easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry (EASI-MS) for comprehensive lipid characterization of buriti (*Mauritia flexuosa*) oil, *J. Braz. Chem. Soc.*, 26 (2015) 171-177.
- [100] A.C.H.F. Sawaya, P.V. Abdelnur, M.N. Eberlin, S. Kumazawa, M.R. Ahn, K.S. Bang, N. Nagaraja, V.S. Bankova, H. Afrouzan, Fingerprinting of propolis by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry, *Talanta*, 81 (2010) 100-108.
- [101] R. Haddad, R.R. Catharino, L.A. Marques, M.N. Eberlin, Perfume fingerprinting by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry: Nearly instantaneous typification and counterfeit detection, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 22 (2008) 3662-3666.
- [102] A.M. Porcari, G.D. Fernandes, K.R.A. Belaz, N.V. Schwab, V.G. Santos, R.M. Alberici, V.A. Gromova, M.N. Eberlin, A.T. Lebedev, A. Tata, High throughput MS techniques for caviar lipidomics, *Anal. Methods*, 6 (2014) 2436-2443.
- [103] G.D. Fernandes, W. Moreda, D. Barrera-Arellano, G.C.N.Z. Ruiz, P.L. Ferreira, M.N. Eberlin, R.M. Alberici, TAG, DAG and FFA profiles of dry-cured ham by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry after thermal imprinting, *J. Braz. Chem. Soc.*, 25 (2010) 1565-1570.
- [104] P.V. Abdelnur, L.S. Eberlin, G.F. De Sá, V. De Souza, M.N. Eberlin, Single-shot biodiesel analysis: Nearly instantaneous typification and quality control solely by ambient mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 80 (2008) 7882-7886.
- [105] E. Moravcova, L. Vaclavik, O. Lacina, V. Hrbek, K. Riddellova, J. Hajslova, Novel approaches to analysis of 3-chloropropane-1,2-diol esters in vegetable oils, *Anal. Bioanal. Chem.*, 402 (2012) 2871-2883.
- [106] C.M. Coates, S. Coticone, P.D. Barreto, A.E. Cobb, R.B. Cody, J.C. Barreto, Flammable solvent detection directly from common household materials yields differential results: An application of direct analysis in real-time mass spectrometry, *J. Forensic Identif.*, 58 (2008) 624-631.
- [107] R. Haddad, T. Regiani, C.F. Klitzke, G.B. Sanvido, Y.E. Corilo, D.V. Augusti, V.M.D. Pasa, R.C.C. Pereira, W. Romão, B.G. Vaz, R. Augusti, M.N. Eberlin, Gasoline, kerosene, and diesel fingerprinting via polar markers, *Energy Fuels*, 26 (2012) 3542-3547.
- [108] A.M.A.P. Fernandes, D.U. Tega, J.L.P. Jara, I.B.S. Cunha, G.F. De Sá, R.J. Daroda, M.N. Eberlin, R.M. Alberici, Free and total glycerin in biodiesel: Accurate quantitation by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry, *Energy Fuels*, 26 (2012) 3042-3047.
- [109] C. Neumann, P. Margot, Considerations on the ASTM standards 1789-04 and 1422-05 on the forensic examination of ink, *Journal of Forensic Sciences*, 55 (2010) 1304-1310.
- [110] D. Ellen, *Scientific Examination of Documents, Methods and Techniques*: Ed. CRC Press, Danvers USA, 3th ed., 2006.

- [111] A.S. Osborn, Questioned Documents: Ed. The Lawyers' Co-operative Publishing Co., Rochester NY USA, 1910.
- [112] O. Hilton, Scientific Examination of Questioned Documents: Ed. CRC Press, Danvers USA, 1993.
- [113] J.V.P. Conway, Evidential Documents: Ed. Springfield, Illinois USA, 1972.
- [114] A.M.H. R.A. Huber, Handwriting Identification: Facts and Fundamentals: Ed. CRC Press LLC, Florida USA, 1999.
- [115] (<http://www.scienceandjusticejournal.com/> (consultado em 07/11/2012)).
- [116] (<http://www.jp.blackwellpublishing.com/bw/journal.asp?ref=0022-1198&site=1> (consultado em 07/11/2012)).
- [117] (<http://www.fsijournal.org/> (consultado em 07/11/2012)).
- [118] (<http://www.forensicsciencereview.com/> (consultado em 07/11/2012)).
- [119] (<http://www.csfs.ca/eng/journal> (consultado em 07/11/2012)).
- [120] W. Romão, N.V. Schwab, M.I.M.S. Bueno, R. Sparrapan, M.N. Eberlin, A. Martiny, B.D. Sabino, A.O. Maldaner, Forensic chemistry: Perspective of new analytical methods applied to documentoscopy, ballistic and drugs of abuse, Quim. Nova, 34 (2011) 1717-1728.
- [121] L.B. Mendes, Documentoscopia: Ed. Millenium, Campinas BR, 3ª. Ed., 2010. .
- [122] J.M. N.P. Lima, Documentoscopia. In: Velho JA., Geiser GC, Espindula A, Ciências Forenses: Uma introdução às principais áreas da Criminalística Moderna. Campinas: Millennium Editora, 2012, p. 333-353.
- [123] E.M.S.F. J.W. Robinson, G.M. Frame,, Undergraduate instrumental analysis: Ed. Marcel Dekker, New York USA, 6th ed, 2005.
- [124] F.J.H. D.A. Skoog, T.A. Nieman, , Princípios de Análise Instrumental: Ed. Bookman, Porto Alegre BR, 5ª ed, 2002.
- [125] G.L.B. C.H.Collins, O.S. Bonato, , Fundamentos de Cromatografia: Ed. Unicamp, Campinas BR, 3ª ed 2006.
- [126] F.J. Krug, Métodos de preparo de amostras, fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar: Ed. Francisco José Krug, Piracicaba BR, 2008.
- [127] (<http://detran.sc> (consultado em 12/06/2015)).
- [128] (<http://pt.wikipedia.org> (consultado em 12/06/2015)).
- [129] S. Sugawara, Passport examination by polarized infrared spectra, Journal of Forensic Sciences, 52 (2007) 974-977.
- [130] V. Rusanov, K. Chakarova, H. Winkler, A.X. Trautwein, Mössbauer and X-ray fluorescence measurements of authentic and counterfeited banknote pigments, Dyes Pigm., 81 (2009) 254-258.
- [131] A. Vila, N. Ferrer, J. Mantecón, D. Bretón, J.F. García, Development of a fast and non-destructive procedure for characterizing and distinguishing original and fake euro notes, Anal. Chim. Acta, 559 (2006) 257-263.
- [132] M.S. Božičević, A. Gajović, I. Zjakić, Identifying a common origin of toner printed counterfeit banknotes by micro-Raman spectroscopy, Forensic Sci. Int., 223 (2012) 314-320.
- [133] A. Guedes, M. Algarra, A.C. Prieto, B. Valentim, V. Hortelano, S. Neto, R. Algarra, F. Noronha, Raman microspectroscopy of genuine and fake euro banknotes, Spectrosc. Lett., 46 (2013) 569-576.
- [134] M.R. de Almeida, D.N. Correa, W.F.C. Rocha, F.J.O. Scafì, R.J. Poppi, Discrimination between authentic and counterfeit banknotes using raman spectroscopy and PLS-DA with uncertainty estimation, Microchemical Journal, 109 (2013) 170-177.

- [135] N. Mizrachi, Z. Aizenshtat, S. Levy, R. Elkayam, Classification and identification of color photocopiers by FT-IR and GC/MS, *Journal of Forensic Sciences*, 43 (1998) 353-361.
- [136] K.A. Ebejer, R.G. Brereton, J.F. Carter, S.L. Ollerton, R. Sleeman, Rapid comparison of diacetylmorphine on banknotes by tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 19 (2005) 2137-2143.
- [137] H.W. Tang, M.Y.M. Wong, S.L.F. Chan, C.M. Che, K.M. Ng, Molecular imaging of banknote and questioned document using solvent-free gold nanoparticle-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 83 (2011) 453-458.
- [138] S. Donnelly, J.E. Marrero, T. Cornell, K. Fowler, J. Allison, Analysis of pigmented inkjet printer inks and printed documents by laser desorption?mass spectrometry, *Journal of Forensic Sciences*, 55 (2010) 129-135.
- [139] E. Eisenmenger, L. Dworowy, G. G. Fuchs, L. Rothbuhr, H. Schafer, Carbon black concentrate, in, Google Patents, 1980.
- [140] B.O. Keller, J. Sui, A.B. Young, R.M. Whittal, Interferences and contaminants encountered in modern mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 627 (2008) 71-81.
- [141] R.A. Musah, R.B. Cody, A.J. Dane, A.L. Vuong, J.R.E. Shepard, Direct analysis in real time mass spectrometry for analysis of sexual assault evidence, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 26 (2012) 1039-1046.
- [142] J. Wu, J.H. Herko, F.J. Lopez, K.B. Tallman, D.M. Pietrantonio, M.S. Roetker, Fuser member, in, Google Patents, 2012.
- [143] L. Heudt, D. Debois, T.A. Zimmerman, L. Köhler, F. Bano, F. Partouche, A.S. Duwez, B. Gilbert, E. De Pauw, Raman spectroscopy and laser desorption mass spectrometry for minimal destructive forensic analysis of black and color inkjet printed documents, *Forensic Sci. Int.*, 219 (2012) 64-75.
- [144] R. Krishnan, R. Sprycha, Interactions of acetylenic diol surfactants with polymers. Part 1. Maleic anhydride co-polymers, *Proceedings of 1997 9th International Conference on Surface and Colloids Science, 9ICSCS*, 149 (1999) 355-366.
- [145] D.M. Parees, S.D. Hanton, P.A. Cornelio Clark, D.A. Willcox, Comparison of mass spectrometric techniques for generating molecular weight information on a class of ethoxylated oligomers, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 9 (1998) 282-291.
- [146] Ink composition for inkjet recording application, includes surfynol surfactant and azo dye dissolved in water-based medium, such that they are connected by single bond, in, Fuji Photo Film Co Ltd; Fuji Film Corp.
- [147] <http://www.sfgate.com/news/article/Shoe-bomb-flight-a-trial-run-U-S-British-2885291.php> (Acessado em 08/07/2015).
- [148] H.K. Evans, F.A.J. Tulleners, B.L. Sanchez, C.A. Rasmussen, An unusual explosive, triacetoneperoxide (TATP), *Journal of Forensic Sciences*, 31 (1986) 1119-1125.
- [149] J.C. Oxley, J.L. Smith, J. Huang, W. Luo, Destruction of peroxide explosives, *Journal of Forensic Sciences*, 54 (2009) 1029-1033.
- [150] R. Wolffenstein, UEBER DIE EINWIRKUNG VON WASSERSTOFFSUPEROXYD AUF ACETON UND MESITYLOXYD, *BER. DTSCH. CHEM. GES.* 28 (1985) 2265-2269.
- [151] N.A. Milas, A. Golubović, Studies in organic peroxides. XXIV. Preparation, separation and identification of peroxides derived from diethyl ketone and hydrogen peroxides, *Journal of the American Chemical Society*, 81 (1959) 3361-3364.

- [152] A.F.N. V.L. Antonovskii, O.K.J. Lyashenko, , IR SPECTRA AND HYDROGEN BONDING OF METHYLCYCLOHEXANONE PEROXIDES, *Appl. Chem. USSR*, 40 (1967) 2443.
- [153] P.R. Story, B. Lee, C.E. Bishop, D.D. Denson, P. Busch, Macrocyclic synthesis. II. Cyclohexanone peroxides, *Journal of Organic Chemistry*, 35 (1970) 3059-3062.
- [154] H. Wackerbarth, C. Salb, L. Gundrum, M. Niederkrüger, K. Christou, V. Beushausen, W. Viöl, Detection of explosives based on surface-enhanced Raman spectroscopy, *Appl. Opt.*, 49 (2010) 4362-4366.
- [155] G.A. Buttigieg, A.K. Knight, S. Denson, C. Pommier, M.B. Denton, Characterization of the explosive triacetone triperoxide and detection by ion mobility spectrometry, *Forensic Sci. Int.*, 135 (2003) 53-59.
- [156] A. Stambouli, A. El Bouri, T. Bouayoun, M.A. Bellimam, Headspace-GC/MS detection of TATP traces in post-explosion debris, *Forensic Sci. Int.*, 146 (2004) S191-S194.
- [157] G.W. Cook, P.T. LaPuma, G.L. Hook, B.A. Eckenrode, Using gas chromatography with ion mobility spectrometry to resolve explosive compounds in the presence of interferents, *Journal of Forensic Sciences*, 55 (2010) 1582-1591.
- [158] M. Fitzgerald, D. Bilusich, Sulfuric, Hydrochloric, and Nitric Acid-Catalyzed Triacetone Triperoxide (TATP) Reaction Mixtures: An Aging Study, *Journal of Forensic Sciences*, 56 (2011) 1143-1149.
- [159] D. Muller, A. Levy, R. Shelef, S. Abramovich-Bar, D. Sonenfeld, T. Tamiri, Improved method for the detection of TATP after explosion, *Journal of Forensic Sciences*, 49 (2004) 935-938.
- [160] G.M. White, An explosive drug case, *Journal of Forensic Sciences*, 37 (1992) 652-656.
- [161] L. Widmer, S. Watson, K. Schlatter, A. Crowson, Development of an LC/MS method for the trace analysis of triacetone triperoxide (TATP), *Analyst*, 127 (2002) 1627-1632.
- [162] X. Xu, A.M. Van De Craats, E.M. Kok, P.C.A.M. De Bruyn, Trace analysis of peroxide explosives by high performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry (HPLC-APCI-MS/MS) for forensic applications, *Journal of Forensic Sciences*, 49 (2004) 1230-1236.
- [163] J.C. Oxley, J.L. Smith, L.J. Kirschenbaum, S. Marimganti, S. Vadlamannati, Detection of explosives in hair using ion mobility spectrometry, *Journal of Forensic Sciences*, 53 (2008) 690-693.
- [164] R.M. Räsänen, M. Nousiainen, K. Peräkorpi, M. Sillanpää, L. Polari, O. Anttalainen, M. Utriainen, Determination of gas phase triacetone triperoxide with aspiration ion mobility spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 623 (2008) 59-65.
- [165] C.K. Hilton, C.A. Krueger, A.J. Midey, M. Osgood, J. Wu, C. Wu, Improved analysis of explosives samples with electrospray ionization-high resolution ion mobility spectrometry (ESI-HRIMS), *Int. J. Mass Spectrom.*, 298 (2010) 64-71.
- [166] I. Cotte-Rodríguez, H. Chen, R.G. Cooks, Rapid trace detection of triacetone triperoxide (TATP) by complexation reactions during desorption electrospray ionization, *Chem. Commun.*, (2006) 953-955.
- [167] A.J. Peña-Quevedo, J.A. Laramee, H.D. Durst, S.P. Hernández-Rivera, Cyclic organic peroxides characterization by mass spectrometry and raman microscopy, *IEEE Sensors J.*, 11 (2011) 1053-1060.

- [168] H. Gu, S. Yang, J. Li, B. Hu, H. Chen, L. Zhang, Q. Fei, Geometry-independent neutral desorption device for the sensitive EESI-MS detection of explosives on various surfaces, *Analyst*, 135 (2010) 779-788.
- [169] M.R. Almeida, D.N. Correa, J.J. Zacca, L.P.L. Logrado, R.J. Poppi, Detection of explosives on the surface of banknotes by Raman hyperspectral imaging and independent component analysis, *Anal. Chim. Acta*, 860 (2015) 15-22.
- [170] M. Lopez, Anti-theft device for automated tell machines which blurs or defaces banknotes - uses indelible dye or ink which is stored under pressure in tank which actuated by single from electrical device, Número(s) da patente: US5537938-A.
- [171] Ookura J, Anti-theft device e.g. for automated teller machine, has coloring apparatus that sprays coating material on banknotes stored in cash dispenser, when abnormal situation such as vibration or sound is detected by abnormality detector, Número(s) da patente: JP2004227443-A.
- [172] H. Seiden, Removal of dye-pack stains on U.S. currency: a reconstruction, *International Journal of Forensic Document Examiners*, 3, 1996.
- [173] R.M. Martz, D.J. Reutter, L.D. Lasswell, A comparison of ionization techniques for gas chromatography/mass spectroscopy analysis of dye and lachrymator residues from exploding bank security devices, *Journal of Forensic Sciences*, 28 (1983) 220-207.
- [174] J.M. Egan, M. Rickenbach, K.E. Mooney, C.S. Palenik, R. Golombeck, K.T. Mueller, Bank security dye packs: Synthesis, isolation, and characterization of chlorinated products of bleached 1-(methylamino)anthraquinone, *Journal of Forensic Sciences*, 51 (2006) 1276-1283.
- [175] C. Marise, P. Ross, Identification of 1-methylaminoanthraquinone on Australian polymeric bank notes, *Forensic Sci. Int.*, 206 (2011) 207-210.
- [176] A.M.A. Verweij, P.J.L. Lipman, Comparison of mass spectrometric techniques for the analysis of trace amounts of 1-methylaminoanthraquinone, used as smoke dye in exploding money suitcases, *J. CHROMATOGR. A*, 653 (1993) 359-362.
- [177] C.A. Reilly, D.J. Crouch, G.S. Yost, A.A. Fatah, Determination of capsaicin, dihydrocapsaicin, and nonivamide in self-defense weapons by liquid chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. CHROMATOGR. A*, 912 (2001) 259-267.
- [178] E. Jagerdeo, J.N. Leibowitz, L. Schumacher, D.A. Henningsen, M. LeBeau, Analysis of trace amount of bank dye and lachrymators from exploding bank devices by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. Sci.*, 44 (2006) 86-90.
- [179] L. Balko, J. Allison, The direct detection and identification of staining dyes from security inks in the presence of other colorants, on currency and fabrics, by laser desorption mass spectrometry, *Journal of Forensic Sciences*, 48 (2003) 1172-1178.
- [180] G.A. Harris, L. Nyadong, F.M. Fernandez, Recent developments in ambient ionization techniques for analytical mass spectrometry, *Analyst*, 133 (2008) 1297-1301.
- [181] D.R. Ifa, C. Wu, Z. Ouyang, R.G. Cooks, Desorption electrospray ionization and other ambient ionization methods: Current progress and preview, *Analyst*, 135 (2010) 669-681.
- [182] J.S. Sampson, A.M. Hawkrige, D.C. Muddiman, Generation and Detection of Multiply-Charged Peptides and Proteins by Matrix-Assisted Laser Desorption Electrospray Ionization (MALDESI) Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 17 (2006) 1712-1716.

- [183] P. Nemes, A. Vertes, Laser ablation electrospray ionization for atmospheric pressure, in vivo, and imaging mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 79 (2007) 8098-8106.
- [184] Y.H. Rezenom, J. Dong, K.K. Murray, Infrared laser-assisted desorption electrospray ionization mass spectrometry, *Analyst*, 133 (2008) 226-232.
- [185] M.Z. Huang, H.J. Hsu, J.Y. Lee, J. Jeng, J. Shiea, Direct protein detection from biological media through electrospray- assisted laser desorption ionization/mass spectrometry, *J. Proteome Res.*, 5 (2006) 1107-1116.
- [186] M.Z. Huang, H.J. Hsu, C.I. Wu, S.Y. Lin, Y.L. Ma, T.L. Cheng, J. Shiea, Characterization of the chemical components on the surface of different solids with electrospray-assisted laser desorption ionization mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 21 (2007) 1767-1775.
- [187] C.Y. Cheng, C.H. Yuan, S.C. Cheng, M.Z. Huang, H.C. Chang, T.L. Cheng, C.S. Yeh, J. Shiea, Electrospray-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry for continuously monitoring the states of ongoing chemical reactions in organic or aqueous solution under ambient conditions, *Anal. Chem.*, 80 (2008) 7699-7705.
- [188] M.Z. Huang, S.S. Jhang, C.N. Cheng, S.C. Cheng, J. Shiea, Effects of matrix, electrospray solution, and laser light on the desorption and ionization mechanisms in electrospray-assisted laser desorption ionization mass spectrometry, *Analyst*, 135 (2010) 759-766.
- [189] T.W.M. Davis, C.G. Farmilo, M. Osadchuk, Identification and origin determinations of cannabis by gas and paper chromatography, *Anal. Chem.*, 35 (1963) 751-755.
- [190] R. Lewis, S. Ward, R. Johnson, D.T. Burns, Distribution of the principal cannabinoids within bars of compressed cannabis resin, *Anal. Chim. Acta*, 538 (2005) 399-405.
- [191] T.J. Kauppila, A. Flink, U.M. Laakkonen, L. Aalberg, R.A. Ketola, Direct analysis of cannabis samples by desorption atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry, *Drug Test. Anal.*, 5 (2013) 186-190.
- [192] J.M. Moore, J.F. Casale, In-depth chromatographic analyses of illicit cocaine and its precursor, coca leaves, *J. CHROMATOGR. A*, 674 (1994) 165-205.
- [193] E.L. Johnson, Content and distribution of Erythroxylum coca leaf alkaloids, *ANN. BOT.*, 76 (1995) 331-335.
- [194] M.J. LeBelle, S.A. Callahn, D.J. Latham, G. Lauriault, Identification and determination of norcocaine in illicit cocaine and coca leaves by gas chromatography - Mass spectrometry and high-performance liquid chromatography, *Analyst*, 113 (1988) 1213-1215.
- [195] S. Bieri, Y. Ilias, C. Bicchi, J.L. Veuthey, P. Christen, Focused microwave-assisted extraction combined with solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the selective analysis of cocaine from coca leaves, *J. CHROMATOGR. A*, 1112 (2006) 127-132.
- [196] A. Brachet, S. Rudaz, L. Mateus, P. Christen, J.L. Veuthey, Optimisation of accelerated solvent extraction of cocaine and benzoylecgonine from coca leaves, *J. Sep. Sci.*, 24 (2001) 865-873.
- [197] A.J. Jenkins, T. Llosa, I. Montoya, E.J. Cone, Identification and quantitation of alkaloids in coca tea, *Forensic Sci. Int.*, 77 (1996) 179-189.
- [198] E.D. Clarkson, D. Lesser, B.D. Paul, Effective GC-MS procedure for detecting iso-LSD in urine after base- catalyzed conversion to LSD, *Clin. Chem.*, 44 (1998) 287-292.

- [199] M.U. Eteng, E.U. Eyong, E.O. Akpanyung, M.A. Agiang, C.Y. Aremu, Recent advances in caffeine and theobromine toxicities: A review, *Plant Foods Hum. Nutr.*, 51 (1997) 231-243.
- [200] R. Garrett, B.G. Vaz, A.M.C. Hovell, M.N. Eberlin, C.M. Rezende, Arabica and Robusta coffees: Identification of major polar compounds and quantification of blends by direct-infusion electrospray ionization-mass spectrometry, *J. Agric. Food Chem.*, 60 (2012) 4253-4258.
- [201] H. Danhelova, J. Hradecky, S. Prinosilova, T. Cajka, K. Riddellova, L. Vaclavik, J. Hajslova, Rapid analysis of caffeine in various coffee samples employing direct analysis in real-time ionization-high-resolution mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, 403 (2012) 2883-2889.
- [202] R. Garrett, N.V. Schwab, E.C. Cabral, B.V.M. Henrique, D.R. Ifa, M.N. Eberlin, C.M. Rezende, Ambient mass spectrometry employed for direct analysis of intact Arabica coffee beans, *J. Braz. Chem. Soc.*, 25 (2014) 1172-1177.
- [203] P. Jacob Iii, C.A. Haller, M. Duan, L. Yu, M. Peng, N.L. Benowitz, Determination of Ephedra Alkaloid and Caffeine Concentrations in Dietary Supplements and Biological Fluids, *J. Anal. Toxicol.*, 28 (2004) 152-159.
- [204] J.R. Startin, M. Sharman, M.D. Rose, I. Parker, A.J. Mercer, L. Castle, J. Gilbert, Migration from plasticized films into foods. 1. Migration of di-(2-ethylhexyl)adipate from PVC films during home-use and microwave cooking, *Food Addit Contam.*, 4 (1987) 385-398.
- [205] P. Medrzycki, R. Montanari, L. Bortolotti, A.G. Sabatini, S. Maini, C. Porrini, Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. Laboratory tests, *Bull. Insect.*, 56 (2003) 59-62.
- [206] S. Rossi, A.P. Dalpero, S. Ghini, R. Colombo, A.G. Sabatini, S. Girotti, Multiresidual method for the gas chromatographic analysis of pesticides in honeybees cleaned by gel permeation chromatography, *J. CHROMATOGR. A*, 905 (2001) 223-232.